

ISSN 1343-4292  
CODEN : KISHFC

# 国立医薬品食品衛生研究所報告

平成 16 年

---

Bulletin of  
National Institute of  
Health Sciences

No.122

2004

---



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 16 年

---

Bulletin of  
National Institute of  
Health Sciences

No.122 2004

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122号第一部

## 特論

動物実験代替法のバリデーション方法と行政的受け入れの現状……………大野泰雄…………… 1

## 研究論文

芳香族N-ニトロソ化合物のNO遊離能とDNA切断活性

……………丹野雅幸, 末吉祥子, 福原 潔, 宮田直樹, 奥田晴宏……………10

Growth characteristics of *Cannabis sativa* L. cultivated in a phytotron and in the field

……………吉松嘉代, 飯田 修, 北澤 尚, 関根 勉, 高上馬希重, 牧野由紀子, 木内文之……………16

## ノート

繊維製品のホルムアルデヒド加工判別法のバリデーション

……………五十嵐良明, 鹿庭正昭, 岩間雅彦, 山野辺秀夫, 辻 清美, 長谷川一夫, 中尾朱美, 土屋利江……………21

化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究：エストリオール

……………徳永裕司, 竹内織恵, 内野 正, 安藤正典……………26

化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究：塩酸テトラカイン

……………徳永裕司, 竹内織恵, 内野 正, 安藤正典……………30

国立医薬品食品衛生研究所における基盤ネットワークの現状について

……………瀬川勝智, 中野達也, 林 譲, 中田琴子……………34

OECD化学物質対策の動向（第5報）第12回及び第13回OECD高生産量化学物質初期評価会議（2001年）

……………高橋美加, 平田睦子, 松本真理子, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 長谷川隆一, 江馬 眞……………37

## 研究に関する資料

化粧品に配合が制限されている成分の分析法に関する研究：安息香酸ナトリウム

……………徳永裕司, 森謙一郎, 野坂富雄, 土井佳代, 坂口 洋, 藤井まき子, 高野勝弘, 林 正人……………43

吉沢賢一, 島村公雄, 佐藤信夫

平成15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, 木下博貴, 古川みづき, 中野真希, 吉井公彦, 外海泰秀……………47

薬毒物分析法webシステムの構築

……………山本 都, 森川 馨, 徳永雅彦, 山本貴司, 屋敷幹雄, 奈女良昭……………51

生殖発生毒性を指標としたダイオキシンの耐容1日摂取量（TDI）算定の考え方について

……………広瀬明彦, 江馬 眞……………56

## 国立医薬品食品衛生研究所報告第122号第二部

業務報告	63
平成15年度所外研究員等の受入名簿	123
誌上发表（原著論文）	127
誌上发表（総説・解説等）	205
単行本	226
行政報告	229
学会発表	234
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	283
衛研例会	291
平成15年度に行なった主な研究課題	292
製品検査等の処理状況	302
国立医薬品食品衛生研究所標準品	305
国立医薬品食品衛生研究所報告第122号人名索引	313
国立医薬品食品衛生研究所報告第122号キーワード索引	318

## CONTENTS

### Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.122, Part 1

#### Special Report

Validation and regulatory acceptance of alternative methods for toxicity evaluation.

..... Yasuo Ohnoh ..... 1

#### Originals

NO-Release Ability and DNA-Damage Activity of Aromatic *N*-Nitroso Compounds

..... Masayuki Tanno, Shoko Sueyoshi, Kiyoshi Fukuhara, Naoki Miyata, Haruhiro Okuda ..... 10

Growth characteristics of *Cannabis sativa* L. cultivated in a phytotron and in the field

..... Kayo Yoshimatsu, Osamu Iida, Takashi Kitazawa, Tsutomu Sekine, Mareshige Kojoma, Yukiko Makino,  
..... Fumiyuki Kiuchi ..... 16

#### Notes

Validation of a method for discrimination of formaldehyde processing on textile products

..... Yoshiaki Ikarashi, Masa-aki Kaniwa, Masahiko Iwama, Hideo Yamanobe, Kiyomi Tsuji, Kazuo Hasegawa,  
..... Akemi Nakao, Toshie Tsuchiya ..... 21

Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Such As Estriol in Cosmetics

..... Hiroshi Tokunaga, Orié Takeuchi, Tadashi Uchino and Masanori Ando ..... 26

Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Such As Tetracaine Hydrochloride in Cosmetics

..... Hiroshi Tokunaga, Orié Takeuchi, Tadashi Uchino and Masanori Ando ..... 30

The Status of NIHS Computer Network System (NIHS-NET)

..... Katsunori Segawa, Tatsuya Nakano, Yuzuru Hayashi and Kotoko Nakata ..... 34

Progress on OECD Chemicals Programme

..... Mika Takahashi, Mutsuko Hirata, Mariko Matsumoto, Akihiko Hirose, Eiichi Kamata, Ryuichi Hasegawa and  
..... Makoto Ema ..... 37

#### Technical Data

Studies for analyzing the restricted ingredients such as sodium benzoate

..... Hiroshi Tokunaga, Kenichiro Mori, Tomio Nosaka, Kayo Doi, Hiroshi Sakaguchi, Makiko Fujii, Katuhiro Takano,  
..... Masato Hayashi, Kenichi Yoshizawa, Kimio Shimamura, Nobuo Sato ..... 43

Estimated Production by the Official Inspection of Tar Colors (Including Aluminum Lakes) in Fiscal Year 2003

..... Sumiko Tsuji, Hiroataka Kinoshita, Mizuki Furukawa, Maki Nakano, Kimihiko Yoshii and  
..... Yasuhide Tonogai ..... 47

Development of the web system for analytical methods of toxic drugs and chemicals

..... Miyako Yamamoto, Kaoru Morikawa, Masahiko Tokunaga, Takashi Yamamoto, Mikio Yashiki,  
..... Akira Namera ..... 51

The recent TDI derivation of the dioxin based on the reproductive and developmental toxicity.

..... Akihiko Hirose and Makoto Ema ..... 56

---

**Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.122, Part 2**

Annual Reports of Divisions .....	63
Researchers List in Fiscal Year 2003 .....	123
Summaries of Papers Published in Other Journals (Original Papers) .....	127
Summaries of Papers Published in Other Journals (Review and Articles) .....	205
Title of Scientific Books .....	226
Scientific Reports to Governmental Agencies .....	229
Titles of Speeches at Scientific Meetings etc .....	234
Meeting Reports Related to Regulatory Science .....	283
NIHS Seminars.....	291
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2003 .....	292
Survey of the Results of Food Tar Colors.....	302
Reference Standards Prepared by the National Institute of Health Sciences .....	305
Author Index.....	313
Subject Index .....	318

## 動物実験代替法のバリデーション方法と行政的受け入れの現状

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  
薬理部 大野泰雄

### Validation and regulatory acceptance of alternative methods for toxicity evaluation.

Yasuo Ohno

Division of Pharmacology, Center for Biological Safety and Research,  
National Institute of Health Sciences

For regulatory acceptance of alternative methods (AMs) to animal toxicity tests, their reproducibility and relevance should be determined by intra- and inter-laboratory validation. Appropriate procedures of the validation and regulatory acceptance of AMs were recommended by OECD in 1996. According to those principles, several *in vitro* methods like skin corrosivity tests and phototoxicity tests were evaluated and accepted by ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods), ICCVAM (The Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods), and OECD. Because of the difficulties in conducting inter-laboratory validation and relatively short period remained until EU's ban of animal experiments for safety evaluation of cosmetics, ECVAM and ICCVAM have recently started cooperation in validation and evaluation of AMs. It is also necessary to establish JaCVAM (Japanese Center for the Validation of AM) to contribute the issue and for the evaluation of new toxicity tests originated in Japan.

#### 1. 序

動物実験代替法(代替法)とは科学研究や教育, 毒性試験, 生産等の目的のための動物を用いる方法を動物を用いない方法に置き換えること(Replacement)であり, 動物使用数の削減(Reduction)や動物使用に伴う苦痛の削減等(Refinement)を含むものである(Russel and Burch 1959)<sup>1)</sup>. 代替法開発はもともと動物愛護の精神に根ざすものであるが, 同時に無駄な動物実験の廃止や多数の新規化学物質の安全性の経済的な評価, 毒性の極めて強い化学物質の毒性を動物実験で調べることに伴う危険の回避, また, ヒトへの外挿のために必要な毒性発現機序に関する情報の確保のためにも有効である.

代替法の研究は欧米では早くから行われており, イギリスでは医学分野における実験動物を他のものに置き換えるための基金(FRAME)が1969年に, 米国では1981年にジョンズホプキンス大学に代替法センターが開設された. 日本では1982年に現在の日本動物実験代替法学会の前身となる研究会が設立された. これらの研究を通じて多くの方法が開発された. 一方, EU議会は動物愛護運動と動物実験に対する反対運動の高まりに対応して, 代替法開発の拠点とし, 代替法バリデーションの調整や代替法についてのデータベースを構築・維持するため, また, 行政, 産業, 生物・医学分野の科学者, 消費者, および動物愛護運動グループの対話を促進することを目的に1991年に代替法バリデーションセンター(European Center for the Validation of Alternative Methods: ECVAM)を設立した(1994年開所). 米国は毒性試験法の開

発, バリデーション, 受入, 及び国内及び国際レベルでのハーモナイゼーションに関する問題を連邦政府内で調整するためにNICEATM (NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods)の下にNIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences)を含む14の行政機関及び研究機関によりICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods)が1993年に設置した. 現在欧米の行政機関においては, 新たに開発された動物実験代替法を科学的に評価し, 可能なものについては取り入れていこうという作業が行われている. また, 内分泌かく乱化学物質検索のような新たな毒性評価の要請やトキシコゲノミクスのような新しい技術も導入されつつある. これらの新試験法を行政試験として, 取り入れるための検討も視野に入れている.

本稿では新しい試験法を取り入れる為に必要なバリデーションと評価体制のあり方について述べるとともに, 動物実験代替法を巡る国際情勢について述べる.

#### 2. 動物実験代替法のバリデーションと代替法を行政的に受け入れるための基準

##### 2-1) バリデーションとは

動物を用いる安全性試験の結果はヒトに外挿できるという前提の基で利用されているが, 常に, 薬物の体内動態や標的臓器の薬物感受性における種差を考慮しなくてはならない. 一方, *in vitro* 安全性試験代替法では, ヒト由来の組織

を用いることにより、ヒト特異的な反応を観察することが可能であるが、in vivoにあった時とは細胞の特性が変化していることが多い。また、適用可能な被験物質や得られる情報の範囲に動物実験以上に多くの限界がある。例えば、培養細胞を用いる試験法の多くは揮発性物質や不溶性物質、また、毒性発現に代謝活性化を要する物質などの評価が苦手である。色素は毒性指標の測定を妨害する事がある。また、in vivo法とは異なり、吸収・分布・排泄の過程が欠如している。これらの特徴を認識せずに利用すると大きな過ちを犯す可能性がある。従って、国レベルで、或いは国際的な方法として、新たな代替試験法を取り入れるためには、適正に行われたバリデーションに基づいて、その妥当性と限界が明確に示

される必要がある。

バリデーションのあり方については、Scala (1987)<sup>2)</sup>、Frazier (1990)<sup>3)</sup>、及びBallら(1999)<sup>4)</sup>により提示されている。また、小野(1994)<sup>5)</sup>及び大野(1997)<sup>6)</sup>により要約されている。バリデーションとは「候補試験法について試験結果の信頼性(reliability)と再現性(reproducibility)とを証明し、それが特定の毒性試験の目的に使用できるだけの確実性(credibility)があることを確認する手順である」とされている。

バリデーションの過程は 1) 施設内バリデーション、2) 多施設バリデーション、3) データベース構築の三段階に分けられる(図1)。

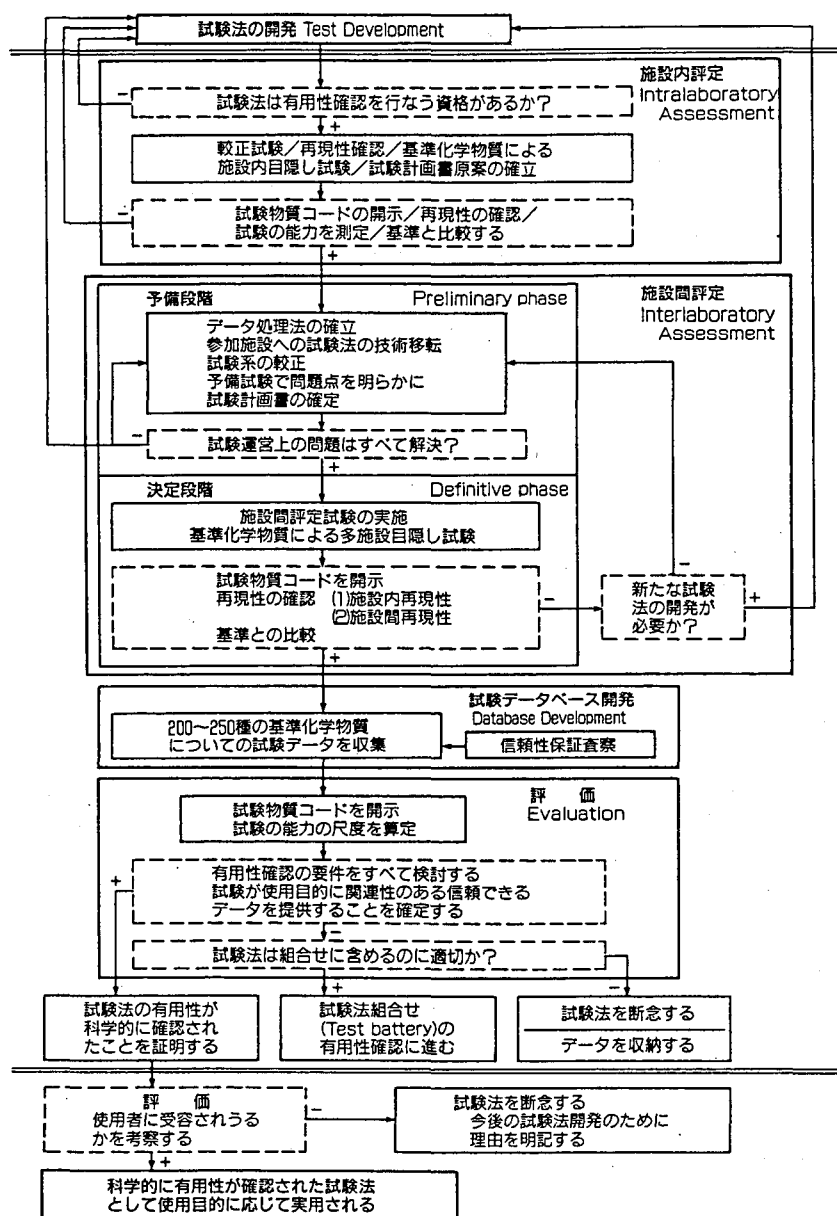


図1: 試験法バリデーションの作業過程 (小野 1994)



施設内バリデーションは、通常、当該試験法を開発した施設で行われるものであり、試験法の特徴を明らかにし、次に行われる多施設バリデーションのためのプロトコール、標準操作法、および結果の判定基準を作成する過程である。多施設バリデーションは同一のプロトコールと標準操作法に従って、複数の施設（3-5施設）で試験を実施した場合の試験法の特徴、つまり感度、特異性、予知能力および施設内・外の再現性を確認する過程である。バリデーションにおいては試験結果の信頼性を高めるために被験物質名とその毒性を明らかにせず、目隠し試験でおこなうとともに、GLP基準に従って実施することが望ましい。

バリデーションに際しては、1) 試験の目的、2) 試験法の選定、3) 被験物質の選定、4) 比較基準とするデータの特定、5) 結果の判定方法とその基準(Prediction Model, Data Interpretation Procedure)が明確に設定されていることが必要である。一方、施設内および多施設バリデーションは必ずしも一回のみで終了するわけではなく、それを繰り返すことにより、プロトコールやSOPの最適化や判定基準の見直しが行われることが多い。原則として、最終段階の多施設バリデーションでは判定基準の妥当性が確認されねばならない。この過程で、検討した被験物質数が増加し、広い範囲の被験物質への適用性を判断するための資料が得られる。

通常、被験物質数は施設内バリデーションにおいては10-20物質、施設間バリデーションでは20-40物質で実施されるが、行政的に利用できるか否かを判定するには不十分とされており、更に文献調査等に基づき200-250物質のデータが必要とされている(Frazier 1992)。

## 2-2) バリデーションの実行

多施設バリデーションは多くの者が参加する複雑な過程であることから、適切な組織を構築し、適正かつ能率良く運営されねばならない。また、多大な時間と経費のかかる過程であることから、施設内バリデーションの結果を詳細に検討・評価し、適切と予想された試験法についてのみ実施されるべきものである。

多施設バリデーションにおいては、参加者間のコミュニケーションを密にし、トラブルを未然に防止あるいは早期に発見し、対策を講じることが、ボランティアで参加している協力者たちの志気の維持と質の高いデータを得るために極めて重要である。

一方、バリデーションに技術的に劣る施設が参加していると、試験法の performance が不当に低く評価される可能性がある。そこで、参加者の技術レベル向上の為に技術移転と予備試験が欠かせない。これはプロトコールやSOPを参加者が正確に理解し、実行しているか、また、それらに不備が無いかを確認するために必須である。実際に多施設バリデーションを行っている、同じプロトコールとSOPを用いているにも関わらず、施設により実験操作に思いがけない差が

あることに驚く事がある。この多施設バリデーションにより、試験施設を評価し、次に行われる多施設バリデーションの参加施設を選択することが適当である。

被験物質は代替しようとしている既存の試験法における作用についての信頼性の高い情報があり、かつ、試験法の performance を適切に示しうる物でなくてはならない。また、品質が均一で化学的に安定なものが望ましい。毒性を段階的に評価する試験においては、それぞれの段階に適切な数の被験物質が配分されなければならない。毒性の有無のみを判定する試験においては、明確に有無を判定できると予想される物質だけでなく、境界領域の物質も適切な数配分されなければならない。また、試験の使用目的に応じて適切な種類の物質群を選択されねばならない。信頼できるデータを得るためには、被験物質は試験実施施設とは別の施設によりコード化され、配布されねばならない。

多施設バリデーションの実行組織の一例を図2に示した<sup>7)</sup>。これは日本化粧品工業連合会とともに化粧品原料の眼刺激性を評価するための9種のドレイズ眼刺激性試験代替法(16プロトコール)を検討した時の組織であり、バリデーション全体を運営する運営委員会とバリデーションの実行組織である実行委員会、被験物質を選択・管理し、コード化して配布する被験物質管理委員会、及び得られた結果と比較するためのin vivo試験を計画・実施するin vivo試験委託担当委員会が組織された。個々の代替法に経験の深い者が試験責任者となり、当該代替法のプロトコールとSOP案を作成するとともに、参加機関に技術指導を行った。また、試験責任者と参加機関の代表はバリデーション実行委員会の一員となって連絡・調整を密にした。

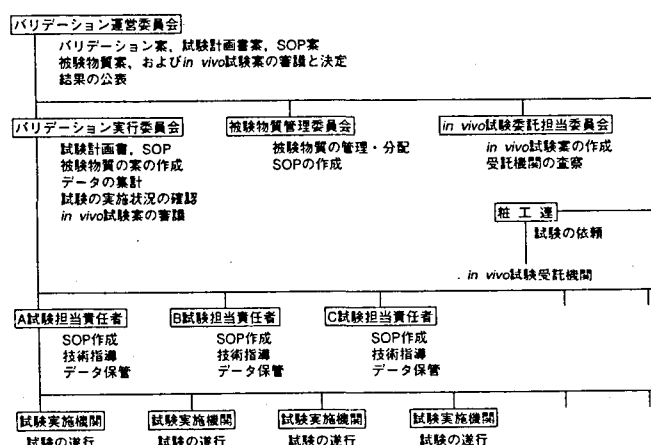


図2：バリデーション組織

## 2-3) 簡便なバリデーション法

新しい試験法が既に承認された代替法と同一の原理に基づくものであり、変更内容がminorな場合においては、少数の被験物質によるバリデーション(catch up validation)により評価することが可能である。



施設毎の担当物質を灰色に塗った。  
被験物質を毒性強度に応じて適切に分類し、それを適切な数と割合で配分することが試験法の妥当性を示すのに必要。

図 3 : ECVAM のバリデーションデザイン (Hartung 2004)

また、2004 年の OECD 会議では ECVAM の Dr Hartung 所長により、図 3 のような簡易バリデーション法が提案された<sup>9)</sup>。これはそれまでのバリデーションの経験に基づいて考えられたものであり、技術力が高く信頼性の高いデータを作成できる少数の施設で実行することが前提とされている。少数の物質と少数の施設により当該試験法の施設間の再現性が検討される。また、適用できる被験物質の範囲を調べるために、数多くの物質を 1 施設ずつで検討する方法である。即ち、再現性を見るためのバリデーションと予知能力を見るバリデーションを分離したものである。なお、施設間再現性を見るための被験物質としては当該試験法での判定が容易な物のみを選ばないようにする必要がある。

2-4) バリデーション結果の判定

代替法の予知能力 (または的中率 predictive value) を判定する基準としては感度 (sensitivity) と特異性 (specificity) が重要である。表 1 に示したように、感度とは毒性物質 (刺激性試験であれば刺激性物質) を陽性とする比率であり、特異性とは毒性の無い物質を陰性とする比率である。陽性予知能力とは陽性結果が得られたものが真に毒性物質である比率であり、陰性予知能力とは陰性結果が得られたものが真に無毒性物質である比率である。

試験法の有用性はその感度、特異性、予知能力、再現性を総合して評価される。一方、この結果はバリデーションに使用された毒性物質の比率 (混合率) により影響される。また、被験物質の選択によっても強く影響される。即ち、当該試験法の得意な範囲の被験物質のみ選べば成績は良くなる。プロトコルや SOP が適切に作成されていなかったり、適切な技術を持たない者が参加すれば、試験結果の再現性は低くなる。

表 1 : 試験法の感度と特異性

試験結果	試験物質		計
	陽性	陰性	
陽性	A	B	A + C
陰性	C	D	C + D
計	A + C	B + D	N

A: 代替法で陽性を示した陽性物質数, B: 代替法で偽陽性を示した陰性物質数, C: 代替法で偽陰性を示した陽性物質数, D: 代替法で陰性を示した陰性物質数。A+C: 試験に供した陽性物質数, B+D: 試験に供した陰性物質数, N=A+B+C+D: 全試験物質数。(A+C) / N: 混合率 (prevalence)。感度 (sensitivity)=A/(A+C), 特異性 (specificity)=D/(B+D), 予知能力 (positive predictive value)=A/(A+B), 陰性予知能力 (negative predictive value)=D/(C+D)。

2-5) 代替法を行政的に受け入れるための基準

現在の毒性試験法を新たな方法に置き換えるためには、新しい方法が現在の方法と比べ少なくとも同等あるいはそれ以上の有用性を持つものであることが、適切なバリデーションで示されなくてはならない。1995 年に開催された ICCVAM 会議の結果<sup>9)</sup>を受け、1996 年に開催された OECD の会議では行政目的のための動物実験代替法が適切と判定されるための基準及びそれを行政的に受け入れるための基準を作成した (表 2 および表 3)<sup>10)</sup>。個々の企業で代替法の受け入れを検討する場合においてもこれらの基準が参考になる。また、2002 年 3 月においてその follow up 会議がストックホルムで開催された。現在、その up to date の作業が進行

している。

表 2：安全性評価のための動物実験代替法の最低基準の要約 (OECD 1996)<sup>10)</sup>

- 1) 試験法の適切性に関する情報がある (科学的な必要性, 行政的目的を含む)
- 2) 測定される指標と in vivo での作用との関係や毒性との関係について記述されている。代謝能のような試験法の限界について記述されている。
- 3) 正式かつ詳細なプロトコルがあり, 一般のものが入手可能である。プロトコルは試験が正確に実施できるように詳細に記述されている。また, データの分析法や意志決定基準が示されている。
- 4) 試験法とその結果は独立した査読された出版物として得られることが望ましい。結果は独立した科学者により査読されることが望ましい。
- 5) 試験施設内外における反復性や再現性が示されている。
- 6) コード化された被験物質を用いて試験法の performance が示されている。
- 7) 既存の毒性試験結果と対応する標的動物種からの情報との関係において試験法の performance が示されている。
- 8) 試験法の妥当性を評価するため全データが査読可能である。
- 9) 理想的にはデータは GLP principle に則って得られたものである。

表 3：安全性評価のための動物実験代替法の行政的受け入れ基準の要約 (OECD 1996)<sup>10)</sup>

- 1) 関心のある毒性指標を十分に predict できるデータが提示されている。また, 新しい方法と既存の方法との間の関係や, 新しい方法と標的動物種との関係について示されている。
- 2) リスクアセスメントの目的のために, 既存の方法と比較し同等以上, 望むらくはそれ以上の価値を有するデータが得られる。
- 3) 行政的に取り扱われる化学物質や製品の代表例についての十分なデータがある。
- 4) 試験法は堅牢なものであり, 移転可能である。高度に特異化された機器や物質, 専門的知識が必要な場合は, 移転性を高める努力がなされている。
- 5) 経済的であり, 使用される可能性が高い。
- 6) 既存の方法と比較し, 科学的, 倫理的, 経済的である。

### 3. 動物実験代替法を巡る国際状況

#### 3-1) EUにおける代替法の検討と受け入れ状況

ECVAMの諮問委員会であるESAC (ECVAM Scientific Advisory Committee)は1997年には3T3 NRU 光毒性試験, 1998年には皮膚腐食性試験としてEPISKIN™とラット Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER 法), 2000年には皮膚感作性のためのLocal Lymph Node Assay (LLNA), EpiDerm™皮膚腐食性試験, CORROSITEX™皮膚腐食性試験, 2002年には胎児毒性のための胚性幹細胞試験, 胎児毒性のための全胚培養試験, 胎児毒性のためのマイクロマス試験を確立された代替試験法として承認した。このESACの結論を受けてEUはこれらの代替試験から得られたデータを化粧品安全性評価に用いることに合意した。EUの化粧品および非食品に関する健康および消費者保護担当機関であるSCCNFP (Scientific Committee for Cosmetic Products, and Non-food Products intended for Consumers)は光毒性試験(3T3 NRU PT法)および皮膚腐食性試験(TER, EPISKIN™, EpiDerm™法)を公的に validation された試験法として認めた。また, 経皮吸収試験(ヒトあるいはブタ皮膚を用いる in vitro Skin Absorption 法)および皮膚感作性試験(LLNA 法)を認めた<sup>11)</sup>(2002.6.4)。なお, LLNA法はモルモットのMaximization法を完全に代替するものではない。一方, フランスは眼刺激試験法としてアガロースゲル拡散細胞毒性試験法とウサギ角膜繊維芽細胞法(NR)を公示した(1999.12.30)。

一方, EUでは1993年の時点で化粧品の安全性評価に関する指令<sup>12)</sup>において, 適切な代替法があればとの前提つきではあるが, 1998年までには実験動物を用いて安全性を評価した化粧品原料および最終製品の販売を禁止することを決めた。しかし, 代替法の開発・バリデーションが充分でなかったことから, その施行を2000年6月30日まで延期した。その後, 2002年6月末まで再度延期された。その再再延長に関する調停会議での合意結果を踏まえ, 化粧品およびその原料の安全性評価に関する化粧品指令第7次改正がEU政府及び議会で認められ, 2003年3月11日付けで公布された<sup>13)</sup>。その内容は①ECVAMやOECDで承認された代替法があるものはすべて即時禁止, ②2009年までに動物を用いる全ての安全性試験を全面的に禁止, 及び動物実験を行った化粧品の販売禁止, 但し, ③薬物動態試験や生殖発生毒性, 反復投与毒性試験などの全身的な作用を検討する試験については2013年まで猶予する, というものである。

この後の動きとして, フランス政府および欧州化粧品原料連合会(European Federation for Cosmetic Ingredients)は, 第7次改正の該当規制が不明瞭で, 加盟国批准の際に実施される自国法規制への取り込みは解釈の異なったものとなり, 通商上の混乱を引き起こすとして, EU議会およびEU理事会を提訴した<sup>14)</sup>。現在, この提訴に対する判決はまだなされていない。また, EU委員会は2004年9月11日までに具体的な試験禁止に向けた活動計画を策定するため, 行政, 学

識経験者、産業界代表、動物愛護団体代表による Stakeholder Meeting を開催している。

また、上記第七改正が成立したことを受け、ECVAMは、今後の重点課題を以下の11項目に整理した<sup>15)</sup>。1) 全身毒性(単回投与毒性、反復投与毒性、神経毒性、肺毒性、腎毒性、肝毒性、免疫毒性、血液毒性)、2) 局所毒性(光毒性、皮膚腐食性、皮膚刺激性、眼刺激性)、3) 感作性(皮膚感作性、吸入感作性)、4) 発ガン性、5) 生殖毒性、6) トキシコキネティクス、7) 環境毒性、8) 科学的な情報サービス、9) 定量的構造活性相関、10) 生物学材料(発熱性物質試験)、11) 戦略開発(in vitro 毒性試験やバリデーションにおける GLP, Good Cell Culture Practice (GCCP)のガイドライン、トキシコゲノミクス)。これらの内、光毒性試験、皮膚腐食性試験、及び経皮吸収試験については OECD レベルでのガイドライン或いはその案が存在する。また、生殖毒性試験としては、胚性幹細胞試験、全胚培養試験、及びマイクロマス試験などを胎児毒性試験代替法として合意している。一方、単回投与毒性試験と皮膚刺激性試験、及び眼刺激性試験についてはバリデーション中、或いはその準備中である。また、in vitro 胎児毒性試験、皮膚刺激性試験、急性毒性試験、免疫毒性試験、トキシコゲノミクスについて ECVAM 主催の Workshop を開催し、検討を進めている。

### 3-2) 米国の状況

ICCVAM は代替法を受け入れるための基準に基づいて、米国内外から提供されたバリデーションデータの Peer Review による代替法評価を行っている。まず、1998年に皮膚腐食性試験法としての Corrositex<sup>®</sup> について資料の Peer Review を行い、本方法が動物愛護の点で問題無いこと、また、全ての化学物質に有用とは言えないが、Department of Transport (DOT) で必要とされる状況においては有用であると評価した<sup>16)</sup>。なお、DOT が適当とする被験物質の範囲と ICCVAM の専門家が適当と評価した物質の範囲との間で若干食い違いがある。本試験で陰性の場合には皮膚刺激性試験により確認の必要があるが、false positive を許容するならば陽性の場合の動物試験は不要とした。同様の peer review により、感作性試験法としての LLNA 法を完全な代替法ではないが、妥当な方法であるとして認知した<sup>17)</sup>。また、皮膚腐食性試験として EpiDerm<sup>™</sup>、および EPISKIN<sup>™</sup> 法の評価が終了している。このように米国では ICCVAM の設立以来、着々と代替法の評価と行政への取り入れを進めている。

一方、ICCVAM は ECVAM と密接な協力関係を結び、お互いが承認した試験法については、簡易の評価促進プロセスを採用している<sup>18)</sup>。また、急性全身毒性を評価するための細胞毒性試験についての共同バリデーションを実施中であり、Phase Ia 試験および Phase Ib 試験結果を踏まえて再現性向上の観点からプロトコルを修正した Phase II 試験が 2003 年 11 月に完了した。現在、最適化されたプロトコルを使用

した試験 Phase III の段階にある。更に、4 種の眼刺激性試験代替法(BCOP 法、HET-CAM 法、ICE (Isolated Chicken Eye Test) 法及び IRE (Isolated Rabbit Eye Test) 法)のプレバリデーションを計画しており<sup>19)</sup>、各国に情報提供を求めている。特に良質な in vivo 試験結果を求めており、我々の行った in vivo 眼刺激性試験結果を提供した。なお、ICCVAM の評価には日本の専門家も協力している。

### 3-3) 最近の OECD の状況

OECD では安全性試験法ガイドラインの策定にあたって、動物福祉の問題を重視しており、安全性試験法専門家会議に International Council on Animal Protection in OECD Programmes (ICAPO) のような動物福祉団体代表の参加を許容している。

動物実験代替法関連のガイドラインとしては、これまでに急性経口投与毒性試験法として、動物使用数の少ない固定用量法(420: Fixed Dose Method, Updated 2001.12.20)、毒性クラス分け法(423: Acute Toxic Class Method, 2001.12.20)及び Up-and-Down 法(425: Up-and-Down Procedure, 2001.12.20)を受け入れるとともに、多数の動物を用いる従来のガイドライン(401)を廃止した(2002.12.20)。また、旧ガイドラインに基づくデータの受け入れ拒否を求めた。また、安全性試験における倫理的な実験法についてのガイドライン案(1998)を作成した。皮膚感作性試験ガイドライン 429 (LLNA 法)が正式にガイドライン化した(2003)。また、光毒性試験ガイドライン 432 (In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test)、皮膚腐食性試験ガイドライン 430 (In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER))、皮膚腐食性試験ガイドライン 431 (In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test, EPISKIN<sup>™</sup>, EpiDerm<sup>™</sup> 法)、経皮吸収試験ガイドライン 428 (Skin Absorption: in vitro Method) が 2002 年 5 月の National Coordinator 会議で合意された。しかし、ガイドラインとしての正式な通知はまだなされていない。

### 2-4) 日本における代替法の受入状況

日本には ECVAM や ICCVAM のような安全性試験評価のための常設組織は存在せず、事例ごとに研究班が組織され、検討されてきた。in vitro の安全性試験法としては、従来より実施されている遺伝毒性試験以外の in vitro 試験法として医療用プラスチック容器抽出物の安全性評価のための細胞毒性試験法や注射用水の微生物性発熱物質評価のための in vitro エンドトキシン試験法(リムラステスト)が承認され、日本薬局方に組み入れられている。また、OECD 加盟国として OECD 承認試験法で得られた結果の受け入れ義務がある。一方、ICH では表 4 に示したような安全性試験法ガイドラインの変更がなされ、我が国のガイドラインにも導入されたが、それらも前記の 3R の原則に合致するものである。

表4：代替法に関連したICH（医薬品の承認申請に必要な試験についての国際的なハーモナイゼーションのための会議）での検討

- 1) 単回投与毒性試験において統計学的に厳密なLD50値を要求しない。非齧歯類では必ずしも死亡するまで用量を上げなくとも良い。  
⇒使用動物数の削減，動物の苦痛の削減
- 2) 反復投与毒性試験において12ヶ月試験を要求しない。  
⇒毒性試験期間の短縮，動物使用数の削減
- 3) 雄性生殖臓器毒性検出系としての詳細な病理観察を供与2週間反復投与毒性試験結果を受け入れる。  
⇒早期の臨床試験 無駄な動物実験の削減
- 4) 発癌性試験における動物種数を1種に削減し，代替法で補足する。  
⇒使用動物数の削減
- 5) 臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミングについて合意  
⇒科学的・倫理的に妥当な医薬品開発の促進  
⇒無駄に終わる動物試験実施の減少

ウサギの眼を用いる化粧品の眼刺激性試験については、適切な方法があればとの留保つきではあるが、代替法を受入れることが厚生省により表明されている<sup>20)</sup>。しかし、どの試験法が適切な方法であるのか不明であった。そこで、我々は日本化粧品工業連合会と協力し、眼刺激性試験代替法のバリデーションを実行し、血清を添加した培養液を用いる細胞毒性試験法など、いくつかの方法が従来のウサギを用いるドレイズ試験結果との対応が良いことを示した<sup>21)</sup>。

また、代替法を用いて化粧品原料の眼刺激性を評価するためのガイドライン案を作成した<sup>22)</sup>。

一方、代替法を国際的な基準に基づいたバリデーションによって評価するには、準備と実施および結果の解析、さらにはガイドラインの作成等に多額の費用と時間、及び労力を要する。そこで我々は「動物実験代替法の使用を促進するための研究」のもとで、日本動物実験代替法学会と協力し、文献やバリデーション結果を客観的・科学的に評価し、試験法の長所や短所、限界などを明らかにし、その妥当性検討プロジェクトを平成13年度より開始した。本研究班は、代替法やバリデーションの専門家から構成され、①代替法に関する情報を収集して一次的な解析・評価を行う評価委員会、②その報告をもとに、より広い視野で評価するための（臨床医師、毒性学者、行政担当者等からなる）評価会議、の二段階で評価するスキームを構築した。今までに、光毒性試験代替法について広く調査し、施設間比較の出来るバリデーション結果の存在する3T3細胞を用いてneutral red (NU)取り込みを指標とする方法(3T3-NRU光毒性試験法)を評価した<sup>23)</sup>。また、難水溶性物質に使用できる可能性の高い光毒性試験法と

して、酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血試験法を組み合わせた試験法バッテリーについて文献の評価を基に多施設バリデーションを実施している。また、放射性同位元素を用いない皮膚感作性試験(LLNA試験法の改良法)の評価を計画している。

### 3-5) その他の国際的状況

第3回国際動物実験代替法会議（イタリア、ポーランド）において、動物実験と代替法についての「ボロニア宣言」が採択された。これはRusselとBurch（1959）が1954年に提案した3Rを再確認するとともに、それを更に促進するためのものである。それを以下に要約した。

- ① 全ての国が全ての研究・試験・教育に3Rの原則を積極的に組み入れるための法的な枠組みを作るべきである。
- ② いずれの動物実験においても、関係する科学者や行政官の全てに教育や訓練を行う公式あるいは非公式の機構が無くてはならない。
- ③ 全ての動物実験は事前に専門家により科学および倫理の両面について、独立した審査を受けなくてはならない。
- ④ 動物実験の結果得られる利益と想定される動物の苦痛の両方を評価し、計ることが審査委員会の重要な機能の一部である。
- ⑤ どのような状況においても許されるべきでない動物の苦痛のレベルについての国際的な合意があるべきである。
- ⑥ より厳しい実験動物に対する規制を避けるために動物実験を他の国に依頼することを受け入れるべきではない。

### 4. 我が国における代替法研究・評価センターの必要性

今まで述べたように、欧米では1990年代の半ばよりEUはECVAM、米国はICCVAMという新規安全性試験法の開発とバリデーション、或いは評価のための専門機関を設置し、検討を進めてきた。しかし、日本においてはECVAMやICCVAMに相当する組織はなく、試験法毎に当該専門家が対応しているのが現状である。また、我が国独自の試験法のバリデーションや評価が遅れている。そこで、in vitro新試験法の開発研究と、それによって得た専門的知見を基礎に新規代替法のバリデーションと評価、及び国際対応を行う日本における代替法研究の中心、JaCVAM (Japanese Center for Validation of Alternative Methods)を設立する必要がある。しかし、欧米並の予算と人員の確保は不可能であり、関連学会や業界との協力体制が望ましい（図4）。これにより、1) JaCVAM主催による国際レベルのバリデーションにより新しい試験法の利点と限界が明確化されることにより、医薬品や化粧品、農薬、その他の化学物質の安全性評価のレベルが向上する、2) 適切に評価された、経済的に有利な方法が利用できることにより、安全性評価がスピードアップされる、3) トキシコゲノミクスやプロテオミクスなどの新しい手法や考えを利用した安全性評価手法を適切に評価するこ

とにより、利用を図ることができる、4) ECVAM や ICCVAM と協力して代替試験法を開発することにより、新しい試験法開発についての国際貢献ができる、更に、5) 動物実験代替法開発に関する我が国の姿勢と貢献を印象づけることができる、と考える。

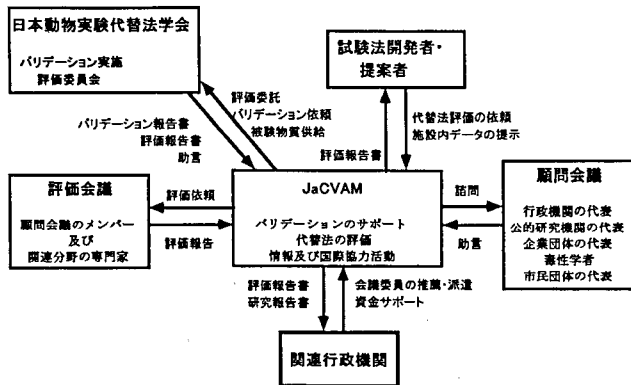


図 4 : JaCVAM 構想案

## 5. まとめ

安全性試験法の改良は科学の進歩とともに継続して進めなくてはならない。欧米では ECVAM や ICCVAM の様に代替法や新しい安全性試験法について専門的に取り扱う組織があり、代替法の研究やバリデーションおよびその支援、および科学的評価を行っている。日本においても同様な組織が作られることが望ましい。

## 6. 参考文献

- Russel W.M.S. and Burtch R.L. (1959) The principles of Human Experimental Technique (Methuen, London).
- Scala R.: Theoretical approaches to validation. In Approaches to validation (ed. A.M. Goldberg), Alternative Methods in Toxicology, 5, 1-10, 1987.
- Frazier J.M.: Scientific criteria for validation of in vitro toxicity tests. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Environmental Monograph, No.36, 1990.
- Balls M., et al: Report and recommendations of the CAAT/ERGATT workshop on the validation of toxicity test procedures. ATLA, 18, 318-338, 1990.
- 小野 宏, 動物実験代替法開発過程における評価試験—特に毒性試験代替法の有用性確認 (バリデーション) について— 大野忠夫編著「動物実験代替法マニュアル」共立出版, 東京 (1994) p123-133.
- 大野泰雄, リスクアセスメントの問題点ととの科学的対応 4. in vitro 研究. 科学物質のリスクアセスメント—現状と問題点—, 厚生省生活衛生局企画課生活科学安全対策室監修, 国立医薬品食品衛生研究所「化学物質のリスクアセスメント」編集委員会編集. 薬業時報社 p 157-184, 1997.
- Ohno, Y., Kaneko, T, Kobayashi, T., Inoue, T., Kuroiwa, Y., Yoshida, T., Momma, J., Hayashi, M., Akiyama, J., Atsumi, T., Chiba, K., Endou, T., Fujii, A., Kakishima, H., Kojima, H., Masamoto, Y., Masuda, M., Matsukawa, K., Ohkoshi, K., Okada, J., Sakamoto, K., Takano, K., Suzuki, T., Takanaka, A.: First phase inter-laboratory validation of in vitro eye irritation tests for cosmetic ingredients: (1) Overview, organization, and results of the validation study. Alternatives to Animal Testing and Experimentation 3, 123-136, 1995.
- Hartung T. & ECVAM Team, New concepts for validation, OECD Workshop on Data Interpretation Procedures (DIP'S), BERLIN 1st-2nd JULY, 2004
- ICCVAM: Validation and regulatory Acceptance of Toxicological Test Methods. A Report of the ad hoc Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods; P105, Research Triangle Park: NIEHS (1997).
- OECD; Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test methods; ENV/MC/CHEM/TG(96)9, 1996.
- SCCNFP/0546/02, final June 4, 2003, Memorandum concerning of the actual status of alternative methods to the use of animals in the safety testing of cosmetic ingredients. 2002.6.4
- EU, Council Directive 93/35/EEC
- Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council, February 27, 2003; Official Journal of the European Union, L66, 11/03/2003, P0026-0035 B
- The Rose Sheet Vol.24 No.34, p.7 (2003)
- Hartung T. et al, ECVAM's response to the changing political environment for alternatives: Consequences of the european Union chemicals and cosmetics policies. ATLA, 31, 473-481 (2003)
- ICCVAM: CorrositexR: An in vitro test method for assessing dermal corrosivity potential of chemicals. The results of an independent peer review evaluation coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program (NTP) in teragency center for the evaluation of alternative toxicological methods (NICEATM). NIH Publication No: 99-4495 (1999).
- ICCVAM: The Murine Local Lymph Node Assay: A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds. The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program

- Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM), National Toxicology Program, NIH Publication No. 99-4494 (1999)
- 18) Federal Register Vol.67, No.147, 31/07/2002, p49706-49707
  - 19) In vitro screening test methods for severe eye irritants (<http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/eyeirrit.htm>)
  - 20) 厚生省「化粧品・医薬部外品製造承認ガイドブック第三版」, 厚生省薬務局審査課監修, 日本公定書協会編集, 薬事日報社 p164 (1996)
  - 21) Ohno, Y. et al: Inter-laboratory validation of the in vitro eye irritation tests for cosmetic ingredients 1) Overview of the validation of the validation study and Draize scores for the evaluation of the tests. *Toxicol. in Vitro*, 13, 73-98 (1999)
  - 22) 大野泰雄, 化粧品の眼刺激性試験代替法に関する調査研究. 平成 9 年度厚生科学研究費報告費
  - 23) Ohno, Y. et al (2004) Balb/c 3T3 細胞を用い Neutral red 取り込みを指標とした光毒性試験代替法の評価結果 AATEX in print.

芳香族 *N*-ニトロソ化合物の NO 遊離能と DNA 切断活性NO-Release Ability and DNA-Damage Activity  
of Aromatic *N*-Nitroso Compounds丹野雅幸<sup>#</sup>・末吉祥子・福原 潔・宮田直樹<sup>\*</sup>・奥田晴宏Masayuki Tanno<sup>#</sup>, Shoko Sueyoshi, Kiyoshi Fukuhara, Naoki Miyata<sup>\*</sup>, Haruhiro Okuda

To develop a new nitric oxide-donor (NO-donor) that is useful for chemical and biochemical research, we synthesized several aromatic *N*-nitroso compounds including 1-[*N*-nitroso-*N*-(4-tolyl)carbamoyl] piperidine-4-carboxylic acid (1f) and phenyl(2-pyridyl)-*N*-nitrosamines, which spontaneously generate NO at ambient temperature. Thermal decomposition of these compounds was run under mild conditions. Gaseous NO released from them was quantified by means of the Griess reaction using a specially designed apparatus in which NO<sub>2</sub> is generated from NO. The structure of products arose from the radical cleavage of N-NO bond was clarified by chemical and spectral studies. Generation of NO from the *N*-nitroso compounds was also confirmed by ESR spectroscopy. The action of these NO-releasing compounds against DNA was examined. When the pBR 322 DNA was treated with 1f at 37 °C for 3 h, the DNA single-strand breaks was 31 % for 1 mM of 1f. The denitrosated compound and sodium nitrite did not show any effective DNA-cleaving activity. On the other hand, aromatic *N*-nitrosamines induced weak DNA-cleaving activity under the same condition.

Keywords: NO-donor, *N*-nitrosoarea, phenylpyridyl-*N*-nitrosamine, DNA-cleaving activity

## 緒言

*N*-ニトロソ化合物の N-NO 結合は酸触媒下ではイオンのように容易に切断されるが、中性条件下では光や高温加熱によりラジカル的に切断されることが知られている。<sup>1)</sup> 我々は最近、Fig.1 に示すような芳香環を持つ *N*-ニトロソ化合物 (1-4) (1e, 3c, 4d を除く) が中性条件下室温でもラジカル的に N-NO 結合の解裂を起こし、一酸化窒素 (NO) を遊離することを見出した。それに対し脂肪族 *N*-ニトロソ化合物 (5, 6) は同一条件下ではラジカル解裂しないことを明らかにした。<sup>2)</sup> さらに、芳香環を持つ *N*-ニトロソ化合物の N-NO 結合が温和な条件下で NO を与えるようにラジカル解裂しやすい原因は、*N*-ニトロソ化合物のコンホメーションに起因することを明らかにした。<sup>3)</sup>

本論文では生物学及び化学的に有用な NO ドナーを開発する目的で水溶性芳香族 *N*-ニトロソ尿素類 (1f) や複素環 *N*-ニトロソアミン類 (4f-k) を合成し、その分解反応を検討すると共に、これらの *N*-ニトロソ化合物の NO 発生能とプラスミド DNA に対する作用を調べた。

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:

Masayuki Tanno; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 223;

E-mail: tanno@nihs.go.jp

<sup>\*</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1 Tanabeteri, Mizuho-ku, Nagoya-shi, Tokyo, 467-0027 Japan

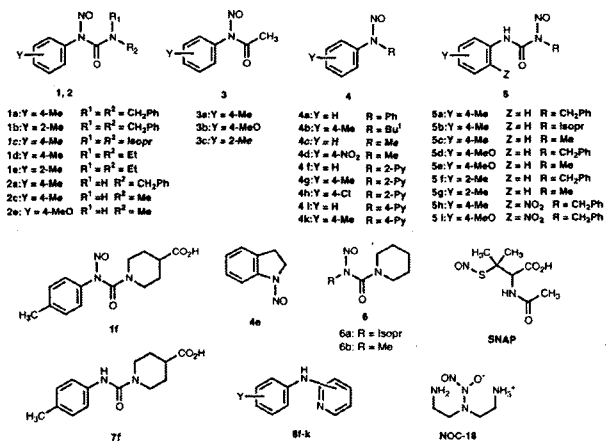


Fig.1 Structure of *N*-nitroso derivatives and related compounds

## 実験方法

## 1. 芳香族尿素 (7f) の合成

クロロホルム (CHCl<sub>3</sub>) (70 ml) とジメチルスルホキシド (DMSO) (10 ml) の混合溶媒にイソニペコチン酸 (2.0 g, 16 mmol) を溶解し、4-トリルイソシアナート (2.4 g, 18 mmol) を徐々に加え、さらに、クロロホルムを加えて溶媒の全量を 90 ml とし、室温で 5 日間攪拌。反応液は黄色透明になる。TLC (シリカゲル薄層板、展開溶媒はクロロホルム) で原料が残っているかどうかを確認。残ってい



ばさらに攪拌を続ける。生じた白色の固体をろ過して採取。得られた白色の固体をクロロホルムに溶解し、不溶物のジトリル尿素をろ過して除き、溶解物をクロロホルムで再結晶して針状晶の7fを得た。融点130-131°C, 収率は27%。スペクトルデータをTable 1に示した。

## 2. 複素環アミン類 (8 f-k) の合成

典型例として化合物(8f)について示す。複素環アミン(8f)の合成: アニリン(2.8 g, 3 mmol)に2-クロロピリジン(3.4 g, 3mmol)を加え, 150°C, 3時間熱した。反応後, 氷水を加え, 炭酸水素ナトリウムでアルカリにする。エーテルで抽出。無水硫酸ナトリウムでエーテル溶媒を乾燥後, ろ過し, エーテル溶媒を減圧濃縮して褐色の固体アミン(8f)を98%の収率で得た。他の複素環アミン類(8g-k)も同様にして得た。NMRスペクトルデータをTable 1に示す。なお, これらの化合物を得る際の抽出溶媒にはジクロロメタンを用いた。

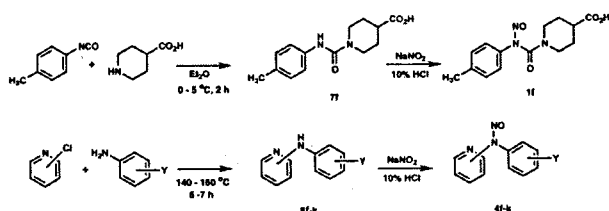


Fig.2 Syntheses of aromatic *N*-nitrosourea (1f) and *N*-nitrosoamines (4f-k)

## 3. NOを遊離する *N*-ニトロソ化合物(1f, 4f-k)の合成

典型例として1-[*N*-ニトロソ-*N*-(4-トリル)カルバモイル]ピペリジン-4-カルボン酸(1f)とフェニル(2-ピリジル)-*N*-ニトロソアミン(4f)について示す(Fig. 2)。化合物1fの合成: 芳香族尿素(7f)(1.02 g, 3.9 mmol)を99%ギ酸5 mlに溶解させ5°C以下で, 激しく攪拌しながら亜硝酸ナトリウム(0.56 g, 8.0 mmol)を約20分間かけて徐々に加えると, 反応液は黄色になった。これを30分間冷却下で反応させた後, 氷片を加えると橙色油状物が生じた。この油状物を冷クロロホルムで抽出し, 氷水で洗浄水が酸性を呈さなくなるまで洗浄した。冷クロロホルム層をシリコン処理ろ紙(silicone-treated filter paper (1 ps phase separators, Whatman Ltd.))でろ過し, ろ液は冷却下で減圧濃縮した。収率は58.6%。冷凍庫に保存。

化合物4fの合成: 複素環アミン(8f)(0.31 g, 2.0 mmol)を20%塩酸(15ml)に溶解した後, 冷却下で水(10 ml)に溶かした亜硝酸ナトリウム(170 mg, 2.5 mmol)溶液を加え, 0°C下で攪拌し, 30分間, 反応させた。冷水を加えた後, 炭酸水素ナトリウムで中和し, 冷時ジクロロメタンで抽出した。冷ジクロロメタン層をシリコン処理ろ紙(silicone-treated filter paper (1 ps phase separators, Whatman Ltd.))でろ過し, ろ液は冷却下で減圧濃縮した。残留物は冷エーテル

で再結晶。他のニトロソアミン類(4g-k)も同様にして得た。NMRスペクトルデータをTable 1に示した。なお, <sup>13</sup>C-NMRは室温で測定したが, 4f-kは速やかに操作することによりデータが得られた。しかし, 1fの場合は測定中に一部分解が認められた。

## 4. 化合物1fと4fの分解反応と分解生成物の別途合成

化合物1fの分解反応: 1f(0.73 g, 2.5 mmol)をクロロホルム(100 ml)に溶かし, 37°Cで3時間放置させた後, 生じたN-NO解裂由来<sup>1)</sup>の各分解生成物(7f, 11f)をカラムクロマトグラフィーで精製した。この時, N-NO解裂由来以外の生成物である副生物トリアゼン<sup>4)</sup>の単離精製は行わなかった。各分解生成物の構造はFig.3に示した経路から別途に合成し, 融点, NMRスペクトルデータから決定した(Table 1)。

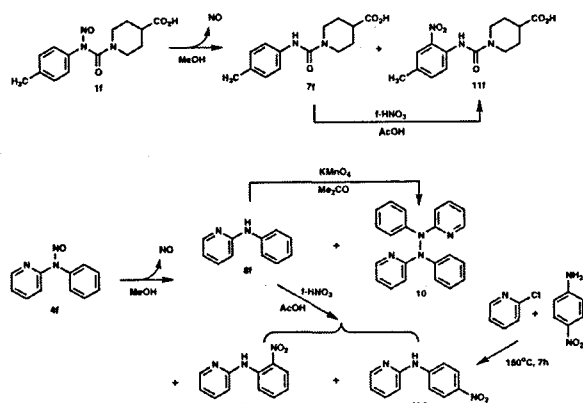


Fig.3 Decomposition of *N*-nitrosourea (1f) and *N*-nitrosamine (4f)

11fの別合成: 尿素7f(0.65 g, 2.4 mmol)を酢酸(10 ml)に溶解し, 攪拌しながら15°C以下に保つように冷却して, 発煙硝酸(0.6 ml)を少量ずつ滴下していくと, 黄色溶液になる。約1時間攪拌し, 反応混合液を氷の中へ少量ずつ注ぎ込むと, 白黄色油状物質が析出してくる。これをクロロホルムで抽出し, 水槽が酸性を示さなくなるまでクロロホルムを水で洗った。このクロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後, 溶媒を留去すると, 黄色の結晶(融点156-157°C)の11fが0.56 g(収率73.9%)得られた。

4fの分解反応: 化合物(4f)(0.80 g, 4.0 mmol)を有機溶媒(メタノール又はクロロホルム)(50 ml)に溶かし, 37°Cで5時間放置させた。この時, 出発原料の*N*-ニトロソ体の分解率は4%であった。発生するNO以外の分解生成物は展開溶媒(*n*-ヘキサン: エーテル: クロロホルム = 5:4:1)を用いてTLC(シリカゲル)を行うと, 9f-1, 4fと10, 8f, 9f-2の順で展開された。これらの分解生成物の構造はFig. 3に示した経路から別途に合成し, 融点及びNMRスペクトルデータから決定した(Table 1)。

8fから9f-1と9f-2の合成: 8f(0.85 g, 5.0 mol)

を酢酸(10ml)に溶解し、攪拌しながら15°C以下に保つように冷却して、発煙硝酸(0.6 ml)を少量ずつ滴下していくと、黄色溶液になる。約1時間攪拌し、反応混合液を氷の中へ少量ずつ注ぎ込むと、油状物質が析出した。これをクロロホルムで抽出し、水槽が酸性を示さなくなるまでクロロホルム層を水で洗った。このクロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去すると、9f-1と9f-2の混合物が得られた。この混合物を少量のクロロホルムに溶かし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。クロロホルムとエーテルの混液(8:2)を展開溶媒とした。最初のフラクションから9f-1(融点66-67°C, 収率3.0%)が得られた。次に9f-2(融点66-67°C, 収率36.0%)が得られた。NMRスペクトルデータをTable 1に示す。さらに、9f-2は2-クロロピリジンと4-ニトロアニリンを反応させても得られた。2-クロロピリジン(2.3 g, 20 mmol)と4-ニトロアニリン(2.7 g, 20 mmol)を混合し、150°C, 7時間攪拌しながら反応させた。反応後、氷水を加え、炭酸水素ナトリウムでアルカリにする。クロロホルムで抽出。無水硫酸ナトリウムでクロロホルム層を乾燥後、ろ過し、クロロホルム溶媒を減圧濃縮して黄色のニトロ体9f-2を79%の収率で得た。

ヒドラジノ誘導体(10)の別途合成<sup>5)</sup>：過マンガン酸カリ(79 mg, 5 mmol)のアセトン(10 ml)溶液に8f(0.26 g, 1.5 mmol)と硫酸ナトリウム(0.5 g)のアセトン(10 ml)溶液を0°Cで加えて、一夜攪拌した。ろ過してアセトンを留

去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。最初のフラクションは原料の8f, 次に化合物(10)を得た(分解点182°C 収率9.0%)。NMRスペクトルデータをTable 1に示した。

### 5. 遊離NOの確認と発生能の測定

一定量のN-ニトロソ化合物が一定温度下で、一定時間内に分解して発生するNO量の測定は、我々が考案した簡易型装置<sup>3)</sup>を用いて行った。N-ニトロソ化合物(1 x 10<sup>-3</sup> mol)を有機溶媒(CHCl<sub>3</sub>)(2 ml)または緩衝液(Krebs buffer: pH 7.4)に溶解し、37°Cで2時間加温した。発生するガスを捕集し、NO<sub>2</sub>に変えて呈色させた。呈色試薬としてグリース試薬(4-アミノベンゼンスルホン酸およびN-ナフチルエチレンジアミンの希酢酸溶液)(2 ml)を使用した。2時間反応後、546 nmにおける吸光度を測定し、亜硝酸ナトリウム標準液を用いて作成した検量線からNO<sub>2</sub>の量を算出した。結果をTable 2に示した。

### 6. ESR装置によるNOの確認

2-(4-カルボキシフェニル)-4,4,5,5-テトラメチルイミダゾリン-1-オキシド 3-オキシドのナトリウム塩(Carboxy-PTIO)およびN-(ジチオカルバモイル)-N-メチル-D-グルカミンのナトリウム塩-二価イオン鉄錯体(MGD-Fe<sup>2+</sup>錯体)をNO検出試薬として使用して日本電子製JES-FA100で電子共鳴スピンESR(x-band ESR)を測定した。MGD-Fe<sup>2+</sup>

Table 1 <sup>13</sup>C-NMR Chemical shift (ppm) of N-nitroso compounds (1, 4) and related compounds <sup>a)</sup>

Compd. No.	Y-Ph-N(X)-Z			Phenyl						Pyridyl (or Piperidyl)					Me	CO
	X	Y	Z	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6		
4f	NO	H	2-Py	135.42	127.89	129.55	129.55	129.55	127.89	155.31	121.72	138.45	113.45	148.52		
8f	H	H	2-Py	140.62	120.49	129.25	122.74	129.55	120.49	156.29	108.08	137.70	114.79	148.27		
4g	NO	4-Me	2-Py	132.67	127.58	130.31	139.70	130.31	127.58	155.43	138.40	137.64	113.39	148.53	21.39	
8g	H	4-Me	2-Py	132.72	121.28	129.81	137.04	129.81	121.28	156.71	137.64	149.92	114.46	148.34	20.82	
4h	NO	4-Cl	2-Py	135.50	129.13	129.83	133.59	129.83	129.13	155.04	121.85	138.56	113.33	148.46		
8h	H	4-Cl	2-Py	139.23	121.32	129.32	129.10	129.32	121.32	155.75	108.54	137.86	115.23	148.25		
4i	NO	H	4-Py	134.47	127.86	130.37	130.53	130.37	127.86	149.83	111.73	149.92	149.92	111.73		
8i	H	H	4-Py	139.60	121.61	129.54	124.09	129.54	121.61	150.72	109.46	150.16	150.16	109.46		
4k	NO	4-Me	4-Py	131.97	127.51	130.89	140.68	130.89	127.51	149.26	111.67	150.55	150.55	111.67	21.32	
8k	H	4-Me	4-Py	134.36	122.46	130.15	136.59	130.15	122.46	151.74	109.08	149.18	149.18	109.08	21.90	
9f-1	H	2-NO <sub>2</sub>	2-Py	129.30	138.97	126.24	119.69 <sup>d)</sup>	135.70	119.59 <sup>d)</sup>	153.61	113.83	138.06	117.86	147.96		
9f-3	H	3-NO <sub>2</sub>	2-Py	142.08	116.40	148.90	116.29	129.73	124.44	154.66	110.06	138.06	113.12	148.12		
9f-2 <sup>b)</sup>	H)	4-NO <sub>2</sub>	2-Py	147.34	116.53	125.19	139.89	125.19	116.53	154.58	112.36	137.53	116.44	147.34		
10				141.78	120.17	128.81	123.66	128.81	120.17	156.16	110.57	138.24	116.99	147.88		
1f <sup>c)</sup>	NO	4-Me	<sup>d)</sup>	132.95	120.47	129.46	137.05	129.46	120.47	43.70	27.49 <sup>e)</sup>	39.98	27.49 <sup>e)</sup>	43.70	20.73	155.58, -
				136.29	125.34	130.28		130.28	125.34						21.09	
7f	H	4-Me	<sup>d)</sup>	130.42	119.92	128.53	137.96	128.53	119.92	43.26	27.89	40.37	27.89	43.26	20.32	155.08, 175.67
11f	H	4-Me-2-NO <sub>2</sub>	<sup>d)</sup>	131.50	135.05	125.32	135.56	137.05	121.53	43.61	27.90	40.85	27.90	43.61	20.37	153.65, 174.05

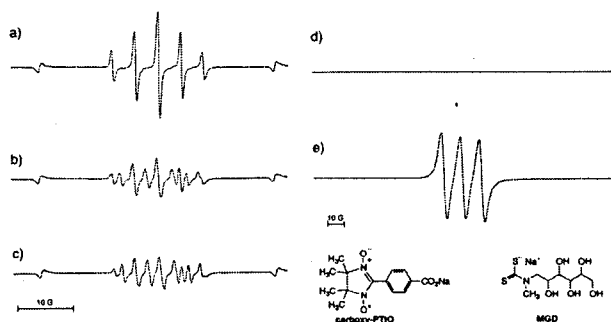
<sup>a)</sup> Measured in CDCl<sub>3</sub> with TMS as an internal standard. Ph=phenyl, Py=pyridyl <sup>b)</sup> Data in DMSO-d<sub>6</sub> <sup>c)</sup> Ph(2-Py)N-NPh(2-Py) <sup>d)</sup> Z=CO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H <sup>e)</sup> Decomposed during the measurement. <sup>f)</sup> Assignments may be reversed. <sup>g)</sup> Coincidences

Table 2 NO-Releasing ability of various *N*-nitroso compounds<sup>a)</sup>

Compd.	Y-Ph-N(NO)-X <sup>b)</sup>		mM
	Y	X	
1a	4-Me	CON(Bn) <sub>2</sub>	4.79
1a	4-Me	CON(Bn) <sub>2</sub>	0.45 <sup>d)</sup>
1f	4-Me	CON(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CO <sub>2</sub> H	2.04
1f	4-Me	CON(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CO <sub>2</sub> H	0.04 <sup>e)</sup>
4a	H	Ph	0.02 <sup>d)</sup>
4f	H	2-Py	0.52 <sup>c)</sup>
4g	4-Me	2-Py	0.46 <sup>c)</sup>
4h	4-Cl	2-Py	0.52 <sup>c)</sup>
4i	H	4-Py	0.52 <sup>c)</sup>
4k	4-Me	4-Py	0.26 <sup>c)</sup>
NOC-18			0.46 <sup>e)</sup>
SNAP			0.55
SNAP			0.50 <sup>d)</sup>

<sup>a)</sup> Concentration of each *N*-nitroso compound and SNAP for thermal decomposition in CHCl<sub>3</sub> was 1-10 x 10<sup>-3</sup> M. Reactions were carried out at 37°C for 2h. Detection as NO<sub>2</sub><sup>-</sup> using the Griess method. The values are amounts of NO<sub>2</sub><sup>-</sup> generated via NO from the 100 mM CHCl<sub>3</sub> solution of the compound. <sup>b)</sup> Bn=benzyl, Ph=phenyl, Py=pyridyl. <sup>c)</sup> Reacted for 4h. <sup>d)</sup> Reacted for 7h. <sup>e)</sup> Reacted in the Krebs buffer (pH 7.4). <sup>f)</sup> Reacted in the mixture of DMSO-Krebs buffer (1:9).

錯体はアルゴン置換した塩化第一鉄 (FeCl<sub>2</sub>) (3mM) と MGD (5mM) の水溶液を測定直前に混合して作成した. Carboxy-PTIO による検出は 5 μM Carboxy-PTIO と 20 μM 化合物のジメチルホルムアミド (DMF) と蒸留水の 1 : 4 溶液を調整して行った. MGD-Fe<sup>2+</sup> 錯体による検出は, MGD-Fe<sup>2+</sup> 錯体と 200 μM 化合物の DMSO と pH 7.2 リン酸緩衝液の

Fig.4 ESR spectra of variable PTIO derivatives MGD with NO produced from *N*-nitrosamine (4f)

a) 5 μM of carboxy-PTIO in H<sub>2</sub>O ; b) 5 μM of carboxy-PTIO and 20 μM of 4f in a mixture of DMF and H<sub>2</sub>O (1:4) ; c) after 20 sec.; d) 5mM of MGD and 3 mM of FeCl<sub>2</sub> in a mixture of DMSO and phosphate buffer, pH 7.2 (1:4) ; e) 200 μM of 4f, 5mM of MGD and 3mM of FeCl<sub>2</sub> in a mixture of DMSO and phosphate buffer, pH 7.2 (1:4)

1 : 4 溶液を調整して行った. 結果を Fig.4 に示した.

## 7. DNA 切断活性

芳香族 *N*-ニトロソ尿素 (1f), *N*-ニトロソアミン (4a, 4f-i) および 1-ヒドロキシ-2-オキソ-3,3-ビス(2-アミノエチル)トリアゼン (NOC-18) について DNA 切断活性を測定した. 化合物を DMF と Tris-HCl-buffer (pH 7.2) の混液 (1 : 4) に溶解し, 調製した pBR 322 プラスミド DNA を加えて 37°C で 3 時間振盪した後, アガロース電気泳動 (70 V, 2 時間) を行った. 泳動帯の量比を画像解析 (NIH-Image) により算出した. 結果を Table 3 および 4 に示した.

Table 3 DNA-Cleaving activity of various *N*-nitroso compounds<sup>a)</sup>

Compd.	mM	DNA Cleavage	
		Form I (%)	Form II (%)
1f	1	67	33
1f	10	31	69
4f	1	96	4
4f	10	93	7
7f	1	97	3
7f	10	95	4
8f	1	98	2
8f	10	95	5
NOC-18	1	69	31
NOC-18	10	60	40
NaNO <sub>2</sub>	1	96	4
NaNO <sub>2</sub>	10	96	4

<sup>a)</sup> Treated for 3 h

Table 4 DNA-Cleaving activity of aromatic *N*-nitrosamines<sup>a)</sup>

Compd.	mM	DNA Cleavage	
		Form I (%)	Form II (%)
4a	10	97	3
4f	10	95	5
4g	10	88	12
4h	10	93	7
4i	10	80	20
NaNO <sub>2</sub>	10	97	3

a) Treated for 3 h

## 結果及び考察

*N*-ニトロソ化合物 (1f, 4f-k) は Fig.2 に示したように合成した. *N*-ニトロソ尿素誘導体 (1f) の場合はアールイソシアナートにイソニペコチン酸を反応させて得た尿素誘導体 (7f) をニトロソ化して合成した. また, 複素環

*N*-ニトロソアニリン類 (4) はアニリン誘導体にハロゲンピリジン類を加熱反応して得たアミン類 (8) を酸性下に亜硝酸ナトリウムでニトロソ化して得た。次に、得られた *N*-ニトロソ体 (1f) を室温下及び種々の条件下で分解させた (Fig.3)。 *N*-ニトロソ尿素 (1f) をクロロホルム中で分解させると、尿素誘導体の分解生成物 (7f, 11f) を生じた。また、ニトロ体 (11f) は別途合成として7fをニトロ化して得られた。これら尿素誘導体の構造はNMRスペクトルデータで確認した (Table 1)。一方、複素環 *N*-ニトロソアニリン (4f) の分解は37°C, 5時間で行った。この時、出発原料の *N*-ニトロソ体の分解率は4%であった。 Fig.3に示したように3種類のアリールアミン類 (8f, 9f-1, 9f-2) とテトラ置換ヒドラジン類 (10) が生成することがわかった。これらの生成物の構造は、また別ルートで合成を行い (Fig.3), それら化合物の構造が間違いないことをスペクトルデータで確認した (Table 1)。なお、 *N*-ニトロソ尿素体 (1f) や複素環 *N*-ニトロソアニリン (4f) が分解の際に相当する2-ニトロ体や4-ニトロ体が生じることは (3-ニトロ体 (9f-3) の生成は認められなかった), 分解過程でNOの生成を示している。<sup>3)</sup> そこで、これらの化合物からの単位時間あたりのNO発生量を調べた。合成した *N*-ニトロソ化合物を有機溶媒に溶かし、また、やや水溶性のある化合物はDMSO-Krebs緩衝液に、水溶性化合物はKrebs緩衝液に溶かし、37°CでNOを発生させた。各種の *N*-ニトロソ化合物 (4f-k, 1f) (Fig.1) のNO発生能 (単位mmolと時間あたりに発生するNOの量) を既知のNOドナーである *S*-ニトロソ-*N*-アセチル-DL-ペニシラミン (SNAP) や水溶性 NOC-18と共にTable 2に示した。また、既にNO発生に関し、報告済みの化合物 (1a, 4a) もこの表に加え、比較検討した。芳香族 *N*-ニトロソ化合物のNO発生能は、三置換尿素誘導体 (1a) が最も大きい、今回合成した1fは1aの約半分のNO発生能を示した。1aは、水に難溶であったが、1fはKrebs緩衝液中NO発生能を調べることが可能になり、その結果NOC-18の1/10であることがわかった。また、ジアリールニトロソアミン (4) については、フェニル基をピリジル基にすることによって発生能が約20倍増加した (Table 2: 報告済み4aと今回合成した4f-iを比較)。なお、脂肪族 *N*-ニトロソ化合物 (5, 6) からのNO発生は室温下では認められていない。<sup>3)</sup> さらに、 *N*-ニトロソ化合物 (1, 4) からNOが遊離していることの確認は、一酸化窒素のテトラフェニルポルフィリン錯体 (NO-TPP-Co(II) 錯体) の単離とCarboxy-PTIOおよびMGD-鉄錯体を用いたESR測定法でも行った。即ち、ニトロソ化合物の添加によりCarboxy-PTIOが2-(4-カルボキシフェニル)-4,4,5,5-テトラメチルイミダゾリン-1-オキシルのナトリウム塩 (Carboxy-PTI) へ変わるのに伴い経時的にESRスペクトルが変化した (Fig.4, a-c)。さらに、塩化第一鉄存在下でMGDと化合物の反応ではMGD-鉄錯体にNOが配位し、MGD-

Fe-NO錯体が生成し、特有のスペクトルを示した (Fig.4, d, e)。

一方、芳香族 *N*-ニトロソ尿素 (1f), *N*-ニトロソアミン (4a, 4f-i), 非ニトロソ体 (7f, 8f) およびNOC-18についてDNA切断活性を測定した。化合物をDMFとTris-HCl-buffer (pH 7.2) の混液 (1:4) に溶解し、調製したpBR 322プラスミドDNAを加えて37°Cで3時間振盪した後、アガロース電気泳動 (70 V, 2時間) を行った。泳動帯の量比を画像解析により算出した。結果をTable 3および4に示した。芳香族ニトロソ化合物, 1fのDNA切断活性をNOC-18と比較すると、NOC-18の一本鎖切断活性 (Form IIの生成) は1 mMで31%, 10 mMで40%であったのに対して、1fは一本鎖切断型 (Form II) が1 mMで33%, 10 mMで69%生成し、より強力な活性を示した (Table 3)。一方、脱ニトロソ体 (7f) や亜硝酸ナトリウム (NaNO<sub>2</sub>) では切断活性を示さず、またNO生成能が低い芳香族ニトロソアミンの活性は非常に弱いことがわかった。この結果は、既に報告した細胞障害作用における活性とニトロソ体のNO生成能が相関する<sup>3)</sup> ことと一致し、1fによるDNA切断反応が化合物より生成したNOまたはNO由来の活性種に起因していることを示唆している。NOC-18のNO生成能は1fより大きいにもかかわらず活性が低いのは、1fに比べて分解速度が速いのでNOC-18から遊離したNOがDNAに化学的に付加反応を起こす前にDNA以外へ物理的に拡散してしまい効率よくDNAに作用しない可能性と芳香環を持つ1fの方がDNAに対する親和性が高いこと等の影響によると推定した。一方、芳香族ニトロソアミンから生ずるNOによる生物作用の報告は無い。ピリジルフェニルニトロソアミン類 (4f-i) は芳香族 *N*-ニトロソ尿素 (1f) と比較すると活性は弱い、その切断反応は有意に進行した (Table 4)。ピリジルフェニルニトロソアミン類 (4f-i) のDNA切断活性はジフェニルニトロソアミン (4a) よりも大きく、NO生成能の傾向とも一致した。したがって、これらの化合物についても芳香族ニトロソ尿素と同様にNOまたはNO由来化合物が活性種である可能性を示している。さらに、4f-kは1fに比べ、分解速度は遅いが、徐放性を持つNOドナーの開発に発展する可能性を示すもので興味深い結果である。

## 文 献

- 1) a) S.S.Singer, W.Lijinsky, and G.M.Singer, *Tetrahedron Lett.*, 1613-1616 (1977); b) S.S.Singer, G.M.Singer, and B.B.Cole, *J.Org.Chem.*, 45, 4931-4935 (1980); c) B.C. Challis and M.R.Osborne, *J.Chem.Soc., Parkin II*, 1973, 1526-1533. d) J.N.Tam, R.W.Yip, and Y.L.Chow, *J.Amer. Chem.Soc.*, 96, 4543-4549 (1974); e) R.H.Smith, Jr., M.B.Kroeger-Koepke, and C.J. Michejda, *J.Org. Chem.*, 47, 2907-2910 (1982); f) P. Welzel, *Chem. Ber.*, 104, 808-821 (1971); g)

- A.J.Buglass, B.C.Challis and M.R.Osborne, *IARC Sci. Publ.*, **9**, 94-100 (1974); h) R.S.Lowe, J.N.S.Tam, K.Hanaya, and Y.L.Chow, *J.Am.Chem.Soc.*, **97**, 215-216 (1975)
- 2) a) S.Sueyoshi and M.Tanno, *Chem.Pharm.Bull.*, **33**, 488-496 (1985); b) M.Tanno and S.Sueyoshi, *ibid.*, **35**, 1360-1371 (1987); c) M.Tanno, S.Sueyoshi, and S.Kamiya, *ibid.*, **38**, 49-54 (1990); d) M.Tanno, S.Sueyoshi, and S.Kamiya, *ibid.*, **38**, 2644-2649 (1990)
- 3) M.Tanno, S.Sueyoshi, N.Miyata, and K.Umehara, *Chem.Pharm.Bull.*, **45**, 595-598 (1997)
- 4) M.Tanno, S.Sueyoshi, N.Miyata, and S.Nakagawa, *Chem.Pharm.Bull.*, **44**, 1849-1852 (1996)
- 5) F.A.Neugebauer and P.H.H.Fischer, *Chem.Ber.*, **98**, 844-850 (1965)

## Growth characteristics of *Cannabis sativa* L. cultivated in a phytotron and in the field

Kayo Yoshimatsu#, Osamu Iida, Takashi Kitazawa, Tsutomu Sekine, Mareshige Kojoma\*<sup>1</sup>, Yukiko Makino\*<sup>2</sup>, Fumiyouki Kiuchi

### Abstract

Growth characteristics of *Cannabis sativa* L. are indispensable factors to verify the statements by the criminals of illegal cannabis cultivation. To investigate growth characteristics of *C. sativa*, two varieties, cannabidiolic acid (CBDA)-rich (CBDA-type) which being cultivated for fiber production and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid (THCA)-rich (THCA-type) which is used for drug abuse, were cultivated from seeds under the same growth environment in a phytotron. THCA-type showed high germination rate (100%) whereas only 39% of the CBDA-type seeds germinated 6 days after sowing. Plant height, number of true leaves, number of nodes, number of axillary buds and flowering of these two varieties were periodically observed. THCA-type grew more rapidly (plant height: 125.8 cm for THCA-type, 84.7 cm for CBDA-type, 75 days after cultivation) demonstrating vigorous axillary bud formation and earlier male-flowering (63 days for THCA-type, 106 days for CBDA-type, after sowing). Propagation of THCA-type was tested using the axillary shoot cuttings of female plants either with or without the main stem. All the cuttings with the main stem rooted after 21 days and grew healthily in a phytotron. However, all the newly developed leaves were single instead of palmate. In the field, THCA-type male-flowered after 155 days of cultivation after sowing on March 31. The height of the field-cultivated plants reached 260.9 cm 163 days after sowing. Despite the great differences in final plant heights, the increases of plant height per day during the vegetative growth stage were similar in the field and in the phytotron. Thus estimating the starting time of illegal cannabis cultivation might be possible if the plant is in the vegetative growth stage.

Keywords: *Cannabis sativa*, Cannabaceae, THCA, CBDA, cuttings

### Introduction

*Cannabis sativa* L. (Family: Cannabaceae), is dioecious and annual. The plant is used in a variety of ways e.g. as furnishing fiber, oil, medicine, and as narcotics<sup>1)</sup>. A class of secondary metabolites unique to this plant is terpenophenolics known as cannabinoids (Fig. 1), which accumulate mainly in the glandular trichomes of the plant<sup>1, 2)</sup>. Among the cannabinoids isolated so far, the most abundant ones are cannabidiol (CBD) and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC), and the latter has strong psychoactive property. In cannabis plants, cannabinoids are synthesized and

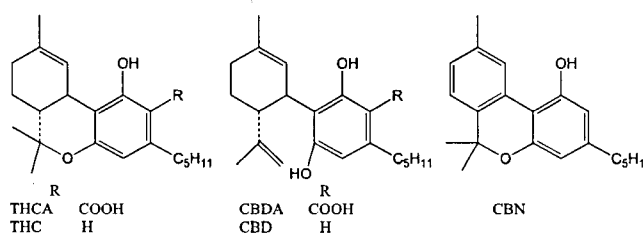


Fig. 1 Cannabinoids in *Cannabis sativa*

accumulated as cannabinoid acids such as cannabidiolic acid (CBDA) and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid (THCA). When the herbal product is dried, stored, or heated, the acids are decarboxylated partly or completely to give their neutral forms (e.g., CBDA into CBD, THCA into THC)<sup>2)</sup>.

It is well known that the cannabis plant shows a number of chemical varieties: two typical ones are CBDA-rich (CBDA-type) and THCA-rich (THCA-type) varieties<sup>3)</sup>. CBDA-type, which predominantly contains CBDA with no or negligible THCA, is an economically important crop for fiber and seeds. A variety legally cultivated in Tochigi prefecture in Japan belongs to this type.

\*1 University Forests, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 457 Kano, Minami-izu, Kamogun, Shizuoka, 415-0304 Japan

\*2 Narcotics Control Department, Kanto-Shin'etsu Regional Bureau of Health and Welfare, 2-4-14, Nakameguro, Meguro-ku, Tokyo, 153-0061 Japan

# To whom correspondence should be addressed:

Kayo Yoshimatsu; 1 Hachimandai, Tsukuba, Ibaraki, 305-0843 Japan; Tel: 029-838-0573; Fax: 029-838-0575; E-mail: yoshimat@nihs.go.jp

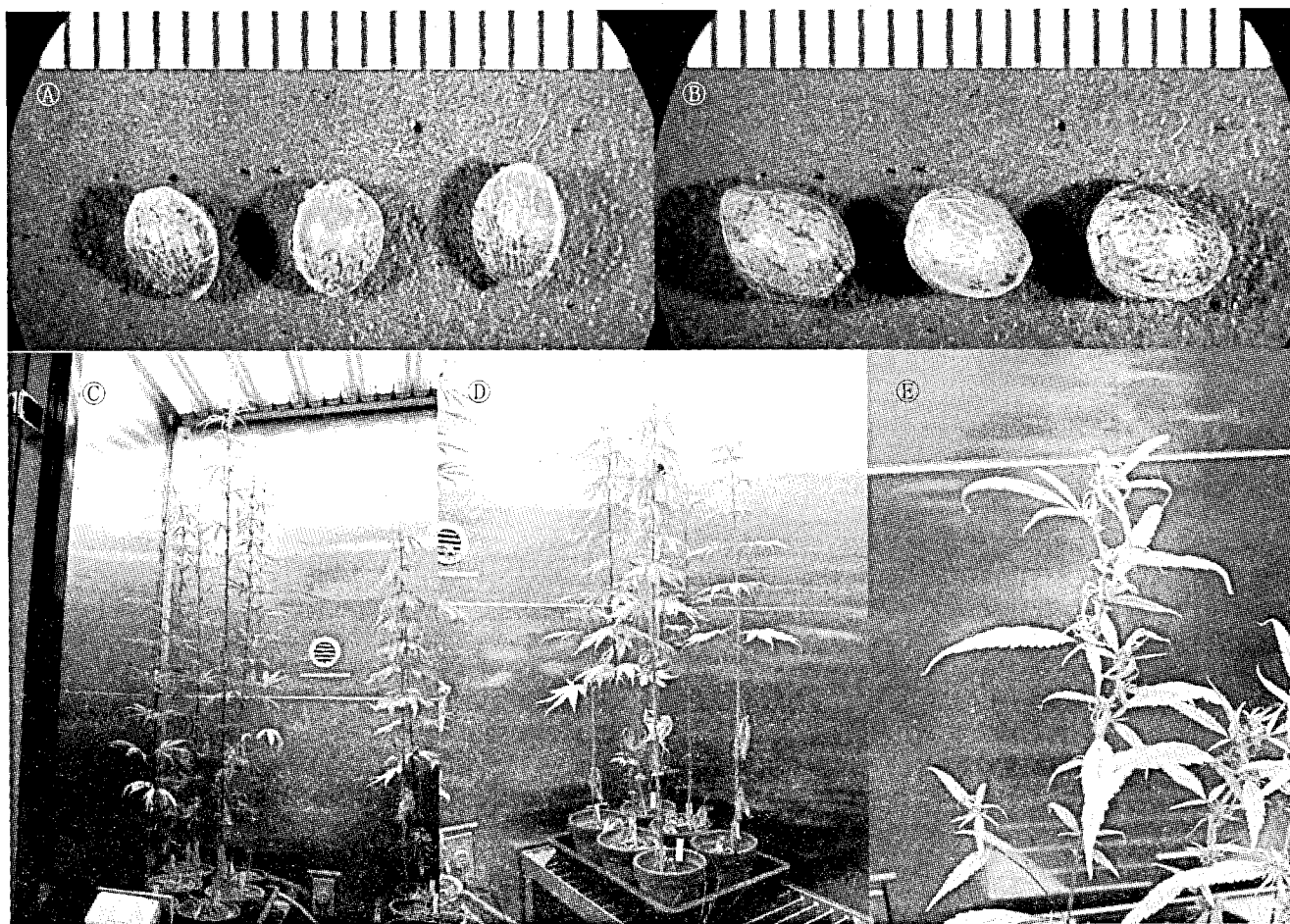


Fig. 2. Photos of cannabis plant

A, seeds of THCA-rich variety; B, seeds of CBDA-rich variety; C, phytotron grown THCA-rich plants; D, phytotron grown CBDA-rich plants; E, a single leaf formed on the THCA-rich plant grown from cutting. A, B: scale shows 1 mm. C, D: 75 days from sowing. E: 94 days from cutting.

THCA-type, which predominantly accumulates THCA, is so-called 'drug type' and cultivated for illegal use. The products of THCA-type are one of the most widely abused illicit drugs in the world and illegal cultivation of the plants poses social problems. In Japan, the plant is illegally cultivated indoor as well as outdoor though the Cannabis Control Act prohibits its cultivation and possession. Criminal investigations of illegal cannabis cultivation require inspection of the growing status. It is significantly important to reveal when the illegal cultivation started and how the plants reached to the present growth status in the investigation. Although many works on identification of cannabis by means of molecular biological techniques<sup>4-10</sup> have so far been published, there were few reports on the growth characteristics of cannabis varieties. In this study, growth characteristics of the two varieties (THCA-type and CBDA-type) are investigated under artificial climate conditions. The growth of THCA-rich variety in the field was also studied.

## Materials and Methods

### Plant material

The Mexican variety (Exp. code #013, THCA-type) and cv. *CBDA* (Exp. code #045, CBDA-type) of *C. sativa*<sup>7)</sup> were used for this study. In a preliminary experiment, they were cultivated in a phytotron and cannabinoids (THCA and CBDA) contents in their leaves were determined as described previously<sup>8)</sup>. Both types were used for the growth investigation in a phytotron. For the field study, the THCA-type was used.

### Cultivation in a phytotron

The seeds were sown in pots (15 cm i.d., soil-leaf mold-Kureha compost=3:1:1, 6 pots for each variety, 3 seeds/pot) and cultivated in a phytotron (24°C/14 hr light, 20°C/10 hr dark, 60% relative humidity). After germination, the seedlings were thinned out at one plant per pot. Liquid fertilizer (HYPONeX® x 500 solution) was given once a week. Germination, plant height, number of true leaves, number of nodes, number of axillary buds and flow-

ering were periodically observed.

### Propagation by cuttings

The axillary shoot cuttings of female plants (*ca.* 10 cm in length) both with or without the main stems were planted in soil (12 cm i.d. pot), and cultivated in a phytotron as mentioned above.

### Field cultivation

The seeds of THCA-type were sown 10 cm apart in a bed (1.3 m x 3.7 m), 60 cm ridge width on March 31, 2003. Plant height, number of nodes and flowering were periodically observed. Maximum length and width of the palmate leaf and leaflet, and number of leaflets were determined on Aug. 8, 2003.

## Results and Discussion

### Comparison of THCA-rich and CBDA-rich varieties

In a preliminary experiment, cannabinoids contents in the leaves were determined. THCA-type contained 3.34-7.51% (average 4.76%) dry weight THCA and 0-0.38% dry weight CBDA, whereas CBDA-type contained 5.08% dry weight CBDA without any detectable THCA. There were differences in color and size of the seeds between the THCA-rich and CBDA-rich varieties (Fig. 2A and B).

The seeds of THCA-type were smaller and darker than those of CBDA-type. There were also differences in germination ability. All the THCA-type seeds germinated in a phytotron while the germination rate of CBDA-type was only 39% (Table 1).

Germination rate of THCA-type was also high in a field (83%).

Table 1. Germination and male-flowering of cannabis plants cultivated under different environmental conditions

Condition	Variety	Sowing date	Days to germination	Germination rate (%)	Days to male flowering
Phytotron	THCA-type	Jan. 29	6	100	63
	CBDA-type	Jan. 29	6	39	106
Field	THCA-type	Mar. 31	11	83	155

Phytotron conditions: 24°C/14 hr light, 20°C/10 hr dark, and 60% relative humidity. The seeds were sown in 2003.

Both varieties grew healthily in the phytotron (Fig. 2C and D). The period to male-flowering in the phytotron was 63 days for THCA-type and 106 days for CBDA-type (Table 1). However, the period to male-flowering was much longer in the field (THCA-type: 155 days). In the field, the daytime length at the time of sowing (Mar. 31, 2003) was 12 hr 32 min and it peaked (14 hr 39 min) during the summer solstice and then it reduced to 12 hr 57 min at the time of male-flowering (Sep. 2, 2003). On the other hand, the light period was constant at 14 hr in the phytotron; that might be one of the reasons for much shorter period to male-flowering in the phytotron.

Growth characteristics such as plant height, number of true leaves, number of nodes and number of axillary buds were compared between THCA-rich and CBDA-rich varieties (Table 2). All the values of the THCA-type were larger than those of the CBDA-type during the observation period. The THCA-type plants grew to an average height of 125.8 cm and bore fruits after 75 days of cultivation. On the other hand, CBDA-type reached 114.7 cm in height and male-flowered after 106 days of cultivation. Final numbers of true leaves (38.0) and nodes (21.0) of CBDA-type were comparable to those of THCA-type (37.7 and 20.8, respectively). However, there was significant difference in axillary bud formation (24.0 for THCA-type and 17.5 for CBDA-type). These growth and germination differences between the two varieties might be attributed to the genetic variation that has been reported previously<sup>6-8, 10</sup>.

### Propagation by cuttings

'Drug type' (THCA-rich variety) plants have been experimentally propagated by cuttings<sup>11</sup>). As female plants are of importance for drug production<sup>11</sup>), the axillary shoot cuttings of female THCA-type were prepared and planted in soil. Rooting rates of the cuttings either with or without the main stem are shown in Table 3. Plant establishment of the cuttings with the main stem was much easier than those without the main stem. The plant heights are presented in Table 4.

After 94 days, the plants derived from cuttings without the main

Table 2. Growth of cannabis plants in a phytotron

Days	Plant height cm		Number of true leaves		Number of nodes		Number of axillary buds	
	THCA <sup>a)</sup>	CBDA <sup>b)</sup>	THCA	CBDA	THCA	CBDA	THCA	CBDA
26	25.8 ± 5.1	22.3 ± 7.3	11.0 ± 1.7	9.3 ± 2.1	7.5 ± 0.8	6.7 ± 1.0	6.3 ± 3.2	1.0 ± 1.7
42	65.7 ± 11.6	52.2 ± 9.0	20.3 ± 2.3	15.3 ± 2.1	12.2 ± 1.2	9.7 ± 1.0	17.0 ± 3.3	3.0 ± 3.0
56	93.8 ± 14.9	69.0 ± 8.3	28.3 ± 3.9	19.7 ± 2.3	16.2 ± 1.9	11.8 ± 1.2	22.7 ± 2.4	7.7 ± 6.1
75	125.8 ± 15.7	84.7 ± 8.6	37.7 ± 4.6	23.7 ± 2.9	20.8 ± 2.3	13.8 ± 1.5	24.0 ± 7.3	7.0 ± 6.0
106		114.7 ± 18.3		38.0 ± 7.9		21.0 ± 3.9		17.5 ± 11.5

<sup>a)</sup> THCA-type, <sup>b)</sup> CBDA-type

The data are shown as mean ± standard deviation (n=6).

Phytotron conditions: 24°C/14 hr light, 20°C/10 hr dark, and 60% relative humidity



Table 3. Rooting (%) of cannabis cuttings

Material	Days of cultivation		
	14	21	64
Axillary shoot without the main stem (n=8)	0	12.5	62.5
Axillary shoot with the main stem (n=4)	50.0	100	100

Cuttings of female plants (*ca.* 10 cm) were planted in soil and cultivated in a phytotron under the same conditions as mentioned above.

Table 4. Plant height (cm) of the female THCA-type plants propagated by cuttings

Material	Days of cultivation	
	64	94
Axillary shoot without the main stem (n=6)	24 ± 23	65 ± 65
Axillary shoot with the main stem (n=4)	33 ± 17	37 ± 16

The data are shown as mean ± standard deviation.

Table 5. Growth of THCA-type cannabis plants in the field

Observation date	May. 5	Jun. 6	Jul. 11	Aug. 7	Sep. 10
Days of cultivation	39	67	102	129	163
Plant height cm	12.8 ± 2.9	80.3 ± 11.3	162.3 ± 18.6	210.7 ± 21.6	260.9 ± 28.2
No. of nodes	4.8 ± 0.6	13.8 ± 0.9	33.4 ± 3.0	48.0 ± 5.4	69.4 ± 9.9

The data are shown as mean ± standard deviation (n=10).

Sowing date: Mar. 31, 2003

Table 6. Comparison of growth rate of THCA-type grown in a phytotron and in the field

Phytotron		Field	
Period (days)	cm/day	Period (days)	cm/day
26-42	2.5	39-67	2.4
42-56	2.0	67-102	2.3
56-75 (flowering)	1.7	102-129	1.8
		129-163 (flowering)	1.5

stem demonstrated higher average plant height though the standard deviation was larger than the plants derived from the cuttings with the main stem. Female flowers were observed in all the plants grown from cuttings from the early growth stage. In addition, the newly developed leaves were alternate and single instead of palmate (Fig. 2E). The plants grown from the cuttings were in reproduction stage; that might be a reason for the alternated single leaves, because most of nutrition might have been consumed for their reproduction. Pollination of the female flowers on vegetatively-propagated THCA-type plants with the pollens of CBDA-type gave seeds as reported previously<sup>2)</sup>.

#### Growth of THCA-type in the field

The THCA-type was cultivated in the field from seeds. Growth parameters of the plants are shown in Table 5. Increase of plant height and number of nodes were most obvious between May and June. Among thirty plants cultivated in the field, 25 plants were female (83.3%). Final plant height on Sep. 10, 2003 was 259.7 ± 20.0 cm for the male plant and 261.4 ± 32.6 cm for the female plant. Despite the great differences in final plant height (average

Table 7. The size of THCA-type cannabis leaves in the field

Parameter	mean ± standard deviation
Maximum palmate leaf length cm	24.2 ± 1.4
Maximum palmate leaf width cm	17.0 ± 1.1
Maximum leaflet length cm	14.1 ± 0.8
Maximum leaflet width cm	2.0 ± 0.3
Number of leaflets	8.3 ± 0.8

The data (n=10) were recorded on Aug. 8, 2003.

260.9 cm in the field and 125.8 cm in the phytotron, Tables 2 and 5) and period to male-flowering (155 days in the field and 63 days in the phytotron, Table 1), the growth rates (the increase of plant height per day) were similar in the field and in the phytotron during the vegetative growth stage (2.4 to 1.8 in the field and 2.5 to 2.0 in the phytotron, Table 6).

These results imply that the growth rate (cm/day) at vegetative growth stage is not influenced by the growth environment and might be constant for a variety. Therefore, estimating the starting time of illegal cannabis cultivation might be possible, if the plant is in its vegetative growth stage and the growth rate of the variety has been well studied. Maximum length and width of palmate leaf and number of leaflets were determined on Aug. 8, 2003 and are shown in Table 7. The palmate leaves expanded much larger and more leaflets (average 8.3) were observed in the field when compared to those in the phytotron.

Differences of growth and germination ability between the two varieties found to be obvious in a phytotron. THCA-type, which is used for drug abuse, was more suited for artificial environment

(indoor cultivation) than CBDA-type with showing higher germination rate, faster growth and more vigorous branching. The growth characteristics revealed in this work may offer important information for investigations of illegal cannabis cultivation.

#### Acknowledgement

Authors are grateful to Ms. Wendy Shu (Singapore Polytechnic) for her critical reading of this manuscript. This work was supported in part by a Health Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

#### References

- 1) Evans, W. C.: "Trease and Evans's Pharmacognosy 13th edition: Indian hemp", ed. by Evans, W.C., Baillière Tindall, pp.743-748 (1989)
- 2) de Meijer, E.P.M., Bagatta, M., Carboni, A., Crucitti, P., Moliterni, V.M.C., Ranalli, P., Mandolino, G.: *Genetics*, 163, 335-346 (2003)
- 3) Rowan, M.G., Fairbairn, J.W.: *J. Pharm. Pharmac.*, 29, 491-494 (1977)
- 4) Linacre, A., Thorpe, J.: *Forensic Sci. Int.*, 91, 71-76 (1998)
- 5) Kojoma, M., Lee, I.-J., Iida, O., Sekita, S., Satake, M., Makino, Y.: *DNA Polymorphism*, 8, 87-90 (2000)
- 6) Kojoma, M., Iida, O., Sekita, S., Satake, M., Makino, Y.: *DNA Polymorphism*, 9, 77-81 (2001)
- 7) Kojoma, M., Yoshida, S., Iida, O., Sekita, S., Satake, M., Makino, Y.: *DNA Polymorphism*, 10, 55-59 (2002)
- 8) Kojoma, M., Iida, O., Makino, Y., Sekita, S., Satake, M.: *Planta Med.*, 68, 60-63 (2002)
- 9) Hsieh, H.-M., Hou, R.-J., Tsai, L.-C., Wei, C.-S., Liu, S.-W., Huang, L.-H., Kuo, Y.-C., Linacre, A., Lee, J. C.-I.: *Forensic Sci. Int.*, 131, 53-58 (2003)
- 10) Gilmore, S., Peakall, R., Robertson, J.: *Forensic Sci. Int.*, 131, 65-74 (2003)
- 11) Duke, J.A.: "*Cannabis sativa* L.", Purdue University, Center for New Crops & Plants Products, 1983, [http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke\\_energy/Cannabis\\_sativa.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Cannabis_sativa.html)

## 繊維製品のホルムアルデヒド加工判別法のバリデーション

五十嵐良明<sup>1\*</sup>, 鹿庭正昭<sup>1</sup>, 岩間雅彦<sup>2</sup>, 山野辺秀夫<sup>3</sup>, 辻 清美<sup>4</sup>,  
長谷川一夫<sup>4</sup>, 中尾朱美<sup>5</sup>, 土屋利江<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 国立医薬品食品衛生研究所, <sup>2</sup> 名古屋市衛生研究所,  
<sup>3</sup> 東京都健康安全研究センター, <sup>4</sup> 神奈川県衛生研究所, <sup>5</sup> 福岡市保健環境研究所

### Validation of a method for discrimination of formaldehyde processing on textile products

Yoshiaki Ikarashi<sup>1\*</sup>, Masa-aki Kaniwa<sup>1</sup>, Masahiko Iwama<sup>2</sup>, Hideo Yamanobe<sup>3</sup>, Kiyomi Tsuji<sup>4</sup>,  
Kazuo Hasegawa<sup>4</sup>, Akemi Nakao<sup>5</sup>, Toshie Tsuchiya<sup>1</sup>

It is important to investigate a cause of formaldehyde contamination exceeding a regulation limit value in a textile product. If formaldehyde was released from a textile product itself by treatment or processing with formaldehyde, an administrative guidance is given to a manufacture. On the other hand, when the formaldehyde migrated from other textile products or a furniture stand during displaying, an improvement instruction is performed to the store. Iwama *et al.* [*Ann. Rep. Nagoya City Public Res. Inst.*, 42, 11–16 (1996)] developed a method for distinguishing fabric processing and migration by additional hydrolytic extraction using hydrochloric acid solution. This study was to confirm the reliability and stability of the method for knowing formaldehyde processing on textiles. Five laboratories evaluated three samples: unprocessed textile, processed textile and unprocessed but formaldehyde-migrated textile. For a processed textile sample, amounts of formaldehyde increased by additional extractions with acidic solution, so all laboratories judged that the sample had been treated with formaldehyde. In the cases of the other two samples, such increases were not observed in the extracts using acidic solution. All laboratories reported that these samples were not processed using formaldehyde but had absorbed a different level of formaldehyde by migration. In a series of experiments, the judgement about the existence of formaldehyde processing or migration is comparatively consistent among all laboratories. This validation study concluded that the distinguishing method adopting additional extractions with acidic solution is useful to find formaldehyde processing of textile, and to deal with processing and migration separately as a cause of formaldehyde contamination.

Keyword: formaldehyde, textile, processing, migration

#### 緒 言

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」<sup>1)</sup>で規定されている物質のうちホルムアルデヒド(HCHO)については、各地方衛研や保健所等で最もよく検査されている。綿などのセルロース繊維製の衣類には防しわ性や防縮性を与えるためHCHOと反応させる樹脂加工が行われるが、温度、湿度及び酸などの影響でこの樹脂が分解してHCHOが遊離する。また、対象とする繊維製品には樹脂加工がされていないにもかかわらず、流通、販売の際に、包装、陳列棚に使用された接着剤及び他繊維製品から遊離したHCHOにより汚染(移染)が起こることがある。加工、移染にかかわらず、行政検査によってHCHOが基準値を超えた場合は違反事例として対処することになるが、指導すべき対象が製造業者で

あるのか、あるいは販売店などにあるかを定めるには、検出されたHCHOがどこから由来するのかを判別する必要である。しかし、現行の抽出法だけでは、検出されたHCHOが樹脂加工によるのか、移染によるのかを区別することはできない。岩間らは、繊維製品の樹脂加工と移染の判別のため、塩酸加水分解による段階的抽出による試験法を開発し、その判別基準を提案している<sup>2-5)</sup>。ここでは、本試験法がHCHO汚染の原因を明らかにし、行政指導を行うべき対象の特定を可能にするのに有用であることを明らかにするため、実際の検体について適用するとともに、いくつかの機関において同一検体を用いたクロスチェックを行った。

#### 実験方法

##### 1. 実施機関

国立医薬品食品衛生研究所, 名古屋市衛生研究所, 東京都健康安全研究センター, 神奈川県衛生研究所, 福岡市保健環境研究所の5試験研究機関(No. 1～5)で実施した。

##### 2. 試薬

\* To whom correspondence should be addressed:  
Yoshiaki Ikarashi; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141, Fax: 03-3707-6950; E-mail: ikarashi@nihs.go.jp

ホルマリン：特級品（HCHO 含量 36.0～38.0%）を用いた。

ホルムアルデヒド標準液：関東化学製，水質試験用ホルムアルデヒド標準原液 1 mg/ml を精製水で希釈して 4 μg/ml の HCHO 溶液を調製し，これをさらに順次希釈して各種濃度の HCHO 溶液を作製した。

アセチルアセトン試液：酢酸アンモニウム 150g を精製水に溶かし，氷酢酸 3 ml 及びアセチルアセトン 2 ml を加えた後，精製水で 1000 ml とした（用時調製）。

0.1% 及び 1% 塩酸：市販塩酸（HCl 含量 35%）を精製水で希釈して 10% 塩酸を調製し，さらに精製水で希釈して，1% 及び 0.1% 塩酸を調製した。

### 3. 試料

神奈川県のスーパースーパーから成人用ワイシャツ（白色，綿 100%）を購入して試験用の繊維製品とした。加工処理されていない，すなわち形態安定または形状記憶加工の記載のないワイシャツを未加工繊維製品とした（サンプル A）。一方，形態安定または形状記憶加工の記載のあるワイシャツを HCHO 加工繊維製品とした（サンプル B）。HCHO が移染した繊維製品は標準品がないため，機関 1 で次のように自作した。ホルマリン 0.5 ml を入れた直径 50 mm のガラスシャーレをデシケータ（中板直径 150 mm，フランジ外径 225 mm）の底部に置き，中板を入れ，この中板の上に同程度の大きさに切った上質紙を 1 枚載せた。次に，デシケータ中に，10 cm 程度の正方形に切った上記の未加工繊維製品を 10 枚程度入れ，ふたをして密閉し，30 分間，室温で静置した。デシケータから繊維製品を取り出し，1 時間以上室温で放置した後，密封できるポリエチレン（PE）製の袋に入れて保存した（サンプル C）。各繊維製品は，お互い移染しないよう，別々に PE 製の袋に入れて，他の 4 機関に配布した。また別に，メーカーからホルムアルデヒド-尿素樹脂加工されていると情報を得た繊維（ポリエステル）についても試験した。

### 4. 装置

紫外可視分光光度計：島津製作所製 UV-160A，島津製作所製 UV-2450，日立製 U-3000，島津製作所製 UVmini 1240 及び島津製作所製 UV-240 をそれぞれの試験機関で使用した。

### 5. 試験

#### 5-1. 試験溶液の調製

公定法<sup>1)</sup>及び岩間らの方法<sup>3,4)</sup> に準じて操作した。繊維製品 1.0 g を 200 ml の共栓フラスコに正確に量り採り，以下のように，順に抽出溶媒を加えて，4 回抽出した。今回のバリデーションは乳幼児用繊維製品の移染を考え，繊維 1 g に対して 40 ml の割合で抽出溶媒を加えた。

1 回目（公定法相当）：フラスコに精製水を加えたのち密栓し，40℃の水浴中で 1 時間抽出した。この液を G2 ガラス

ろ過器を用いて温時ろ過し，試験溶液①とした。ろ過の際に，繊維がフラスコから流出しないように注意し，残っている繊維は 2 回目の抽出に再使用した。

2 回目：繊維の残ったフラスコに 1 回目と同量の精製水を加え，同様の温度と時間抽出し，ろ液を試験溶液②とした。

3 回目：2 回目抽出と同量の割合で，試料に対して 0.1% 塩酸を加えて抽出，ろ過し，試験溶液③とした。

4 回目：先と同様の割合で，試料に 1% 塩酸を加えて抽出してろ過し，試験溶液④とした。

別に，ホルムアルデヒド・尿素樹脂加工されている可能性のある成人用製品については，公定法どおり，1 g に対して水 100 ml で抽出した後，判別法として，上記割合で 2 回目以降の抽出を行った。

#### 5-2. アセチルアセトンとの反応及び吸光度の測定

各試験溶液 5 ml に対し，アセチルアセトン試液 5 ml を加えて振り混ぜ，40℃の水浴中で 30 分間加温し，30 分間放置した後，精製水 5 ml にアセチルアセトン試液 5 ml を加えて同様に操作したものを対照とし，412～415 nm における吸収の極大波長で吸光度 A を測定した。同時に，種々の濃度（0～4 μg/ml）の HCHO 標準液をアセチルアセトン試液と反応させて，同様の波長における吸光度（A<sub>s</sub>）を測定し，HCHO 濃度と吸光度の間で検量線を作成した。別に，試験溶液 5 ml に精製水 5 ml を加えて同様に操作した後，精製水を対照として，吸光度 A<sub>0</sub> を測定した。

#### 5-3. 樹脂加工と移染の判別

各試験溶液について吸光度差（A - A<sub>0</sub>）を求めた。HCHO 標準液で作成した検量線を用いて，この吸光度差から試験溶液中の HCHO 濃度（μg/ml）を求め，繊維製品 1 g 当たりの HCHO 溶出量（μg/g）に換算した。あるいは HCHO 標準液の吸光度差（A<sub>s</sub>）と比較して，下式により繊維製品 1 g 当たりの HCHO 溶出量を求めた。

繊維製品 1 g 当たりの HCHO 溶出量（μg/g） =

$$K \times \frac{A - A_0}{A_s} \times E \times \frac{1}{\text{試料採取量 (g)}}$$

K: HCHO 標準液の濃度（μg/ml）

E: 抽出液の量（ml）

まず，試験溶液①の結果から公定法に違反かどうかを判定した後，各試験溶液②，③及び④から得られたそれぞれの吸光度差の値を用いて移染と加工の有無を判別した。試験溶液③及び④のいずれか高い方の値から試験溶液②の値を差し引き，この値が 0.05 を超える場合に，試験した製品は HCHO を用いた加工がされたと判定した。一方，試験溶液③及び④のいずれとも試験溶液②の値を差し引いたときの値が 0.02 以下の場合，検出された HCHO は製品が加工されたことによるものではなく，他からの移染による可能性があるとした<sup>4,5)</sup>。

## 結果と考察

### 1. 操作法の改良

岩間らは、試験する繊維製品が乳幼児用製品かどうかにかかわらず、1回目の水抽出は繊維1gに対し40mlの精製水で抽出している<sup>3,4)</sup>。これは、乳幼児用製品の場合に移染か加工かを区別する必要性があることから、乳幼児用製品を主とした液比設定をしたものと考えられ、乳幼児用製品以外の製品には言及していない。乳幼児用以外の繊維製品では、高濃度のHCHOの検出が確認された場合、一般にその原因として加工が考えられるが、移染によって生じることもある。公定法においては、乳幼児用以外の繊維製品では1gについて100mlで水抽出することになっているため、その場合、岩間らの方法<sup>3,4)</sup>では違反かどうか試験した後、判別のために別にサンプルを採取し、再度抽出液を調製する必要がある。そこで、公定法で判定した後、そのまま判別操作に連続的に移行できるよう、1回目の抽出については、公定法のとおり材料と液比、すなわち、乳幼児用繊維製品では1gについて40ml、乳幼児用以外の繊維製品では1gについて100mlの精製水で抽出して規制に違反かどうか検査した後、判別が必要な場合は、同フラスコに残存した試料について、繊維1gに対し40mlの割合で次の溶媒を加えて抽出を行うことを提案する。乳幼児用以外の製品での1回目の水量の違いは後の吸光度に影響せず、判別法自体の液比についても岩間らの原法<sup>3,4)</sup>と変更はないため、判定基準は変わらない。これによって、乳幼児用及び乳幼児用以外の製品とも公定法から判別法へと連続的に操作ができ、手間と時間の短縮が図られる。

岩間らの判別法<sup>3,4)</sup>は、抽出液とアセチルアセトン試液とを反応させる際の液量が10mlであること、あるいは吸光度測定の対照液として精製水の代わりに緩衝液を用いることが、公定法の同段階での操作と違っている。しかしながら、反応の際の試験溶液とアセチルアセトン試液の割合は公定法と同じであり、検量線も同様の操作で作るので、得られた吸光度は変化しないはずである。よって、公定法と同様に判別法においても、アセチルアセトン試液と抽出液をそれぞれ5mlずつ反応させることとした。

吸光度測定の対照液として緩衝液を用いることについて、公定法では抽出液に濁りなどが生じた場合に精製水の代わりに用いるとある<sup>1)</sup>。最初から緩衝液を用いて、濁りなどの影響を考えずに試験できる点は良いが、実際にはこうした妨害例は少ない。よって、判別における吸光度の測定においても、公定法と同様に精製水で測定可能の場合はこれを対照とし、必要な場合のみ緩衝液を対照とすることでよいのではないかと思われる。

### 2. 判別基準と違反原因

試験溶液①は、公定法<sup>1)</sup>に沿った精製水での抽出液である。本試験溶液には移染や樹脂の自然分解から生じた

HCHOのように、繊維と結合せずに存在する遊離HCHOが抽出される。試験溶液①について、乳幼児用製品の場合は吸光度差が0.05以下あるいは繊維1g当たりのHCHO含有量が16 $\mu$ g以下、乳幼児用以外の製品の場合は繊維1g当たりのHCHO含有量が75 $\mu$ g以下とするよう規制されている<sup>1,6)</sup>。判別法では、水で再度抽出すること(試験溶液②)によって抽出しきれなかった残存HCHO分を除いた後、濃度の異なる塩酸によって樹脂加工を積極的に加水分解しながら抽出する。繊維製品がHCHOの移染だけであれば、試験溶液③及び④のHCHO値は水抽出のさらに残分となり試験溶液②より低い値となる。一方、HCHOを含む樹脂加工がされていれば、樹脂が塩酸によって加水分解されHCHOが遊離するため、試験溶液③及び④の値は試験溶液②より高くなる<sup>2,4)</sup>。また、樹脂加工によっては塩酸濃度が低いと加水分解が進まない場合もあるため、試験溶液④のように1%塩酸でさらに分解し、その値がさらに高くなるかどうかで判定を確実にした<sup>4)</sup>。

岩間らは多くの市販製品に判別法を適用した経験から、加工と移染の区別についての基準を設けた<sup>3,4)</sup>。乳幼児用製品の場合、塩酸抽出による吸光度差の増加が0.02以下の場合には「加工なし」、0.05を超える場合は「加工あり」と判別するのが適当としている。吸光度差が0.03~0.05になる例は比較的少ないが、その場合、「加工なし」である可能性が高いが、保管実験など種々の状況を勘案して判別することが望ましいとしている<sup>5)</sup>。一般に、加工(樹脂加工のみならず、染料や顔料の固着剤、付属品の接着剤など)が繊維製品に施されている場合は、保管中に樹脂の自然縮合や加水分解が進行して遊離HCHOが増加し、吸光度差の増加が見られるとしている。逆に、「移染」の大部分は、密封保管しても吸光度差がほとんど増加しないとされる。

基準違反の原因について、「加工なし」の製品の場合には「移染である」と断定することができるが、HCHO加工された製品では、加工樹脂の劣化によるHCHOの遊離と、他からの移染が同時に起こっている可能性がある。したがって、「加工あり」で基準違反という場合、その原因は「加工である」ことが多いと思われるが、正確を期すため「基準違反の原因は、加工の可能性が高い」と表現するのが妥当としている<sup>5)</sup>。サンプルBのような形態安定加工ワイシャツの場合、通常はHCHOが遊離しないように特別に固着、洗浄されているので通常は違反とならない。したがって、こうした製品で基準値を超えた場合は、通常は「移染」が原因ということになるが、何らかの事故で加工に用いた遊離HCHOが除去されずに残留したのであれば、違反の原因は「加工」にあるとされる。このように、判別法は加工の有無を知るものであって、移染を断定するものではない。

### 3. バリデーション結果

実際の市販製品でHCHOが移染していたとしても、その

量はそれほど多くないと報告されている<sup>5)</sup>。したがって、樹脂加工と移染との判別が難しいのは、HCHOの規制値が低い乳幼児用製品と考えられる。本研究では成人用のワイシャツを検討用の繊維製品として選んだが、先の理由から、乳幼児用製品と見なして評価した。

まず、機関1で、購入したサンプルA、Bの2つの製品について加工の有無について調べた。形態安定加工の表示がなく、そのような加工はないと売り場でうたわれていたサンプルAを試験した結果、試験溶液①での吸光度差は0.05、溶出量は15 µg/gであり、乳幼児用製品を対象とした規制値に対して違反はない(適合)と判定された。これを引き続き0.1及び1%塩酸で抽出した試験溶液③及び④でも吸光度差は増加しなかったことから、サンプルAは樹脂加工されておらず、検出されたHCHOは他からの移染によると考えられた(Table 1)。サンプルBは形態安定加工と表示されている製品で、試験溶液①については乳幼児用製品の規制値に対して違反なしと判定された。しかし、0.1及び1%塩酸での抽出液は著しく高い吸光度を示し、試験溶液③では吸光度差が0.2をはるかに超えて、溶出HCHO量は100 µg/g程度と換算された。また、試験溶液④にも検量線の範囲を超えるよう

な量のHCHOが溶出した。このことから、サンプルBはHCHOを用いた加工がされていることがわかった。

サンプルCはHCHOの移染がある繊維製品として想定した。今回は移染法の確立は目的としておらず、決まった量を吸着するような条件の検討は行わなかった。デシケータの大きさや放置時間を変化させたり、HCHO発生源としてホルマリン量を変化させたり、あるいはホルマリンの代わりに接着剤等を使った合板を使うといった方法により、移染量を変えることができると思われる。サンプルCにおける試験溶液①の吸光度差は0.2となり、乳幼児用基準を超えると判定した。一方、試験溶液③及び④では吸光度の増加は認められず、試験溶液①で検出されたHCHOは移染による可能性が高いと考えられた。判別試験の結果は、加工表示の有無や移染処置によってそれぞれのサンプルについて期待された結果とよく合致することから、機関1では、本加工判別法は有用であるとした。

次に、それぞれのサンプルを密封できるPE製の袋に別々に入れて、加工の有無など繊維についての情報は明かさず、操作法だけを詳しく書いたマニュアルを同封して、残りの4機関に郵送で配布した。各機関から、試験法に対する

Table 1. Results of discrimination test performed on each laboratory

(a) Laboratory 1		Instrument: Shimadzu UV-160A, Detection wavelength: 413 nm						
Sample	Extraction solvent	No.	Absorbance		Subtracted absorbance		HCHO amount (µg/g textile)	HCHO processing
			A	A <sub>0</sub>	A-A <sub>0</sub>	Increment (-②)		
A	Water	①	0.056	0.004	0.05	-	15	No
	Water	②	0.010	0.001	0.01	-	2	
	0.1% HCl	③	0.009	0.000	0.01	0.00	2	
	1% HCl	④	0.007	0.000	0.01	0.00	1	
B	Water	①	0.034	0.004	0.03	-	8	Yes
	Water	②	0.014	0.002	0.01	-	3	
	0.1% HCl	③	0.464	0.000	0.46	0.45	141	
	1% HCl	④	2.498	0.001	2.50	2.49	765	
C	Water	①	0.201	0.001	0.20	-	61	No
	Water	②	0.030	0.001	0.03	-	8	
	0.1% HCl	③	0.020	0.000	0.02	-0.09	5	
	1% HCl	④	0.013	0.000	0.01	-0.17	3	
(b) Laboratory 2		Instrument: Shimadzu UV-2450, Detection wavelength: 414 nm						
Sample	Extraction solvent	No.	Absorbance		Subtracted absorbance		HCHO amount (µg/g textile)	HCHO processing
			A	A <sub>0</sub>	A-A <sub>0</sub>	Increment (-②)		
A	Water	①	0.058	0.005	0.05	-	15	No
	Water	②	0.010	0.004	0.01	-	3	
	0.1% HCl	③	0.016	0.001	0.02	0.01	6	
	1% HCl	④	0.012	0.001	0.01	0.01	3	
B	Water	①	0.031	0.002	0.03	-	9	Yes
	Water	②	0.014	0.003	0.01	-	3	
	0.1% HCl	③	0.403	0.001	0.40	0.39	120	
	1% HCl	④	2.530	0.001	2.50	2.49	750	
C	Water	①	0.192	0.003	0.19	-	57	No
	Water	②	0.030	0.004	0.03	-	9	
	0.1% HCl	③	0.031	0.001	0.03	0.00	9	
	1% HCl	④	0.022	0.001	0.02	-0.05	6	
(c) Laboratory 3		Instrument: Hitachi U-3000, Detection wavelength: 413 nm						
Sample	Extraction solvent	No.	Absorbance		Subtracted absorbance		HCHO amount (µg/g textile)	HCHO processing
			A	A <sub>0</sub>	A-A <sub>0</sub>	Increment (-②)		
A	Water	①	0.056	0.010	0.05	-	14	No
	Water	②	0.011	0.005	0.01	-	2	
	0.1% HCl	③	0.011	0.002	0.01	0.00	3	
	1% HCl	④	0.006	0.000	0.01	0.00	2	
B	Water	①	0.040	0.009	0.03	-	10	Yes
	Water	②	0.018	0.005	0.01	-	4	
	0.1% HCl	③	0.324	0.002	0.32	0.31	100	
	1% HCl	④	2.147	0.005	2.14	2.13	665	
C	Water	①	0.168	0.010	0.16	-	50	No
	Water	②	0.031	0.004	0.03	-	9	
	0.1% HCl	③	0.024	0.003	0.02	-0.01	6	
	1% HCl	④	0.012	0.001	0.01	-0.02	3	

(d) Laboratory 4		Instrument: Shimadzu UVmini 1240, Detection wavelength: 413 nm						
Sample	Extraction solvent	No.	Absorbance		Subtracted absorbance		HCHO amount (µg/g textile)	HCHO processing
			A	A <sub>0</sub>	A-A <sub>0</sub>	Increment (-②)		
A	Water	①	0.051	0.003	0.05	-	14	No
	Water	②	0.012	0.002	0.01	-	3	
	0.1% HCl	③	0.016	0.000	0.02	0.01	5	
	1% HCl	④	0.011	0.001	0.01	0.00	3	
B	Water	①	0.027	0.002	0.02	-	7	Yes
	Water	②	0.016	0.002	0.01	-	4	
	0.1% HCl	③	0.337	0.001	0.34	0.32	101	
	1% HCl	④	2.397	0.001	2.40	2.38	743	
C	Water	①	0.174	0.003	0.17	-	52	No
	Water	②	0.030	0.002	0.03	-	8	
	0.1% HCl	③	0.032	0.002	0.03	0.00	9	
	1% HCl	④	0.018	0.001	0.02	-0.01	5	
(e) Laboratory 5		Instrument: Shimadzu UV-240, Detection wavelength: 414 nm						
Sample	Extraction solvent	No.	Absorbance		Subtracted absorbance		HCHO amount (µg/g textile)	HCHO processing
			A	A <sub>0</sub>	A-A <sub>0</sub>	Increment (-②)		
A	Water	①	0.061	0.011	0.05	-	14	No
	Water	②	0.019	0.004	0.02	-	3	
	0.1% HCl	③	0.016	0.002	0.01	0.00	3	
	1% HCl	④	0.000	0.001	0.00	-0.02	0	
B	Water	①	0.055	0.020	0.04	-	9	Yes
	Water	②	0.026	0.005	0.02	-	5	
	0.1% HCl	③	0.412	0.002	0.41	0.39	123	
	1% HCl	④	2.858	0.003	2.86	2.83	865	
C	Water	①	0.235	0.019	0.22	-	64	No
	Water	②	0.046	0.005	0.04	-	11	
	0.1% HCl	③	0.029	0.001	0.03	-0.01	7	
	1% HCl	④	0.006	0.002	0.00	-0.04	0	

Sample (1.0 g) was extracted with 40 ml of water for 1 h at 40°C. Five ml of each extraction solution was mixed with 5 ml of acetylacetone reagent, and heated at 40°C for 30 min. After standing for 30 min at room temperature, the absorbance (A) of reaction mixture was recorded at the wavelength of absorption maximum in the region 412 - 415 nm in contrast with the blank that is prepared in the same way from purified water and acetylacetone reagent. Separately, the wavelength (A<sub>0</sub>) of reaction mixture of test solution and water was measured against water, and the value of A-A<sub>0</sub> was derived for each test solution. In addition, the amount (µg/g) released from textile product with extraction with water was obtained in comparison with subtracted absorbance of HCHO standard solution. The textile products was next extracted with hydrochloric acid solution, and the presence of HCHO processing was judged by the increase in absorbance by the hydrochloric acid extraction. When the increased value by the extracting with hydrochloric acid solution was over 0.05, the sample itself contained HCHO-producing factor, such as fabric processing. In contrast, when the increased value was less than 0.02, the amount of HCHO exceeding the standard value detected in the product was expected to be caused by migration (contamination of the product as a result of absorption of HCHO released from nearby other HCHO-containing products).

質問や判別に迷うなどの意見はなかった。公定法では412~415 nmの間で極大吸収が得られる波長を測定波長としているが、参加した機関では413あるいは414 nmのいずれかであった。各サンプルに対する試験回数は機関によって1~3回とまちまちであった。各機関からサンプルごとに平均値を報告してもらい、結果をまとめた。使用する試薬や紫外可視分光光度計のメーカーや測定者の違いはあるものの、それぞれのサンプルについてばらつきが少なく、ほぼ同様の値が得られた (Table 1)。サンプルAの公定法による試験溶液①について5機関の平均値をとると、吸光度差は0.05前後、繊維当たりのHCHO量は約15 μg/gと換算され、いずれの機関も乳幼児用製品の基準値を超えていないと判定した。塩酸抽出での吸光度の増加は試験溶液③の方が試験溶液④よりもわずかに高く、その増加率は0.01以下であったため、いずれの機関とも検出されたHCHOは加工によるものではなく、移染による可能性が高いと判定した。サンプルAは形態安定非加工製品であり、これらの結果はいずれも予想されたものと一致した。

サンプルBの試験溶液①で検出されたHCHO量は、すべての機関で乳幼児用製品の規制値を下回るものであった。この値はサンプルAと比べても低いレベルであり、HCHO遊離が厳しく制限された製品と思われた。判別抽出では塩酸濃度が高い試験溶液の方が吸光度値は大きく、試験溶液③での吸光度差が0.3、試験溶液④では2.5以上となった。いずれの機関ともサンプルBについては形態安定加工の表示どおりHCHOを用いた加工がされていると判定した。

サンプルCについて他の4機関での結果は、機関1と同様の結果が得られた。すなわち、試験溶液①の吸光度差の値は乳幼児用基準に違反する高い値を示し、試験溶液③及び④では吸光度差の増加は0.02以下であった。よって、このサンプルCで検出されたHCHOは加工によるものではなく、移染による可能性が高いと判定した。このことは、サンプルCに対しHCHOの移染処理を施したという事実と良く一致した。

4. 樹脂加工による基準違反製品への適用

機関1において、ホルムアルデヒド-尿素樹脂加工されたと思われる成人用繊維製品について本判別法が適用可能かどうか調べた。公定法に従って、繊維1gを水100mlで抽出した溶液では、繊維1g当たりのHCHO量が279 μg/gとなり、乳幼児用以外の繊維製品における基準値を超えていることがわかった (Table 2)。本製品は、入手当時、水抽

出液ではHCHO 931 μg/gと定量されており、今回の水抽出液の値はこれに比べると少ない。この原因として、本繊維は長期間密閉されることなく保管されており、その間に樹脂の加水分解が進み、遊離HCHOが多量に大気中に放散してしまったためと思われる。試験溶液③及び④における吸光度差は0.05をはるかに超え、数千μg/gという多量のHCHOの溶出を検出した。このことは、製品中に塩酸によってHCHOを遊離するようなものがあることを示唆する。すなわち、試験した繊維製品にはHCHOを用いた樹脂加工がされており、その分解によって遊離したHCHOが規制値を超えるまでの汚染量になったことがわかった。よって、本製品の基準違反の原因はHCHO加工と判別でき、メーカーからの樹脂加工との情報と一致した。

以上のように、それぞれのサンプルを用いた判別結果はいずれの機関でも一致しており、本試験法は繊維製品のHCHO加工の有無を区別できる判別法として確かなものであると結論し、これを用いて違反事例に対して適切な指導をとることが可能になるとと思われる。

文 献

- 1) Law for the Control of Household Products Containing Harmful Substances (1974)
- 2) Iwama, M., Nakajima, S., Aoyama, T., Tsuyama, A.: *Ann. Rep. Nagoya City Public Res. Inst.*, **37**, 66-69 (1991)
- 3) Iwama, M., Nakajima, S., Aoyama, T., Ohno, H., Suzuki, M., Tsuyama, A.: *Ann. Rep. Nagoya City Public Res. Inst.*, **37**, 70-74 (1991)
- 4) Iwama, M., Nakajima, S., Aoyama, T., Ohno, H., Suzuki, M., Yamamoto, K.: *Ann. Rep. Nagoya City Public Res. Inst.*, **42**, 11-16 (1996)
- 5) Iwama, M., Nakajima, S., Aoyama, T., Ohno, H., Suzuki, M., Yamamoto, K.: *Ann. Rep. Nagoya City Public Res. Inst.*, **49**, 1-6 (2003)
- 6) Ikarashi, Y., Kaniwa, M., Tsuchiya, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **121**, 016-024 (2003)

Table 2. Absorbance of extracts obtained from formaldehyde (HCHO)-urea resin-processed textile product

Extraction Solvent	No.	Dilution	Absorbance at 413 nm		Subtracted absorbance A-A <sub>0</sub> Increment (-②)	HCHO amount (μg/g textile)	HCHO Processing
			A	A <sub>0</sub>			
Water	①	-	0.367	0.001	0.37	279	
Water	②	-	0.247	0.002	0.25	74	
0.1% HCl	③	×10	1.564	0.002	1.56	4780	Yes
1% HCl	④	×10	1.128	0.001	1.13	3447	

## 化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究：エストリオール

徳永裕司\*, 竹内織恵, 内野 正, 安藤正典

## Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Such As Estriol in Cosmetics

Hiroshi Tokunaga\*, Oriie Takeuchi, Tadashi Uchino and Masanori Ando

Estriol (EO) is nominated as the prohibited ingredients in cosmetics in Japanese Pharmaceutical Affairs Act. So the analytical method using HPLC for EO was investigated. After placing 1.0 ml of EO solution at 50  $\mu\text{g/ml}$  and 0.5 g of the lotion into a 10-ml volumetric flask, the methanol was added to make until that volume and this solution was used as the testing solution. Milky lotion was procedured as follows: After placing 1.0 ml of EO solution at 50  $\mu\text{g/ml}$  and 0.5 g of the milky lotion into a 10-ml volumetric flask, the methanol was added to make until that volume. The suspending mixture was moved to a centrifuging tube with a cap. After centrifuging at 3000 rpm for 5 minutes, the supernatant was used as the testing solution. The testing solution of 20  $\mu\text{l}$  was determined by HPLC using the ODS column (CAPCELL PAK  $\text{C}_{18}$  column, 4.6 x 250 mm), the mixture of water and acetonitrile (31:9) and the detection wavelength of 285 nm. The working curve from 1.0 to 6.0  $\mu\text{g/ml}$  showed a linear line between the concentrations of EO and the peak area. There was no interference of peak of EO from the lotion and milky lotion.

Key Words: estriol, estrogens, Japanese Pharmaceutical Affairs Act, cosmetics

## 1. 緒言

平成13年4月1日より、化粧品の承認・許可に当たっての規制緩和が行われ、化粧品に使用される成分のポジティブリスト、ネガティブリストの採用および製品に用いられた全成分の表示が義務付けられた。化粧品基準第4条の別表2<sup>1)</sup>には、化粧品に使用することが制限されている卵胞ホルモン作用を持つ成分、エストラジオール、エストロン又はエチニルエストラジオールが頭部、粘膜部又は口腔内に使用される化粧品の場合、それらの合計量として20000国際単位までの使用が認められている。しかし、卵胞ホルモン作用を持つエストリオール (EO) は医薬品としてのみ使用が認められており、化粧品基準<sup>1)</sup>により、化粧品への使用が禁止されている。EOは1mgの錠剤あるいは10mgの注射液として、更年期障害、膣炎、老人性骨粗しょう症の治療薬として用いられている。

EOの分析法としては、環境水中の環境ホルモンの固相抽出法および蛍光検出器を用いた液体クロマトグラフ法<sup>2)</sup>、紫外部および電気検出器を用いたEOおよびestriol 3-sulfateのcolumn-switching セミマイクロ液体クロマトグラフ法<sup>3)</sup>、医療用シリコンゴムの皮下埋め込み用具に封入された卵胞ホルモンの体内への透過量の液体クロマトグラフ法<sup>4)</sup>など

が報告されている。

今回、著者らは、化粧品に使用することが禁止されている成分、EOの分析法としてCAPCELL PAK  $\text{C}_{18}$  カラムを用いた液体クロマトグラフ法を検討し、市販化粧水および乳液中のEOの測定に応用したので報告する。

## 2. 実験

## 2.1 装置

液体クロマトグラフ(HPLC)装置は、島津製LC-10A型ポンプ、島津製CTO-10A型カラムオープン、島津製SPD-6AV型紫外可視検出器、島津製L-10A型オートサンプラーおよび島津製C-R6A型クロマトパックを連結して用いた。EOの吸収スペクトルの測定には、島津製UV-260型紫外可視分光光度計を用いた。

## 2.2 試薬および試液

EOおよびメチルパラベン(MP)は和光純薬製のものを用いた。その他の試薬は試薬特級品を用いた。液体クロマトグラフ用カラムは資生堂製のCAPCELL PAK  $\text{C}_{18}$  (粒径5  $\mu\text{m}$ , 内径4.6 mm, 長さ25 cm)を購入した。化粧品は市販の化粧水2種類および乳液2種類を用いた。

EO原液: EO約25 mgを精密に量り、メタノールを加えて正確に100 mLとする。(0.25  $\mu\text{g/mL}$ )

EO溶液: EO原液の10 mLを正確に量り、50 mLのメスフラスコに入れる。メタノールにて50 mLとする。(50  $\mu\text{g/mL}$ )

\* To whom correspondence should be addressed: Hiroshi Tokunaga; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501 Japan; Tel. 03-3700-1141; Fax; 03-3700-9291; E-mail: tokunaga@nihs.go.jp



MP原液：MP約25 mgを精密に量り，メタノールを加えて正確に100 mLとする。(0.25 mg/mL)

MP溶液：MP原液の一定量を正確に量り，メタノールで希釈し，1 mL当たりMP10  $\mu$ gを含む溶液を調製する。

### 2.3 定量法

化粧水の場合：化粧水約0.5 gを精密に量り，10 mLのメスフラスコに入れ，EO溶液1.0 mLを加え，メタノールにて10 mLとし，試料溶液とした。別に，EO約0.025 gを精密に量り，メタノールを加えて溶かし，正確に100 mLとした。この液5 mLを正確に量り，メタノールにて正確に50 mLとした。この液10 mLを，正確に量り，メタノールにて正確に50 mLとし，標準溶液とした。試料溶液および標準溶液20  $\mu$ Lにつき，次の条件で液体クロマトグラフ法を行い，EOのピーク面積 $A_T$ 及び $A_S$ を求めた。

EOの量(mg) = EOの秤取量(mg)  $\times$   $A_T/A_S \times 1/5000$

操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：285 nm）

カラム：内径4.6 mm，長さ25 cmのステンレス管に5  $\mu$ mの液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シランを充填する。

カラム温度：35°C付近の一定温度

移動相：水/アセトニトリル混液（31：9）

流量：EOの保持時間が約15分になるように調整する。

乳液の場合：乳液約0.5 gを精密に量り，10 mLのメスフラスコに入れ，EO溶液1.0 mLを加え，メタノールにて10 mLとする。この液を共栓遠心分離管に入れ，3000 rpmで5分間遠心分離を行う。得られた上清を試料溶液とする。以下，化粧水の操作法を準用する。

## 3. 結果および考察

### 3.1 紫外外部吸収スペクトル

化粧品には，防腐剤としてパラベン類が多用されており，MPとの分離・分析を考える必要がある。そこで，10  $\mu$ g/mLのMPあるいはEOのメタノール溶液を調製し，紫外外部吸収スペクトルを測定し，Fig.1に示した。

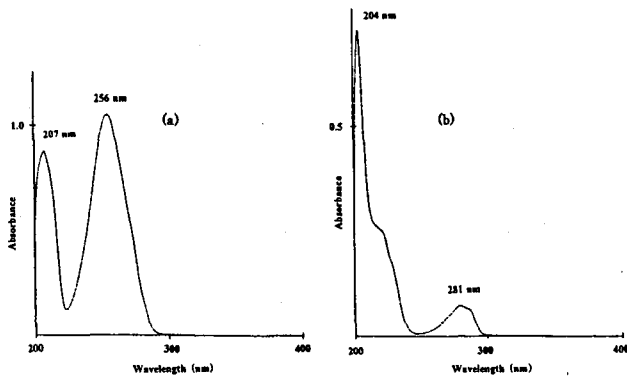


Fig.1 UV spectra for methylparaben (a) and estriol (b) at 10  $\mu$ g/mL

Fig.1から分かるようにMPは207及び256 nmに吸収極大波長を，EOは，204及び281 nmに吸収極大波長を持つことが分かった。HPLC装置の検出波長を，281 nm，285 nm，290 nm及び295 nmと変えたとき，285 nmでのEOのピーク面積を100%とした時，それぞれのピーク面積(%)は112.5%，100.0%，59.3%及び16.6%であった。また，MPのピーク面積は，それぞれ，238.4%，100.0%，38.8%及び15.1%であった。厚生省告示第331号の化粧品基準によるパラベン類の配合上限は1.0%<sup>1)</sup>であることから考え，MPの影響が大きく減少する285 nmを用いることにした。

### 3.2 アセトニトリルの影響

カラムとして，液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シランを充填したものをを用い，移動相の検討を行った。移動相としては，水/アセトニトリル混液の(4：1)～(11：9)を用いて検討した。なお，試験溶液としては，1 mL当たり10  $\mu$ gのEO及びMPを含むメタノール溶液を調製し，その20  $\mu$ Lを用いて検討した。EO及びMPの保持時間( $t_R$ )の変化をFig.2に示した。

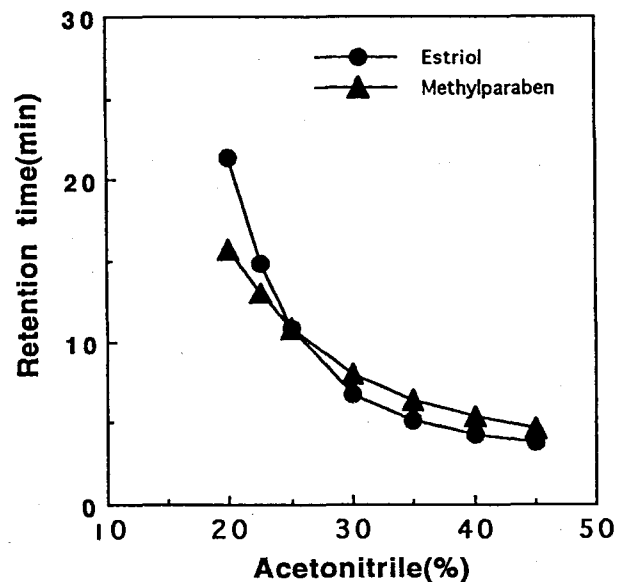


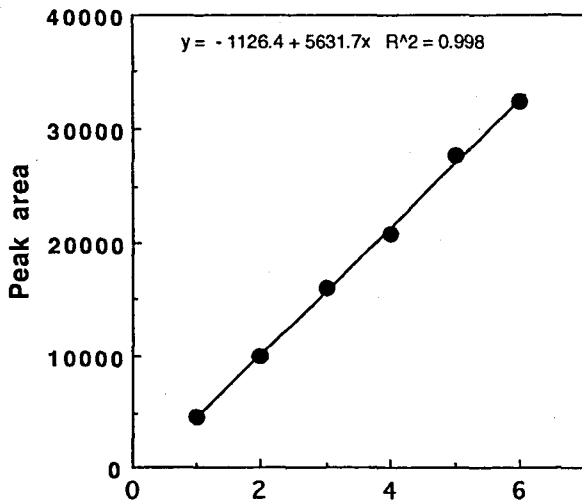
Fig.2 Effect of acetonitrile on retention time of estriol and methylparaben

アセトニトリル濃度が20～45%と上昇するに従い，EOおよびMPの $t_R$ は，それぞれ，21.9～3.8分及び15.8～4.7分と減少した。このことより，両者の分離が良好な水/アセトニトリル混液(7：3)を用いることを考えた。しかし，その時のEO及びMPの $t_R$ は，それぞれ，6.8分及び8.0分であった。実際の化粧品には，種々の防腐剤が使われており，液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シランを充填したカラムを用いた場合，MPの保持時間の少し前にフェノ

キシエタノールのピークが出現することが報告されている。<sup>5)</sup>そこで、フェノキシエタノール及びMPが共に防腐剤として使われている場合を想定して、別の移動相の条件、水/アセトニトリル混液(31:9)を実際の測定の移動相として考えることにした。水/アセトニトリル混液(31:9)を用いた時のEO及びMPの $t_R$ は、それぞれ、14.9分及び13.0分であった。

### 3.3 EOの検量線

エストリオール原液の一定量を正確に量り、メタノールで希釈し、1 mL当たりエストリオール1.0~6.0  $\mu\text{g}$ を含有する溶液を調製した。それら溶液の20  $\mu\text{L}$ を用いて検量線の



作成を行い、Fig.3に示した。

Fig.3 Working curve for estriol

Fig.3から分かるように、EO濃度とピーク面積の間には良好な直線関係が成立した。

EO1.0  $\mu\text{g/mL}$ 及び5.0  $\mu\text{g/mL}$ を含む溶液20  $\mu\text{L}$ を用い、6回の繰り返し注入を行い、ピーク面積の再現性の検討を行った。EO1.0  $\mu\text{g/mL}$ 及び5.0  $\mu\text{g/mL}$ から得られた平均値(相対標準偏差)は、それぞれ、4490 (12.5%)及び27288 (0.96%)であった。

### 3.6 化粧品への応用

化粧水B約0.5 gを精密に量り、10 mLのメスフラスコに入れ、EO溶液1.0 mLを加え、メタノールにて10 mLとし、試料溶液とした。同様に、乳液C約0.5 gを精密に量り、10 mLのメスフラスコに入れ、EO溶液1.0 mLを加え、メタノールにて10 mLとした。この液を共栓遠心分離管に入れ、3000 rpmで5分間遠心分離した後、上清を試料溶液とした。この液20  $\mu\text{L}$ を用いてHPLC測定を行った。その結果をFig.4に示した。

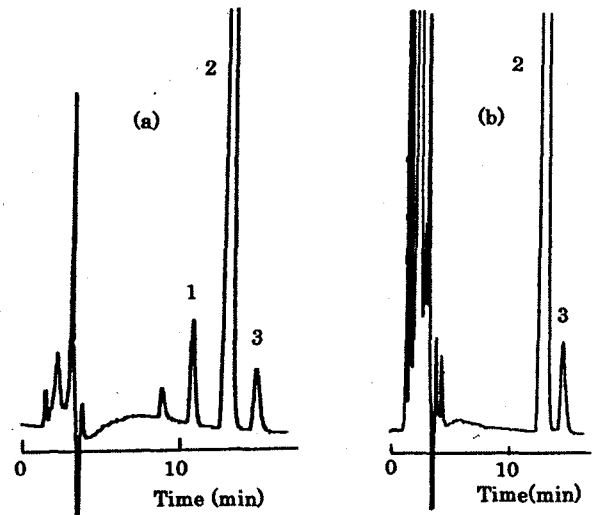


Fig.4 HPLC Chromatograms of Lotion B(a) and Milky Lotion D(b) 1: phenoxyethanol, 2: MP, 3: EO

Fig.4aから分かるように、化粧水Bには、フェノキシエタノールおよびMPが添加されていることが分かった。また、Fig.4bから分かるように、乳液C中には、MPが防腐剤として添加されていることが分かった。化粧水A及び乳液Dのクロマトグラムは示さなかったが、共にそれらに含有されている賦形剤はEOの分析に影響を与えなかった。

化粧水AおよびB並びに乳液CおよびDにEOの5.0  $\mu\text{g/mL}$ を添加した時の測定結果をTable 1に示した。Table 1から分かるように、化粧水AおよびBあるいは乳液CおよびDに0.01%相当量のEOを添加した時のEOの回収率は、それぞれ、102.1%、101.5%、106.3%及び100.5%であり、今回確立した液体クロマトグラフ法により十分に分離確認し、定量出来ることが明らかになった。

Table 1 Recoveries(%) of estriol from cosmetics

	Lotion A	Lotion B	Milky lotion C	Milky lotion D
No. 1	102.7	102.5	106.3	100.0
No. 2	103.3	103.0	106.0	101.2
No. 3	100.2	99.1	106.5	100.2
average	102.1	101.5	106.3	100.5
RSD(%)	1.61	2.09	0.24	0.64

## 文献

- 1) Notification No.331 dated on September 29, 2000
- 2) Ying Y.Y, Kookana R.S.: J. Environ. Sci. Health B., 37, 225-234(2002)
- 3) Tagawa N., Tsuruta H., Fujinami A., Kobayashi Y.: J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl., 19, 39-45(1999)
- 4) Gatti R., Gioia M.D., Di Pietra A.M., Cavrini V.: J. Pharm. Biomed. Anal., 18, 187-192(1998)
- 5) Tokunaga H., Takeuchi O., Ko R., Uchino T., Ando M.: *Eiken Zasshi*, 121, 25-29(2003)

## 化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究：塩酸テトラカイン

徳永裕司\*, 竹内織恵, 内野 正, 安藤正典

## Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Such As Tetracaine Hydrochloride in Cosmetics

Hiroshi Tokunaga\*, Oriie Takeuchi, Tadashi Uchino and Masanori Ando

Tetracaine hydrochloride (TH) is nominated as the prohibited ingredients in cosmetics in Japanese Pharmaceutical Affairs Act. So the analytical method for TH was investigated by HPLC. After adding 5 ml of TH solution at 10  $\mu\text{g/ml}$  and 2 ml of salicylic acid solution at 75  $\mu\text{g/ml}$  as the internal standard to 0.5 g of the lotion, the mixture was made up to 10 ml with a mixture of water and methanol (1:1) as the testing solution. Milky lotion was proceeded as follows: After adding 5 ml of TH solution at 10  $\mu\text{g/ml}$  and 2 ml of internal standard solution to 0.5 g of the milky lotion, the mixture was made up to 10 ml with a mixture of water and methanol (1:1). Two milliliter of this mixture was placed into a centrifuging tube with a cap and 2 ml of hexane was added. After shaking vigorously and centrifuging, the lower layer was used as the testing solution. In the case of the cream, the other procedures were used: 0.5 g of cream was placed into a 10-ml volumetric flask and 1 ml of tetrahydrofuran was added. After dissolving, the mixture of methanol and water (1:1) was added to make up 10.0 ml. Two milliliter of this mixture was placed into a centrifuging tube with a cap and 2.0 ml of hexane was added. After shaking vigorously and centrifuging, the lower layer was used as the testing solution. The testing solution of 20  $\mu\text{l}$  was analyzed by HPLC using the ODS column (CAPCELL PAK  $\text{C}_{18}$  column, 4.6 x 250 mm), the mixture of acetonitrile and 50 mmol/l phosphate buffer (pH 2.0)(7:3) and the detection wavelength of 303 nm. The working curves from 0.5 to 6.0  $\mu\text{g/ml}$  showed a linear line between the concentrations of TH and the peak area ratio. There was no interference of peak of TH from the lotion, milky lotion and cream.

Key Words: tetracaine hydrochloride, local anesthetics, Japanese Pharmaceutical Affairs Act, cosmetics

## 1. 緒言

平成13年4月1日より、化粧品の承認・許可に当たっての規制緩和が行われ、化粧品に使用される成分のポジティブリスト、ネガティブリストの採用および製品に用いられた全成分の表示が義務付けられた。化粧品基準第4条の別表1<sup>1)</sup>には、化粧品に使用することが禁止されている成分、塩酸テトラカイン(プロカイン等の局所麻酔剤)がある。塩酸テトラカイン(TH)は第14改正日本薬局方<sup>2)</sup>に記載されている。製剤は、歯科用液(6%)と注射用1アンプル20mgが使用されている。歯科用の用途としては、局所への塗布である。また、注射用の用途としては、ブドウ糖液あるいは生理食塩液に溶解し、0.1、0.5あるいは1.0%の溶液として、脊椎麻酔、硬膜外麻酔、伝達麻酔などの局所麻酔に用いられている。THの分析法としては、口腔錠のcetylpyridinium chlorideおよびTHの液体クロマトグラフ法<sup>3)</sup>、THおよびその分解物、p-n-butylaminobenzoic acidの液体クロマトグラ

フによる同時分析法<sup>4)</sup>、動物薬、Tanax(有効成分: embutramide, mebenzonium iodide, TH)中のembutramideの液体クロマトグラフ法およびGC-MS法での比較研究<sup>5)</sup>などが報告されている。

今回、著者らは、化粧品に使用することが禁止されている成分、THの分析法としてCAPCELL PAK  $\text{C}_{18}$ カラムを用いた液体クロマトグラフ法を検討し、市販化粧品、乳液およびクリーム中のTHの測定に応用したので報告する。

## 2. 実験

## 2.1 装置

液体クロマトグラフ(HPLC)装置は、島津製LC-10A型ポンプ、島津製CTO-10A型カラムオープン、島津製SPD-6AV型紫外可視検出器、島津製L-10AXL型オートサンプラーおよび島津製C-R6A型クロマトパックを連結して用いた。THの吸収スペクトルの測定には、島津製UV-260型紫外可視分光光度計を用いた。

## 2.2 試薬および試液

THはシグマ社製のもの、サリチル酸(SA)は和光純薬製

\* To whom correspondence should be addressed: Hiroshi Tokunaga; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501 Japan; Tel. 03-3700-1141; Fax; 03-3707-6950; E-mail: tokunaga@nihs.go.jp

の試薬特級品を用いた。その他の試薬は試薬特級品を用いた。液体クロマトグラフ用カラムは資生堂製のCAPCELL PAK C<sub>18</sub>(粒径 5 μm, 内径 4.6 mm, 長さ 25 cm)を購入した。化粧品は市販の化粧水 2 種類, 乳液 1 種類およびクリーム 2 種類を用いた。

TH原液: TH約 25 mgを精密に量り, 水/メタノール混液(1:1)を加えて正確に 50 mLとした。(0.50 mg/mL)

SA原液: SA約 25 mgを精密に量り, 水/メタノール混液(1:1)を加えて正確に 50 mLとした。(0.50 mg/mL)

TH溶液: TH原液の一定量を正確に量り, 水/メタノール混液(1:1)で希釈し, 1 mL当たり TH10.0 μgを含む溶液を調製した。

内標準溶液: SA原液の一定量を正確に量り, 水/メタノール混液(1:1)で希釈し, 1 mL当たり SA75.0 μgを含む溶液を調製した。(SA溶液)

リン酸試液: リン酸 4.90 gを水 1000 mLに溶かした。(50 mmol/L)

リン酸二水素カリウム試液: リン酸二水素カリウム 6.80 gを水 1000 mLに溶かした。(50 mmol/L)

50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH 2.0): リン酸試液 500 mLにリン酸二水素カリウム試液を加え, pHを 2.0に調整した。

### 2.3 定量法

化粧水の場合: 化粧水約 0.5 gを精密に量り, 10 mLのメスフラスコに入れ, TH溶液 5.0 mL, 内標準溶液 2.0 mLを加え, 水/メタノール混液(1:1)にて 10 mLとし, 試料溶液とした。別に, TH約 0.025 gを精密に量り, 水/メタノール混液(1:1)を加えて溶かし, 正確に 50 mLとした。この液 5 mLを正確に量り, 水/メタノール混液(1:1)にて正確に 50 mLとした。この液 10 mLを, 正確に量り, 水/メタノール混液(1:1)にて正確に 50 mLとした。この液, 5.0 mL, 内標準溶液 2.0 mLを加え, 水/メタノール混液(1:1)にて 10 mLとし, 標準溶液とした。試料溶液および標準溶液 20 μLにつき, 次の条件で液体クロマトグラフ法を行い, THのピーク面積比  $Q_T$  および  $Q_S$  を求めた。

THの量(mg) = THの秤取量(mg) ×  $Q_T / Q_S$  × 1/5000

操作条件

検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 303 nm)

カラム: 内径約 4.6 mm, 長さ 25 cmのステンレス管に 5 μmの液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シランを充填する。

カラム温度: 35℃付近の一定温度

移動相: 50 mmol/L リン酸塩緩衝液(pH2.0)/アセトニトリル混液(7:3)

流量: THの保持時間が約 10分になるように調整する。

乳液の場合: 乳液約 0.5 gを精密に量り, TH溶液 5.0 mL, 内標準溶液 2.0 mLを加え, 水/メタノール混液(1:1)にて 10 mLとする。この液 2.0 mLを共栓遠沈管に入れ, ヘキサン 2.0 mLを加えて激しく振り混ぜる。静置した後, 3000 rpmで 5

分間遠心分離を行う。上層を除き, 下層を試料溶液とする。以下, 化粧水の操作法を準用する。

クリームの場合: クリーム約 0.5 gを精密に量り, 10 mLの共栓試験管に入れ, テトラヒドロフラン 1.0 mLを加えて基材を完全に溶かす。TH溶液 5.0 mLを加え, 水/メタノール混液(1:1)にて 10 mLとする。この液 2.0 mLを共栓遠沈管に入れ, ヘキサン 2.0 mLを加えて激しく振り混ぜる。静置した後, 3000 rpmで 5分間遠心分離を行う。上層を除き, 下層を試料溶液とする。別に, TH約 0.025 gを精密に量り, 水/メタノール混液(1:1)を加えて溶かし, 正確に 50 mLとした。この液 5 mLを正確に量り, 水/メタノール混液(1:1)にて正確に 50 mLとした。この液 10 mLを, 正確に量り, 水/メタノール混液(1:1)にて正確に 50 mLとした。この液 5.0 mLに水/メタノール混液(1:1)を加えて正確に 10 mLとし, 標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 20 μLにつき, 次の条件で液体クロマトグラフ法を行い, THのピーク面積  $A_T$  および  $A_S$  を求める。

THの量(mg) = THの秤取量(mg) ×  $A_T / A_S$  × 1 / 5000

## 3. 結果および考察

### 3.1 紫外外部吸収スペクトル

20 μg/mLのTHあるいはSAの水/メタノール混液(1:1)溶液を調製し, 紫外外部吸収スペクトルを測定し, Fig.1に示した。なお, SAは, THの液体クロマトグラフ法で測定する際の内標準物質として用いるため, 一緒に検討した。

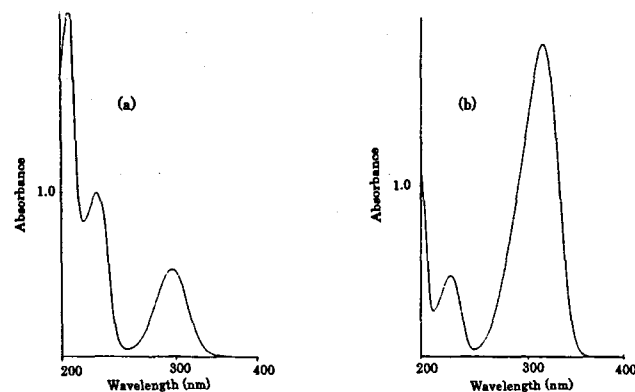


Fig.1 UV spectra for tetracaine hydrochloride (a) and salicylic acid (b) at 20 μg/mL

Fig.1から分かるようにTHは, 228および314 nmに吸収極大波長を, SAは232および298 nmに吸収極大波長を持つことが分かった。両者の吸収極大波長を考慮し, 検出波長を303 nmとすることにした。

### 3.2 アセトニトリルの影響

50 mmol/L リン酸塩緩衝液(pH2.0)/アセトニトリル混液中のアセトニトリル濃度を25~40%と変化させ, THおよ

びSAの保持時間 ( $t_R$ ) の変化を測定した. その結果をFig.2に示した.

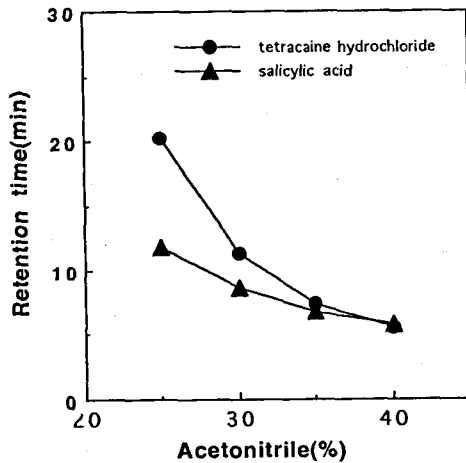


Fig.2 Effect of acetonitrile on retention time of tetracaine hydrochloride and salicylic acid

THの $t_R$ の変化は, 20.3~5.5分, SAの $t_R$ の変化は, 11.8~5.8分と減少した. 測定時間を考慮し, THの $t_R$ 11.3分を示した30%のアセトニトリルに相当する50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH2.0)/アセトニトリル混液(7:3)を用いることにした.

### 3.3 pHの影響

3.1の検討で, 50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH2.0)/アセトニトリル混液(7:3)を用いることにしたが, 50 mmol/Lリン酸塩緩衝液のpHの影響を検討するため, 移動相の50 mmol/Lリン酸塩緩衝液/アセトニトリル混液の割合を(3:1)に変更し, リン酸塩緩衝液のpHを2.0~3.5に変化させたときの,  $t_R$ の変化を検討した. その結果をFig.3に示した.

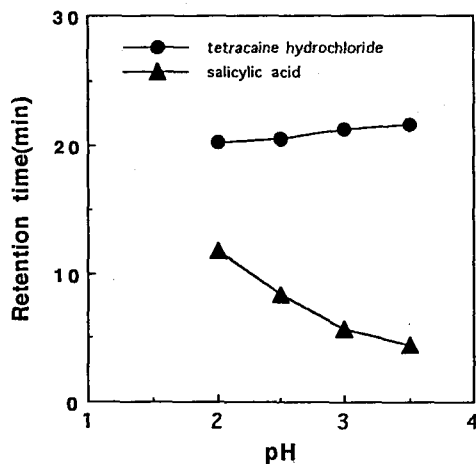


Fig.3 Effect of pH on retention time of tetracaine hydrochloride and salicylic acid

50 mmol/Lリン酸塩緩衝液のpHを2.0~3.5に変更した時, THの $t_R$ は20.3~21.7分とほとんど変化はなかった. しかし, SAの $t_R$ は11.8~4.4分と大きく減少した. このことより, 50 mmol/Lリン酸塩緩衝液のpH 2.0を用いることにした.

### 3.4 カラム温度およびイオン強度の影響

移動相として, 50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH2.0)/アセトニトリル混液(7:3)を用い, カラム温度を25~45°Cあるいはイオン強度を25~100 mmol/Lに変更した. THおよびSAの $t_R$ の変化はほんの僅かであった. その結果, カラム温度として35°Cを, イオン強度として50 mmol/Lを用いることにした.

### 3.5 THの検量線

内標準物質のSAの濃度を15  $\mu$ g/mLと一定濃度とし, THの濃度を0.5~6.0  $\mu$ g/mLとした溶液を調製し, その20  $\mu$ Lを用いて, 検量線の作成を行い, Fig.4に示した.

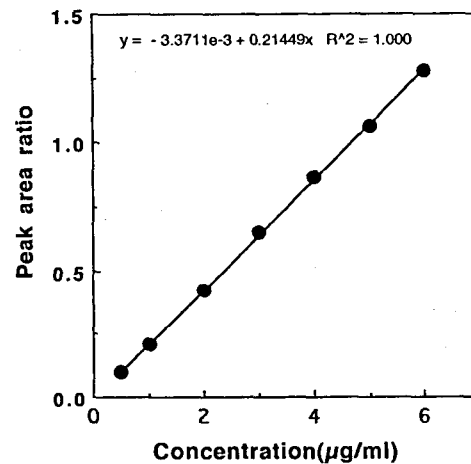


Fig.4 Working curve for tetracaine hydrochloride

Fig.4から分かるように, TH濃度とピーク面積比の間には良好な直線関係が成立した.

THの0.5  $\mu$ g/mLおよび5.0  $\mu$ g/mLを含む溶液20  $\mu$ Lを用い, 6回の繰り返し注入を行い, 再現性の検討を行った. TH0.5  $\mu$ g/mLおよび5.0  $\mu$ g/mLから得られたピーク面積比の平均値(相対標準偏差)は, それぞれ, 0.100(4.05%)および1.064(0.96%)であった.

### 3.6 化粧品への応用

化粧水の場合, 化粧水0.5gにTH溶液5.0 mLおよびSA溶液2.0 mLを加え, 水/メタノール混液(1:1)で10 mLとし, その液20  $\mu$ Lを用いて測定する方法である. 化粧水中の賦形剤の影響がなければ, 3.5の検量線の項で示した測定値(ピーク面積比)が得られると考えられる. しかし, 乳液の場合, 油溶性の賦形剤によるHPLCカラムの劣化を防ぐため, 脂溶性の物質をヘキサンで取り除く必要があった. そこで, 水/メタノール混液(1:1)層からヘキサン層への

THあるいはSAの移行を検討した。10  $\mu$ g/mLのTH溶液10.0 mLおよび75  $\mu$ g/mLのSA溶液4.0 mLを20 mLのメスフラスコに加え、水/メタノール混液(1:1)にて20.0 mLとした。この液2.0 mLにヘキサン2.0 mLを加えて激しく振り混ぜ、水/メタノール混液(1:1)層への残存率を検討した。6回の測定の結果、回収率の平均値(相対標準偏差)は102.0%(1.94%)であった。この結果より、THおよびSAは完全に水/メタノール混液(1:1)に残留することが分かった。

次に、クリーム中の油溶性の賦形剤を除く方法について検討した。水/メタノール混液(1:1)を用いてクリーム基材を溶解することは困難である。そこで、クリーム0.5 gをテトラヒドロフラン1.0 mLに完全に溶解させた後、10  $\mu$ g/mLのTH溶液5.0 mLおよび75  $\mu$ g/mLのSA溶液2.0 mLを加え、水/メタノール混液(1:1)にて10.0 mLとした。この液2.0 mLにヘキサン2.0 mLを加えて激しく振り混ぜ、THおよびSAの水/メタノール混液(1:1)への残存率を検討した。それぞれ、6回の測定結果より得られたTHおよびSAの水/メタノール混液(1:1)への残存率の平均値(相対標準偏差)は、それぞれ、102.6%(0.69%)および85.8%(0.83%)であった。この結果より、テトラヒドロフランで溶解後にTHおよびSAを添加する方法の場合、THは完全に水/メタノール混液(1:1)層に残留するもののSAの一部はテトラヒドロフランのヘキサン層への移行に伴い移動することが明らかになった。この結果より、クリームの場合には、内標準物質としてのSAを添加しない方法を用いることにした。

以上の結果より、化粧水、乳液およびクリームの場合、実験の部の2.3の定量法に示したように、別々の操作法を用いることにした。

Fig.5に化粧水および乳液にTHおよび内部標準物質のSAを添加したもののHPLCクロマトグラムを示した。Fig.5(a)の1およびFig.5(b)の1に該当するピークがSAに由来するピークであり、Fig.5(a)の2およびFig.5(b)の2に該当するピークがTHに由来するピークである。

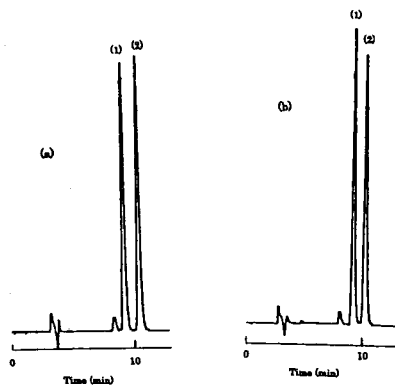


Fig.5 HPLC Chromatograms for Lotion A(a) and Milky Lotion C(b)

今回検討した化粧水AおよびB、乳液CおよびクリームDおよびEの場合において、SAあるいはTCの位置に化粧品中の賦形剤による妨害ピークを観察することができなかった。

化粧品にTHを添加した5検体について測定した結果をTable 1に示した。

Table 1 Recoveries of tetracaine hydrochloride from cosmetics

	Lotion A	Lotion B	Milky lotion C	Cream D	Cream E
No.1	100.5	99.2	98.5	101.7	101.6
No.2	99.5	97.0	104.1	101.5	105.8
No.3	100.2	99.4	104.2	102.0	101.2
No.4	98.6	97.4	103.8	102.4	102.6
No.5	98.1	98.1	103.9	101.2	100.9
No.6	99.2	99.6	104.7	101.6	104.1
average	99.4	98.5	103.2	101.7	102.7
R.S.D(%)	0.92	1.12	2.25	0.41	1.86

Table 1から分かるように、化粧水A、化粧水B、乳液CおよびクリームDおよびEに0.01%相当量のTHを添加した時のTHの回収率は、それぞれ、99.4%、98.5%、103.2%、101.7%および102.7%であり、今回確立した液体クロマトグラフ法により十分に分離確認し、定量出来ることが明らかになった。定量範囲として、薬効を期待したTHの不法な添加を考え、注射液の0.1%の1/10が十分に定量できる0.01%(0.5  $\mu$ g/mLの場合)を設定した。更に、定量下限として0.001%(0.05  $\mu$ g/mLの場合)が定量できる方法を設定した。

#### 文献

- 1) Notification No.331 of Ministry of Health and Welfare dated on September 29, 2000
- 2) Japanese Pharmacopeia Fourteenth Edition, Ministry of Health, Labour and Welfare, p.341(2001)
- 3) Wan J., Lu J., Hu Y.: J.Pharm.Biomed.Anal., 32, 381-386(2003)
- 4) Menon G.N., Norris B.J.: J.Pharm.Sci., 70, 569-570(1981)
- 5) Giorgi M., Bertini S., Soldani G., Giusiani M.: J.Anal.Toxicol., 25, 323-327(2001)

## 国立医薬品食品衛生研究所における基盤ネットワークの現状について

瀬川勝智・中野達也・林譲・中田琴子\*

## The Status of NIHS Computer Network System (NIHS-NET)

Katsunori Segawa, Tatsuya Nakano, Yuzuru Hayashi and Kotoko Nakata \*

We described the development of National Institute of Health Sciences Computer Network System (NIHS-NET), which was named NIHS Information and Computing Infrastructure (NICI) previously. In the system, the main server machines and common machines were replaced and the network lines were upgraded from 100 Mbps to 1Gbps. The connection nodes were changed from Inter Ministry Network (IMnet) to Science Information Network (SINET), and the dedicated lines between NIHS (yoga, osaka, tsukuba) and SINET were constructed. The Internet connection speed from each campus to SINET was upgraded. We also performed security audit in this system.

Keywords: NIHS-NET, SINET, server machines, LAN, security audit

## 1. はじめに

国立医薬品食品衛生研究所(以下国立衛研)における研究情報基盤環境整備は、平成7,8年の第1期および第2期<sup>1,2)</sup>、平成11,12年の第3期<sup>3)</sup>と進み、平成15,16年には第4期の整備が行なわれた。今回の変更に伴い、国立衛研における全所的なコンピュータネットワークの基幹部分とヘルプデスクがメンテナンスを行っている大型ソフト(分子計算ソフト、分子グラフィックソフト、遺伝子解析ソフト)やプレゼンテーション機器を総称してNIHS-NET(NIHS-Computer Network System)と呼ぶことにした。

第4期の研究情報基盤環境整備に先立ち、用賀本所、大阪支所、筑波薬用植物栽培試験場(以下筑波試験場)、北海道栽培試験場(以下北海道試験場)ではネットワーク接続回線を高速化し、業務の効率化を図った。用賀本所、大阪支所、筑波試験場のネットワークは、それぞれ省際研究情報ネットワーク(IMnet)を経てインターネットに接続していたが、平成15年からは、学術情報ネットワーク(SINET)を経てインターネットに接続するように変更された(IMnetは平成15年9月末にサービスを停止した)。

今回の整備では、平成11年10月に納入した研究情報ネットワークのサーバ機器を、平成15年10月に、平成12年4月に納入したデータベース関連機器を平成16年4月にそれぞれ更新した。新サーバ機器の導入時にソフトウェアをバージョンアップし、一部ソフトウェアの変更も行った。今回の

更新により、サーバ機器が高性能化し、ネットワークが高速化され、情報伝達の迅速化が期待される。用賀本所、大阪支所、筑波試験場に加え、北海道試験場も、仮想ネットワーク(Virtual Private Network: VPN)により用賀本所に接続された。またセキュリティを強化するため、ファイアウォール(Fire Wall: FW)を強化し、ウイルス対策用サーバを立ち上げた。

医薬品医療機器審査センター(現独立行政法人医薬品医療機器総合機構)は、平成16年4月に国立衛研から独立し、伊豆栽培試験場は平成14年3月末に、また大阪支所(法円坂)は平成16年3月末で廃止となった。大阪支所(茨木市)は、医薬基盤研究施設(以下基盤研)への移行が完了するまでは、NIHS-NETに暫定的に接続している。

NIHS-NETは所内への情報受信・交換の場だけでなく、所外への情報提供の場であるため、安全性を考慮したネットワークシステムの構築が重要となる。このような点を踏まえ、今回の回線高速化、および機器更新状況について記述する。

## 2. NIHS-NETの基幹システム

## 2.1 所外ネットワーク接続環境

当所の研究情報ネットワークは、用賀本所、大阪支所、筑波試験場を、それぞれIMnetの東京ノード、大阪ノード、筑波ノードと繋ぎ、インターネットに接続していた。平成15年には用賀本所(3月)、大阪支所(4月)、筑波試験場(9月)のネットワーク接続ノードが、IMnetからSINETに変更され、SINETを経由して外部ネットワークに接続する形態となった(IMnetは平成15年9月末にサービスを停止し

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



た)。ノード変更の際に回線も高速化し、用賀本所は100Mbpsに、また大阪支所、筑波試験場は1.5Mbpsへと高速化された(大阪支所法円坂は平成16年5月現在専用回線を停止し、大阪支所茨木市のネットワーク立ち上げまでの期間は、Bフレッツ回線を使用している)。北海道試験場は平成16年5月にADSL回線の8Mbpsに変更され、種子島薬用植物栽培試験場(以下種子島試験場)は平成13年12月にフレッツISDN回線に変更されて64Kbpsになった。一方、和歌山薬用植物栽培試験場(以下和歌山試験場)は現在もISDN回線により接続されている。和歌山試験場を除き回線速度は高速化され、情報収集は以前よりも迅速化した。

所外からの接続は、用賀本所に設置されているFWを通り、所内LAN(Local Area Network)に繋がっている。今回の基幹システム構築では、FWを用賀本所にのみ置き、不正アクセスを遮断し、許可された通信のみを所内LANに通す設定にした。

## 2.2 所内LANの構成

用賀本所内の棟間の基幹幹線が、平成15年9月にこれまでの100Mbpsから1Gbpsに高速化された。新たに研究棟を新築(28号館)したため、内部セグメントを1つ増やし4つのセグメントとした。また、コンピュータやネットワーク対応機器が増加しIPアドレスの枯渇が所内でも問題になってきたため、アドレス体系をCクラスからAクラスに変更しすべてのマシンのIPアドレスを振り直した。IPアドレス変更時に数件のトラブルが発生したが、変更後はIPアドレスの枯渇も解消され、アドレスの割り付けも順調に行われている。

セキュリティ強化の一環として、基幹サーバ更新時にDHCP(Dynamic Host Configuration Protocol)サーバを立ち上げ、平成16年2月からはパソコンやネットワーク機器を所内LANに接続する場合にはMAC(Media Access Control)アドレスの登録を必要とするようにした。

筑波試験場は独自に場内LANシステムを構築しているが、ルータ間で用賀本所とVPN接続しているため、用賀本所と同様のネットワーク環境になっている。北海道試験場では、ルータ間のVPN接続ではなく、各パソコンにVPNクライアントソフトをインストールしVPN接続する形式となっている。VPN接続することにより、通信が暗号化され通信の安全性が強化された。

所内LANはTCP/IPプロトコルによる基幹部分と、Macintoshで使われるApple Talkプロトコルの二つのプロトコルで構築されている。

## 2.3 基幹システムサーバ機器

平成15年10月に導入した基幹サーバの概要を以下に記す。

a) Fire Wallサーバ(PIX515E)：所内のFW(用賀本所に設

置)

- b) Mail/外部DNSサーバ(Sun Blade150)：外部向けのDNSサーバ並びに、所内と所外との間のメールを中継するサーバ
- c) DBサーバ(Sun Blade150)：Oracle9iにバージョンアップし、データは旧サーバから移設
- d) Mail/DNS/Newsサーバ(Sun Fire280R)：メールサーバとして、メール保存用・ウイルスチェック・Webメール・MLサーバの機能を有する
- e) Web/DNSサーバ(Sun Blade150)：所内のWebサーバが稼働
- f) Proxyサーバ(Sun FireV100)：外部にアクセスするための中継を行うサーバ
- g) DHCPサーバ(Sun FireV100)
- h) 全文検索サーバ(Sun Fire280R)
- i) 認証サーバ(HP ProliantML350)：VPNで接続する際の認証を行うサーバ
- j) ウイルス対策用サーバ(HP ProliantL330G3)

## 2.4 共用プレゼンテーション機器

平成16年3月に更新した共用プレゼンテーション機器および共用ソフトを以下に記す。

共用プレゼンテーション機器

- a) 検索用パソコン(HP Desktop d330SF/CT)
  - b) Macintosh(PowerMacG4)
  - c) プレゼン用Windowsパソコン(HP Desktop d330SF/CT)
  - d) プレゼン用Macintoshパソコン(PowerMacG4)
  - e) スライド作成機(Polaroid PP700U-B(Windows用, Macintosh用各1台))
  - f) スキャナ(EPSON GT-9400UF)
  - g) プリンタ(EPSON LP-9500CPS)
  - h) B0プリンタ(EPSON PX-10000)
  - i) 計算サーバ(SGI FuelV10)：Accelrys社のInsight II実行用機器
  - j) 計算サーバ(IBM IntelliStation Z Pro 6221) Gaussian社のGaussian 03, GaussView3.0実行用機器
  - k) 液晶プロジェクタ(EPSON EMP-7800)
- 共用ソフト
- l) Accelrys社のInsight II：各モジュールを統合し分子モデリングのための3Dグラフィカル環境を支援し、モデリングおよびシミュレーションを実行するシステム
    - ・継続したモジュールBiopolymer, Sketcher, Homology, MODELER, CHARMm
    - ・新規に追加したモジュールDiscover, Affinity, CFF, Ludi, SeqFold
  - m) Applied Biosystems社のCELERA DISCOVERY SYSTEM：ヒトゲノム解析によって得られた生物学データ(遺伝子/タンパク質, 転写産物, SNPs等)を検索する統合シス

テム

- n) SGI社のFAMSBASE:高性能タンパク質立体構造予測アルゴリズムによるモデル構造のデータベース
- o) Gaussian社のGaussian 03 [アップグレード], GaussView3.0 [新規]:分子軌道計算および軌道可視化プログラム

今回の更新には, SRS-EMBOSS (ライフサイエンス系データベースおよびツールの統合環境支援システム) を実行するSun Fire880の保守(2.5年分) およびネットワーク監視機器に使用するOS (RedHat LINUX (4本)) が含まれている。また, Active mailのユーザ数を500に増やした。

### 2.5 VPN接続環境

用賀本所と筑波試験場のVPN接続は, 2拠点に設置されたルータ間で行っている。そのため, 筑波試験場内のLANは, 用賀本所とほぼ同様の環境となる。また, 北海道試験場では, 回線移行時にブロードバンドルータを用いており, ルータによるVPN接続ができない。そのため, 各パソコンにクライアントソフトをインストールし, 用賀本所に設置されているルータを通り認証サーバに接続することによりVPN接続を可能とした。他の試験場でも回線の高速化が進み, ソフトをインストールすることにより用賀本所へVPN接続が可能である。

所外から所内にパソコンを繋ぐときにも, パソコンにソフトをインストールすることによりVPN接続でき, 非常に便利になった。またパソコンをVPN接続する際には, アカウント登録が必要である。

### 3. 結果と考察

用賀本所を始め, 各拠点での回線の高速化が進み, 今回の整備によりサーバ機器も高機能のものに変更された。ネットワーク回線は高速化したものの, パソコン一人一台から一人人数台となり, かつプリンタ等のネットワーク対応機器が所内LANに接続されている。したがって以前では考えられなかった大容量のファイルがネット上を流れており, これまで以上にネットワークに負荷がかかる状況になっている。また, 接続機器の増加に伴いスイッチのポートが足りなくなり, カスケードして接続しているため, ネットワーク通信のボトルネックになっている。現行システムではネットワークのセキュリティを向上するため, 接続する際にMACアドレスを登録制にした。このMACアドレスを基に接続マシンを監視することで, 不正なアクセスやパケット等の発生源を調査することが可能となり, 以前のように容易に所内LANに接続できなくした。不要な通信をできる限り遮断し, 所内

LANを全所員が有効に使えるよう対処していくことが重要である。

最近では, 所外から所内LANへの不正アクセスやウイルス対策が極めて重要な課題となっている。不正アクセスについては, 用賀本所のFWにより許可された通信のみを所内LANに通している。VPN接続を利用して所内LANにアクセスすれば, 通信の暗号化により安全性も確保される。しかし, 所内のパソコンが不正アクセスされた場合には対処が難しくなるため, 所内LANに接続しているパソコンの利用者がセキュリティ対策を講じる必要がある。

現行システムのウイルス対策については, 基幹サーバ上でのウイルススキャンおよびウイルス対策サーバ (Windowsマシンのみが対象) 上でのウイルス対策ソフト稼働状況の確認の2段階で行っている (Macintoshについては, スタンドアロン版のウイルス対策ソフトを配布)。どちらの監視もヘルプデスクで行っているが, 各パソコンにウイルス対策ソフトのインストールが行われていなければ, ウイルス対策サーバでの監視はできない。このため, ウイルス対策ソフトのインストールを所内に徹底し, ウイルス感染状況を集中的に監視できる体制作りを進めている。ネットワーク監査については平成13年度から小規模に実施していたが, 平成15年度より外部業者に委託して本格的に実施し, セキュリティホールの解消に務めた。

現在のNIHS-NETには, 単にネットワークサービスの提供ができるだけでなく, コンピュータウイルス等へのセキュリティ対策の高い, 安定したネットワークシステムであることが強く要求されている。ネットワーク技術は, 秒進分歩であり, できる限り最新の技術を投入して (もちろん検証は必要であるが) さらなるセキュリティ向上に繋げていきたい。

### 謝辞

NIHS-NETの運用, 維持および更新には所内の多くの方々にご協力いただいた。ネットワークの保守, 維持および障害時の対応にはヘルプデスク (CTC-LS (株)) の協力を得ており, ここに感謝する。

### 参考文献

- 1) Nakata, K., Nakano, T. and Kaminuma, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 114, 53-61 (1996)
- 2) Nakata, K., Nakano, T., Takai, T. and Kaminuma, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 116, 92-100 (1998)
- 3) Nakata, K., Nakano, T., Takai, T., Komine, K. and Kaminuma, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 118, 107-116 (2000)

## OECD 化学物質対策の動向 (第5報)

## 第12回及び第13回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2001年)

高橋美加・平田睦子・松本真理子・広瀬明彦・鎌田栄一・長谷川隆一・江馬 眞<sup>#</sup>

## Progress on OECD Chemicals Programme

Mika Takahashi, Mutsuko Hirata, Mariko Matsumoto, Akihiko Hirose, Eiichi Kamata,  
Ryuichi Hasegawa and Makoto Ema<sup>#</sup>

The twelfth SIDS, the Screening Information Data Set, Initial Assessment Meeting (SIAM 12) was held at the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) headquarters in Paris, France and SIAM 13 was held in Bern, Switzerland, hosted by the European Commission. Two substances at SIAM 12 (CAS No:91-15-6, 123-77-3) and 4 substances at SIAM 13 (CAS No:91-76-9, 112-85-6, 868-77-9, 1477-55-0) were submitted by the Japanese Government and/or International Council of Chemical Associations (ICCA). These substances were agreed at the meetings. In this report, the human health effects of 6 substances above-mentioned are introduced.

Keywords: OECD, HPV program, SIAM, SIDS Initial Assessment Meeting

## はじめに

経済協力開発機構 (Organization for Economic Cooperation and Development: OECD) 加盟各国における高生産量化学物質 (High Production Volume Chemical: HPV) の安全性は、1992年に始まった OECD 高生産量化学物質点検プログラム (HPV program) によって評価されている<sup>1)</sup>。加盟各国での生産量・既存の毒性データ量に基づいて OECD HPV Chemicals List の作成及び評価の優先順位付けが行われた<sup>1)</sup>。現在は、加盟各国と企業が、生産した化学物質に関する情報収集や試験を行って評価文書を完成させ、順次、それらの文書が初期評価会議 (SIAM: SIDS, Screening Information Data Set, Initial Assessment Meeting) で討議されている。日本政府は初回より評価文書を提出しており、第6回までに27物質の評価文書について合意を得た。第7回から第11回の SIAM において日本政府が担当し、結論及び勧告が合意された化学物質の初期評価文書の健康影響部分については既に紹介された<sup>2) 3) 4)</sup>。

SIAMで評価された物質数は2000年までは年間20程度(最多31, 最少8)であったが、SIAM 11 (2001年) から始まった ICCA (International Council of Chemical Associations, 国際化学工業協会協議会) による評価文書の提出に伴い、2001年には年間79 (SIAM 11-13) と飛躍的に評価物質が増加した。

本稿では、SIAM 12 及び 13 で合意に至った化学物質名と日本担当物質の初期評価要旨の健康影響部分について紹介

する。

SIAM における合意は FW または LP として示される (FW = The substance is a candidate for further work. LP = The substance is currently of low priority for further work.)。FW は「今後も追加の調査研究作業が必要である」ということを意味する。LP は「現状の使用状況においては追加作業の必要はない」ということを意味し、状況によっては追加作業が必要となる可能性を含む。現在、SIAM で FW とされたのは約 100 物質、LP は約 300 物質である。

## SIAM 12 及び 13 で合意された化学物質名と日本担当物質の初期評価内容

SIAM 12 は 2001 年 6 月にフランス (パリ) で開催され、化学物質の初期評価文書が検討され、表 1 に示す 14 物質の初期評価結果及び勧告が合意された。SIAM 13 は 2001 年 11 月にスイス (ベルン) で開催され、化学物質の初期評価文書が検討され、表 2 に示す 36 物質の初期評価結果及び勧告が合意された。日本政府が担当した化学物質の初期評価報告書のヒトへの健康影響について、概要を以下に示す。

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed: Makoto Ema; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.570; FAX: 03-3700-1408; E-mail: ema@nihs.go.jp

Table 1. Chemical substances discussed at SIAM12 and their outcomes

CAS No.	Name of substance	Sponsor country	Outcome
75-68-3	1-Chloro-1,1-difluoroethane	FR/ICCA	LP
79-06-1	Acrylamide	UK:eu	FW
84-74-2	Dibutyl phthalate	NL:eu	FW
91-15-6	<i>o</i> -Phthalodinitrile	JP+DE/ICCA	LP
100-21-0	Terephthalic acid	US+IT	LP
105-60-2	Epsilon-Caprolactam	DE/ICCA	LP
123-77-3	Azodicarboxamide	DE+JP	LP
126-73-8	Tributyl phosphate	US	LP
141-97-9	Ethyl acetoacetate	DE:eu	LP
822-06-0	1,6-Hexamethylene diisocyanate	DE/ICCA	FW
1717-00-6	1,1-Dichloro-1-fluoroethane	US/ICCA	LP
25154-52-3	Nonyl phenol	UK:eu	FW
34590-94-8	Dipropylene glycol methyl ether	US/ICCA	LP
84852-15-3	Phenol, 4-nonyl-, branched	UK:eu	FW

Note. Abbreviations show DE: Germany, FR: France, IT: Italy, JP: Japan, NL: Netherlands, UK: United Kingdom, and US: United States of America. "eu" indicates the document was based on the risk assessment in European Communities.

Table 2. Chemical substances discussed at SIAM13 and their outcomes

CAS No.	Name of substance	Sponsor country	Outcome
58-55-9	Theophylline	DE/ICCA	LP
65-85-0	Benzoic acid	NL/ICCA	LP
68-12-2	N,N-Dimethylformamide	DE/ICCA	FW
71-36-3	<i>n</i> -Butyl alcohol	US/ICCA	LP
74-83-9	Methyl bromide	US/ICCA	LP
75-01-4	Vinyl chloride	US/ICCA	LP
75-38-7	Vinylidene fluoride	US/ICCA	LP
75-56-9	Methyl oxirane	UK:eu	FW
79-10-7	Acrylic acid	DE:eu	FW
79-20-9	Methyl acetate	DE:eu	FW
88-73-3	1-Chloro-2-nitrobenzene	DE/ICCA	FW
88-74-4	2-Nitroaniline	FR/ICCA	LP
91-76-9	2,4-Diamino-6-phenyl-1,3,5-triazine	JP/ICCA	LP
95-50-1	1,2-Dichlorobenzene	Aus	FW
100-51-6	Benzyl alcohol	NL/ICCA	LP
103-84-4	Acetanilide	KO	LP
107-15-3	Ethylenediamine	US/ICCA	LP
107-41-5	Hexylene glycol	UK/ICCA	LP
108-77-0	Cyanuric chloride	CH/ICCA	LP
109-66-0	<i>n</i> -Pentane	NO:eu	LP
112-57-2	Tetraethylenepentamine	US/ICCA	LP
112-85-6	Docosanoic acid	JP/ICCA	LP
123-54-6	2,4-Pentanedione	DE/ICCA	FW
123-86-4	<i>n</i> -Butyl acetate	US/ICCA	LP
127-19-5	N,N-Dimethylacetamide	IT	LP
532-32-1	Sodium benzoate	NL/ICCA	LP
582-25-2	Potassium benzoate	NL/ICCA	LP
616-38-6	Dimethyl carbonate	IT/ICCA	Not finalized
868-77-9	2-Hydroxyethyl methacrylate	JP/ICCA	LP
1310-58-3	Potassium hydroxide	BE/ICCA	LP
1477-55-0	1,3-Bis(aminomethyl)benzene	JP/ICCA	LP
5392-40-5	Citral	JP	LP
6386-38-5	Metilox	CH	LP
6864-37-5	2,2'-Dimethyl-4,4'-methylenebis(cyclohexylamine)	DE/ICCA	LP
7447-40-7	Potassium chloride	NO/ICCA	LP
7681-57-4	Disodium disulphite	KO/ICCA	LP
16470-24-9	Fluorescent Brightener 220	DE/ICCA	FW

Note. Additional abbreviations to table 1, Aus: Australia, CH: Switzerland, NO: Norway, KO: Korea, and BE: Belgium. Health effects of citral have already described in SIAM11.

### *o*-Phthalodinitrile (91-15-6) (ICCA 日本及びドイツ企業作成) (SIAM 12)

本化学物質はフタロシアニン系染料、顔料の原料として用いられている。

単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) では、ラットの雌雄ともに 60 mg/kg 以上の投与で死亡、痙攣、口周囲の汚れがみられ、240 mg/kg 以上の投与で自発運動低下、腹臥位、チアノーゼ等が観察された。経口LD<sub>50</sub>は85 mg/kgであった。

吸入毒性試験では、20℃で8時間の飽和蒸気圧に暴露さ

せたラットの死亡はみられなかった。

皮膚及び眼に対する刺激性はみられなかった。皮膚感作性に関する情報はなかった。

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422) では、0, 1, 6, 30 mg/kg/day を雌雄のラットに少なくとも42日間強制経口投与した。30 mg/kg/day の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量の減少、雄では総コレステロール及び総蛋白の増加、血清尿酸素の減少、肝臓、腎臓及び精巣重量の増加、精巣上体重量の減少、雌では全例が妊娠末期に痙攣を伴い死亡した。また、30 mg/kg/day の雄において肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴沈着、精細管萎縮及び精巣上体の管腔内の細胞残屑出現と精子数の減少が観察された。6 mg/kg/day 投与では雌雄とも毒性所見はみられなかったため、この試験における反復投与毒性の無毒性量 (NOAEL) は 6 mg/kg/day であった。

90日間反復経口投与毒性試験 (OECD TG 408) 及び米国 EPA 神経毒性試験ガイドラインに従い、雄ラットに0, 3, 8, 25 mg/kg/day, 雌ラットに0, 3, 10, 30 mg/kg/day の用量を13週間混餌投与したところ、自発運動量の増加がみられたが、中枢及び末梢神経毒性に関連した症状及び神経病理学的変化は観察されなかった。雄は25 mg/kg/day, 雌は10 mg/kg/day で体重減少がみられたことから、この試験における反復経口投与のNOAELは雄ラットでは8 mg/kg/day, 雌ラットでは3 mg/kg/day であった。

これらの結果から、反復経口投与毒性のNOAELは3 mg/kg/day と考えられた。

上述の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験において、雄ラットには交配前後の14日間ずつを含む少なくとも42日間、雌ラットには交配前14日間から哺育3日まで、0, 1, 6, 30 mg/kg/day を強制経口投与した。30 mg/kg/day において、雄で精巣毒性がみられ、さらに、すべての妊娠ラットが死亡したため分娩のデータは得られなかった。6 mg/kg/day 以下の用量では生殖発生に対する影響がみられなかったことから、生殖発生毒性のNOAELは6 mg/kg/day と考えられた。

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果はS9mix存在下及び非存在下のいずれでも陰性であった。チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験では、いずれの連続処理でも染色体の構造異常は認められなかったが、中濃度(0.40 mg/mL)及び高濃度において倍数体が誘発された。また、S9mix存在下及び非存在下のいずれの短時間処理でも染色体の構造異常は認められなかったが、S9mix存在下及び非存在下のいずれの短時間処理でも倍数体が誘発され、これらの結果より陽性と判断された。しかしながら、*in vivo*でのマウスの小核試験で投与可能な最高投与量20 mg/kgの結果が陰性であったことから、本化学物質は*in vivo*では遺伝毒性を発現しないと考えられた。

発がん性に関する有効な情報はなかった。

**Azodicarboxamide (123-77-3) (ドイツ政府及び日本政府作成) (SIAM 12)**

本化学物質は、プラスチックやゴム製品の発泡剤、米国の食品添加物(膨張剤)として用いられている。

雄ラットへの吸入暴露で本化学物質の約34%が、経口投与で10-33%が吸収されるが、本化学物質のかなりの量は胃腸管で吸収されず、糞とともに排泄される。本化学物質は吸収後速やかに biurea (CAS 110-21-4) に代謝物され、72時間以内に主に尿中に排泄される。

急性経口毒性は弱く、雄ラットでの2つの試験では2,500 mg/kg で毒性発現はみられず、別の試験では LD<sub>50</sub> は4,000 mg/kg以上(雌雄 Alderly Park ラット)、5,000 mg/kg以上(雄 Wistar ラット)であった。

雌雄ラット(1群5匹)を用いた急性吸入毒性試験では、LC<sub>50</sub> は6,100 mg/m<sup>3</sup>以上(4時間暴露、粒子サイズ5.8 μm)であった。4時間暴露後、6,100 mg/m<sup>3</sup>で10例中8例が呼吸困難を示したが、死亡はみられなかった。暴露後14日での病理組織検査では影響はみられなかった。

モルモットでの吸入刺激試験では、肺機能に影響はみられず、97 mg/m<sup>3</sup>(1時間)までの濃度において吸入刺激は極軽微であった。

急性皮膚毒性試験が5匹の雄ラットに500 mg/kg を塗布して行われ、毒性徴候や死亡はみられなかった。

1匹の雌ウサギに2,000 mg/kg を塗布したスクリーニング試験でも毒性徴候はみられなかった。

ウサギの皮膚への刺激性はみられず、眼に対しては可逆的な角膜の発赤や腫脹がみられた。ヒトの皮膚を用いたパッチテストが陽性であったことから、皮膚感作性の可能性が示された。

ラットに100, 500, 2,500 mg/kg/day(雄)、200, 1,000, 5,000 mg/kg/day(雌)を強制経口投与した90日間反復経口投与毒性試験では、雄の2,500 mg/kg/dayと雌の5,000 mg/kg/day(雌)で死亡がみられたが、一般毒性の徴候はみられず、病理組織学的検査で腎盂腎炎等がみられた。NOAELは500 mg/kg/day(雄)、1,000 mg/kg/day(雌)であった。

また、マウスに0, 78, 156, 312, 625, 1,250 mg/kg/day(雄)、0, 156, 312, 625, 1,250, 2,500 mg/kg/day(雌)を強制経口投与した90日間反復経口投与毒性試験では、最高用量でも投与に関連した影響はみられなかった。

一世代生殖毒性試験(OECD TG 415)では、ラットに0, 100, 300, 1,000 mg/kg/dayの用量で強制経口投与した。雄親ラットには最高用量でも影響はみられなかったが、雌親ラットでは1,000 mg/kg/dayで腎盂の拡張、間質のリンパ球浸潤等の腎臓への影響がみられた。NOAELは300 mg/kg/dayであった。

これらの試験の結果から、反復経口投与のNOAELは500 mg/kg/day(雄)、300 mg/kg/day(雌)とされた。

13週間吸入試験において、ラット及びマウスに0, 50, 10,

200 mg/m<sup>3</sup>の濃度を1日6時間(週5日)で暴露させたところ、最高濃度の200 mg/m<sup>3</sup>でも有意な毒性影響はみられなかった。13週間暴露試験に基づき、吸入反復暴露のNOAELは200 mg/m<sup>3</sup>(ラット、マウス)であった。

上述の一世代生殖毒性試験では、雄ラットには98日間、雌ラットには交配前14日間から哺育20日まで、それぞれ0, 100, 300, 1,000 mg/kg/dayを強制経口投与した。最高投与量の1,000 mg/kg/dayでも生殖発生への毒性影響はみられず、生殖発生毒性のNOAELは1,000 mg/kg/dayと考えられた。ラットとマウスを200 mg/m<sup>3</sup>の濃度まで暴露した上述の13週間吸入試験においても生殖器系や精子の形態、発情周期に影響は認められなかった。

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果はS9mix存在下及び非存在下のいずれでも陰性であった。チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験では、いずれの連続処理及びS9mix存在下及び非存在下のいずれの短時間処理でも染色体の構造異常及び倍数体の誘発は観察されなかったことから、染色体異常試験は陰性と判断された。

発がん性に関する有効な情報はなかった。

**Docosanoic acid (112-85-6) (ICCA日本企業作成) (SIAM 13)**

本化学物質は近年化粧品の原料として用いられている。

トキシコキネティクスに関する情報はなかった。

単回経口投与毒性試験(OECD TG 401)では、最高投与量の2,000 mg/kgでもラットの死亡はみられず、また、一般状態、投与後の体重の推移及び剖検所見のいずれにも投与に起因すると考えられる変化は観察されず、経口LD<sub>50</sub>は2000 mg/kg以上であった。

皮膚及び眼に対する刺激性、皮膚感作性に関する情報はなかった。

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験(OECD TG 422)では、雄ラットには42日間、雌ラットには交配前14日間から哺育3日まで、それぞれ0, 100, 300, 1,000 mg/kg/dayを強制経口投与した。雄ではいずれの投与群においても死亡及び一般状態の異常は観察されなかった。また、42日間反復投与後の剖検、病理組織学的検査、血液学検査及び血液生化学検査でも、投与の影響を示唆する所見または異常値は認められなかった。雌でもいずれの投与群においても死亡及び一般状態の異常は観察されなかった。分娩後4日の剖検及び病理組織学的検査においても投与の影響を示唆する所見は認められなかった。反復経口投与のNOAELは1,000 mg/kg/dayと考えられた。

上述の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験において、最高投与量の1,000 mg/kg/dayでも交尾能及び受胎率に影響はみられなかった。また、母動物の妊娠期間、出産率、分娩状態及び哺育状態に投与の影響を示唆する変化は認められなかった。出生児の性比、体重及び生存率に、投与の影響を示唆する変化は認められなかった。また、出生児の形態異常は

いずれの投与群にも観察されなかった。生殖発生毒性のNOAELは1,000 mg/kg/dayと考えられた。

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果はS9mix存在下及び非存在下のいずれでも陰性であった。チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験では、いずれの連続処理及びS9mix存在下及び非存在下のいずれの短時間処理でも染色体の構造異常及び倍数体の誘発傾向は観察されなかったため、染色体異常試験は陰性と判断された。

発がん性に関する情報はなかった。

#### 2, 4-Diamino-6-phenyl-1, 3, 5-triazine (91-76-9) (ICCA 日本企業作成) (SIAM 13)

本化学物質はベンゾグアナミン-ホルムアルデヒドの中間体として使用される。

トキシコキネティクスに関する情報はなかった。

単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) では0, 250, 500, 1,000, 2,000 mg/kgを投与したところ、雌雄とも1,000 mg/kg以上の投与で死亡がみられた。死亡例では、前胃で肉眼的に粘膜の肥厚、病理組織学的に粘膜下組織の浮腫がみられ、脾臓及び胸腺では肉眼的及び病理組織学的に萎縮がみられた。また、膀胱では濃緑色尿の貯留がみられた。生存例では、前胃に肉眼的に粘膜の白色点がみられ、病理組織学的には粘膜に扁平上皮の過形成がみられた。これらより、ラットでの経口LD<sub>50</sub>は雄で933 mg/kg、雌で1,231 mg/kgであった。

吸入毒性試験 (OECD TG 403) では、ラットでの吸入LC<sub>50</sub>は2.932mg/L (4時間)であった。

ウサギにおいて、皮膚への刺激性はなく、眼への刺激性は軽度であった。皮膚感作性に関する情報はなかった。

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422) では、雌雄ラットに少なくとも39日間、それぞれ0, 4, 20, 100 mg/kg/dayを強制経口投与した。雌雄の100 mg/kg/dayで1例ずつの死亡がみられた。雄の血液学検査では、100 mg/kg/dayの赤血球数及びヘマトクリット値の減少及び網状赤血球率の増加が認められた。雄の血液生化学検査では、100 mg/kg/dayでアルブミン、A/G比、GOT、GPT、総コレステロール、リン脂質及び総ビリルビンの増加ならびにトリグリセライド、ナトリウム及びカリウムの減少が認められた。100 mg/kg/dayの雄で肝臓重量の増加がみられ、病理組織学的には雌雄で小葉中心性肝細胞肥大が認められた。また、死亡例では、100 mg/kg/dayの雄1例で回腸の粘膜固有層から漿膜にかけて好中球性の細胞浸潤及び肉芽形成がみられたほか、腺胃のびらん、肺の水腫、脾臓の萎縮、胸腺の萎縮及び出血がみられ、同群の雌1例で腺胃のびらん、肺の水腫、脾臓の萎縮及び副腎の壊死が認められた。これらに結果から、ラットにおける反復経口投与のNOAELは20 mg/kg/dayと考えられた。

90日間反復経口投与毒性試験 (OECD TG 408) に従い、雄ラットに90日間0, 1.9, 19.0, 173.0 mg/kg/dayを混餌投

与した反復投与毒性試験では、死亡はみられず、173.0 mg/kg/dayにおいて、雌雄ラットで弓なり姿勢、立毛、体重増加量の減少、摂餌量の減少がみられた。血液化学では、雌雄ラットでGPT及びビリルビンが増加し、雌の肝臓重量が増加した。病理組織学的検査では、小葉中心性肝細胞肥大、脾髄外造血の亢進、副腎球状帯細胞の異常発達及び空胞形成、炎症細胞の湿潤を伴う膵臓外分泌細胞の退化が観察された。また、ヘモジリン色素沈着の増加が雌雄ラットの腎臓及び脾臓で観察された。19 mg/kg/dayの雄では脾臓のヘモジリン色素沈着の増加が投与に関連した唯一の病理組織学的変化として認められたが、この変化は穏やかであり、他の影響は観察されなかった。これらの結果にもとづき、混餌による反復経口投与のNOAELは19 mg/kg/dayと考えられた。

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422) では、雄ラットには交配の14日前から49日間、雌ラットには交配前14日間から哺育3日まで、それぞれ0, 4, 20, 100 mg/kg/dayを強制経口投与した。親動物の生殖機能に関しては、性周期、黄体数、交尾率、着床痕数、授(受)胎率及び交尾所要日数に投与の影響は認められなかった。分娩時の検査では、100 mg/kg/dayの2例で分娩直後の児の回集及び保温の不良などが認められた。さらに、100 mg/kg/dayで死産率の増加及びそれに伴う出生率の減少、雌雄新生児体重の減少が認められた。各群とも妊娠期間、出産児数、出産率、新生児数及び新生児の性比では投与の影響はみられず、新生児の外表検査においても、異常は認められなかった。哺育期の検査では、20 mg/kg/dayの2例及び100 mg/kg/dayの7例で児の回集、授乳、保温などの哺育行動の不良がみられ、これらの母動物では全児が死亡した。また、20 mg/kg/day以上では母動物の哺育行動の不良に起因した新生児の4日の生存率の減少が認められた。さらに、100 mg/kg/dayでは新生児の哺育4日の体重に低値が認められた。これらより、雄では100 mg/kg/dayで影響がみられず、雌では20 mg/kg/dayで哺育行動の異常がみられた。最高用量でも児に形態異常はみられなかった。これらの結果から、生殖毒性のNOAELは100 mg/kg/day (雄)、4 mg/kg/day (雌)であった。また、100 mg/kg/dayで児の体重減少がみられたので、発生毒性のNOAELは20 mg/kg/dayであった。

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果はS9mix存在下及び非存在下のいずれでも陰性であった。チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験では、連続処理法の48時間処理及びS9mix存在下の短時間処理で染色体構造異常の誘発作用が認められた。また、連続処理法の48時間処理による試験では、倍数体の誘発作用が認められた。連続処理法の24時間処理による試験では、用量に依存した染色体構造異常の誘発作用が認められた。ヒト・リンパ培養細胞を用いた染色体異常試験では、S9mix存在下及び非存在下のいずれでも本化学物質の溶解限度内では染色体構造異常の誘発作用は認められず、S9mix非存在下で溶解限度を超え

ると染色体構造異常の誘発作用が認められた。マウス・リンフォーム培養細胞を用いた遺伝毒性試験では、結果は陰性であったが、S9mix存在下で溶解限度を超えると遺伝毒性の誘発作用が認められた。In vivoでのマウスの小核試験で投与可能な最高投与量での結果が陰性であったことから、本化学物質はin vivoでは遺伝毒性を発現しないと考えられた。発がん性に関する有効な情報はなかった。

## 2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA) (868-77-9) (ICCA 日本企業作成) (SIAM 13)

本化学物質は塗料、接着剤、コーティング剤、歯科用接着剤等に含まれる合成ポリマーのモノマーとして使用される。In vitroでは1日で80%以上が加水分解される。In vivoでのトキシコキネティクスに関する情報は無い。

急性毒性は弱く、急性毒性試験では、経口LD<sub>50</sub>は4,000 mg/kg以上、経皮LD<sub>50</sub>は3,000 mg/kg以上であった。

ウサギの皮膚に対して弱い刺激性がみられた。ウサギの眼に対して中程度の刺激性がみられ、モルモットの皮膚に対して弱い感作性を示したが、フロイント・アジュバントの注入でのみ陽性を示し、本化学物質の単独塗布では感作性は認められなかった。ヒトの皮膚でのパッチテストで感作性が示され、他のアクリル酸塩との交差反応の可能性が考えられた。

本化学物質はメタクリル酸とエチレングリコールに加水分解される。他のアクリル酸塩及びメタクリル酸塩では、methylacrylic acid (MAA) (SIAM 11で議論)へ加水分解された後、吸入による鼻腔の損傷が報告されている、この影響はHEMAについては調べられていない。

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422) では、雄ラットには交配の14日前から49日間、雌ラットには交配前14日間から哺育3日まで、それぞれ0, 30, 100, 300, 1,000 mg/kg/dayを強制経口投与した。雄では1,000 mg/kg/dayで流涎がみられ、1/12が死亡した。1,000 mg/kg/dayで体重増加抑制、摂餌量減少がみられた。すべての投与群で血液学検査の各検査項目に投与による影響はみられなかった。血液生化学検査では30 mg/kg/day以上で尿素窒素の高値あるいはその傾向、1,000 mg/kg/dayでカリウム、塩素及び無機リンの高値及びトリグリセライドの低値がみられた。剖検では各投与群とも投与による影響はみられなかった。死亡例では胸腺及び肺の暗赤色化、副腎の肥大がみられた。100 mg/kg/day以上で腎臓の相対重量の高値、1,000 mg/kg/dayで肝臓の相対重量の高値がみられた。病理組織学的検査では、1,000 mg/kg/dayで腎臓に尿管拡張及び集合管拡張がみられた。雌では1,000 mg/kg/dayで流涎、自発運動の低下、腹臥位、流涙、被毛の汚れ、表皮温下降及び呼吸緩徐がみられ、6/12が死亡した。1,000 mg/kg/dayで交配前投与期間の体重増加抑制及び摂餌量減少がみられた。剖検所見では1,000 mg/kg/dayで胸腺の萎縮及び副腎の肥大がみられた。100 mg/kg/day以上で腎臓の絶対重量の高値あるいはその傾

向、1,000 mg/kg/dayで腎臓の絶対・相対重量の高値がみられた。病理組織学的検査では1,000 mg/kg/dayで腎臓の髄質及び乳頭部への好中球湿潤、延髄の広範な軟化がみられた。雄での100 mg/kg/dayにおける腎臓の相対重量の増加、雌での100 mg/kg/dayにおける腎臓の絶対重量の増加を根拠に、ラットにおける反復経口投与のNOAELは30 mg/kg/dayと考えられた。

上述の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験においては生殖発生毒性に関するいずれの指標にも本化学物質投与の影響は認められなかったことから、ラットにおける生殖発生毒性のNOAELは1,000 mg/kg/dayと判断された。

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果はS9mix存在下及び非存在下のいずれでも陰性であった。チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験は代謝活性の存在下及び非存在下で陽性であった。In vivoでのラットの小核試験で投与可能な最高投与量での結果が陰性であったことから、本化学物質はin vivoでは遺伝毒性を発現しないと考えられた。

発がん性に関する情報はなかった。

## 1,3-Bis(aminomethyl) benzene (1477-55-0) (ICCA 日本企業作成) (SIAM 13)

本化学物質は主に、エポキシ樹脂硬化剤、ポリウレタン、有機合成などに使用される。

トキシコキネティクスに関する情報はなかった。溶液はアルカリ性で、腐食性がある。

単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) では、ラットでの経口LD<sub>50</sub>は1,090 mg/kg (雄), 980 mg/kg (雌)、マウスでの経口LD<sub>50</sub>は1,180 mg/kgであった。ラットでの急性吸入毒性のLC<sub>50</sub> (4 h)は1.42 mg/L以上 (雄), 0.8 mg/L (雌)であった。毒性は接触部位における腐食性によるもので、経口/吸入毒性では消化管/呼吸器系障害であった。

皮膚腐食性 (ラットとマウス) 及び感作性 (モルモット) が認められた。

28日間反復経口投与毒性試験 (OECD TG 407) に準拠した化審法ガイドラインの28日間反復経口投与毒性試験に従い、雌雄ラットに28日間、それぞれ0, 10, 40, 150, 600 mg/kg/dayの用量を強制経口投与した。動物数は1群雌雄各6匹とし、7群を設け、5群は投与終了後屠殺群、2群は対照及び600 mg/kg/dayの14日間回復群とした。10, 40, 150 mg/kg/dayでは被検物質の投与に起因する変化は認められなかった。600 mg/kg/dayでは、流涎、自発運動の低下、立毛、腹部膨満などの症状が雌雄に、摂餌量の減少及び体重増加の抑制が雄に認められ、雄の1例及び雌の4例が死亡した。さらに、胃の前胃粘膜に潰瘍及び角化亢進を伴う上皮の過形成、骨髓に顆粒球系造血細胞の増加、副腎に皮質細胞の肥大・空胞化、盲腸の拡張が雌雄に、白血球好中球比、尿タンパク及び血清無機リンの増加、血色素量及びヘマトクリット

値の減少、プロトロンビン時間の延長、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が雄に、トリグリセライドの増加が雌に認められた。回復期間後には、前胃部粘膜の変化は回復傾向を示し、その他の変化はいずれも回復した。この28日間投与試験からはNOAELは150 mg/kg/dayと考えられた。

雌雄ラットに少なくとも41日間、それぞれ0, 50, 150, 450 mg/kg/dayの用量を強制経口投与した簡易生殖毒性試験(OECD TG 421)によると、150 mg/kg/dayの雄1例及び450 mg/kg/dayの雄3例、雌1例が死亡した。被検物質投与による症状として、150 mg/kg/dayの雄及び450 mg/kg/dayの雌雄で流涎、鼻音、不整呼吸、腹部膨満及び鼻分泌物が認められた。また、450 mg/kg/dayの雌雄で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。病理組織学的検査では投与の直接作用によると考えられる前胃の潰瘍、角化亢進を伴った扁平上皮増生等が450 mg/kg/dayの雌雄に認められた。なお、生殖器系には投与に起因する所見は観察されなかった。

経口投与簡易生殖毒性試験(OECD TG 421)によるNOAELのほうが低いことから、ラットにおける反復経口投与のNOAELは50 mg/kg/dayとされた。

上述の経口投与簡易生殖毒性試験では、生殖発生毒性に関するいずれの指標にも本化学物質投与の影響は認められなかったことから、ラットにおける生殖発生毒性のNOAELは450 mg/kg/dayと考えられた。

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果はS9mix存在下及び非存在下のいずれでも陰性であった。チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験では、いずれの連続処理及びS9mix存在下及び非存在下のいずれの短時間処理

でも染色体の構造異常及び倍数体の誘発は観察されなかったため、染色体異常試験は陰性と判断された。

発がん性に関する情報はなかった。

製造工場の労働者における臨床観察の結果、この物質は胃腸への刺激性を持ち、また、0.1 mg/m<sup>3</sup> (米国の職業閾値限界) 以下の濃度で労働者に接触感作反応を引き起こすことが示されている。

#### おわりに

本稿では、第12回及び第13回初期評価会議で合意された日本担当の6物質についての、ヒトへの健康影響部分を紹介した。SIAMで合意された物質については、初期評価文書が出版されたのち、インターネットのOECD webサイト (<http://cs3-hq.oecd.org/scripts/hpv/>) で報告書の入手が可能である。

#### 引用文献

- 1) Hasegawa, R., Nakadate, M. and Kurokawa, Y.: *J. Toxicol. Sci.*, 24, app.11-19 (1999)
- 2) Hasegawa, R., Kamata, E., Hirose, A., Kanno S., Hukuma, K., Takatsuki, M., Nakadate, M. and Kurokawa, Y.: *J. Toxicol. Sci.*, 24, app.85-92 (1999)
- 3) Hasegawa, R., Koizumi, M., Kamata, E., Hirose, A., Kanno S., Takatsuki, M., and Kurokawa, Y.: *J. Toxicol. Sci.*, 25, app.83-96 (2000)
- 4) Hasegawa, R., Koizumi, M., Hirose, A., Sugawara N., and Kurokawa, Y.: *J. Toxicol. Sci.*, 26, app.35-41 (2001)



## 化粧品に配合が制限されている成分の分析法に関する研究 ：安息香酸ナトリウム

徳永裕司<sup>#</sup>, 森 謙一郎<sup>\*1</sup>, 野坂富雄<sup>\*2</sup>, 土井佳代<sup>\*3</sup>, 坂口 洋<sup>\*4</sup>, 藤井まき子<sup>\*5</sup>,  
高野勝弘<sup>\*6</sup>, 林 正人<sup>\*7</sup>, 吉沢賢一<sup>\*8</sup>, 島村公雄<sup>\*9</sup>, 佐藤信夫<sup>\*10</sup>

Studies for analyzing the restricted ingredients such as sodium benzoate

Hiroshi Tokunaga, Kenichiro Mori<sup>1</sup>, Tomio Nosaka<sup>2</sup>, Kayo Doi<sup>3</sup>, Hiroshi Sakaguchi<sup>4</sup>, Makiko Fujii<sup>5</sup>,  
Katuhiro Takano<sup>6</sup>, Masato Hayashi<sup>7</sup>, Kenichi Yoshizawa<sup>8</sup>, Kimio Shimamura<sup>9</sup>, Nobuo Sato<sup>10</sup>

Sodium benzoate is a kind of preservatives in cosmetics and is nominated as the restricted ingredients in cosmetics in Japanese Pharmaceutical Affairs Act. So the analytical method for sodium benzoate was investigated by HPLC. After adding 5 ml of tetrahydrofuran to 0.05 g of the lotions or creams with 0.1 or 1.0 % sodium benzoate and dissolving them, that mixture was made up to 50 ml with methanol. If necessary, the mixture was filtrated with a membrane filter (0.45  $\mu$  m). The testing solution of 20  $\mu$  l was analyzed by HPLC using the ODS column (CAPCELL PAK C<sub>18</sub> column, 4.6x250 mm), the mixture of 50 mmol/l phosphate buffer(pH5.5) and acetonitrile (7:3) and the detection wavelength of 227nm. The working curve from 1.0 to 12.0  $\mu$  g/ml showed a linear line between the concentrations of sodium benzoate and the peak area. There was no interference of peak of sodium benzoate from the lotion and cream.

Key Words: sodium benzoate, preservatives, Japanese Pharmaceutical Affairs Act, lotion, cream

### 1. 緒言

平成13年4月1日より、化粧品の承認・許可に当たっての規制緩和が行われ、化粧品に使用される成分のポジティブリスト、ネガティブリストの採用および製品に用いられた全成分の表示が義務付けられた。化粧品基準第4条の別表3<sup>1)</sup>に化粧品に使用することのできる防腐剤が定められている。この中で安息香酸ナトリウム(SB)は化粧品100g中に1gまで使用することが認められている。食品中のSBおよびソルビン酸カリウムの液体クロマトグラフ法<sup>2)</sup>、口腔トニック中の水溶性ビタミン、カフェインおよび防腐剤の液体クロマトグラフ法<sup>3)</sup>、去痰剤中の dextromethorphan hydrobromide, guaifenesin および SB の液体クロマトグラフ法<sup>4)</sup>などが報告されている。

今回、著者らは、化粧品に使用が認められているSBの化

粧水およびクリーム中での分析法として CAPCELL PAK C<sub>18</sub> カラムを用いた液体クロマトグラフ法を検討したので報告する。

### 2. 実験

#### 2.1 装置

液体クロマトグラフ(HPLC)装置は、島津製 LC-10A 型ポンプ、島津製 CTO-10A 型カラムオーブン、島津製 SPD-6AV 型紫外可視検出器、島津製 L-10AXL 型オートサンプラーおよび島津製 C-R6A 型クロマトパックを連結して用いた。SB の吸収スペクトルの測定には、島津製 UV-260 型紫外可視分光光度計を用いた。

#### 2.2 試薬および試液

SB, フェノキシエタノール (PE) およびメチルパラベン (MP) は和光純薬製のものを用いた。液体クロマトグラフ用カラムの CAPCELL PAK C<sub>18</sub> は資生堂より購入した。化粧水およびクリームは SB1.0% および 0.1% を含む製品をカネボウ株式会社で試作し、試験に供した。

SB 標準溶液: SB25.0 mg を水に溶かし 50.0 mL とした。(0.5 mg/mL)

PE 標準溶液: PE25.0 mg を水に溶かし、正確に 50.0 mL とした。この液 2 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100 mL とした。(10  $\mu$  g/mL)

### 脚注

\*脚注: \* To whom correspondence should be addressed: Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo, 158-8501, Japan: Tel: 03-3700-1141 ext.253; Fax: 03-3700-9291; E-mail: tokunaga@nihs.go.jp

\*<sup>1</sup> 東京都衛生研究所, \*<sup>2</sup> 埼玉県衛生研究所, \*<sup>3</sup> 神奈川県衛生研究所, \*<sup>4</sup> 北里大理学部, \*<sup>5</sup> 昭和薬科大学, \*<sup>6</sup> 日本化粧品工業連合会, \*<sup>7</sup> 資生堂リサーチセンター, \*<sup>8</sup> ポーラ化成工業(株)中央研究所, \*<sup>9</sup> カネボウ化粧品(株)化粧品研究所, \*<sup>10</sup> コーセー(株)研究本部

MP標準溶液：MP25.0 mgを水に溶かし、正確に50.0 mLとした。この液2 mLを正確に量り、水を加えて正確に100 mLとした。(10  $\mu$  g/mL)

リン酸水素二ナトリウム試液：リン酸水素二ナトリウム7.10 gを水1000 mLに溶かした。(50 mmol/L)

リン酸二水素カリウム試液：リン酸二水素カリウム6.80 gを水1000 mLに溶かした。(50 mmol/L)

50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH 5.5)：リン酸二水素カリウム試液500 mLにリン酸水素二ナトリウム試液を加え、pHを5.5に調整した。

### 2.3 定量法

試料約0.05 gを精密にはかり、テトラヒドロフラン5 mLに溶かし、メタノールを加えて50.0 mLとする。不溶物がある場合は、さらにメンブランフィルター(0.45  $\mu$  m)でろ過を行い、これを試験溶液とする。試験溶液20  $\mu$  Lを高速液体クロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムピーク面積をはかり、別に作成した検量線から試験溶液中の安息香酸ナトリウムの濃度A ( $\mu$  g/mL)を求め、次式により試料100 g中の含有量を算出した。

$$\text{試料100 g中の安息香酸ナトリウム含有量 (mg)} = (A \times 50) / \text{試料採取量} \times 1/10$$

検量線の作成：SB標準溶液をメタノールで希釈し、1 mL当たりSB5.0, 10.0および15.0  $\mu$  gを含む標準系列をつくり、各20  $\mu$  Lを高速液体クロマトグラフに注入し、得られたそれぞれのピーク面積と濃度から検量線を作成した。

操作条件

検出器：紫外吸光度計(測定波長：227 nm)

カラム：CAPCELL PAK C<sub>18</sub> (4.6 x 250 mm)

移動相：50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH 5.5) / アセトニトリル混液(97:3)

カラム温度：35°C付近の一定温度

流量：1 mL/min

## 3. 結果および考察

検討に用いた試料溶液は、SB標準溶液の一定量を水で希釈し、1 mL当たり10  $\mu$  gの濃度に調製し、試料溶液とした。

### 3.1 紫外外部吸収スペクトル

試料溶液を用いて紫外外部吸収スペクトルを測定し、その結果をFig.1に示した。

測定したSBの吸収極大波長は227 nmであった。この波長を検出波長とすることにした。

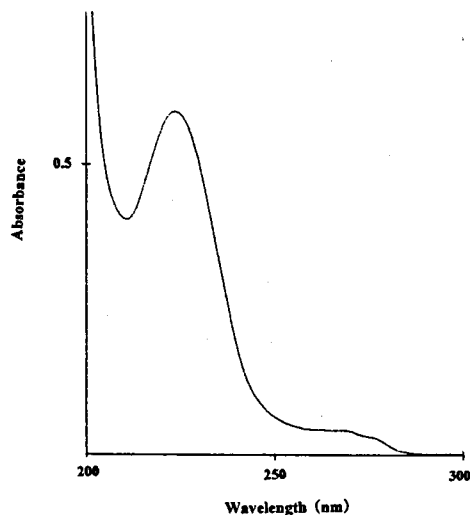


Fig.1 UV spectrum for sodium benzoate at 10  $\mu$  g/ml

### 3.2 アセトニトリルの影響

以下の液体クロマトグラフ法での条件検討では、試料溶液20  $\mu$  Lを用いた。

移動相として、50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH6.0)/アセトニトリル混液(100:0)~(95:5)を用い、アセトニトリルの影響について検討した。その結果をFig.2に示した。

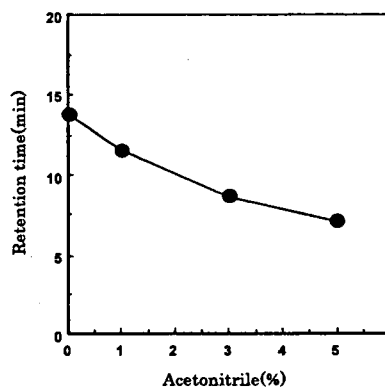


Fig.2 Effect of acetonitrile on retention time of sodium benzoate

Fig.2に示したように、50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH6.0)/アセトニトリル混液(100:0)~(95:5)を用いた時、SBの保持時間( $t_R$ )は13.7~7.1分に変化した。この結果より、 $t_R$  8.7分を示した50 mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH6.0)/アセトニトリル混液(97:3)を用いることにした。

### 3.2 pHの影響

50 mmol/Lリン酸塩緩衝液/アセトニトリル混液(97:3)に用いられているリン酸塩緩衝液のpHを4.5~7.0に変化さ

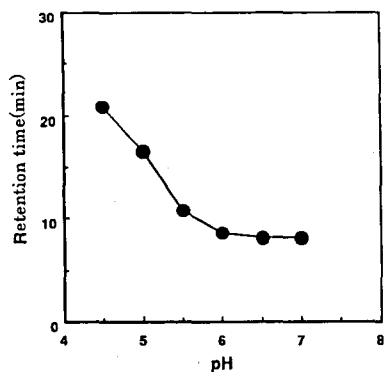


Fig.3 Effect of pH of the mobile phase on retention time of sodium benzoate

せて検討し、その結果を Fig.3 に示した。

リン酸塩緩衝液の pH が 4.5 ~ 6.0 に変化するに従い、 $t_R$  は 21.0 ~ 8.7 分に変化した。しかし、pH が 6.0 ~ 7.0 では、 $t_R$  はほとんど変化しなかった。これらの結果より、50 mmol/L リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) / アセトニトリル混液 (97:3) を用いることを考えたが、クリーム中の SB の測定に適用したとき、クリームの溶解に用いたテトラヒドロフランに由来するピークが安息香酸のピークと一致した。そこで、化粧水およびクリームの測定には、50 mmol/L リン酸塩緩衝液 (pH 5.5) / アセトニトリル混液 (97:3) を用いることにした。

### 3.3 リン酸塩緩衝液のイオン強度及びカラム温度

リン酸塩緩衝液のイオン強度を 25 ~ 100 mmol/L に変化させた。安息香酸の保持時間はほとんど変化がなかった。また、カラム温度を 25 ~ 40°C に変化させた。保持時間は僅かに低下した。この結果より、50 mmol/L リン酸塩緩衝液 (pH 5.5) / アセトニトリル混液 (97:3) 及び 35°C を用いることにした。

### 3.4 SB のクロマトグラムおよび検量線

1% の SB を含有するクリームを用い、2.3 の定量法で調製した試料溶液を用い、HPLC の操作条件で得られたクロマトグラムを Fig.4 に示した。

Fig.4 から分かるように、今回検討した SB は試作したクリーム中の成分の影響もなく測定できることが明らかになった。クロマトグラムを示さなかったが、化粧水の場合にも同様の結果を得た。

SB の 1.0 ~ 12.0  $\mu\text{g/mL}$  を含む溶液を調製し、この液 20  $\mu\text{L}$  を用い、検量線を作成した。得られた回帰一次方程式は  $y = 5.082 \times 10^4 x + 2962$  ( $r^2 = 0.997$ ) であった。SB 濃度とピーク面積の間には良好な直線関係が成立した。SB 1.0  $\mu\text{g/mL}$  及び 10.0  $\mu\text{g/mL}$  の溶液 20  $\mu\text{L}$  を用い、6 回の繰り返し注入を行い、そのピーク面積を求めた。それらの平均値は、それぞれ、51552 及び 502353 であり、それらの相対標準偏差は 4.30 及び 0.62% であった。

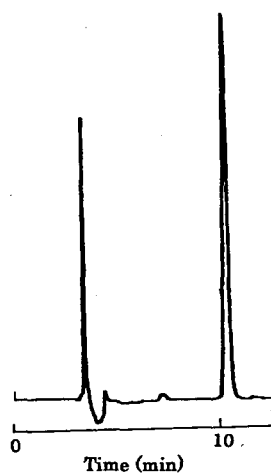


Fig.4 HPLC chromatogram for a cream containing 1.0% sodium benzoate

化粧品には防腐剤として、PE および MP が一般に用いられている。PE および MP との分離を考え、PE および MP の標準溶液 20  $\mu\text{L}$  を用いて検討した。PE および MP の保持時間は、それぞれ、約 20 分および約 44 分であった。

### 3.5 化粧品への応用

クリームの場合、基材から SB を完全にメタノール、エタノールで溶媒抽出することは困難である。そこで、一定量のクリームを 5 mL のテトラヒドロフランに溶かし、次に、メタノールで一定濃度にして測定することを検討した。1.0% の SB を含むクリーム 0.5g を 5 mL テトラヒドロフランに溶かし、メタノールで正確に 50.0 mL にメスアップした。この液 5.0 mL を正確に量り、メタノールにて正確に 50.0 mL とし、試料溶液にした。この液 20  $\mu\text{L}$  を用い、液体クロマトグラフ法を行った。6 回の繰返実験から得られた回収率の平均値および RSD (%) は、それぞれ、87.7% および 2.68% であった。次に、1.0% の SB を含むクリーム 0.05g を 5 mL テトラヒドロフランに懸濁させ、メタノールで正確に 50.0 mL にメスアップし、試料溶液にした。この液 20  $\mu\text{L}$  を用い、液体クロマトグラフ法を行った。6 回の繰返実験から得られた回収率の平均値および RSD (%) は、それぞれ、102.6% および 1.46% であった。この結果より、クリーム 0.05g を用いた 2.3 の定量法を確立した。

試作した 1.0% および 0.1% の SB を含む化粧水およびクリームを用い、2.3 の定量法で操作したときに得られた測定結果を Table 1-1 ~ 1-4 に示した。

Table 1-1 ~ 1-4 から分かるように化粧水およびクリーム中の SB は今回確立した測定法で十分に測定できることが明らかになった。

Table 1-1 Amount of sodium benzoate in the lotion containing 1.0% sodium benzoate

	weight (mg)	Peak area 1	Peak area 2	average	amount (%)
St. solution	25.1	563413	563413	563413	
Lotion 1	500.3	564456	569415	566936	1.002
Lotion 2	503.9	600885	581624	591255	1.037
Lotion 3	499.1	594498	591126	592812	1.050
Lotion 4	504.7	583425	587667	585546	1.026
Lotion 5	502.8	568449	582767	575608	1.012
Lotion 6	496.9	586673	582810	584742	1.040
				mean	1.028
				R.S.D (%)	1.78

Table 1-2 Amount of sodium benzoate in the lotion containing 0.1% sodium benzoate

	weight (mg)	Peak area 1	Peak area 2	average	amount (%)
St. solution	25.1	531536	540374	535955	
Lotion 1	502.9	50387	49492	49940	0.092
Lotion 2	500.4	52032	51457	51745	0.096
Lotion 3	497.6	49957	48834	49396	0.092
Lotion 4	501.2	50141	51456	50799	0.094
Lotion 5	504.3	47252	50512	48882	0.090
Lotion 6	501.4	51319	50486	50903	0.094
				mean	0.093
				R.S.D (%)	2.26

Table 1-3 Amount of sodium benzoate in the cream containing 1.0% sodium benzoate

	weight (mg)	Peak area 1	Peak area 2	average	amount (%)
St. solution	25.1	570333	573830	572082	
Lotion 1	49.8	581880	582696	582288	1.018
Lotion 2	49.5	578832	576799	577816	1.016
Lotion 3	50.3	589375	588104	588740	1.019
Lotion 4	49.1	572892	569956	571424	1.013
Lotion 5	50.0	597570	604918	601244	1.047
Lotion 6	49.2	588206	589751	588979	1.042
				mean	1.026
				R.S.D (%)	1.46

Table 1-4 Amount of sodium benzoate in the cream containing 0.1% sodium benzoate

	weight (mg)	Peak area 1	Peak area 2	average	amount (%)
St. solution	25.1	531536	540374	535955	
Lotion 1	494.4	50442	51146	50794	0.095
Lotion 2	496.3	49543	49728	49636	0.093
Lotion 3	500.9	52024	52437	52231	0.097
Lotion 4	500.8	54619	53666	54143	0.100
Lotion 5	504.4	54951	55335	55143	0.102
Lotion 6	502.4	52210	52434	52322	0.097
				mean	0.097
				R.S.D (%)	3.29

## 文献

- 1) Notification No.331 dated on September 9, 2000
- 2) Pylypiw H.M Jr., Grether M.T.: J.Chromatogr., 23, 299-304(2000)
- 3) Maeda Y., Yamamoto M., Owada K., Sato S., Masui T., Nakazawa H.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72, 244-247(1989)
- 4) Chen T.M., Pacifico J.R., Daly R.E.: J. Chromatogr. Sci., 26, 636-639(1988)

平成15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\*・木下博貴・古川みづき・中野真希・吉井公彦・外海泰秀

Estimated Production by the Official Inspection of Tar Colors  
(Including Aluminum Lakes) in Fiscal Year 2003

Sumiko Tsuji\*, Hirotaka Kinoshita, Mizuki Furukawa,  
Maki Nakano, Kimihiko Yoshii and Yasuhide Tonogai

There were 197 official inspections of tar colors and their lakes in fiscal year 2003, the two of their samples were rejected, and the other were qualified.

Total production amount of tar colors that passed inspection in Japan in fiscal year 2003 reached 147.9 tons. Tar color production amounts were described by month and by manufacturer. The food tar color produced in the largest amount was Food Yellow No. 4, accounting for 41.7% during this period.

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

化学的合成品である合成着色料の主たる食用タール色素はタール色素12品目とそのアルミニウムレーキ8品目が食品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、検定に合格した検体の申請数量のみが販売されている。

わが国における食用タール色素の製品検査は昭和23年に国立衛生試験所（現国立医薬品食品衛生研究所）で始まったが、昭和28年には東日本の製造者分は東京本所で、西日本の製造者分は大阪支所で検査を実施することになり、更に平成2年から全ての製品検査は大阪支所食品試験部で一括して検査されてきた<sup>1-13)</sup>。しかし、平成16年2月27日の食品衛生法施行令の改正<sup>14)</sup>により、国立機関での製品検査が終了することになった。したがって、平成15年度（F.Y.2003）は当所への食用タール色素の申請数量により、検定に合格した食用タール色素の製造量が把握できる最終年度である。

各保健所からの申請手続き回数及び申請件数はロットサイズの規制が無制限<sup>15)</sup>になって以来、漸時減少傾向<sup>9-13)</sup>であったが、Table1に示したように平成15年度（F.Y.2003）は62回及び197件に増加した。

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

Prefecture	F. Y. 2003		F. Y. 2002	
	Sample number / Application times		Sample number / Application times	
Osaka	111	23	88	17
Saitama	44	15	33	10
Kanagawa	22	9	8	7
Tokyo	17	14	28	18
Nara	3	2	0	0
Total	197	63	157	52

平成15年度（F.Y.2003）に申請された検体の内訳は、食用赤色2号（R-2）、5件；食用赤色3号（R-3）、9件；食用赤色40号（R-40）、3件；食用赤色102号（R-102）、29件；食用赤色104号（R-104）、9件；食用赤色105号（R-105）、2件；食用赤色106号（R-106）、16件；食用黄色4号（Y-4）、47件；食用黄色5号（Y-5）、22件；食用緑色3号（G-3）、1件；食用青色1号（B-1）、24件；食用青色2号（B-2）、6件；食用赤色3号アルミニウムレーキ（R-3Al）、3件；食用赤色40号アルミニウムレーキ（R-40Al）、2件；食用黄色4号アルミニウムレーキ（Y-4Al）、7件；食用黄色5号アルミニウムレーキ（Y-5Al）、4件；食用青色1号アルミ

\*To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 296; Fax: 03-5717-7180; E-mail: tsuji@nihs.go.jp

ニウムレーキ(B-1A1), 5件; 食用青色2号アルミニウムレーキ(B-2A1), 3件であった。

タール色素及びタール色素レーキは, 第7版食品添加物公定書(JSFA-VII)<sup>16)</sup>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による)〕及び乾燥減量の規格値が設定されている。試験した検体のうちR-104の2検体中の臭化物が規格値を超えて不合格となり, 他は全て合格であった。平成15年度(F.Y.2003)に申請された検体のうち合格した195検体について, 各色素毎に月別及び製造者別の製造量統計を作成した。各色素の月別製造量をTable 2に, 製造者別製造量をTable 3に示した。

総量は平成14年度(F.Y.2002)113.6トンから平成15年度(F.Y.2003)147.9トンに上昇した。

各色素別では製造量の多いものからY-4, R-102, Y-5であり, 第3位まではここ13年間<sup>1-13)</sup>変化していなかった。平成13年度(F.Y.2001)には製造されていなかったR-40A1<sup>12)</sup>は平成14年度(F.Y.2002)に引き続き平成15年度も製造された。また平成14年度(F.Y.2002)には製造されていなかったG-3は, 平成8年度(F.Y.1996)<sup>7)</sup>製造以来5年振りの平成13年度(F.Y.2001)<sup>12)</sup>に製造されていたが, 平成15年度(F.Y.2003)は2年振りの不規則な製造であった。しかし, ここ13年間製造されていなかった食用赤色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)<sup>1-13)</sup>は平成15年度(F.Y.2003)も製造されなかった。

月別での色素製造量において, 例年になく1月及び2月に種々の色素の製造が見られた。

色素別製造量は, 第1位のY-4が48.2トン(色素別比率42.5%)から61.7トン(41.7%), 第2位のR-102も24.2トン(21.3%)から37.3トン(25.2%)と増加し, 第3位のY-5は20.0トン(17.6%)から20.5トン(13.8%)と僅かながら増加した。第4位はめずらしくB-1の8.0トン(5.4%), 第5位はR-106の4.2トン(2.8%)であり, それらの製造量合計は131.7トンであり, 総製造量の89.0%であった。

製造者別では平成14年度(F.Y.2002)の製造量が多かったB社が平成15年度(F.Y.2003)は第2位となった。平成14年度(F.Y.2002)には製造していなかったH社及びI社が新たに製造しており, ここ数年少量ながら製造し続けて来たJ社<sup>6-13)</sup>は平成15年度(F.Y.2003)には製造していなかつ

た。年間製造量の少ない製造者は毎年申請しているわけではなく, 平成15年度(F.Y.2003)の申請製造者は9社であった。

製造者別製造量は, 第1位のA社は15.9トン増加の51.5トン(製造者別比率34.8%)となり, 第2位のB社は4.8トン減少の37.1トン(25.1%)であり, 第3位のC社は10.9トン増加の30.6トン(20.7%)と倍近く増加していた。

#### 文献

- 1) Shibata, T., Kimura, M., Kawmoto, R., Kakiuchi, M., Tsuji, S. and Ito, Y.: *Eisei Shikenjo Hokoku*, **109**, 178-181 (1991)
- 2) Shibata, T., Kimura, M., Umamoto, M., Tsuji, S. and Ito, Y.: *Eisei Shikenjo Hokoku*, **110**, 128-131 (1992)
- 3) Shibata, T., Kimura, M., Umamoto, M., Tsuji, S. and Ito, Y.: *Eisei Shikenjo Hokoku*, **111**, 112-115 (1993)
- 4) Ishimitsu, S., Kimura, M., Umamoto, M., Tsuji, S. and Shibata, T.: *Eisei Shikenjo Hokoku*, **112**, 152-154 (1994)
- 5) Ishimitsu, S., Umamoto, M., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: *Eisei Shikenjo Hokoku*, **113**, 97-100 (1995)
- 6) Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **114**, 102-105 (1996)
- 7) Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **115**, 171-174 (1997)
- 8) Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S., Tonogai, Y. and Shibata, T.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **116**, 153-156 (1998)
- 9) Tsuji, S., Okada, M., Matsumura, I., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **117**, 185-188 (1999)
- 10) Tsuji, S., Okada, M., Amakura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **118**, 135-138 (2000)
- 11) Tsuji, S., Umino, Y., Amakura, Y., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **119**, 70-73 (2001)
- 12) Tsuji, S., Umino, Y., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **120**, 185-188 (2002)
- 13) Tsuji, S., Nakano, M., Furukawa, M., Nakamura, Y. and Tonogai, Y.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **121**, 51-53 (2003)
- 14) 官報, 第3798号, p. 5, 厚生労働省告示第44号, 平成16年2月27日(2004)
- 15) 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(1998)
- 16) "Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 7th ed., Japanese ed.", eds. by Ministry of Health and Welfare, Japan pp. 25-34, 294-315 (1999)

Table 2. Monthly production amounts of certified tar colors

Food Color	2004												F.Y.2003			F.Y.2002		
	Application month												Total	Ratio (%)	Total	Ratio (%)		
	2003	April	May	June	July	August	September	October	November	December	January	February					March	
R-2	350	---	---	1330	---	---	---	---	---	---	---	275	718.5	2673.5	1.807	2055.425	1.809	
R-3	923	---	---	600	250	---	595.5	149	---	---	---	151	315	2933.5	2.017	4723.375	4.157	
R-40	300	---	---	290	---	---	---	---	98	---	---	---	---	688	0.465	667.7	0.588	
R-102	2224.5	6573	1900	1400	1400	4630	---	3598.5	4000	---	---	8117.5	4895.5	37339	25.241	24224.8	21.320	
R-104	1350	900	---	---	---	---	---	---	---	---	---	30	900	3180	2.150	650	0.572	
R-105	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	99.75	150	249.75	0.169	99	0.087	
R-106	294	---	---	500	420	---	300	488.25	928.5	---	---	---	1036.5	4167.25	2.817	2316.5	2.039	
Y-4	172.5	2940	4820	5450	4820	3050	3519	6260	14347	2450	8931	8931	6997	61726.5	41.728	48237.4	42.453	
Y-5	2372	1502	500	700	500	3000	2428	3366.5	40	2950	2160	2160	1465	20483.5	13.847	20032.5	17.630	
G-3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	100.25	100.25	0.068	0	0.000	
B-1	---	330	272	600	272	1395	1600	350	---	---	---	979.25	2464.5	7990.75	5.402	4401.525	3.874	
B-2	---	---	---	---	---	110	---	545	300	---	---	159	100	1274	0.861	965	0.849	
R-2A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0.000	0	0.000	
R-3A1	---	---	---	---	100	---	280	---	320	---	---	---	---	700	0.473	4.875	0.004	
R-40A1	---	---	33.5	---	---	---	---	---	30	---	---	---	---	63.5	0.043	20	0.018	
Y-4A1	---	---	---	---	---	---	---	161	---	---	---	460	484.5	1105.5	0.747	1801	1.585	
Y-5A1	---	---	---	---	900	---	---	601	---	---	---	370	80.5	1951.5	1.319	2045.5	1.800	
G-3A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0.000	0	0.000	
B-1A1	160	---	---	300	---	---	---	---	---	---	---	---	410.5	870.5	0.588	1380.9	1.215	
B-2A1	---	200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	100.5	80	380.5	0.257	0	0.000	
F.Y.2003	8146	12445	9770	8295.5	9595	9480	7182.5	15519.25	20063.5	5400	21833	20197.75	147927.5					
Total	8146	12445	9770	8295.5	9595	9480	7182.5	15519.25	20063.5	5400	21833	20197.75	147927.5					
Monthly ratio (%)	5.51	8.41	6.60	5.61	6.49	6.41	4.86	10.49	13.56	3.65	14.76	13.65	100.00					
F.Y.2002	20200.5	6330	11736	10670	7672.25	5680	8290	9394	7701	6140.5	10420.75	9390.5	113625.5					
Total	20200.5	6330	11736	10670	7672.25	5680	8290	9394	7701	6140.5	10420.75	9390.5	113625.5					
Monthly ratio (%)	17.78	5.57	10.33	9.39	6.75	5.00	7.30	8.27	6.78	5.40	9.17	8.26	100.00					

(Unit: kg)

Table 3. The production amounts of certified tar colors according to manufacturers

(Unit: kg)

Food Color	Manufacturer										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
R-2	750	855	1068.5	---	---	---	---	---	---	---	
R-3	151	1457.5	475	300	600	---	---	---	---	---	
R-40	---	388	---	---	---	---	---	---	300	---	
R-102	16305	4039	8876.5	7298.5	500	320	---	---	---	---	
R-104	1300	30	---	1100	500	250	---	---	---	---	
R-105	150	---	---	99.75	---	---	---	---	---	---	
R-106	1130	1192	497	728.25	300	320	---	---	---	---	
Y-4	18298	17931.5	13269	10568	1200	---	460	---	---	---	
Y-5	10917	4161.5	3565	1020	500	320	---	---	---	---	
G-3	---	---	---	100.25	---	---	---	---	---	---	
B-1	1680	2850.5	1793.5	466.75	400	---	200	600	---	---	
B-2	110	319	545	---	---	300	---	---	---	---	
R-2A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
R-3A1	100	600	---	---	---	---	---	---	---	---	
R-40A1	---	63.5	---	---	---	---	---	---	---	---	
Y-4A1	300.5	460	345	---	---	---	---	---	---	---	
Y-5A1	80.5	1871	---	---	---	---	---	---	---	---	
G-3A1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
B-1A1	100.5	610	160	---	---	---	---	---	---	---	
B-2A1	100.5	280	---	---	---	---	---	---	---	---	
F.Y.2003											
Total	51473	37108.5	30594.5	21681.5	4000	1510	660	600	300	0	
Ratio (%)	34.80	25.09	20.68	14.66	2.70	1.02	0.45	0.41	0.20	0.00	
F.Y.2002											
Total	35617	41886.3	19662	8081.25	3500	4120	700	0	0	58.95	
Ratio (%)	31.35	36.86	17.30	7.11	3.08	3.63	0.62	0.00	0.00	0.05	



## 薬毒物分析法 web システムの構築

山本 都<sup>#</sup>, 森川 馨, 徳永雅彦<sup>\*1</sup>, 山本貴司<sup>\*1</sup>, 屋敷幹雄<sup>\*2</sup>, 奈女良昭<sup>\*2</sup>

### Development of the web system for analytical methods of toxic drugs and chemicals

Miyako Yamamoto<sup>#</sup>, Kaoru Morikawa, Masahiko Tokunaga<sup>\*1</sup>,  
Takashi Yamamoto<sup>\*1</sup>, Mikio Yashiki<sup>\*2</sup>, Akira Namera<sup>\*2</sup>

When poisoning or chemical incident occurs, it is important to examine and identify the causal substances rapidly to treat patients properly. In order to make it easily accessible for people who analyze samples, we developed the web system which provides the analytical methods of drugs and toxic compounds in biological samples such as blood and urine. The rapid analytical method using Test Kits and the instrumental analysis using GC/MS or HPLC are included. Photos of procedures and description on pitfalls during analysis are also included to make the system practically.

Keywords: web system, rapid analytical method, drug and toxic compound, poisoning, chemical incident

#### はじめに

薬毒物による中毒事件や化学災害など、化学物質による緊急の健康危害発生時には、被害者の治療や現場での化学物質処理などを適切に行うために、中毒起因物質の迅速な検査と特定が非常に重要である。そのためには、薬毒物の中毒の治療や分析に係わる医療機関その他の関係機関における薬毒物分析体制の充実が不可欠である。分析体制整備の一環として、例えば和歌山の毒物カレー事件を契機に全国の救命救急センター等に分析機器が配備された。こうした分析機器の配備などハード面の充実や高感度分析法の開発などと併せ、薬毒物の分析に係わる関係者を対象とした分析法の周知や技術のレベルアップが重要である。したがって、薬毒物による中毒事故・事件発生時の原因物質の推定に必要な迅速検査法や分析技術に関する知識をより多くの関係者が共有し活用できるツールとして、web で利用できる薬毒物分析法システムを構築した。

\*1 (株) アドイン研究所

\*2 広島大学大学院法医学

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:

Miyako Yamamoto; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:03-3700-1141 ext.573;  
Fax:03-3700-1483; E-mail: yamamoto-my@nihs.go.jp

#### 方法

薬毒物による中毒事故の起因物質推定のための検査法については、広島大学が、市販の簡易キットなどを活用した生体試料の迅速検査法や薬毒物試験法などに記載されている機器分析法を集約し、改良するなど整備を進めてきている<sup>1-3)</sup>。今回、広島大学と共同で、本大学が集約したこれらの方法をわかりやすく示した薬毒物分析法 web システムを構築した<sup>4,5)</sup>。システムの開発は(株)アドイン研究所が担当した。

#### 1. 収載対象の薬毒物及び分析法

広島大学が集約・整備した迅速分析法及び機器分析法の対象物質は以下の15種類である。これらは、「日本中毒学会分析委員会」が中毒起因物質の迅速な分析が治療に役立つと考えられる薬毒物として提言したものである<sup>6)</sup>。

青酸化合物, パラコート, ヒ素, 有機リン系農薬,  
グルホシネート, メタノール, メタンフェタミン,  
アセトアミノフェン, サリチル酸, テオフィリン,  
バルビツール酸, ベンゾジアゼピン系,  
ブロムワレリル尿素, カーバメート系農薬,  
三環系・四環系抗うつ薬

これらの薬毒物について、市販キットを中心とした迅速検査法及び機器分析 (GC/MS, HPLC など) による同定・定量法を体系的にまとめ、本システムに搭載した。操作手順や

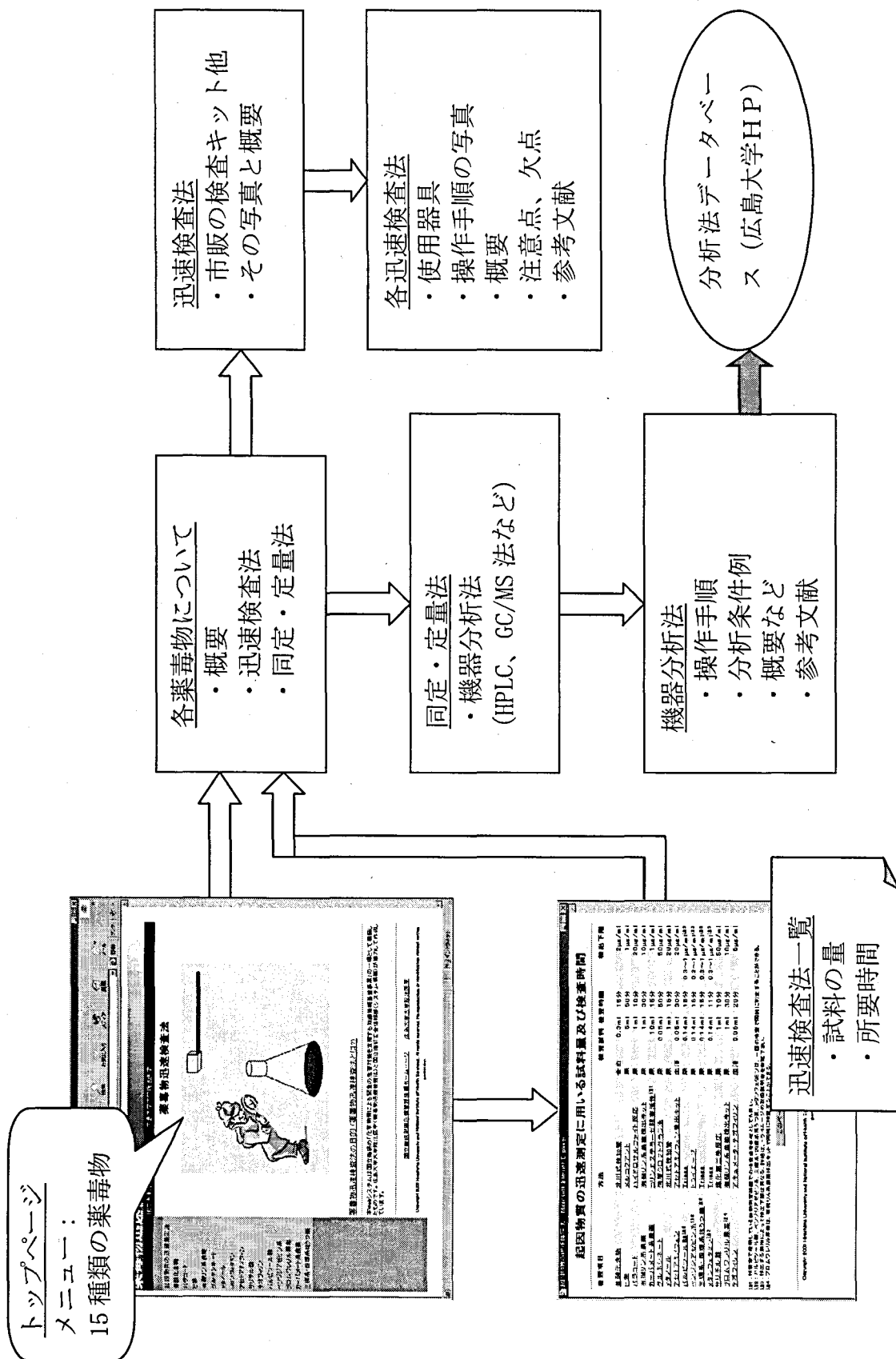


Fig. 1. Contents of web pages of the system

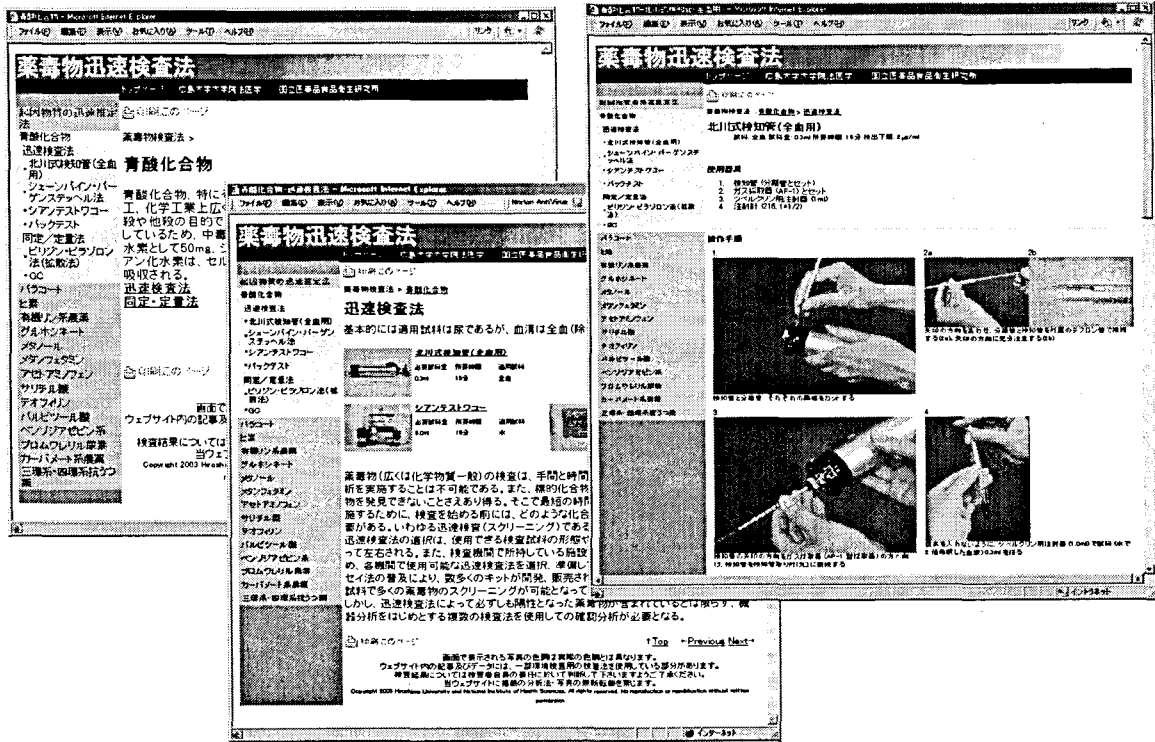


Fig.2. Web pages of rapid analytical method for cyanic compounds

キットなどについては写真も収載した。

2. web ページの作成及びデータ入力のシステム設計

本システムに収載するデータは、最新の情報に対応するため、随時更新の必要がある。したがって、データの追加・更新は研究者自身が行えることが望ましい。そのため、データの入力には汎用ソフトである Excel で行える設計とした。ページの構成やデザインなどのレイアウトは、web ページのパターンに応じてあらかじめ数十のデザインシート (XSL テキストファイル) を用意し、データと切り離すことにより、HTML タグなどの専門的な知識がなくても web ページの作成が可能な設計とした。

XSL を用いる場合には、デザインシートに埋め込むデータ (XML テキストファイル) が必要であるが、これは、Excel 上に入力したデータから Excel マクロで作成した。XSL テキストファイルと XML テキストファイルの合成及び結果として得られる web ページの格納は、Perl というよく知られている言語を用いた。XML ファイルの作成及びXSL ファイルとの合成処理を呼び出すインターフェースは Excel 上に実装されており、容易に操作可能である。

結果

1. web ページの構成と収載情報

Fig.1に本システムの各ページの内容、Fig.2にページ画面を例示した。各物質において検査法・分析法の説明ページは

操作が進むにつれて web ページの階層が深くなるため、他の操作法や薬毒物のページに容易に移行しやすいように、ページの左にメニューを収載した。但し、フレーム機能は全体の構成や印刷などの操作性を複雑にしユーザーにとって使いにくくなる場合があることから用いないこととした。各物質の web ページでは、迅速検査法及び同定・定量法ごとに別のページを作成し、さらに迅速検査法では簡易検査キットその他の方法ごと、同定・定量法では GC/MS や HPLC などによる分析法ごとに別のページを作成した。

それぞれのページでは、使用器具、操作の各手順の写真、結果 (色の比較など)、操作法の注意点や欠点、全体の概要、参考文献を収載した。また、用いる生体試料の種類と必要量、迅速検査法の結果が出るまでのおおよその所要時間についても記載した。

2. web ページの作成及びデータ入力のシステム設計

本システムのデータの追加・更新は随時行う必要があるため、システム構築にあたっては、研究者自身がデータ更新作業を行える設計とすることが重要な課題のひとつである。本システムでは、Excel 上で容易にデータを追加・更新できるインターフェースを作成した。この 1 種類の Excel ファイルへの入力だけですべてのデータの追加・更新を行うことができ、このデータから HTML ファイルに変換されて web ページを作成できる。

## 考察

### 1. web を利用したシステムの構築

松本及び東京地下鉄サリン事件, 和歌山の毒物カレー事件, 新潟のアジ化ナトリウム混入事件など, 1990年代後半には社会的にインパクトの大きい化学テロや毒物混入事件が相次いだ。こうした大きな事件も含め, 薬毒物による中毒事故・事件の発生は毎年相当数にのぼっている。被害者への適切な治療のためには, 中毒起因物質の迅速な検査と究明が非常に重要な要因となる。薬毒物による中毒事故・事件はいつでも発生するか予測できないことから, こうした緊急事態に迅速かつ適切に対処するためには, 全国的にできるだけ多くの医療機関や分析機関が, 薬毒物分析に関する知識や技術を十分に習得している必要がある。しかし薬毒物分析に関する情報は所在がわかりにくく, 臨床現場や分析機関などの関係機関で必要な時に有用な情報を迅速に入手できない場合もみられる。広島大学では, 日本中毒学会の分析委員会が提言した15種類の薬毒物についてさまざまな参考書や資料に散在する迅速検査法や機器分析法を集約しまとめている。また, これらの迅速検査法について分析関係者を対象とした技術講習会を開催し, 分析技術の向上につとめてきている。しかし講習会だけでは, 対象となる薬毒物分析関係者の数に限りがある。より多くの関係者に分析法等の周知をはかるためには, これらの情報に容易にアクセスできる web の利用が有効であると考え, 薬毒物の迅速分析法等を掲載した本システムを構築した。web 情報の利点は, (1) 当該情報を必要とする関係者が, 特別のソフトやコストを必要とせず容易にアクセスできる, (2) 情報の存在を知らない場合でも, 検索エンジンの利用により目的の情報を見つけやすい, (3) 新しい情報の追加や内容の修正に迅速かつ容易に対応できる, などである。

### 2. web ページの設計と掲載情報

本webページは, 特別な操作を必要とせず, いずれのページでも常に画面左にあるメニューから目的の事項をクリックするだけで希望の画面が現れる設計とした。メニューには, 15種類の薬毒物名がリストアップされ, 目的の物質をクリックすると解説及び迅速検査法と同定・定量法へのリンクが示される。さらに迅速検査法をクリックすると, キットの写真や操作手順の写真が現れる (Fig. 1, 2)。実際に分析に係わる関係者にとって実践的な内容とするために, 操作手順を具体的に示した写真をできるだけ多くしビジュアルな画面とした。また検査キットなどもできるだけ写真で示した (Fig. 2)。また, 15種類の物質について起因物質の迅速測定に用いる試料の量, 検査時間, 検出下限をまとめて示した一覧表を作成し, このページからも各物質名や方法をクリックするだけで, その概要を示したページが出てくるようにした (Fig. 1)。

薬毒物分析に限らず実際の分析において, 分析者の経験の

差が分析結果に大きな影響を与えることは一般によくみられる分析上の大きな問題点である。成書に記載されている分析方法だけでは認識しにくい操作上の留意点や落とし穴 (ピットフォール) もあり, この部分にいかに対応するかは分析結果に大きな影響を与える。本システムでは, こうした点についてもできるだけ十分な情報を提供するために, 分析に伴う注意点及び欠点についても記載した。操作手順の写真による説明と共に, こうした実践的な情報は, 薬毒物分析法を正しく理解し活用する上で, 非常に有用と考えられる。

ここでは分析対象の媒体は生体試料であるが, 分析に携わる関係者は本システムに記載されている分析法を食品など他の媒体中の分析にも応用可能である。

### 3. データ入力のためのインターフェース

一般にデータベースや web ページなどに収載されている情報, 特に科学系の情報においては, いかにより新しい情報への更新が円滑になされているかがきわめて重要である。これまで多くのデータベース等が構築されてきたが, 中には更新が十分ではなく一定の期間が過ぎると実際上使えなくなっているものも時にみられる。その理由のひとつとして, データの更新が専門的技術と知識を要するためシステム構築の担当者 (担当機関) でなければ行えず, 予算不足その他の理由でデータ更新ができないといったケースもある。こうした点をふまえ, 本システムでは研究者自身が汎用ソフトである Excel を用いてデータ更新をできるように設計とした。これにより, 本システムの技術的構造に関する専門的知識を有さない研究者等でも, 容易にデータ更新作業が可能になった。現在では科学データを搭載したさまざまなデータベースやシステムがあるが, 通常, データそのものについて最もよく理解しているのはデータを扱う担当者や研究者自身である。したがって, データの更新や修正を担当者や研究者が自ら行える設計とすることは, そのデータベースやシステムが最新データに対応可能かどうかを判断する上で重要なポイントとなる。

### 4. おわりに

webを利用したシステムにより薬毒物迅速検査法の全体像の把握が容易になる。掲載した15物質の迅速検査法が臨床現場で中毒起因物質推定の一助となるだけでなく, web画面上の写真等により操作上の具体的なイメージを把握しやすくなることから, 普段からの薬毒物分析法トレーニングツールとしても活用し得る。

なお, 本システムの構築は「化学物質による緊急の危害対策を支援する知識情報基盤事業」の一環として行った。

## 文献

- 1) 奈女良昭, 屋敷幹雄: 薬毒物の簡易検査法, 医学のあゆみ, 190, 1057-1062 (1999).
- 2) 奈女良昭, 屋敷幹雄: 毒素・薬毒物と中毒—薬毒物分析—, 化学と生物, 39, 835-840 (2001).
- 3) 広島大学医学部法医学講座編: 簡易薬毒物検査法—呈色反応を中心として—, (株)じほう, 2001.
- 4) 奈女良昭, 屋敷幹雄, 山本貴司, 徳永雅彦, 山本都, 森川馨: 薬毒物迅速検査法の集約および Web システムの構築, 日本薬学会第 124 年会 (大阪) 要旨集, (2004.3.29-3.31)
- 5) 薬毒物分析法 web システム  
URL: <http://www.nihs.go.jp/yakudoku/>
- 6) 吉岡敏治, 郡山一明, 他: 日本中毒学会分析のあり方検討委員会報告—薬毒物分析の指針に関する提言—, 中毒研究, 12, 437-441 (1999).

## 生殖発生毒性を指標としたダイオキシンの耐容1日摂取量 (TDI) 算定の考え方について

総合評価研究室 広瀬明彦, 江馬 眞

The recent TDI derivation of the dioxin based on the reproductive and developmental toxicity.

Akihiko Hirose and Makoto Ema  
Division of Risk Assessment

### SUMMARY

In 1998, WHO-IPCS re-assessed the TDI of dioxin, which was derived from the body burdens of TCDD exposed to the experimental animals. Then, the international assessment agencies and governmental assessment agencies have conducted the dioxin fs health assessment using the similar method to the WHO-IPCS approach. The key endpoints were reproductive and developmental toxicity caused by *in utero* and lactational exposure. Each assessment agencies used the similar data set of the toxicity studies, however, there are some differences about the TDI derivation method and the selection of adverse endpoints. This report reviewed the recent reproductive and developmental toxicity studies of the dioxins and summarized the health assessment in the international or governmental agencies, and discussed the appropriate TDI derivation.

Key Word: dioxin, tolerable daily intake, reproductive and developmental toxicity

### はじめに

1998年にWHO-IPCSが、ダイオキシンの体内蓄積性を考慮して体内負荷量という概念を用いて、耐容1日摂取量(TDI)の再評価を行った<sup>1)</sup>。我が国でも1999年に、体内負荷量を基にしてTDIの設定を行っている<sup>2)</sup>。これ以前は、発がん性を感受性の高いエンドポイントとしてTDIを設定していたが、この体内負荷量という物差しを用いることにより、胎児期及び授乳暴露による次世代への影響がより感受性の高い毒性指標となることが明らかになった。その結果、これ以降はヨーロッパ各国やJECFAなどの評価機関では、この評価法に従い耐用摂取量評価を算定してきている。本研究では、この評価法の重要なエンドポイントであるダイオキシン類による生殖発生毒性に関して、1998年以降の新しい知見と、各国および国際評価機関でのTDI算定経過をまとめると共に、現時点での適切なTDIのあり方について考察した。

### 体内負荷量とTDI

まず、体内負荷量を用いたTDIの算定法について概略を示す。一般に化学物質の耐用摂取量は、最も感受性の高い毒性学的エンドポイントを基に算定される。ヒトを対象とした定量的で信頼性の高い疫学研究などの知見がある場合はそれを用いるが、通常は疫学上の交絡因子を完全に排除することは難しく、動物実験における化学物質の投与用量を基に、ヒトにおける耐用摂取量を算出している。1990年代の前半頃まではダイオキシンに関して最も感受性の高い毒性は、げっ

歯類に対する発がん性であると考えられており、評価機関の多くは、ラットを用いた2年間の長期投与試験における無毒性量(NOEL):1ng/kg/dayを基に、不確実係数(多くは100)を適用して耐容1日摂取量を設定していた。しかし、1998年のWHO-IPCS1)での評価以後は、ダイオキシン類のように脂溶性が高く、排泄が遅い物質は、長い時間をかけて徐々に体内に化学物質が蓄積していくことや、ヒトとラットでは数百倍も排泄速度が異なることから、投与量と蓄積濃度(=体内負荷量)と関係はヒトとラットで著しく異なることになり、投与量をベースにして毒性発現を比較するのは適当ではないと判断された。また、ダイオキシン類による毒性発現は蓄積量である体内負荷量に依存して発現していることが示され、近年は、この体内負荷量を基に定量的な毒性評価を行うようになった。この体内負荷量という物差しを用いることにより、従来の発がん性よりも、胎児期及び授乳期暴露による次世代への影響がより感受性の高い毒性指標となることが明らかになった。この際、摂取量と体内負荷量との換算は、1コンパートメントモデルの定常状態における、以下の近似式で示すことができる。

$$\text{摂取量(ng/kg/day)} = [\text{体内負荷量(ng/kg)} \times \ln(2)] / [\text{半減期(day)} \times \text{吸収率}]$$

また、ヒトや実験動物に関する様々な知見より、ヒトと実

験動物では同じ体内負荷量で毒性が発現すると判断されている。したがって、TDIを求めるには、まず動物実験において最も低い体内負荷量で発現するエンドポイントを選定し、その体内負荷量においてはヒトでも同様の影響が現れると仮定する。その後、上記の式からその体内負荷用に相当するヒトにおける1日摂取量を算出し、この値に対して不確実係数を適用して、TDIを算定するという手順を踏むことになる。

#### ダイオキシン類による生殖発生毒性

1998年以降に公表された2,3,7,8-四塩化ジベンゾパラジオキシン(TCDD)の生殖発生毒性に関する論文の内容について検討した(Table 1)。

SDラットの妊娠15日に200または1000 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与したところ<sup>9)</sup>、両TCDD投与群で母体体重が低下し、1000 ng/kg投与群では出生児数の減少がみられたが、雄児の成長にはTCDD投与の影響は観察されなかった。雄児の生後30日において1000 ng/kg投与群で17-ヒドロキシラーゼ活性及び精巣上体重量の低下、生後45日に精巣の3β-及び17β-ヒドロキステロイドデヒドロゲナーゼ、5α-リダクターゼ活性上昇及び血清中アンドロゲン濃度の低下が認められた。

Holtzmanラットの妊娠15日に250 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与した<sup>4)</sup>ときには、TCDD投与の雄児に精巣上体精子数の減少、前立腺重量の低下が観察されたが、肛門生殖突起間距離(AGD)、性成熟、精巣の1日精子産生、精巣重量及び前立腺を除く副生殖器重量にTCDD投与の影響は認められなかった。

Holtzmanラットの妊娠15日に1000 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与した<sup>5)</sup>ところ、投与後4日の雌胎児でミューラー管尾部の間充織の肥厚、ミューラー管癒合の阻害、ウラルフ管退行の阻害が観察され、これらが永久的なvaginal thread(膣糸)の原因であることが示唆された。

Long Evansラットの妊娠15日に1000 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与し<sup>6)</sup>、雄児の精囊について調べた。雄児体重及び精囊重量には生後32日までTCDD投与群と対照群との間に差はみられなかったが、49日以降ではTCDD投与群において低下が認められた。TCDD投与群では精囊上皮の分岐及び分化を低下させることによって、精囊の発生を傷害することが示唆された。

Syrianハムスターの妊娠11.5日に2000 ng/kgのTCDDを強制経口投与した<sup>7)</sup>ところ、母体の生存率及び体重、児数にTCDD投与の影響はみられなかったが、TCDD投与群のF1児の体重増加抑制、膣開口遅延、膣性周期の変化が認められた。雌F1では陰核の完全分裂が観察されたが、vaginal threadは観察されなかった。雌F1を無処置の雄と交配させたところ、TCDD投与群で妊娠率低下し、妊娠ハムスターの死亡率上昇、分娩生存児数減少、離乳率低下が観察された。これ

らの結果から、妊娠母体に有害な作用を示さない投与量のTCDDが雌児の成長、繁殖機能、生殖器の形態に悪影響を及ぼすことが明らかになった。

雌Wistarラットに25, 60または300 ng/kgのTCDDを交配前2週に皮下投与し、交配前、交配中、妊娠中及び授乳中を通じて、5, 12または60 ng/kgのTCDDを週1回皮下投与した<sup>8)</sup>。300/60 ng/kg投与群で母ラットの妊娠率が低下し、雄児の血清中テストステロン濃度の低下が認められた。全TCDD投与群の雄児で精巣上体の精子数、精巣の1日精子産生及び精子通過率の低下、異常精子割合の上昇、性行動の異常が観察されたが、1日精子産生以外のエンドポイントに明らかな用量-反応関係はみられなかった。最小毒性量は25/5 ng/kg(0.8 ng/kg/dayに相当)であった。

Holtzmanラットの妊娠15日に12.5, 50, 200または800 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与したときの児に対する影響の検討が国立環境研究所で行われた。50 ng/kgで生後63及び120日における雄児のAGDが短縮し、12.5 ng/kgで生後120日の腹側前立腺重量が減少した<sup>9)</sup>。生後2, 49または63日に雄児を検査したところ、800 ng/kgでAGDの短縮がみられたが、1日精子産生及び精巣上体尾部の精子保有に差は認められなかった<sup>10)</sup>。生後49または120日の検査結果では、200 ng/kg以上で腹部前立腺重量の低下が観察され、50 ng/kg以上で生後120日において雄児のAGDが短縮したが、精巣の重量及び組織病理学的検査、1日精子産生、精巣上体重量、精巣上体尾部の精子保有、血清ホルモンレベルにTCDD投与の影響は認められなかった<sup>11)</sup>。また、生後49日の雄児の腹側前立腺において200 ng/kg以上で5α-reductase type 2 mRNAレベルの上昇、50 ng/kg以上でandrogen receptor mRNAレベルの低下が観察された<sup>11)</sup>。生後5日の雄児の胸腺のCYP1A1 mRNA inductionが200 ng/kg以上でみられている(1群3例の実験であり統計処理については不明)が、胸腺の重量及び細胞数には800 ng/kgでもTCDDの影響は観察されなかった<sup>12)</sup>。

Long Evansラットの妊娠15日に800 ng/kgのTCDDを投与したとき、雄児の交尾行動の変化が示されている<sup>13)</sup>。また、妊娠15日のLong Evansラットに100, 300または1000 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与し、F4の離乳まで観察したところ、F1において1000 ng/kgで雄児の前立腺重量の低下及びテストステロンレベルの低下、雌児の子宮及び卵巣重量の低下がみられたが、AGD、精子指標、雌性成熟、繁殖指標にはTCDDの影響は認められず、F2以降に生殖に対する影響は観察されなかった<sup>14)</sup>。

妊娠18日に20, 60または180 ng/kgのTCDDを単回強制経口投与したHoltzmanラットの雌児における回転かごでの行動変化が180 ng/kgで認められている<sup>15)</sup>。

Table 1. Summary of the reproductive and developmental effects by TCDD (published after 1988)

Species (strain)	Exposure method	Dose (ng/kg)	Reproductive and developmental effects in offspring (no effects)
rats (SD)	single gavage on day15 of pregnancy	200, 1000	decreased number of pups delivered and decreased epididymus weight at 1000 ng/kg
rats (Holtzman)	single gavage on day15 of pregnancy	250	decreased sperm number and prostate weight (no effects in anogenital distance (AGD), sexual maturation, daily sperm production, weight of other accessory reproductive organs)
rats (Holtzman)	single gavage on day15 of pregnancy	10, 60	altered vaginal morphogenesis
rats (Long Evans)	single gavage on day15 of pregnancy	1000	decreased seminal vesicle weight, decreased seminal vesicle epithelial branching and differentiation
hamster (Syrian)	single gavage on day11.5 of pregnancy	2000	delayed vaginal opening, altered estrous cycles, death in the pregnant F1 females near-term, decreased numbers of implants and F2 pups born live
rats (Wisnia)	single s.c. injection at 2 weeks prior to mating (repeated s.c. injection once a week until end of lactation)	25, 60, 300 15, 12, 60	decreased daily sperm production in all dose decreased sperm number, delayed time of the sperm pass through the cauda epididymis, increased abnormal sperm, abnormal sexual behavior (no dose related effects)
rats (Holtzman)	single gavage on day15 of pregnancy	12.5, 50, 200, 800	decreased AGD more than 50 ng/kg decreased ventral prostate weight more than 200 ng/kg (no effects in daily sperm production, epididymus weight, sperm number)
rats (Long Evans)	single gavage on day15 of pregnancy	800	abnormal sexual behavior in male
rats (Long Evans)	single gavage on day15 of pregnancy	100, 300, 1000	decreased prostate, uterus and ovary weights in F1 at 1000 ng/kg (no effects in AGD, sperm indices, sexual maturation in F1, no effects in all reproductive endpoints in F2 to F4)
rats (Holtzman)	single gavage on day15 of pregnancy	20, 60, 180	altered operant responding for motor reinforcement at 180 ng/kg

### 1998 年以降の国際機関および各国のダイオキシン評価

1998 年 WHO-IPCS で行われたダイオキシン類の TDI 再評価以後、我が国を始め各国政府及び国際機関でダイオキシン類の健康影響評価と耐容摂取量の勧告状況について以下にまとめた (Table 2)。

1998 年の WHO-IPCS 専門家会合では、上述したように TCDD の半減期がヒトとげっ歯類では著しく異なることから、体内負荷量という概念を用いてヒトへの換算を行い、ヒトの体内負荷量から 1 日摂取量を逆算した後、TDI として 1~4 pg TEQ/kg/day を勧告した。このとき、算出の基となった最も低い体内負荷量で現れる毒性としては、サルにおける子宮内膜症及び神経行動学的発達への影響とげっ歯類の経胎盤/経母乳暴露による次世代の生殖器官発生異常・免疫抑制であり、最低毒性発現体内負荷量としては 28~73 ng/kg と見積もられた。WHO-IPCS ではこれらの毒性のうちどれかを TDI 算定の根拠とするわけではなく、レンジとして捉え幅のある TDI を勧告することになった<sup>1)</sup>。

我が国では 1999 年、厚生省と環境庁の合同専門家会合 (中央環境審議会環境保健部会、生活環境審議会、食品衛生調査会) において、WHO-IPCS<sup>1)</sup> の考え方を基本とし、TCDD による各種毒性影響を体内負荷量の基準とし、結果として数編の経胎盤/経母乳暴露による次世代の生殖器官発生異常・免疫抑制に関する報告を TDI の算定根拠として選択した。その際、最も低い体内負荷量を示したのは Faqi ら<sup>8)</sup> の報告で 27 ng/kg、次に Ohsako ら<sup>11)</sup> ら (当時は学会発表時のデータを引用した) の 43 ng/kg であったが、それらの単報での値を採用するのではなく、実験の信頼と再現性を考慮し、その他の同様の毒性を比較すると、概ね 86 ng/kg 以上で影響が現れるとすることが妥当であると判断した。また、このときサルの子宮内膜症と神経行動学的発達への影響の実験は、その実験方法に信頼性が担保できないので定量的評価には用いないこととした。その結果、体内負荷量 86 ng/kg を

TDI 算定の出発点とし、不確実係数 10 を用いて、TDI を 4 pgTEQ/kg/day とした<sup>2)</sup>。

米国 EPA の 2000 年の再評価ドラフトでは、ダイオキシン類の最適な毒性指標は発がん性にあるとし、動物実験及びヒトの疫学情報から導き出された体内負荷量をもとに発がん性のリスクを計算した。その結果、1 pgTEQ/kg/day あたりの発がんリスクは 1000 分の 1 であるとし、現在のバックグラウンドレベルの暴露におけるリスクは 100~1000 分の 1 の間にあると算出した。また、本来なら計算されるであろう耐容摂取量に相当する Reference dose については、ヒトのバックグラウンドレベルを大きく下回ることから算出せず、WHO-IPCS で評価した 1~4 pgTEQ/kg/day という TDI はリスクマネージメントの目的としては妥当であるとしている<sup>16)</sup>。

EC の Scientific Committee on Food (SCF) が 2000 年 11 月に行ったダイオキシン類評価では、WHO-IPCS<sup>1)</sup> の評価と同様に、体内負荷量の概念を用い、最低体内負荷量のエンドポイントとして、サルにおける子宮内膜症及び神経行動学的発達への影響とげっ歯類の経胎盤/経母乳暴露による次世代の生殖器官発生異常・免疫抑制を取りあげた。このときの体内負荷量は 25~60 ng/kg (WHO-IPCS<sup>1)</sup>) と同じデータセットを用いているが、主に体内吸収率を 60% と少し低めに設定していることや、単回投与の実験結果を亜慢性試験の実験で得られる結果と比較できるように補正しているため異なった値となっている) と見積り、不確実係数 9.6 から TDI としては 1~3 pgTEQ/kg と計算した。SCF ではこのレンジで与えられた TDI の中から単一の値を採用する科学的根拠に乏しいことから、暫定的な TDI としては、1 pgTEQ/kg にすべきであるとの結論になった。しかし、ダイオキシン類の長い体内残留性を考慮して、1 週間単位の耐容摂取量として 7 pgTEQ/kg/week (t-TWI: temporary tolerable weekly intake) を勧告することになった<sup>17)</sup>。しかし、2001 年 5 月には、新たに公表された報告も加え、暫定値の見直しを行った。新たに、Faqi ら<sup>8)</sup> と Ohsako ら<sup>11)</sup> のデータを追加し、最低毒性発現体内負荷量として 40~100 ng/kg、無毒性体内負荷量として 20 ng/kg をそれぞれ算出した。無毒体内負荷量から TDI を算出すると、3 pgTEQ/kg/day となるが、Faqi ら<sup>8)</sup> の Wistar ラットを用いた方が、感受性が高いと考えられ、40 ng/kg から TDI を算出すると 2 pgTEQ/kg/day となった。前回の評価ではサルの試験も感受性の高いエンドポイントとして取りあげられていたが、試験の信頼問題が解決できなかったため、今回は考慮しなかった。さらに、最終的には、前回と同様、長い体内消失半減期を考慮し、1 週間耐容摂取量として 14 pgTEQ/kg/week を勧告した<sup>18)</sup>。

2001 年 6 月に行われた FAO と WHO の合同食品添加物専門家会議では、EC-SCF<sup>18)</sup> の再評価と同様のデータセットを用いて、評価を行ったが、耐容摂取量としては体内中の長い半減期を理由に、EC の評価より長い耐容 1 ヶ月許容量



(TMI)を勧告した。算定根拠となる体内負荷量としてもSCFの評価と同様に最低毒性発現体内負荷量(Faqiら<sup>8)</sup>のデータと無毒性体内負荷量(Ohsakoら<sup>11)</sup>のデータを基に計算を行ったが、その際の慢性投与に対する補正を行った体内負荷量の計算方法は、Linear fit model(直線回帰モデル)とPower fit model(べき乗回帰モデル)という2つの方法を試みている。それらの結果をもとにSCFと同様のTMIを算出すると40~100 pg TEQ/kg/monthの範囲になり、暫定TMIとしては中間値を取って、70 pgTEQ/kg/monthを勧告した<sup>19)</sup>。

英国のUK-Food Standards Agency (FSA)ではEC-SCF<sup>18)</sup>及びJECFA<sup>19)</sup>の考え方を基本的に採用した、最も感受性の高いエンドポイントとして、ラット雄への生殖機能の発生異常(特に精子形成への影響)を用いているが、体内負荷量の算定は、EC-SCF<sup>18)</sup>やJECFA<sup>19)</sup>とは異なり、最も感受性が高い時期を妊娠16日とし、この時期の胎児の体内負荷量と母体の体内負荷量との比を用いて単回投与と反復投与で得られる体内負荷量の値の補正を行った。その結果、Faqiらのデータに基づいて得られた妊娠16日の母体の体内負荷量は33 ng/kg/dayと見積もられた。この値からEC-SCF及びJECFAと同様の不確実係数(9.6)を用いてTDIとして2 pgTEQ/kg/dayを勧告した。EC-SCF<sup>18)</sup>やJECFA<sup>19)</sup>では1週間や1ヶ月あたりの耐容量として勧告しているが、TDIとして表現する方が適切で、わかりやすいとする理由で、TDIでの勧告値を採用しているが、仮に短期間でTDIを越える暴露があっても体内負荷量が大きく変動することはなく、長期間に

例えば、SCF1<sup>8)</sup>には低い体内負荷量で発現するTCDDの影響として、Holtzmanラットの雄児において64 ng/kg以上の投与量で観察された1日精子産生低下及び精巣上体精子数の減少<sup>21)</sup>、Long Evansラットの雄児において50 ng/kg以上の投与量で観察された開眼促進及び射精精子数減少<sup>22)</sup>、Wistarラットの雄児において25/5 ng/kg以上の投与量で観察された1日精子産生低下及び性行動の変化<sup>8)</sup>、Holtzmanラットの雄児において50 ng/kg以上の投与量で観察されたAGD短縮<sup>11)</sup>が記載されている。

Grayら<sup>22)</sup>の報告した開眼促進は1日程度の遅れであり、毒性学的意義は弱いと考えられる。また、射精精子数についてはこの実験結果で有意な減少は最高投与量の800 ng/kgだけに認められたものであり、前報<sup>23)</sup>の成績と合わせて統計処理すると50 ng/kg以上で有意差が認められたと云う結果である。これらの成績をTDI設定の根拠とすることは不適切と考えられる。

Faqiら<sup>8)</sup>の報告した雄児の性行動の変化には用量-反応関係は認められない。

Ohsakoら<sup>9,11)</sup>により雄児のAGD短縮が報告されている。AGDの体重による補正值(AGD/cube root of body weight)は示されておらず、AGD短縮の程度は軽度であり、児の生後63日<sup>9)</sup>と生後120日<sup>11)</sup>に断続的に認められた変化であり、毒性学的な意義は弱いと考えられる。

TCDDの精子細胞、精子に対する影響については多くの報告があるが、TCDDの精子細胞、精子に対するTCDDの影響には報告間で差がみられる。Ohsakoら<sup>9,10,11)</sup>は精子指標及び精巣の病理組織学的所見には800 ng/kgまでのTCDD投与の影響は認められなかったとしている。米元ら<sup>14)</sup>は1000 ng/kgのTCDD投与でも精子検査においてTCDDの影響は認められず、同様なプロトコールによるHoltzmanラット<sup>21,24,25)</sup>及びLong Evansラット<sup>22,26)</sup>を用いて行われた実験結果を再現できなかったと述べている。Grayら<sup>23)</sup>は精巣の精子産生はTCDDの鋭敏な指標ではないと述べており、また、TheobaldとPeterson<sup>27)</sup>はラット、ハムスター、マウスの3種の動物で観察される唯一の生殖発生毒性のエンドポイントは精巣上体の精子数減少であると述べている。このように、低用量のTCDDの精子指標(1日精子産生、精巣上体精子数)に対する影響については実験間で整合性のある結果は得られていない。

一方、JECFA<sup>19)</sup>の評価でもFaqiら<sup>8)</sup>やOhsakoら<sup>11)</sup>の両報告を用いて様々な体内負荷量の計算を試みているが、結局、どちらか単一の報告を基にするのではなく、両報告から得られた体内負荷量のレンジの中央値をTDI算定の出発点としたことから、この両報告に対する毒性学的意義付けは必ずしも確定していないと考えられる。また、Rierら<sup>28)</sup>およびScantz & Bowman<sup>29)</sup>のアカゲザルにたいする影響も、1999年以後、未だにその実験の信頼性に関する問題は依然解決されていなく、EC、JECFA、UKにおける耐容摂取量

Table 2. Summary of tolerable intake derivations for TCDD in the assessment agencies

Assessment agency	Endpoints in offspring	Body burden (ng/kg)	Equivalent human intake	Uncertainty factor	Tolerable intake
WHO/IPCS	decreased sperm count (rats), immune suppression (rats), increased genital malformations in female (rats), neurobehavioral effects (monkey)	24 - 73	14 pg/kg/day 25 pg/kg/day 37 pg/kg/day 21 pg/kg/day	10	1.4 pg/kg/day
Japan	decreased sperm count (rats), increased genital malformations (rats), immune suppression (rats)	86 - 43	6 pg/kg/day	10	0.6 pg/kg/day
EC-SCF	decreased sperm production (rats)	49	20 pg/kg/day	9.6	1.6 pg/kg/week (2 pg/kg/day)
JECFA	decreased sperm production (rats), decreased anogenital distance in male (rats)	28 or 42 16 or 22	423 or 630 pg/kg/month 237 or 350 pg/kg/month	9.6 3.2	23 pg/kg/month (44 - 100 pg/kg/month)
UK-FSA	decreased sperm production in rats	33	17 pg/kg/day	9.6	2 pg/kg/day

わたった平均値がTDIを下回れば有害影響が現れることはないであろうということが付け加えられている<sup>20)</sup>。

まとめ

最近のEC、JECFA、UKのダイオキシン類評価では使用されているデータセットは、1999年に我が国で行われた再評価で用いられたものとほぼ同じであるが、Faqiら<sup>8)</sup>の1日精子産生低下やOhsakoら<sup>11)</sup>の雄児のAGD短縮の報告が最も感受性の高いエンドポイントであるとして体内負荷量を計算し、TDI算定のための出発点として使用している。た

算定のための定量的評価にも実質的には使用されていない。

以上のことから、TDI算定の出発点となる最低の毒性発現体内負荷量の算定のために Faqi ら<sup>8)</sup> や Ohsako ら<sup>11)</sup> の両報告結果を用いる積極的な理由は現在のところなく、1999年の我が国のTDI再評価に用いた Gray ら<sup>22,26)</sup> および Gehrs ら<sup>30)</sup> の報告で母動物に TCDD を投与した場合に児動物に見られる開眼促進、精巣上体精子数の減少、雌性生殖器形態異常、遅延型過敏症の抑制最低の毒性発現体内負荷量：86ng/kg を出発点としてTDIを算定することは現在でも妥当であると考えられる。

#### 参考文献

- 1) WHO-IPCS(1998)WHO European Centre for Environment and Health International Programme on Chemical Safety FEEXECUTIVE SUMMARY Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI) WHO Consultation, May 25-29 1998, Geneva, Switzerland (1998)
- 2) 日本(1999)ダイオキシンの耐容1日摂取量(TDI)について、中央環境審議会環境保健部会、生活環境審議会、食品衛生調査会、平成11年6月
- 3) Cooke, G.M., Price, C.A., Oko, R.J. (1998) Effects of *in utero* and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on serum androgens and steroidogenic enzyme activities in the male rat reproductive tract. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 67, 347-354
- 4) Loeffler, I.K., Peterson, R.E. (1999) Interactive effects of TCDD and p,p'-DDE on male reproductive tract development in utero and lactationally exposed rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154, 28-39
- 5) Dienhart, M.K., Sommer, R.J., Peterson, R.E., Hirshfield, A.N., Silbeirgeld, E.K. (2000) Gestational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces developmental defects in the rat vagina. *Toxicol. Sci.*, 56, 141-149
- 6) Hamm, J.T., Sparrow, B.R., Wolf, D., Birnbaum, L.S. (2000) In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters postnatal development of seminal vesicle epithelium. *Toxicol. Sci.*, 54, 424-430
- 7) Wolf, C.J., Ostby, J.S., Gray, L.E. (1999) Gestational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) severely alters reproductive function of female hamster offspring. *Toxicol. Sci.*, 51, 259-264
- 8) Faqi, A.S., Dalsenter, P.R., Marker, H.J., Chahoud, I. (1998) Reproductive toxicity and tissue concentrations of low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male offspring rats exposed throughout pregnancy and lactation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 150, 383-392
- 9) Ohsako, S., Miyabara, Y., Sakaue, M., Kurosawa, S., Nishimura, N., Aoki, Y., Tohyama, C., Sone, H., Ishizuka, M., Jana, N.R., Sarkar, S., Yonemoto, J. (1999a) Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on the development of male reproductive organs in the rats. *Organohalogen Compounds*, 42, 19-21
- 10) Ohsako, S., Nishimura, N., Miyabara, Y., Ishizuka, M., Aoki, Y., Tohyama, C., Sone, H., Yonemoto, J. (1999b) Changes in the reproductive organs of the male rats exposed maternally to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Toxicol. Sci.*, 48 (1-S), 148
- 11) Ohsako, S., Miyabara, Y., Nishimura, N., Kurosawa, S., Sakaue, M., Ishimura, R., Sato, M., Takeda, K., Aoki, Y., Sone, H., Tohyama, C., Yonemoto, J. (2001) Maternal exposure to a low dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) suppressed the development of reproductive organs of male rats: dose-dependent increase of mRNA levels of 5 $\alpha$ -reductase type 2 in contrast to decrease of androgen receptor in the pubertal ventral prostate. *Toxicol. Sci.*, 60, 132-143
- 12) Nohara, K., Fujimaki, H., Tsukumo, S., Ushio, H., Miyabara, Y., Kijima, M., Tohyama, C., Yonemoto, J. (2000) The effects of perinatal exposure to low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on immune organs in rats. *Toxicology*, 154, 123-133
- 13) 掛山正心, 遠山千春, 曾根秀子 (2000) 雄ラットの性行動に対する2,3,7,8-四塩化ダイオキシンの経胎盤及び経母乳曝露による影響, 第3回環境ホルモン学会研究発表会要旨集, p. 225
- 14) 米元純三, 遠山千春, 尾根田暁, 永田良一 (2001) 妊娠期2,3,7,8-TCDD投与ラットの多世代影響, 第4回環境ホルモン学会研究発表会要旨集, p. 347
- 15) Markowski, V.P., Zareba, G., Stern, S., Cox, C., Weiss, B. (2001) Altered operant responding for motor reinforcement and the determination of benchmark doses following perinatal exposure to low-level of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Environ. Health Perspect.*, 109, 621-627
- 16) US Environmental Protect Agency (EPA) (2000) Dioxin reassessment (draft documents on "Exposure and human health reassessment of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds". September 2000
- 17) EC Scientific Committee (SCF) (2000) Opinion of the SCF on the risk assessment of dioxin and dioxin-like PCBs in food. SCF/CS/CNTM/DIOXIN/8 Final, 23 November, 2000.
- 18) EC Scientific Committee (SCF) (2001) Opinion of the SCF on the risk assessment of dioxin and dioxin-like PCBs in food ?update based on new scientific information availbale since the adoption of the SCF opinion of 22nd November 2000-. SCF/CS/CNTM/DIOXIN/20 Final, 30 May 2001.
- 19) JECFA (2001) Summary of the fifty-seventh meeting of the

- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome, 5-14 June 2001.
- 20) UK Food Standards Agency (2001) Statements on the tolerable daily intake for dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment. October 2001, COT/2001/7.
- 21) Mably, T.A., Bjerke, D.L., Moore, R.W., Gendron-Fitzpatrick, A., Peterson, R.E. (1992c) In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin 3. Effects on spermatogenesis and reproductive capability. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 114, 118-126
- 22) Gray, L.E., Ostby, J.S., Kelce, E.R. (1997a) A dose-response analysis of the reproductive effects of a single gestational dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male Long Evans hooded rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 146, 11-20
- 23) Gray, L.E., Kelce, W.R., Monosson, E., Ostby, J.S., Birnbaum, L.S. (1995) Exposure to TCDD during development permanently alters reproductive function in male Long Evans rats and hamsters: reduced ejaculated and epididymal sperm numbers and sex accessory glands weights in offspring with normal androgenic status. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 131, 108-118
- 24) Mably, T.A., Moore, R.W., Goy, R.W., Peterson, R.E. (1992b) In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin 2. Effects on sexual behavior and the regulation of luteinizing hormone secretion in adulthood. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 114, 108-117
- 25) Mably, T.A., Moore, R.W., Peterson, R.E. (1992a) In utero and lactational exposure of male rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin 1. Effects on androgenic status. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 114, 97-107
- 26) Gray, L.E., Wolf, C., Mann, P., Ostby, J.S. (1997b) In utero exposure to low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters reproductive development of female Long Evans hooded rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 146, 237-244
- 27) Theobald, H.M., Peterson, R.E. (1997) In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: effects on development of the male and female reproductive system of the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 145, 124-135
- 28) Rier, S. E., Martin, D. C., Bowman, R. E., Dmowski, W. P., Becker, J. L. (1993) Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 21, 433-441
- 29) Schantz, S. L., Bowman, R. E. (1989) Learning in monkeys exposed perinatally to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Neurotoxicol. Teratol.*, 11, 13-19
- 30) Gehrs, B.C., Riddle, M.M., Williams, W.C., Smialowicz, R.J. (1997) Alterations in the developing immune system of the F344 rat after perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. II. Effects on the pup and adult. *Toxicology*, 122, 229-24

平成15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 長尾 拓

総務部

部長 谷田 修司

平成15年度は、国立医薬品食品衛生研究所にとって、歴史的な年であった。

第一は、1875年からの歴史を持つ大阪支所が従来業務を終了し、法円坂庁舎を閉庁した。3月19日に関係者が集まり、閉庁式が行われた。大阪支所でお仕事をされた方々の思いを感慨深く拝聴した。16年度の大阪支所は、茨木市に建設された医薬基盤研究施設で、17年4月から独立行政法人医薬基盤研究所（基盤研）で予定されているトキシコゲノミクスやプロテオーム関連業務を開始する。

第二は、医薬品医療機器審査センターが国立衛研の枠から出て、独立行政法人医薬品医療機器審査総合機構の中核として移行することであった。審査センターはその準備に大きなエネルギーをさいた。医薬品の審査体制は、すっきりしたものになる。日本の製薬産業は先端的産業として社会的に期待が大きい。国立衛研はほぼ従来通り、審査に協力していく。

レギュラトリーサイエンスは、今や関係者に普通に使われる言葉になってきた。医薬品についていえば、良い薬を早く患者さんに届けるという大きな目標のもとで、企業、大学、行政がやるべきことをやり、国際調和もはかつて進めていくキーワードでもある。

私たちがこの運動で目指した開かれた議論ができる場として、医薬品質評価、バイオロジクス、医療機器など独立したフォーラムが国衛研を中心に立ち上がっている。審査関連などの領域は当面、日本薬学会のレギュラトリーサイエンス部会の活動として行う。今後は、大学との連携も深めていきたい。

食品関係は相変わらず業務繁多である。特に、農薬等のポジティブリスト制導入により、全国の地方衛生研究所等に大変お世話になっている。さらに、内閣府に食品安全委員会ができてから、各種委員会でも当所の研究者が活動している。食品関係で最大の問題は、米国のBSEである。食の安全について何が事実で、検査で何がわかるかなど、冷静な議論が新聞あるいは各種集会で行われ、リスクコミュニケーションが成立してきた。私たちが市民の信頼を得るよう、日々の業務を誠実に実行していかなければならない。

本研究所は各種競争的資金も獲得し、立派な研究業績を上げていることを付け加える。

## 1. 組織・定員

### (1) 組織

国立試験研究機関再編計画の一環として、国立医薬品食品衛生研究所大阪支所の業務を展開的に改組し、平成17年度より、独立行政法人医薬基盤研究所（仮称）を開設するのに伴い、現在、本所で行っている基盤技術研究を平成16年4月より大阪支所で行うこととし、同支所の所掌事務を変更する。

それにより、薬品試験部、食品試験部、生物試験部が廃止され、基盤研究第一プロジェクトチーム、同第二プロジェクトチーム、同第三プロジェクトチームが設置される。

次に、平成16年4月に医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構と医薬品医療機器審査センターを統合し、独立行政法人医薬品医療機器総合機構が設立されることにより、医薬品医療機器審査センターを廃止し、同法人へ移管することとなる。

また、和歌山薬用植物栽培試験場長が充て職化されるのに伴い、種子島薬用植物栽培試験場に栽培管理室が設置される。

### (2) 定員

平成16年度については、①新規指定添加物の規格基準の設定に係る研究業務の強化に伴う増（研究員：研2級）、②畜水産食品中の動物性医薬品等の残留基準ポジティブリスト化に伴う分析法開発業務に関わる研究体制の強化に伴う増（研究員：研2級）、③医薬品の安全性に関する情報の収集・評価分析体制の強化にかかる研究業務の強化に伴う増（主任研究官：研3級）としてそれぞれ1名の定員が認められる。また、④平成16年度見直し時期到来分のダイオキシン及び内分泌攪乱物質の分析と評価研究業務強化に伴う増の定員1名（研究員：研2級）の見直し解除が認められる。

一方、前述の医薬品医療機器審査センターの廃止に伴い、行政職（一）8名、専門行政職51名、医療職（一）11名、計70名の定員が削減される。また、第10次定員削減計画に基づき3名の定員が削減される。よって、16年度末の定員は指定職3名、行政職（一）40名、行政職（二）14名、研究職218名、計275名である。

## 2. 人事異動

(1) 15年3月31日付で、持田秀男総務部長が退職し、同年4月1日付で谷田修司医政局経済課首席流通指導官が総務部長に就任した。また、同年3月31日付で岡田敏史大阪支所長及び石綿 肇大阪支所生物試験部長が退職し、同年4月1日付で外海泰秀大阪支所食品試験部長が大阪支所長に

昇任した。また、森川 馨化学物質情報部長が安全情報部長に配置換となった。

(2) 16年3月31日付で、外海泰秀大阪支所長、小嶋茂雄薬品部長及び安藤正典環境衛生化学部長がそれぞれ定年退職し、同年4月1日付で早川堯夫副所長が、大阪支所長、薬品部長及び環境衛生化学部長の事務取扱となる。また、同年3月31日付で関田節子筑波薬用植物栽培試験場長が定年退職し、同年4月1日付で木内文之筑波薬用植物栽培試験場育種生理研究室長が筑波薬用植物栽培試験場長に就任する。一方、医薬品医療機器審査センターの廃止に伴い、同年3月31日付で豊島 聡医薬品医療機器審査センター長、赤川治郎審査第一部長、森 和彦審査第二部長及び辻村信正審査第三部長が退職し、同年4月1日付で、それぞれ、独立行政法人医薬品医療機器総合機構理事、同新薬審査第二部長、同新薬審査第一部長、同新薬審査第三部長に就任する。

### 3. 予 算

平成15年度予算の概要は、別紙のとおりである。

人事院勧告に基づく人件費の削減や、物価の下落等を受けた積算の見直し等に伴い、既存経費が軒並み減額となる一方、医薬品や食品の安全性の確保に関わる3つの研究事業(計105,395千円)が新たに認められた。

また、医薬品医療機器審査センターが独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ移管されるにあたって必要な移転等の経費として、38,627千円が計上された。

このほか、平成15年1月末に成立した補正予算については、機器の購入やシステム開発等に充てる費用として計上された生物遺伝資源研究事業費262,500千円、トキシコゲノミクス研究事業費106,050千円、食品安全性確保研究事業費264,295千円、医療技術リスク管理研究事業費90,431千円、医薬品開発基盤技術研究事業費(創薬プロテオームファクトリー)4,322,273千円が、平成15年度に繰越されて執行された。

### 4. 医薬基盤技術研究施設

同施設は大阪府茨木市(国際文化公園都市:彩都)に設置するため、平成13年4月から国土交通省近畿地方整備局に支出委任し、施設竣工した。

平成16年度は、従来の法円坂庁舎に替わる新しい大阪支所庁舎として供用されることとなるが、平成17年4月からは、独立行政法人医薬基盤研究所(仮称)に移管される予定である。

### 5. 施設整備等の状況

その他の施設整備は、平成14年度の補正予算で筑波薬用植物栽培試験場遺伝子資源棟の新営工事に係る経費として947,396千円が認められ、平成15年度に工事を開始した。

平成16年秋の完成予定である。

### 6. 競争的研究費の機関経理

競争的研究費の経理に関する事務については、主任研究者及び分担研究者の事務負担の軽減を図るとともに、補助金の

経理の透明化や早期執行を図る観点から、平成14年度からは全ての厚生労働科学研究費補助金及び文部科学省の科学研究費補助金等については、機関経理により行うこととなった。

平成15年度は、厚生労働科学研究費補助金2,811,674千円及び文部科学省所管の補助金120,965千円(いずれも他機関配分額を含む)について、機関経理を行ったところである。

### 7. 国際協力

国際交流としては、厚生労働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を行っている。

平成15年度海外派遣研究者は、204名であった。内訳は留学が4名、二国間共同研究、学会への招聘又は参加延べ135名、JICA等のプロジェクトによる外国への技術指導等に11名のほか、行政に関する国際会議等への出席が延べ54名であった。国際会議等への出席内訳は、ICH15名、IPCS10名、OECD5名、FAO/WHO合同会議8名、その他16名であった。

### 8. 国立医薬品食品衛生研究所の標準品の交付と事業の廃止について

平成15年度において、当所が製造し交付している標準品は医薬品等試験用標準品64品目、色素試験用標準品38品目、計102品目(75,662千円の歳入)であったが、大阪支所の組織改編に伴い、平成16年3月31日をもって当該業務を廃止した。

なお、標準品の製造及び交付業務の大部分は平成16年4月1日から(財)日本公定書協会において行われることとなった。

### 9. 移転関係

平成15年度においても、引き続き移転に関する諸問題の早期解決に向け、関係機関である関東財務局、府中市、厚生労働省により協議を進めてきたところであるが、平成15年6月24日に財務省財政制度等審議会より、大規模の国有地の取扱いを従来の原則留保から原則利用(計画的有効活用)へと方針を変更し、地方公共団体に減額売却等とする答申がなされた。そのため、府中市は跡地の利用については従来の方針の継続留保から購入希望へと変更しており、今後とも、府中市と利用計画を進める必要があり、引き続き本年度も関係機関と協議を進め、区割りの決定、用途地域の変更等の手続きに着手することとなる。

また、平成16年度予算で基本構想作成等経費が認められた。

## 平成15年度予算額

別紙

事 項	平成14年度	平成15年度	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)
	(A)	(B)	
	(千円)	(千円)	(千円)
(組織) 厚生労働本省試験研究機関	7,001,110	7,372,943	371,833
(項) 厚生労働本省試験研究所	4,756,110	4,679,865	△ 76,245
国立医薬品食品衛生研究所に必要な経費	4,756,110	4,641,238	△114,872
既定定員に伴う経費	3,164,645	2,996,160	△168,485
増員要求に伴う経費	0	42,594	42,594
振替定員に伴う経費	0	△20,171	△ 20,171
経常事務費	145,192	139,031	△ 6,161
基盤的研究費	257,195	255,183	△ 2,012
特別研究費	16,048	8,887	△ 7,161
標準品製造費	41,252	31,788	△ 9,464
安全性生物試験研究センター運営費	179,826	178,078	△ 1,748
薬用植物栽培試験場運営費	82,164	81,412	△ 752
施設管理事務経費	105,850	99,185	△ 6,665
受託研究費	121,882	121,061	△ 821
乱用薬物基礎研究費	17,023	16,843	△ 180
総合化学物質安全性研究費	118,089	114,187	△ 3,902
移転調査検討費	2,343	2,337	△ 6
共同利用型高額研究機器整備費	165,996	165,575	△ 421
培養生物資源保存管理基盤整備費	37,435	36,098	△ 1,337
研究情報活動費基盤整備費	78,342	85,431	7,089
摘出埋植医療用具の適合性 解析法研究費	44,764	0	△ 44,764
遺伝子治療薬の品質、安全性 等確保のための基盤研究費	33,881	0	△ 33,881
内分泌かく乱性化学物質のリス ク評価のための分子発生毒性学 的手法開発研究費	28,171	27,330	△ 841
化学物質による緊急の危害 対策を支援する知識情報基盤事業 競争的研究事務経費	27,851	20,894	△ 6,957
88,161	89,675	1,514	
食品の安全性に関する情報の科学 的・体系的収集、解析、評価に係 る研究事業費	0	44,294	44,294
天然食品添加物の規格基準策定に 関する研究費	0	24,837	24,837
医薬品の安全性に関する情報の科 学的・体系的収集、解析、評価に 係る研究事業費	0	36,264	36,264
埋植医療用具のリスク評価・管理 手法の構築・高度化に関する研究 費	0	44,265	44,265
独立行政法人移行準備に必要な経費	0	38,627	38,627
(項) 血清等製造及び検定費	657,214	626,242	△ 30,972
医薬品の国家検定及び 検査等に必要な経費	657,214	626,242	△ 30,972
一般事務経費	12,990	12,974	△ 16
事業費	91,701	71,293	△ 20,408
医薬品医療機器審査センターに必要な経費	552,523	541,975	△ 10,548
(項) 厚生労働本省試験研究所施設費	1,587,786	2,066,836	479,050
国立医薬品食品衛生研究所 施設整備費経費	1,587,786	2,066,836	479,050
(移替予算)			
(組織) 厚生労働本省試験研究機関	225,911	226,121	210
(項) 地球環境保全等 試験研究費	143,391	126,077	△ 17,314
(項) 国立機関原子力試験研究費	82,520	100,044	17,524

\* 予算額については両年度とも当初予算額

## 薬品部

部長 小嶋茂雄  
部長事務取扱 早川堯夫

## 概要

業務面では、前年度に続き、平成15年度は、医薬品の品質規格に関する研究、製剤評価に関する研究、ならびに医薬品の品質管理に関する研究について試験・研究を実施した。また、平成11年度に開始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）に関連する研究も継続して実施した。医薬品の品質規格に関する研究では、3薬局方（USP, EP, JP）の試験法のInterchangeabilityの問題について考察した。製剤評価に関する研究では、経口固形製剤のスケールアップ、製法変更の際の生物学的同等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。医薬品の品質管理に関する研究では、医薬品の品質管理システムに関する研究ならびにマスターファイル制度に関する研究を行った。また、ミレニアムプロジェクト（薬剤反応性遺伝子解析による疾病・創薬推進事業）に関連する研究では、薬剤反応性遺伝子の多形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進めている。

平成16年4月1日における独立行政法人 医薬品医療機器総合機構の発足、また、大阪支所の組織再編、医薬品の承認許可制度の抜本的な改正を伴う改正薬事法の施行、わが国の医薬品業界に対する国際化の大波など、薬品部を取り巻く状況は大きく変わってきている。こうした変化の中で、薬品部には、医薬品の品質保証の分野においてリーダーシップをとろうとする気構えとそのための積極的な活動が求められている。

人事面では、大きな変化のあった年であった。まず、小嶋茂雄部長が平成16年3月31日付けで定年退職された。36年の長きにわたり、精励勤務し、数々の研究業績を挙げられ、当所の業務遂行と発展のために多大な貢献をされた。特に、平成5年以來の11年間、薬品部長の重責を担って医薬品の品質に関するレギュレーションにおいて指導的役割を果たし、ICH及び薬局方の国際調和の進展、厚生労働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。

また、平成15年10月1日に、藤巻康人氏が任期（1年）付き研究官として採用され、第3室に配属された。平成16年4月1日には、小出達夫主任研究官が大阪支所薬品試験部から薬品部第3室に配置換えとなった。なお、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月から引き続いて第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。

短期の海外出張については、次のとおりである：青柳室長は、国際的動向を踏まえた医薬品等の品質・安全性確保に関する研究のため、ベルギーに出張した（平成15年7月）。吉岡室長、阿曾主任研究官および宮崎主任研究官は、米国薬剤学会年会（平成15年10月）における研究発表のため、米国に出張した。

檜山室長は、ICH専門家会議によるGMPワークショップにおける講演とPAT（Process Analytical Technology）の実施状況視察のため、ベルギーおよびドイツへ出張した（平成15年7月）。また、国際薬剤師連合（FIP）主催の医薬品品質シンポジウムにおける招待講演のため、オランダへ出張した（平成15年11月）。さらに、ICHの品質リスク管理（Q9）専門家会議への出席、ならびに英国薬学会と米国薬学会の共催のアーデンハウスシンポジウムにおける招待講演のため、英国へ出張した（平成16年3月）。

## 業務成績

## 1. 特別審査試験

新薬35件について試験した。

## 2. 一斉取締試験

アラセプリル錠 13品目

## 3. 国立保健医療科学院特別課程薬事衛生管理コース（GMP研修コース）への協力

檜山室長および坂本主任研究官は、国立保健医療科学院からの委託を受け、当該コースの主任ならびに副主任として、医薬品製造所のGMP査察に当たっている各都道府県の薬事監視員の研修のためのコースの設計ならびに実際の運営に当たった（平成15年5月12日～6月13日）。

## 4. 国際協力

国際厚生事業団（JICWELS）の第19回アジア諸国薬事行政官研修（平成15年7月）および第14回必須医薬品製造管理研修（平成15年11～12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。

国際協力事業団のフィリピン薬局方プロジェクトに協力して、平成15年7月～平成16年12月の6ヶ月間、フィリピン食品医薬品局のShemaine O. Ocheda氏を同プロジェクトの研修員として薬品部に受け入れ、溶出試験、安定性試験などに関する指導を行った。また、フィリピン薬局方収載品目の分析法バリデーションに関する指導のための短期専門家として、坂本研究員を平成15年8月21日～9月2日の2週間にわたってフィリピンのBureau of Food and Drugs（BFAD）に派遣した。

平成15年9月～平成16年2月の6ヶ月間、中国上海市薬品検査所の謝沐風氏を派遣研修生として受け入れ、医薬品の規格および分析法の開発・バリデーションに関する指導を行った。

## 5. その他

薬事・食品衛生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（医薬食品局審査管理課，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食品局安全対策課），日本薬局方，日本薬局方外医薬品規格，医薬品添加物規格および殺虫剤指針の改正作業（医薬食品局審査管理課），GMP 専門分野別研修（医薬食品局監視指導・麻薬対策課）ならびに日本工業規格（JIS）の改正作業（経済産業省）などに協力した。

マスターファイル検討会（医薬食品局審査管理課）および登録試験機関基準検討会（医薬食品局監視指導・麻薬対策課）に座長ならびに委員として参加し，厚生労働行政の施策策定に協力した。

また，医薬品の製造や品質確保に関心のある産官学の方が広く参加して，わが国における医薬品の品質保証のあり方についてフランクなディスカッションを行い，その成果を行政に生かせるような活動（米国のPQRI的な活動）を行うことを目指して，新たに医薬品品質フォーラム（代表世話人：小嶋茂雄 徳島文理大学香川薬学部教授，前国立医薬品食品衛生研究所薬品部長）を立ち上げ，平成16年1月22日にその第1回シンポジウムを昭和大学上條講堂で開催した。

地方衛生研究所が溶出試験の一斉取締り試験を行う際に使用する標準品を用意し配布した。また，国立衛研および全国の地方衛研の間の双方向ネットワーク（衛研薬事ネットワーク）を，医薬品を巡る種々の情報ならびに検査データや試験法などに関する情報の交換の場として，引き続いて安全情報部の協力の下に維持した。

## 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リアメット錠および注射用アテスネート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）。

### 2. 日本薬局方の規格及び試験方法に関する研究

薬局方国際調和の動きは必ずしも順調とばかりは言えないが，かなりの数の一般試験法ならびに添加物各条の調和が達成されて，3 薬局方でサインオフが行われつつある。こうしたことから，2003年11月のICH6（大阪）では，調和が終わってそれぞれの薬局方が調和文書を取り込んだ段階において，各極の行政当局が日米欧 3 薬局方の試験法や添加物各条をInterchangeableなものと認めるためには何が必要かについて関係者間で話し合いが行われた。その結果，ICHの場に 3 薬局方の試験法のInterchangeabilityについて検討するための専門家会議（ICH-Q4）が設けられることとなり，現在，その開催のための準備が行われている。本研究では，これまでの経緯を振り返る中で，このInterchangeability

の問題について考察した（厚生労働科学研究／医薬等医療技術リスク評価研究事業）。

### 3. 医薬品の有効性，安全性に関する薬剤学的研究

徐放性製剤のスケールアップ，製法変更に関する生物学的同等性試験法を確立すべく，FDAにおける製法変更のガイドライン，国内の処方変更の生物学的同等性試験ガイドラインなどとの整合性を考慮の上，in vitro 放出試験による同等性評価の適用範囲，試験条件等について検討を行い，最終的に製法の変更水準を3段階に分けた「徐放性製剤の製法変更に関する生物学的同等性試験ガイドライン案」を確立した。また，ガイドラインの目的，変更水準，試験法等を解説したQ&Aを作成するとともに，その英文版も作成した（厚生労働科学研究／医薬等医療技術リスク評価研究事業）。

### 4. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

パクリタキセル投与癌患者血漿中の未変化体，代謝物（6 $\alpha$ -水酸化体，C3'-p-水酸化体）および添加剤の定量を行い，患者における薬物動態等と薬効，副作用，関連遺伝子（CYP3A4，CYP3A5，CYP2C8，ABCB1，HLAなど）のSNPとの関係を検討した結果，ABCB1のいくつかのハプロタイプがパクリタキセル代謝物の血中濃度に影響を与えることが示唆された。しかし，これらの変異はパクリタキセル自身のクリアランスには影響を与えなかった。また，代謝酵素CYP3A4の変異がパクリタキセルのCYP3A4代謝物の血中濃度の低下の原因になることが示唆された。また，代謝に影響を与える可能性のある併用薬の影響についても解析を行い，安全性，有効性の個人差を引き起こしている要因を明らかにするため，探索的な解析を行った。カルバマゼピンについては，患者より得られた血漿中の薬物濃度を測定し，年齢によるカルバマゼピンの代謝活性の変化などを考慮しながら，現在までに蓄積されたカルバマゼピン投与患者の遺伝子多型解析結果およびPK解析結果を統合し，CYP3A4およびEPHX1のハプロタイプがPK解析結果に及ぼす影響について詳細に検討した結果，EPHX1のある種のハプロタイプは，カルバマゼピンの活性代謝物であるエポキシド体の代謝速度に影響を及ぼしていることが示唆された（薬剤反応性遺伝子解析による疾病・創薬推進事業）。

凍結乾燥等により作成される非晶質固体の物性最適化に錯体形成による分子間相互作用の制御が有効であることを明らかにするとともに，製剤の機能と有効性向上への活用を検討した。

### 5. 医薬品の物性と安定性に関する研究

タンパク質凍結乾燥製剤の安定性に影響を与える分子運動の実体を明らかにする目的で，NMR緩和時間で測定される分子運動と誘電緩和時間で測定される分子運動を比較検討した結果，NMR緩和時間が反映する分子運動は，誘電緩和時間で測定されるプロトンホッピングと同様に，安定性を大きく支配する分子再配列の運動と連動していることが明



らかに、NMR緩和時間が安定性の指標として有用であることが分かった（厚生労働科学研究／医薬等医療技術リスク評価研究事業）。

ポリビニルピロリドンと固体分散体にするによって安定化させた非晶質ニフェジピンおよびフェノバルビタールについて、分子運動性の指標である緩和時間をAGV式に基づいて算出し、結晶化速度との関係を検討した結果、両者の温度依存性が一致し、安定性が分子運動性に密接に関連することが明らかになった（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）。

ショ糖、トレハロース、デキストランおよびショ糖-デキストラン混合物を添加剤として用いたカチオン性リポソーム凍結乾燥製剤について、保存安定性試験および動的粘弾性率測定を行った結果、動的粘弾性率測定に基づく製剤マトリックスの運動性がカチオン性リポソーム凍結乾燥製剤の保存安定性の評価に普遍的に適用できる指標であることが明らかとなった（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）。

メタクリル酸修飾デキストランを用い、低線量の $\gamma$ 線照射によってハイドロゲルマイクロスフェアを調製することができた。モデルタンパクとして $\beta$ -ガラクトシダーゼを用いて検討したところ、メタクリル酸の修飾率を制御することにより、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの内包率が高く、適度な放出速度を有するマイクロスフェアを調製できることが明らかとなった（国立機関原子力試験研究費）。

ポリアクリル酸等の高分子添加剤とアセトアミノフェン等の非晶質薬物の固体分散体について、薬物-高分子間および高分子-水間の相互作用が非晶質薬物の結晶化速度に及ぼす影響を検討した結果、薬物と強固な相互作用を示す添加剤が結晶化抑制効果をもつことが分かった。固体分散体に吸着した水は系の運動性を高めるだけでなく、薬物-高分子間の相互作用を低下させることが明らかになった。

#### 6. 医薬品の品質管理に関する研究

医薬品の開発、製造、流通、規制等を取り巻く状況や技術に相応した品質システムのあり方・手法をまとめ、グローバルに通用する指針として提供することを目的として、医薬品の品質管理システムに関する研究を行い、GMPガイダンス案、技術移転ガイドライン案、品質試験室管理ガイドライン案および査察手法ガイド案を作成した（厚生労働科学研究／医薬等医療技術リスク評価研究事業）。

上記の品質管理システムに関する研究において得られた製薬企業における技術情報の流れと薬事行政（医薬品の審査、製造所の監視指導）における情報の流れとを対比させて、承認書の役割の重要性について検討するとともに、承認書の製造方法欄に記載すべき項目を提案した（厚生労働科学研究／医薬等医療技術リスク評価研究事業）。

マスターファイル制度に関しては、改正薬事法が平成17年4月に施行されるのに向けて、マスターファイル検討会

（座長：小嶋茂雄 国立医薬品食品衛生研究所薬品部長）において、その具体的な内容の検討作業が進められて、指針案〔原薬等登録原簿の利用に関する指針（案）〕がとりまとめられた。本研究では、原薬などの製造業者が、製造方法などに関するノウハウを含む情報を、製剤の承認申請者に開示することなく、規制当局の審査に提供できるようにするというマスターファイル制度の狙いを実現するには、わが国の制度をどのようなものとすべきかについて検討した（厚生労働科学研究／医薬等医療技術リスク評価研究事業）。

医薬品原薬製造における科学的品質保証を推し進めるため、安全情報部と協力して、固形製剤のスケールアップ・生産における近赤外分光法を用いた工程管理技術、分析法の開発・バリデーションなどについて、官民共同で研究した（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）。

## 生 物 薬 品 部

部 長 川 西 徹

### 概 要

生物薬品の承認審査体制が大きく変化した。即ち、当研究所の医薬品医療機器審査センターが、平成16年4月1日をもって医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構と統合して独立行政法人 医薬品医療機器総合機構に移行し、生物系審査部が新設され、今後医薬品の中で重要性を増すことが予想される生物由来製品の審査体制を強化するための準備が整った。もう一つ大きな変化は、新薬の承認審査において衛研の医薬品部門が担当してきた特別審査が同じく平成16年3月31日まで申請された製品をもって廃止された。当部は長年にわたり生物薬品の承認審査に深く関わってきているが、わが国における生物薬品の承認審査体制の強化の枠組みができつつあることは誠に喜ばしいことであり、承認審査体制の強化・充実が内容的にも実現してゆくよう、協力・支援してゆくことが重要と考えている。一方、新薬の規格試験法の試験を主な目的とした特別審査の廃止は、将来的に当部が果たすべき承認審査における役割の変化を象徴しているものと思われる。即ち製薬企業の技術レベルの向上によって、国が個別の製品の規格試験を自ら実施し確認する必要性は薄れ、むしろ物質面でも生産技術面でも多様化、高度化が著しい生物薬品の承認審査において、より高度な専門知識を動員しながら関与することが当部の役割であると思われる。そのためには、生物薬品の開発動向を常に捕捉し、医薬品として利用されるタンパク質等生体由来物質の構造解析法、機能解析法の高度化・標準化の基礎となる研究を展開しながら、その知識・経験を承認審査への協力・支援に生かすことが重要と考えられる。

国際調和関係では、ICH-Q5E（製造方法の変更に伴う生物薬品の同等性／同質性評価ガイドライン）が関係者の努力もあって11月のICH6でステップ2に到達することができた。最近承認申請されているバイオ医薬品の多くは、開発途上で製法変更をうけており、製法変更前後の製品の同質性／同等性評価は重要である。また生産方法に最新技術が動員されるバイオ医薬品の場合、認可された後でも技術の進歩に伴い製法変更が望まれる場合が少なくない。したがって同等性／同質性評価法の確立、およびその国際調和は緊急な課題となっている。このガイドラインについては、引き続きステップ4に向けた検討が継続されるが、この後にはバイオ医薬品の後発品の同等性／同質性評価という次の課題が待っているものと予想される。

わが国における医療用の生体由来製品（バイオリジクス）の開発、規制にかかわる諸問題について産官学を交えて広く討論する場を創成するために、昨年度よりバイオリジクスフォーラムの設立準備を行ってきたが、早川副所長を代表世話人、当部および遺伝子細胞医薬部を事務局として10月に設立を発表し、本年2月に第一回学術集會を開催した。集會へは約350名という多数の参加者があり、活発な討論が繰り広げられた。今後バイオリジクスフォーラムが、バイオリジクスの開発情報、規制に関わる諸問題についてのオープンな討論の場として活用され、わが国における有用かつ安全なバイオリジクス開発に貢献できるように展開できればと考えている。

人事面では、厚生科学課併任となっていた日向昌司主任研究官は平成15年6月1日付けで併任解除となった。平成15年10月1日付けで原園景研究員が主任研究官に昇格した。平成15年12月22日付けで山口彰子研究員が環境衛生化学部より異動になった。平成15年4月1日付けで河合洋研究員が主任研究官に昇格した。また、平成15年12月1日付けで橋井則貴博士がヒューマンサイエンス振興財団ヒトゲノム・再生医療等研究事業流動研究員として採用された。平成16年4月1日付けで松石紫氏が科学技術振興機構技術員として採用された。

海外出張は以下のとおりであった。川西部長：製造方法の変更前後の生物薬品の同等性評価法に関する専門家研究グループ会議に出席（ブラッセル：平成15年7月11日～7月19日）、製造方法の変更前後の生物薬品の同等性／同質性評価法に関する専門家会議に出席（ワシントン：平成15年9月21日～平成15年9月28日）、新見室長：IABS主催「生物薬品の特性解析および同等性／同質性評価に用いられる分析方法ワークショップ」に出席（平成15年6月10日～平成15年6月13日）。

#### 業務成績

1. 特別審査 新薬10件について審査した。
2. その他

薬事・食品衛生審議会の各種部会および約35品目の新薬お

よび医療用具の承認審査に関わる専門協議（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）、日本薬局方規格および試験法の改正作業、国際調和作業（医薬局審査管理課）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

1) バイオテクノロジー応用医薬品等の特性解析及び品質評価技術の開発の一環として、LC/MSを用いて糖タンパク質の部位毎の糖鎖構造を推定する方法を開発し、アポリポrotein B100の糖鎖結合部位毎の糖鎖を明らかにした（HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

2) トロンボモジュリンの作用を仲介すると考えられるトロンピンがHUVECにおいて増殖促進をおこす条件について検討を行った（HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）。

3) 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の一環として、①LC/Q-TOF MS/MSを用いて、糖ペプチドのペプチド部位および糖鎖構造を推定する方法を開発し、臍帯血由来alpha-fetoprotein、及びセルロプラスミン等に結合している糖鎖を明らかにした。また、血清タンパク質に応用し、血清タンパク質およびその糖鎖を明らかにできることが示唆された。②細胞・組織由来目的生理活性タンパク質の新規体内動態解析法の開発を目的として、血中にあるタンパク質性医薬品のMS法による解析法の高感度化に成功した。③小型肝細胞におけるアネキシンの発現がmRNAレベルで調節されていることをRT-PCR解析により明らかにした（厚生労働省科学研究費補助金）。

4) 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安定同位体標識法を用いたLC/MSによる定量的糖鎖解析法を開発し、絨毛性性腺刺激ホルモンをモデルとして用いて、同分析法の糖鎖試験法としての有用性を評価した。②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／同質性評価における、米欧の現状について調査を行った。③抗体医薬品の現状と問題点を検討した。作成法の違いによる各種抗体医薬品の有用性と問題点を明らかにするとともに、抗体医薬品の作用機序、抗体療法の現状および今後の課題について明らかにした（厚生労働省科学研究費補助金）。

5) 製造方法の変更に伴う生物薬品の品質の変化について、単純タンパク質医薬品の検討を行った（厚生労働省科学研究費補助金）。

##### 2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

1) 化学物質の安全性評価に関する検討を行う評価系として小型肝細胞の培養条件について基礎的検討を行った（厚生労働省特別研究費）。

2) 組織中の複数種のカスパーゼの活性化、あるいは一酸化窒素とカルシウムイオンのリアルタイム同時画像化のための蛍光プローブを開発した（厚生労働省科学研究費補助金）。

### 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

- 1) 血管内皮細胞における VEGF 情報伝達系のプロテオーム解析について、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法の有用性を検討した。
- 2) 2次元電気泳動法で分離されたラット脳膜画分 GPI アンカー型タンパク質から糖鎖を切り出し、LC/MSを用いて糖鎖構造を解析した(文部科学省科学研究費補助金)。
- 3) 糖転位酵素遺伝子導入細胞をモデルとして、LC/MSを用いた糖鎖プロファイリング、2次元電気泳動法、レクチンプロットを組み合わせたグライコプロテオーム解析法を開発した(厚生労働科学研究費補助金)。
- 4) プロテアソーム阻害剤存在下で培養した肝細胞の核抽出物において、グルココルチコイド受容体と結合した c-fos 及び c-jun レベルが増加していることを明らかにした。
- 5) トロンボモジュリンの作用がトロンビンの特異的阻害剤により阻害されることから、培養系に持ち込まれたトロンビンの機能を亢進することにより、マウス乳ガン MMT 細胞の浸潤を促進することが示唆された。
- 6) 細胞内カスパーゼ活性化をプレートリーダーを用いて高効率に検出、解析するシステムを検討した(HS 創薬等ヒューマンサイエンス総合研究)。

### 4. 先端技術を利用した生体成分関連医薬品に関する基礎的研究

- 1) トランスジェニック植物による抗体生産における問題点について検討した。
5. MF タンパク質科学による創薬研究
  - 1) レポーターアッセイ系の改良により、リガンド候補化合物の検索が可能な核内受容体の種類を増やすとともに、見出したリガンド候補化合物について、作用機序を検討した。

## 生 薬 部

部長 合田 幸 広

### 概 要

当部では生薬、生薬製剤の品質確保と有効性に関する試験・研究、生薬資源に関する研究、天然有機化合物の構造と生物活性に関する研究並びに、麻薬及び向精神薬等の乱用薬物、無承認無許可医薬品に関する試験・研究を行っている。また、上記の業務関連物質について、日本薬局方をはじめとする公定医薬品規格の策定に参画するとともに、食薬区分に関する調査・研究並びに、天然薬物の規格に関する諸外国との国際調和を遂行している。

平成15年度当部の試験・研究業務で特筆すべきことは、まず、厚生労働科学研究費補助金等医療技術リスク評価研究事業として、一般用漢方処方の見直しに資するための有用性評

価(EBM 確保)手法及び安全性確保等に関する研究及び、専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)の有効性及び安全性等の評価に関する研究がスタートしたことである。前者は、一般用漢方処方の見直しを念頭においた漢方処方に関する総合的な研究で、後者は、いわゆる食薬区分に関する総合的な研究である。平成15年度より厚生労働省の医薬食品局では、「健康食品」に係る制度のあり方に関する検討会及び、一般用医薬品としての生薬製剤(西洋ハーブ)の審査のあり方についての検討会等が開催され、天然物由来である漢方処方・生薬・ハーブ類・機能性食品について様々な議論が交わされているが、以上の研究は、これらの天然物の有効性・安全性評価と制度的な区分に関し深く係るものである。また、平成15年度の厚生労働科学研究特別研究事業として、特に生薬の品質確保を目的として生薬中の農薬分析に関する研究が遂行されている。

国際協力では、引き続き Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH) の活動等に積極的に関与している。また、無承認無許可医薬品に関しては、本年度も医薬食品局監視指導・麻薬対策課及び地方衛生研究所等と連絡をとりながら、試験・研究を実施している。最近の特徴としては、通常の医薬品成分をいわゆる健康食品に意図的に添加する事例だけでなく、医薬品成分を一部改変した構造をもつ新規な成分を添加する事例が見られることであり、昨年度当部で検出、同定した *N*-ニトロソフェンフルラミンに引き続き、本年度もヒドロキシホモシルデナフィル、脱ジメチルシブトラミン等を同定、検出した。

平成15年度の人事面の移動は以下の通りである。平成15年4月1日付けで任期付きの研究者として採用された酒井信夫博士が平成16年1月より千葉大薬学部助手として転出した。また、平成15年10月1日より、糸数七重博士が任期付きの研究者として採用された。また、平成16年3月31日付けで、主任研究官代田修博士が徳島文理大学香川校助教授に就任するため退職した。また、同日付けで HS 財団の流動研究者であった田中理恵博士が退職した。さらに、平成16年4月1日付けで、内山奈穂子博士が任期付きの研究者として採用された。所外研究者等としては、昨年に引き続き、下村裕子東京薬科大学名誉教授を客員研究者として受け入れた。同博士は引き続き、生薬の鑑定に関する研究を遂行されている。また、平成16年4月より、代田修博士を協力研究者として受け入れた。さらに、平成15年5月6日より2週間、シンガポールの Centre for Analytical Science, Health Sciences Authority の Ms. Low Min Yong を短期研修員として、平成15年4月1日より4ヶ月間、国際協力事業団フィリピン薬局方プロジェクトの研修生として、Ms. Cherry V. Alim を受け入れた。また、沖縄県衛生環境研究所担当官を対象に、沖縄県におけるマジックマッシュルームの生息地域の実態調査及び成分分析に係わる知識及び技術習得に関する研修を行った。

海外出張は、以下のとおりであった。平成15年11月25～29日、中華人民共和国雲南省昆明市で行われた Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicine (FHH) Standing Committee 参加 (合田, 川原)。なお、本会議は、同年6月に開催予定される予定であったが、SARSの影響で11月開催となった。平成16年香港生薬規格に関する国際助言委員会(IAB: International Advisory Board on Hong Kong Chinese Material Medica Standards) 参加 (合田)。平成16年2月29日～3月7日「欧州におけるボーダーライン製品の取扱状況に関する調査研究」のために、プラハ、ジュネーブ、パリに出張 (花尻)。

#### 試験・製造・調査・国際協力等の業務

1. アリストロキア酸混入の恐れのある生薬 (サイシン、ボウイ、モクツウ、モッコウ) を含有する生薬製剤並びに生薬類 (103品目) についてアリストロキア酸の分析試験を行い、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
2. いわゆる健康食品のうち強壮効果を標ぼうする製品 (「強壮用健康食品」)、瘦身効果を標ぼうする製品 (「瘦身用健康食品」) 及び近年乱用が問題となっているいわゆる「脱法ドラッグ」を対象として47都道府県の協力の下、無承認無許可医薬品等の買い上げ調査が実施され、当部で医薬品成分の分析試験を行った。買い上げられた製品は、計283製品 (重複を除くと273製品) である。強壮用健康食品は、シルデナフィル、バルデナフィル、タダラフィルについて分析を行い、計91製品のうち8製品から、シルデナフィル、及びタダラフィルを検出した。また、韓国で最初に検出されたホモシルデナフィルについてもシルデナフィルが検出された1製品で存在を確認した。瘦身用健康食品は、エフェドリン、フェンフルラミン、*N*-ニトロソフェンフルラミン、シブトラミンおよびオリスタットに関し計143製品 (重複を除くと136製品) について分析を行った結果、これらの成分は検出されなかった。いわゆる「脱法ドラッグ」は、 $\alpha$ -メチルトリプタミン、5-MeO-DiPT、2C-T-2、2C-I、1、4-ブタンジオールに関し計49製品 (重複を除くと46製品) の分析を行い、3製品から、5-MeO-DiPTが検出された。また調査対象医薬品成分以外の医薬品成分として1製品よりエフェドリン、ブソイドエフェドリン及びメチルエフェドリンが検出された。以上の結果は、医薬安全局監視指導・麻薬対策課に報告した。
3. あへん (国産あへん16件、輸入あへん84件、計100件) 中のモルヒネ含量について試験を行い、結果を医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
4. 新規鑑識用麻薬標準品として、1-(3-トリフルオロメチルフェニル)ピペラジン塩酸塩 (TFMP) 及びアミネプチン塩酸塩を製造した。また、鑑識用麻薬標準品として78薬物を管理し、必要に応じて全国の鑑識機関に交付した。
5. 富山県薬事研究所で検出された成分について、脱*N*-ジメチルシブトラミンと構造決定するとともに、福島県で摘発

された健康食品よりこれまで知られていなかった無承認医薬品成分としてヒドロキシホモシルデナフィルを同定した。なお、これらの内容については本省より報道発表され、新聞報道等が行われている。また、脱*N*-ジメチルシブトラミンを始めとする未承認医薬品成分の分析法を作成し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。

6. 麻薬及び向精神薬、覚せい剤、大麻等の依存性薬物について、定性・定量分析法、生体試料分析法並びに各薬物の解説を記した鑑定法マニュアルを作成した。(医薬食品局監視指導・麻薬対策課)
7. 麻薬及び乱用薬物に関する情報収集 (医薬食品局監視指導・麻薬対策課及び東京税関) に協力した。
8. アマメシバ等、植物由来のいわゆる健康食品の安全性等に関する調査及び分析に協力した。(内閣府食品安全委員会、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室)
9. 国際協力事業団のフィリピン薬局方プロジェクトに協力した。
10. International Forum on Control of Precursors for ATS (主催: 医薬局監視指導・麻薬対策課、関東信越厚生局麻薬取締部及びJICWELS) に協力した。
11. 薬事・食品衛生審議会の部会、調査会、委員会の委員 (合田、尾崎、川原、花尻) として日本薬局方の改訂作業、動物用医薬品の承認審査、新開発食品の評価等に協力した。また、厚生労働省医薬食品局長等が主催する各種検討会の委員 (合田) として、検討会に参画した。
12. 厚生労働省の共同利用型大型機器の管理・運営のとりまとめを行った。

#### 研究実績

1. 一般用漢方処方のパイロット使用実態調査研究 AUR (Actual Use Research) 研究班を立ち上げ、研究方法の詳細について決定し、決定した内容についてまとめた「一般用漢方処方のパイロット使用実態調査研究 AUR (Actual Use Research) 調査計画書」、「調査説明書及び同意書」、「調査記録票」及び「調査協力者日誌」をほぼ完成させた。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)
2. WHOが推進するHATCプロジェクトへの協力を行い、228の漢方処方についてコードを割り振った。また、同時にWHOに報告の際使用する漢方処方のローマ字表記法についても検討を行い、ヘボン式を基本としてハイフンなしの表記法を採用することとした。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)
3. 各国の薬局方に収載された生薬関連一般試験法及び生薬の形態記載の比較を行った。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)
4. 一般用漢方処方の見直しを図るための調査研究として、現在の疾病構造にあわせ、より現代のニーズに即した一般用

漢方処方とすることを目的とし、「新一般用漢方処方案」及び「新一般用漢方処方・新規収載候補処方のしぼり及び効能効果案」を作成した。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)

5. 生薬 11種(ケイヒ, オウギ, ビワヨウ, オンジ, ボタンピ, サイシン, サンシュユ, ソヨウ, チンピ, タイソウ, カンゾウ) 121検体について, 有機塩素系12種, 有機リン系22種, ピレスロイド系3種の農薬の残留実態調査を行った。また, 国内で生産される生薬について, 栽培時に使用されている農薬について調査し, 作物ごとに食薬区分にもとづき区分し, 作物名, 科名, 学名, 局方及び局外生規に収載の有無, 生薬名, 利用部位について整理した。(厚生労働科学研究費・特別研究事業)

6. 日本薬局方調査会生薬等委員会において審議されている14局第二追補, 新規収載予定16品目のうち, 確認試験等の設定が終了した12品目(インヨウカク, ウコン, ウヤク, カンキョウ, クコシ, ジコッピ, シツリシ, ジャショウシ, ソボク, ニンドウ, プシ, プシ末)が第二追補に新規収載されることとなった。これらのうち, ジコッピ及びクコシについて確認試験法の検討を行い, TLCを用いた新規確認試験を設定した。またヘンズ及びウヤクの新規確認試験法における指標候補成分について構造解析を行った。

7. FHH参加国及び地域において, 独自の薬局方を保有している日本, 中国, 韓国, ベトナム4カ国のうち, 英語版が完成している日本, 中国, 韓国3カ国の生薬に関する一般試験法を精査し, 各国の生薬試験法の各項目について試験法の設定の有無, 試験方法について比較表を作成した。また, 上記4カ国の薬局方より, 基原植物を基準に共通生薬リストを作成し, 基原植物と生薬名が1対1対応となっている28品目について局方の英語版について性状の記載に関して比較を行った。

8. 「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)リスト」に例示される品目及び新規に専ら医薬品であるかどうか判断が求められた品目について, その品目が「専ら医薬品」に分類すべきものであるかどうか検討を行った。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)

9. セイヨウサンザシ葉にはアルカロイドが含まれる可能性が低いことを明らかにするとともに, 3-O-caffeoyl-quinic acid他フェニルプロパノイド配糖体を単離構造決定し, セイヨウサンザシ葉中に医薬品として取り扱うべき成分が含まれている可能性は低いことを示した。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)

10. 専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)について, 欧米諸国における取り扱い状況を調査することを目的とし, 今年度はフランス, スイス並びにチェコ共和国を訪問し, 各国の食薬区分状況を調査した。また, 日本における食薬区分対象製品について, 各国市場における流通状況を調査するとともに, 各製品の買い上げ調査を行った。(厚生労働

科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)

11. 強壯用健康食品中に違法に添加される可能性がある3種の強壯薬(シルデナフィル, バルデナフィル, タダラフィル)のLC/MSによる一斉分析法を検討した。市販強壯用健康食品に適用した結果, 製品中薬物の定量値のバラツキは低く, LC/MSによる一斉分析法は十分な定量精度であった。また, 強壯薬の類似体も同時に検出できることが示唆された。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)

12. 強壯用健康食品より, 新規無承認医薬品成分ヒドロキシホモシルデナフィルを同定した。(厚生労働科学研究費・医薬品等医療技術リスク評価研究事業)

13. 薬物分析における頭髮以外の体毛利用の有用性について, 実際の覚せい剤乱用者の試料を用いて基礎的検討を行うために, 国立衛研研究倫理委員会で許可されたプロトコルに従い, 専用病院において覚せい剤乱用患者から体毛試料を採取し, 薬物分析を行った。(厚生科学研究費・医薬安全総合研究事業)

14. 規麻薬指定3薬物(BZP, TFMPP及びアミネプチン)の分析法に関する研究として, 平成14年度に新規麻薬指定となった3薬物(1-ベンジルピペラジン, 1-(3-トリフルオロメチルフェニル)ピペラジン塩酸塩及びアミネプチン塩酸塩)について, 各定性・定量分析法を検討した。(厚生科学研究費・医薬安全総合研究事業)

15. 幻覚性キノコ(いわゆるマジックマッシュルーム)の成分であるサイロシピンおよびサイロシンを免疫学的手法で検知するため, 昨年度に引き続いてサイロシンをモチーフとしたハプテンを多数合成し, それらを用いて免疫を行い, 抗サイロシン抗体生産ハイブリドーマのクローニングを行った。(厚生科学研究費・医薬安全総合研究事業)

16. DNA配列の違いを利用した幻覚性キノコ(いわゆるマジックマッシュルーム)の鑑定法について検討を行った。サイロシン類を含有しない*Psilocybe*属キノコのrRNA配列を解析し, その結果に基づき, 昨年度, 構築した鑑定法をより精度の高いものへと改良した。(厚生科学研究費・医薬安全総合研究事業)

17. 幻覚性キノコ(いわゆるマジックマッシュルーム)中の麻薬成分であるサイロシン, サイロシピン及びそれらの代謝物について, 血液, 尿, 毛髪等の生体試料中薬物分析法を検討した。(乱用薬物基礎研究費)

18. 健康被害が発生したアマメシバ製品の大量抽出を行い, その成分について活性炭クロマト, シリカゲルクロマト並びにLPLCによる分取を行った。この結果, 新規化合物と考えられる1種を含む数種の化合物を単離し, それらの構造解析を行った。(食品等試験検査費)

19. いわゆる健康食品について, インターネットを通じて買い上げを行い, 成分プロファイリング分析を行い, これら商品の品質及び安全に対する妥当性を調査した。(食品等試験

検査費)

20. 既存添加物「ユーカリ葉抽出物」規格作成に関する基礎的研究を行い、同製品中に含有される化合物の化学構造をLC/MSを用いて解析し、没食子酸、エラグ酸に加え、6種のMacrocarpal類が含まれることを推定した。(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究事業)

21. 既存添加物「アルカネット色素」規格作成に関する基礎的研究を行い、同色素中の主色素成分がヒドロキシナフトキノンのエステル化体であり、それら化合物の立体がalkannin型(S-体)ではなくshikonin型(R-体)であることを明らかにした。(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究事業)

22. 塩酸ゲムシタピンについて、実際に患者から得られた血漿中薬物及び代謝物濃度を測定し、薬物動態解析を行った。(薬剤反応性遺伝子解析による疾病・創薬推進事業)

23. サトイモ中の抗高脂血症作用本体 monogalactosyl diacylglycerol (MGDG) 類及び、digalactosyl diacylglycerol (DGDG) 類の合成を行い、任意の位置に任意の脂肪酸を導入したDGDGの合成法を確立した。得られた化合物について抗高脂血症活性を測定したところ、ジガラクトシルグリセロールに一定の長さのアシル基をもつDGDGが強い活性を示した。また、数種のブラジル産植物抽出物が抗高脂血症活性を持つことを明らかにした。(創薬等H S総合研究事業)

24. ハーブの成分研究の一環としてオータムセージ (*Salvia greggii*) の成分検索を行い、4種の新規 crerodane 型 diterpenoid 配糖体を単離し、それら構造を決定した。

25. 炎症の治療に用いられている漢方薬で抗炎症作用を示した甘草と桔梗からなる桔梗湯の成分で、特に、桔梗に含まれる成分のイヌリンの抗炎症作用について検討した。また桔梗湯の熱水抽出エキスに含まれるイヌリン含有量を検討した。

26. 宮内庁からの移管生薬に関して日本薬局方(一局)との整合性について検討を行った。

27. 徳川家康の薬「烏犀圓」中の配合生薬について引き続き形態学的確認を行った。「烏犀圓」の配合生薬58生薬のうち、生薬自体が不明のもの、鏡検による組織判定が困難なもの(水銀のみ理化学的に確認)6生薬を除き、52生薬について明らかにした。

## 遺伝子細胞医薬部

部長 山口 照 英

### 概 要

ポストゲノムの大きな動きとして、ゲノム機能、遺伝子調節ネットワーク、多型解析などの研究が急速に進んでいる。このような研究の進展を背景に、昨年の6月にまとめられた

科学技術会議の「平成16年度の科学技術に関する予算、人材等の資源配分の方針について」の中で、ライフサイエンスの重要課題として、再生医療、遺伝子治療等を中心とした新しい治療技術の開発がうたわれている。特に、再生医療、細胞治療薬の開発はめざましいものがあり、実施中・実施計画段階にある臨床研究の数は200を超えると報告されている。また、遺伝子解析技術の進歩によりテーラーメイド医療のための遺伝子診断薬の開発や関連する技術開発が活発に行われている。

遺伝子治療薬に関しては、一昨年よりICHの中に遺伝子治療専門家グループが発足し、昨年のICH6において遺伝子治療に関するサテライトワークショップが開催された。本ワークショップでは、フランスにおけるレトロウイルスベクターによる遺伝子治療の副作用としての白血病発症の詳細な解析報告やウイルスベクターの放出など非常に重要な課題について活発な討議が行われた。我々も、「日本における遺伝子治療の現状」及び「ウイルスベクター中に含まれる増殖性ウイルスの新規高感度検出法」について報告した。このシンポジウムの成果等を踏まえ、毎年遺伝子治療の品質・安全性等の評価技術に関してワークショップを開催することや専門家協議を行い最先端の技術や安全情報を共有していくことが確認された。このような専門家グループへの積極的な貢献を含め遺伝子治療薬の安全性や品質等の確保のための技術開発を行ってきた。

再生医療、細胞治療薬の開発や基盤研究については、ミレニアムプロジェクトの再生医療で重点的に取り上げられ、16年度はその最終年度になる。このミレニアムプロジェクトのなかでも再生医療分野は非常に評価が高いとされている。さらに、FDA等でも細胞治療薬に関するIND申請等、数多くのガイドラインやトークペーパーが出されており、我が国においても科学の進歩に即応したガイドライン等のバージョンアップが求められている。ミレニアムプロジェクトの中のゲノム・再生医療のプロジェクトとして細胞・組織加工医薬品・医療用具に関する品質確保に関する研究は2期目の研究が開始された。このなかで高感度ウイルス手法のさらなる進展や感染性PCRの有用性の解明、shorta-tandem-repeat (STR)を用いた細胞の純度や同一性の確認手法の開発、さらにはヒト血管内皮前駆細胞の特性解析や心筋細胞や神経細胞の分化誘導系の開発を進めることができた。

体外診断用医薬品は薬事制度の改正に伴い、要大臣承認薬、第3者認証品目、自己認証品目に分類されることになっている。このようなクラス分類を行うことによってより合理的な規制を行うに当たり、適切なクラス分類や自主点検の方法を検討するために体外診断用医薬品品質確保検討委員会が設置され、承認不要体外診断薬の品質確保のためにどのような施策が必要なのかについて検討が開始されている。このような従来からある診断用医薬品の品質や有効性確保のために必要な施策に対して科学的根拠を提示するための検討

を行うとともに、遺伝子マイクロアレイやタンパク質アレイといった先端技術を利用した新たな診断技術の品質や有効性評価手法の開発も積極的に取り組んできた。

人事面に関しては、平成16年3月31日付で遺伝子細胞医薬部第2室長の宮澤宏氏が徳島文理大学薬学部教授として転出された。当部主任研究官の永田龍二氏は平成15年7月1日付けで審査センター併任が解除された。また平成16年1月1日付けで本省厚生科学課科学技術調整官に併任となられた。平成16年4月1日付で当部主任研究官の水口裕之氏が大阪支所基盤研究第三プロジェクトチーム副プロジェクトチーム主任研究官（遺伝子細胞医薬部併任）に、同川端健二氏が同プロジェクトチーム主任研究官（遺伝子細胞医薬部併任）に、櫻井文教氏が同プロジェクトチーム研究員（遺伝子細胞医薬部併任）に異動された。平成15年11月より日本公定書協会流動研究員として薬学博士を迎え、DNAマイクロアレイ解析を中心とした研究に従事している。

海外出張は以下の通りであった。鈴木室長：ヨーロッパ環境変異学会にて発表（英国；平成15年8月23日～9月2日）；中国環境変異学会にて発表（中国；平成16年11月16日～11月23日）

## 業務報告

### 1. 国際協力

平成15年11月1日より平成16年4月30日まで韓国KFDAの洪正熙氏を迎え、体外診断薬の承認申請に関わる研修および細胞の遺伝的同一性の解析に関する研究及び研修を行った。平成16年1月より平成16年4月まで、韓国FDAより蔡奎漢氏を迎え、わが国の医薬品の承認審査に関する研修を行った。またこの間、平成16年1月より2月までは薬品部で、4月は医薬安全科学部で研修を行った。

### 2. その他

薬事・食品衛生審議会各種部会や調査会での基準や指針の作成及び改正等へ参画するとともに、審査センター専門協議などに協力した。

## 研究業績

1. 遺伝子治療薬及び細胞・組織利用医薬品の特性と品質評価に関する研究

1) 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として、①PEI磁気ビーズを用いたウイルス濃縮において、抗ウイルス抗体を添加することによりさらに効率良くウイルスを濃縮可能なことを見いだした。また、PEI磁気ビーズによるウイルス濃縮法をヒト感染性ウイルスの高感度検出に適用するために、培養細胞にHCVやHBVをスパイクする検討を行い、濃縮可能な条件を明らかにすることができた。②マイクロアレイ、STRマーカーを用いて細胞の遺伝的同一性の検索を行い、その有用性を確認するとともに、染色体の欠出や数的変化の検出にも応用可能③サイトカインアレイを用いた細胞由来タンパク質プロファイル迅速解析法が製造工程における特性・品質評価試験法として有

用であることを明らかにした。④ヒト血液幹細胞から血管内皮前駆細胞（EPC）への分化誘導系の解析より、EPCの細胞指標として、CD31に加えLox-1やコネキシン37が有用であることを明らかにした。マウス胚性腫瘍細胞P19から、心房筋タイプの心筋細胞およびニューロンタイプの神経細胞へ効率よく分化誘導させる系を確立した。また分化誘導時におけるタンパク質発現の変動を解析した。

2) 国際的動向を踏まえた医薬品等の品質・安全性確保に関する研究の一環として、①細胞治療用医薬品の新薬治験申請におけるガイドラインを中心にの最近の動向を検討し、我が国における細胞治療薬のIND申請に必要なデータについて有用な情報が得られた。②遺伝子治療用ウイルスベクターの品質・安全性確保に関する欧米の最新の動向を検討し、レンチウイルスベクターの品質・安全性確保において考慮すべき点を明らかにするとともに、レトロウイルスベクターによる重篤な副作用の発症機構と安全性確保のための方策を示した。（厚生労働科学研究費補助金）

3) 遺伝子治療用ウイルスベクターに混入する増殖性ウイルスの迅速・高感度検出法の開発を目指して、ガラスビーズを用いた新規ウイルスゲノム抽出法によりウイルス感染細胞から効率よくウイルスゲノムを回収する方法を確立した。（文部科学省科学研究費補助金）

4) 細胞治療、再生医療における放射線照射ストローマ細胞の有用性確保に関する研究として、幹細胞、前駆細胞の増殖支持能を有するストローマ細胞の有効性、安全性から見た放射線照射の最適条件を明らかにした。（国立機関原子力試験研究費）

## 2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

1) 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として、前年作製した抗L-plastinモノクローナル抗体を用いた解析より、L-plastinとカルシウム結合蛋白質S100A8が結合することが明らかになり、L-plastinの活性酸素生成酵素の制御にS100A8が関与する可能性が示唆された。

2) 顆粒球コロニー刺激因子に関する研究として、好中球への分化誘導に伴い、p70S6KやSTAT3等のシグナル分子が不等分配されることを明らかにした。（文部科学省科学研究費補助金）

## 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

1) 食細胞の活性酸素産生系の調節因子の解明とその機能分化についての研究として、PKCiに対するsiRNAを用いたHL-60細胞の好中球分化におけるG-CSF依存的な増殖促進のシグナル解析を行い、好中球分化・増殖にPKCiが重要な役割を果たしていることを明らかにした。

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として、心血管筋収縮関連遺伝子・タンパク質発現を指標とした核内受容体リガンドの毒性・血管形成異常の病

理生化学的解析・評価法の検討を行い、評価の指標となりうる遺伝子を同定した。(厚生労働省特別研究)

3) 新規心不全治療薬としての核内受容体作動性遺伝子制御薬剤の開発に関する研究としては、心筋細胞において甲状腺ホルモンとその誘導体による遺伝子発現誘導作用を解析し、内因性甲状腺ホルモンよりも甲状腺ホルモン誘導体 DITPA が心筋収縮性に選択的に作用するのは筋小胞体カルシウムポンプへの作用の差に基づくことを明らかにした。(創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)

4) 心筋細胞の分化に対する細胞外環境の影響に関する研究としては、幹細胞 CL6 からの心筋細胞分化効率を幹細胞と細胞外マトリクスとの接着に依存することを明らかにした。(文部科学省科学研究費補助金)

5) 細胞分化誘導時における DNA 複製関連因子の機能に関する研究としては、神経細胞への分化誘導時に DNA 複製をはじめとする増殖関連因子の発現変動を解析した。

#### 4. MF タンパク質科学による創薬研究

1) 核内受容体とそのリガンドによる心筋梗塞病態の抑制に関する研究としては、甲状腺ホルモンは動脈硬化病態の一つである血管石灰化を抑制する働きを持つことを明らかにした。(メディカルフロンティアプロジェクト)

2) 遺伝子制御薬剤の効率的スクリーニング系の開発としては、プロテオミクス技術を用いて、cisRA 等による血球系細胞の分化誘導時における網羅的蛋白質発現の解析を行い、分化誘導の非常に早い時期にカテプシン D の特異的な誘導が起こることを明らかにした。(メディカルフロンティアプロジェクト)

#### 5. 診断用医薬品に関する基礎的研究

1) プロテオミクス手法を応用した新しい診断指標の確立に関する研究として、2次元電気泳動法の代替法としての2次元液体クロマトグラフィーによるタンパク質の分離手法の有用性に関して、基礎的な検討を行った。

2) Affymetrix 社 GeneChip を用いた網羅的遺伝子発現解析における独自のデータ解析手法を確立するとともに、定量的 RT-PCR 法を用いたチップデータの信頼性に関する検討を行った。

3) グリタゾン系糖尿病治療薬の肝毒性の予測における遺伝子発現解析の有用性を調べる目的で、マウスに3種のグリタゾン系薬剤を投与した際の肝臓における遺伝子発現変化を GeneChip を用いて解析した。また、同じ薬剤に関して共同研究機関にて得られたヒト初代培養肝細胞でのデータとの比較を行い、マウスとヒトおよび *in vitro* と *in vivo* でのデータの比較およびブリッジングに関して検討を行った。(厚生労働省科学研究費補助金)。

## 療 品 部

部 長 土 屋 利 江

### 概 要

平成17年度施行される大幅な薬事法改正にむけて、生物試験、ゴム材料、透析器、血液回路、歯科関連などのJIS化作業が着々と進められている。また、原材料記載要領(案)や整形外科関連審査ガイドライン(案)がまとめられた。これらの作業に当部が重要な役割を果たすと共に、平成16年度も、同様な作業が継続される。

Tissue Engineering 技術を使用した細胞組織医療機器や先進的医療機器の我が国での開発を促進するために必要な課題に関する講演依頼が多い。日常の研究においても、安全性評価を基盤とすることにはかわりはないが、開発への道筋も示すことが、特に医療機器の場合求められている。従来路線の継続では、我が国発の医療機器開発はますます遠ざかる感がある。

医療機器・医療材料は、大学の工学部が主体となって教育し、製造しており、機械的な面を重視して部品を組み立て、最後に最終製品について安全性を評価するフローとなっているため、最後につまづくことが多く、安全で有用な医療機器を効率良く開発するシステムとなっていない。医療機器開発は、従来の逆フローでおこなうべきである。そのためには、設計の段階から、安全性を正しく評価できる人材が各工学部にいる必要があるが、現実には、そのような教育がなされていない。日本発医療機器開発が進まない要因の一つになっているように思える。医療機器の安全性・有効性・品質管理、GMP、GCPなど医療機器に関するこれらの重要な領域での専門家の育成を行うことが安全で有効な医療機器の開発を加速する。

また、国立保健医療科学院で行われている薬事衛生管理コースへ医療機器関連コースの充実を目的として、昨年度から、佐藤道夫埋植医療用具室長が副主任として参画しているが、研究員の絶対数が不足している。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が平成16年4月に独立法人化し、医療機器の審査体制が構造的にも人的にも一層充実されることとなっているが、医療機器審査の科学的評価の土台の一翼を担っている当部においても、バランスのとれた、多分野の人材の増員が、急務である。

家庭用品では、化学物質審査規制法が改正され、環境中への動植物への影響評価、難分解・高蓄積性物質への規制の導入、事業者の有害性情報の報告義務付けなど化学物質の審査・規制制度の見直しが行われた。当部の研究により、家庭用品の木材防腐処理品クレオソート油中に発がん性物質を高濃度検出し、厚生労働省では、家庭用品規制法に基づく法規制を改正した。

人事面では、平成15年10月1日付けで、お茶の水女子大



学助手澤田留美氏が採用された。平成16年1月1日付けで、東京大学より、中村直仁氏が採用された。松岡厚子主任研究官は、平成15年10月1日付けで第三室長に昇任した。分子毒性の専門家として配属された高橋芳樹氏は、平成16年4月1日付けで毒性部へ配置換えとなった。楊 軍博士は、日本学術振興会外国人特別研究員に採用され「各種遺伝子導入による肝細胞のスーパー化と体内埋め込み人工肝臓の開発」研究を開始し、平成15年9月30日付けで2年間の研究を終了し、就職のため、平成16年5月1日付けで退職された。遺伝子組込型バイオ肝の開発で成果をあげられた。平成13年11月1日付けでAhmed Saifuddin 博士は、医薬安全研究事業リサーチレジデントとして採用され、「医療用具有害事象に相関する遺伝子多型の同定に関する基礎研究」を引き続き研究し、多くの成果をあげ、平成15年3月31日付けでリサーチレジデントの任期を終えた。引き続き研究を継続している。平成14年9月からナノ流動研究員として採用された柳樂 勤博士は、「新規組織代替材料の有効性・安全性評価手法の開発に関する研究」に参画し、感染リスクがなく、安全で有効かつ温度応答性新規人工フィーダーとその評価手法の開発に着手している。平成15年1月1日付けでSusan Matthew博士が医薬安全研究事業リサーチレジデントとして採用され、「医療用具の有効性・安全性評価手法の開発に関する研究」に従事し、帰国のため、平成15年6月6日付けで退職した。中岡竜介主任研究官は、平成15年4月14日より、ヒューマンサイエンス研究事業（前半6ヶ月）とナノメデシン研究事業（後半6ヶ月）の派遣研究者として、米国ミシガン大学歯学部 David J. Mooney 教授の研究室で1年間の研究を終え「DDS 組込型組織工学材料の開発と評価技術の開発に関する研究」テーマの基、新たな技術を身につけ帰国した。土屋は、JICA の依頼で、北京へ出張し、医療機器の生物学的安全性と GLP に関する講演を行った。また、シドニーで開催された第7回世界バイオマテリアル学会でバイオ軟骨に関する講演、マレーシアで開かれた国際学会 IC-BITE04 では、医療機器の生物学的評価に関する講演と日本の医療機器規制環境の再編および国際標準化に関する講演を行った。

#### 業務成績

##### 1. 家庭用品関係

家庭用品に関わる毒性試験計画の一環として、(1) 計画の策定、(2) 分析法の作成、(3) 細胞毒性試験を担当した。平成15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：セバシン酸ジブチル、酢酸ジエチレングリコールモノブチルエーテル

細胞毒性試験：メチレンビスチオシアネート、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレート、4,4'-チオビス(3-メチル-6-tert-ブチルフェノール)。

##### 2. 細胞・組織医療機器、国際調和、国内基準

医療機器関係国際標準化機構技術委員会への参加：ISO/TC150「インプラント」年次総会 (Izumir, 2003.9, 土屋)

TC150WG11 (Tissue Engineered Implants) に出席した。日本側からは土屋、大串、藤澤 (産業技術総合研究所ティッシュエンジニアリング研究センター) 堤 (京都大学再生医科学研究所) が出席した。[General requirements for safety, marking and for Information to be provided by the manufacturer] の文書化作業を行った。

米国試験材料規格協会 (ASTM F04)「組織工学製品の標準化委員会」タンパ会議 (Tampa, 2003.11, 土屋, 中岡), ソールトレーク会議 (Salt Lake, 2004.4, 土屋) 標準化会議では、軟骨、皮膚、骨、心臓弁など重要な標準化作業が急ピッチではじまっている。

厚生科学研究 (医薬安全総合研究事業 主任研究者 桜井靖久 東京女子医科大学名誉教授) 細胞・組織利用医療用具評価手法に関する研究班会議 (班長：岡野光夫 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所長) 細胞・組織利用医療機器の上市化に近い再生医療技術の把握と、諸外国における最近の規制、ガイドライン等についての3年間の調査が終了した。次年度以降も、引き続き、新たな研究班を立ち上げ、再生医療製品のガイドライン等の作成に向けた作業が継続される予定となっている。

##### 3. 医療機器関係国際調和・国内基準改訂等

医療用具及び医療材料の基本的な原材料記載要領に関する班会議を4回開催した。療品部からは、土屋 (座長) 佐藤、龍島がメンバーとして参加し、文書化作業に積極的に対応し、最終案を作成できた。

平成15年10月25日医療機器フォーラム設立記念シンポジウムを開催した。テーマは、21世紀の医療機器「Tissue Engineering 開発と評価」である。約200名の参加者を得た。講師は、いずれも日本を代表する研究者であり、会場内は熱気に満ちていた。平成16年2月WHOに招かれ標準化について講演した。

ISO/TC194 国内委員会は、委員長土屋、事務局長中村でスタートし、数回の国内検討委員会を開催した。TC194 内にも、新たに Tissue Product Safety をあつかう sub-committee が設置される。ISO/TC150 国内委員会 (佐藤)、バイオマテリアル学会標準化委員会 (土屋、伊佐間) 日本工業標準調査会 (生物安全性試験項目・歯科材料・ゴム製品・透析器・血液回路等の JIS 化：土屋、龍島、鹿庭)、医療用具技術専門委員会 (土屋、龍島)、人工骨・骨補填剤の臨床評価ガイドライン (土屋、佐藤)、など医療機器等の各種規格・基準ガイドライン作成検討委員会に出席した。医療機器・医療材料・細胞組織医療機器の薬事・食品衛生審議会の専門協議、5つの部会 (医療材料、医療機器・体外診断薬、医療機器安全対策、生物由来技術、化学物質安全対策)、細胞組織小委員会、医療機器クラス分類等小委員会、家庭用品調査

会・化学物質規制法に関する厚生科学審議会などに療品部の多くのメンバーが協力した。

## 研究業務

### I. 医療機器・医療材料の力学的試験と安全性・生体適合性に関する研究

#### I-1. 整形インプラントの力学的試験のガイドライン化に関する研究

整形インプラントの力学的試験のガイドライン化のために、8種の試験法に絞り込み、その草案作成のための試験内容の検討と会議を開催し、有用性等について議論した。国際的に優れた試験法のガイドラインの作成をめざし、3種類の試験法のガイドライン（案）の提示とバイオ軟骨等の従来の機器では測定が困難な組織工学製品について、新しい力学試験機器の開発に成功した（厚生労働科学研究費）。

#### I-2. 血液接触型プラスチック製医療用具からの可塑剤の溶出評価に関する研究

煩雑な溶出試験を実施することなく、PVC製医療機器からの可塑剤溶出リスクを評価する簡易分析法の有効性を確認した。また、PVC製品からの可塑剤溶出動態に及ぼす熱処理および光照射処理の影響について検討した結果、同製品からの可塑剤溶出は紫外線照射による表面架橋処理により制御できることを見出した（厚生労働科学研究費）。

#### I-3. 天然由来医用材料のエンドトキシン汚染と不活化に関する研究

キチン類からのLPS回収法の最適化と同材料に混入するLPSの不活化法について検討した。また、アルカリ処理は各スポンジの構造や機能を大きく変化させることなく、混入するLPS量を低減する処理法として有用であることが判明した。次亜塩素酸ナトリウム処理はスポンジ構造に影響を与えるが、LPS不活化効果に加え、材料の種類により分解性の向上、異物反応の低減を期待できることが判明した（厚生労働科学研究費）。

#### I-4. 医用材料の免疫原性評価手法の開発に関する研究

マウスに試験物質を腹腔内投与し、血清中の抗体価を測定する方法を開発した。陽性反応を誘導するのに必要な投与量、誘導された抗体価および反応率からタンパク質のアレルギー性を比較した。一方、popliteal lymph node assayは低分子量化学物質に対する試験法として有用であった（厚生労働科学研究費）。

#### I-5. 医療用具・医療材料の発癌性試験法の開発に関する研究

組織工学に使用される生分解性材料ポリ-L-乳酸の粒子状の形態のものがin vitro発癌活性を有するか否かを、BALB/3T3細胞を用いるトランスフォーメーション試験で検討した。その結果、40 mg/plateまでの試験濃度において濃度依存的な形質転換巣の増加が観察され、陽性と判定した（厚生労働科学研究費）。

#### I-6. 正常ヒト骨芽細胞を用いたチタン合金の骨組織適合性

#### 評価に関する研究

Ti-6Al-4V合金、バナジウムを含まないチタン合金、バナジウムとアルミニウムを両方とも含まないチタン合金の正常ヒト骨芽細胞の増殖及び分化に及ぼす影響を比較検討した（厚生労働科学研究費）。

#### I-7. 医療用具の有効性・安全性評価手法に関する国際ハーモナイゼーション研究

モデル材料を作成し、遺伝毒性試験法のひとつとしての染色体異常試験の有用性を検討した。日本のガイドラインに従って、モデル材料の培地および有機溶媒抽出物で試験を行った結果、有機溶媒抽出物で陽性結果を得、リスク評価のためのハザード検出を行うためには、有機溶媒抽出の実施も必要と考えられた。Ames testでは、モデル材料を生食、綿実油およびDMSOの3種類の抽出液を用いて試験した結果、日本およびISO試験法に記載されているDMSO溶液が適切な抽出溶媒であることを確認し、1種類の試験溶液で評価可能である（厚生労働科学研究費）。

#### I-8. 放射線照射をうけた天然医療材料の組織再生に及ぼす影響評価に関する研究

1) ガンマ線照射を施したコラーゲン、アルギン酸スポンジの生体親和性を埋植試験により評価した。また、ガンマ線を照射したコラーゲンスポンジはヒト正常骨芽細胞の増殖と分化を顕著に促進することを見出した（原子力研究費）。

2) 医用材料（キチン）存在下でのガンマ線照射に伴うエンドトキシンの活性変化及び材料の物理化学的変化、正常ヒト骨芽細胞に及ぼす影響、ラット皮内への埋移試験について検討した（原子力研究費）。

#### I-9. 発生毒性物質のin vitro試験に関する研究

##### I-9-1. 発生毒性物質含有生分解性高分子材料の脳・神経細胞への影響についての研究

人工脳硬膜として脳内へインプラントされる生分解性高分子材料の分解産物であるオリゴマーの影響についてヒト神経培養細胞を用いて検討すると共に、ヒト神経への影響を検討する評価法の確立を試みた（経常研究費）。

#### I-10. 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：金属製医用材料のヒト骨芽細胞の骨分化機能に及ぼす影響評価

Ti-Zr-Nb系チタン合金について、合金材料の上で培養した正常ヒト骨芽細胞の増殖及び分化を指標として生体適合性を評価した（特別研究費）。

## II. バイオ人工臓器に関する基礎的研究

### II-1. 生体適合性・機能性に優れた材料と評価技術の開発に関する研究

ヒト軟骨細胞分化は、同じ培地を使用しても静置培養と動的培養では、著しく細胞の増殖及び分化に及ぼす影響が異なった。ヒト軟骨細胞の力学的評価について、圧弾性率で測定した場合には、培養過程で増加する強度変化を明らかにできなかったが、新力学試験機器を用いて体積弾性率を測定し

た結果、培養過程でのバイオ軟骨の力学強度変化を感度高く非侵襲的に測定できることが明らかになった(HS受託研究費)。

#### II-2. 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

肝細胞株に各種コネキシン遺伝子を導入し、肝機能の発現変化を解析した結果、細胞膜にコネキシン32蛋白とともに、細胞接着因子の発現も観察された。両蛋白が協調的に肝機能に関与していることが示唆された(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  
生分解性高分子ポリマーからなる3次元スポンジに感染細胞が一つ汚染している場合、確立したPCR法で検出できた(厚生労働科学研究費)。

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

ラットの同系、異系ラット由来免疫担当器官の細胞を免疫隔離膜の存在下 *in vitro* 系を用いて培養し、免疫隔離膜の評価と評価指標を示した。(厚生労働科学研究費)

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

正常ヒト間葉系幹細胞(hMSC)の癌化の可能性について検討した。ヌードマウスを用いた *in vivo* の系では、癌細胞と同様に増殖能を持つ幹細胞のみ、または同時に生分解性医用材料(PLLA)を、皮下に injection したところ、16週間過ぎても腫瘍形成は全く認められなかった。また *in vitro* の系では、hMSCの継代数の違いやPLLAとの相互作用によるhMSCの遺伝子発現の変化についてDNAチップを用いて検討した(厚生労働科学研究費)。

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

軟骨細胞の分化指標として、Collagen Type IIとAggrecan geneのmRNAをリアルタイムPCRで測定する方法と遺伝子発現産物の測定法について検討した(厚生労働科学研究費)。

マウスの神経幹細胞は、TGF $\beta$ の存在下、神経分化マーカーを発現すると共に、テロメラーゼ活性発現抑制が生じることが明らかになった。

#### IV. ナノレベルイメージングによる医療材料/細胞界面分子の機能と構造解析

IV-1. ナノテクノロジーを利用した材料の生体に対する影響解析

微細表面加工に利用されている自己組織化膜を利用して、まず単一の官能基のみを持つ表面を調製し、その表面との相互作用による細胞の変化を観察することで表面の性質が細胞に与える影響について考察した(厚生労働科学研究費)。

IV-2. プロテオーム解析に基づく材料界面細胞の発現分子イメージング

性質の異なる材料表面上で培養した細胞について、発現している蛋白質の差異をプロテオミクスの手法により解析した(厚生労働科学研究費)。

#### V. 微生物および微生物由来物質に関する研究

V-1. リムルス試験の分析法バリデーションに関する研究

マイクロプレート法および試験管法を利用した比濁法リムルス試験の分析精度を比較検討したと共に、エンドポイント比色法リムルス試験の分析精度を評価した(厚生労働科学研究費)。

#### 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(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

埋植心臓弁、ステントの埋植情報の追加入力、眼内レンズ摘出事例のデータベースの維持を各学会・医療機関に依頼して行った(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として、摘出眼内レンズの試料収集法、標準的分析法を確立し、年間百例程度の分析を行った。また、摘出胸骨ワイヤーの分析などに着手した(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

米国の膨大な不具合報告データの検索を容易にするために、一部の用具分類別の検索システムを構築すると共に、Web公開を目指した整備を行った(経常研究費)。

VI-5. 整形外科インプラントの不具合データに関する研究

過去十数年間の人工股・膝関節、接合材の国内文献収集を行って、不具合の年度別集計を行うと共に、米国の不具合報告データとの比較を行った(厚生労働科学研究費)。

VI-6. 医療用具有害事象に相関する遺伝子多型の同定に関する基礎研究

ポリ乳酸埋植後1ヶ月では、発癌性高感受性マウスでは、コネキシン遺伝子発現抑制と発がん性に関連するサイトカインTGF $\beta$ の産生量が有意に増加した。発癌性低感受性マウスでは、コントロール群とポリ乳酸群ではこれらの変化はなかった。更に、*in vitro*で細胞にTGF $\beta$ を添加すると、コネキシン遺伝子および蛋白の発現が有意に抑制されることを初めて明らかにした(厚生労働科学研究費)。

#### VII. 家庭用品に含まれる化学物質の安全性情報に関する研究

VII-1. 接触アレルゲンに関する情報の収集・提供に関する研究

1) 日本接触皮膚炎学会が刊行している「アレルゲン解説書」において、家庭用品関連化合物のうち、日本における接

触皮膚炎の発生状況、新たな接触アレルゲンに関する情報収集を進め、ゴム添加剤(メルカプトベンゾチアゾール系及びチオウレア系加硫促進剤、p-フェニレンジアミン系老化防止剤)、接着剤成分(p-tert-butylphenol formaldehyde resin)等の日本語版、英語版について、2004年版の改定準備を行った(移替予算)。

2) 家庭用不快害虫殺虫剤に関する「安全確保マニュアル作成の手引き」の作成の検討を分担した(移替予算)。

3) 「化学物質の分類・表示に関する国際調和システム(GHS)に準拠した職業性アレルギー疾患の原因物質の特定及び予防ガイドラインの作成」に向けて、感作性化学物質リスト作成の検討を分担した(移替予算)。

VII-2. 抗菌防臭加工剤に関する情報の収集・提供に関する研究

メーカーへの問い合わせ・ホームページ検索・市販製品の表示内容の調査等により、ゴム・プラスチック手袋、家庭用繊維製品に使用されていた抗菌剤・消臭剤の種類、成分名等の製品情報について実態調査を行った(移替予算)。

VII-3. 抗菌加工製品における安全性評価及び製品情報の伝達に関する調査研究

消費者における抗菌加工製品の製品表示に関するアンケート調査、メーカー・業界団体への問い合わせ、オンラインデータベース等を用いた情報収集、市販抗菌加工製品の店頭調査および抗菌剤の分析調査、抗菌加工製品によるアレルギー性接触皮膚炎(ACD)等の原因究明の取り組み等の結果から、①有機系抗菌剤による抗菌加工製品によるACD事例が複数発生していた、②抗菌剤の成分名、皮膚感作性等の有害性情報、具体的な健康被害事例の発生実態等が製品表示として具体的に記載されていない等の現状を確認できた(厚生労働科学研究費)。

VII-4. 家庭用品における製品表示と理解度との関連及び誤使用・被害事故との関連の検証に関する研究(分担研究): 家庭用ゴム・プラスチック・繊維製品に起因するアレルギー性接触皮膚炎等の慢性的な健康被害に関する原因究明及び発生防止のための情報提供手段としての製品表示の評価に関する研究

家庭用繊維製品について、消費者でのアンケート調査、製品表示のチェック、分析調査等により、①家庭用繊維製品による健康被害としては、アレルギー性接触皮膚炎(ACD)が主であった、②ほとんどの場合健康被害の原因はわからないままであった、③家庭用繊維製品では、ACD等の慢性的な健康被害に関する情報が製品表示、繊維加工剤の化学物質等安全データシート(MSDS)に具体的に記載されておらず、健康被害防止のための情報提供の伝達手段としてほとんど有効に活用されてこなかったことを確認できた(厚生労働科学研究費)。

VIII. 家庭用品に含まれる化学物質の皮膚暴露における安全性に関する研究

膝用サポーターによる接触皮膚炎事例において、チオウレア系加硫促進剤のdiethylthioureaが原因化学物質となっていたことを確認した(移替予算)。

IX. 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究

1) セバシン酸ジブチルのGC-MSを用いた分析法を策定し、防虫加工繊維製品中の含有量を求めた(移替予算)。

2) 酢酸ジエチレングリコールモノブチルエーテルのGC-MSを用いた分析法を策定し、7種の家庭用塗料と床用ワックスに適用した。その結果、水性塗料1検体に含有されていることを確認した(移替予算)。

3) 乳幼児用繊維製品中のホルムアルデヒドの規制値を16 ppm, HPLC法を確認試験法として併記する基準法を作成した。地方衛生研究所と共同で、繊維製品のホルムアルデヒド加工/移染判別法のバリデーションを行った(移替予算)。

4) クレオソート油中のベンズ(a)アントラセン、ベンゾ(a)ピレンおよびジベンズ(a, h)アントラセンの含有量を50 ppm, クレオソート処理木材中の含有量を10 ppm以下に規制することを決定し、これらの試験法を開発した(移替予算)。

5) 金属芯を用いたろうそくの実態調査を行った。鉛を含有した金属芯が販売されているほか、亜鉛やスズを主とした金属芯を使用したろうそくが輸入品として販売されていた。鉛芯のろうそくを燃焼させると、空气中に鉛が放散することを確認した(移替予算)。

X. 家庭用品中の化学物質の細胞毒性に関する研究

ニュートラルレッド法を用いて細胞毒性強度を調べたところ、メチレンビスチオシアネートおよび4,4'-チオビス(3-メチル-6-tert-ブチルフェノール)は強い細胞毒性物質、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレートは中程度の細胞毒性物質として判定された(移替予算)。

## 環境衛生化学部

前 部 長 安 藤 正 典  
部長事務取扱 早 川 堯 夫

### 概 要

人事面では、平成15年7月1日付で埴岡伸光第一室長が岡山大学薬学部に移動になった。これに伴い、9月1日付けで神野透人主任研究官が第一室長に昇任した。12月22日付けで山口彰子研究員が生物薬品部に異動になった。平成16年3月31日付で安藤正典部長が定年退官した。35年5ヶ月の長きにわたり、精励勤務し、数々の研究業績を挙げられ、当所の業務遂行と発展のために多大な貢献をされた。特に、平成5年4月以来当部部長として、部を生活関連化学物質の経気道、経皮、経口暴露評価研究で国内外をリードする存在とされた。千葉大学講師内山茂久博士を昨年度に引き続き協力研究員として受け入れ、室内空气中化学物質の暴露評価に関

する共同研究を実施した。

前年度に引き続き経気道暴露媒体としての室内空気、食品を除く経口としての水道水及び経皮の暴露としての化粧品・医薬部外品などの媒体特有の経路からの生活関連化学物質の安全性評価を生物学的あるいは分析化学的に評価する研究を実施した。

室内空気に係わる分野では、文部科学省革新的技術開発研究費「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研究」に関して、4大学と室内環境に係わるアレルギー疾患の発症メカニズム解決のため遺伝子多型とアレルギーと発症の関係について研究を進めた。厚生労働科学研究「化学物質過敏症等室内空気中化学物質に係わる疾病と総化学物質の存在量の検討と要因解明に関する研究」において、国民の関心が高い室内空気質のガイドラインの設定のため、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（厚生労働省生活衛生局化学物質安全対策室）と当所暴露評価研究における研究組織と内容を合わせて実施した暴露研究では、室内空気に係わる研究として室内化学物質の分析方法の開発やそれを用いた全国の状況についての研究を地方衛生研究所と共同で研究を実施し、これらの情報を基に、室内空気中化学物質の暴露によるリスク評価を行った。

医薬部外品・化粧品などの経皮暴露に係わる分野では、医薬部外品としての殺虫剤等の改訂に関する暴露並びに指針についての考え方を整理した。また、文部科学省科学技術振興調整費による「皮膚を守る総合研究」は、平成14年度に終了したが、医科大学と化粧品企業との共同研究であるアトピー性皮膚炎をケアするための評価指標の確立について、多くの成果を上げて終了した。国際的共同研究として、平成15年10月、日本学術振興会外国人特別研究員として、Tarit Roychowdhury博士を2カ年間招聘し、ヒ素の暴露による健康影響に関する研究でインド・バングラディッシュー日本との多国間共同研究を行った。

水道に係わる分野では、水道水質基準の改正作業に伴う基準値設定情報の整理、検査体制や検査方法の開発、精度管理および精度保証体制の考え方などについて専門委員会や生活環境審議会水道部会を通して根拠資料の作成と審議を行い、水質基準の改正に協力した。また、水道水質基準改訂に伴う検査方法として農薬類、金属類、マイクロシスチン、非イオン界面活性剤、一般有機物等の微量の測定方法及び精度管理の体制に関する告示に協力した。水道法20条登録機関の申請と審査を睨んだ精度管理を厚生労働省と共に実施した。

遺伝子多型に関連する分野では、昨年度に引き続き、UDP-グルクロン酸転移酵素（UGT）の機能解析に関する研究として、(1) 異型UGT1A9の機能解析、(2) 異型UGT2B4およびUGT2B7の機能解析および(3) UGTの発現制御に関する研究を行った。

## 業務成績

### 1. 室内空気関係

東京都内3カ所（霞が関、北の丸公園、新宿御苑）の国設自動車排ガス測定所において、自動計測器による大気汚染物質（一酸化炭素、窒素酸化物、二酸化硫黄、炭化水素、オゾン、ホルムアルデヒド、浮遊状粒子物質）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. 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塩酸テトラカイン及びエストリオールの試験法を作成し、報告した。（厚生労働省医薬食品局審査管理課）医薬品製造業等一斉監視指導品目として、日本全国の化粧品製造工場で製造されたクリーム80品目について、クリーム中のビタミンK1の確認試験を実施した結果、調査した全ての製品にビタミンK1を検出されなかった。（厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課）

化粧品に添加することが制限されている成分である安息香酸ナトリウムの試験法を作成し、報告した。（日本薬学会環境・衛生部会試験法委員会）インド・タミルナドゥ州ナマカール地区を訪れ、地下水及び住民の尿・毛髪並びに食物中のヒ素調査を行った。

### 3. 水質関係

農薬の分析法の確立では、水質管理目標設定項目としての101農薬に対する分析法を検討し、整理した。69農薬についてガスクロマトグラフィー質量分析法により、28農薬について液体クロマトグラフィー質量分析法による一斉分析法として作成した。（厚生労働科学研究費：厚生労働省健康局水道課）

水道水質検査精度管理調査では、20条指定機関165機関、水道事業体141機関、公的試験機関52機関に対して、塩素イオン、フッ素イオン、硝酸性窒素、プロモホルム、プロモジクロロメタン、テトラクロロエチレンの6項目について外部精度管理調査を行い、統計解析を行った。（厚生労働省健康局水道課）

水質検査の精度保証体制の整備と登録制度の確立のため具体的な方向性を検討した。（厚生労働省健康局水道課）水質基準項目の省略の判断とするための水質検査計画の具体的内容を検討した。（厚生労働省健康局水道課）

## 研究業績

### 1. 室内空気関係

#### 1) 室内空気汚染物質の分析化学的研究

##### (1) 空気中カルボニル化合物の分析方法に関する研究

カルボニル化合物の2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体の光や酸による異性化反応を明らかにし、異性体比の制御コントロールする手法を確立した。この手法を用いることにより、C1～C10までのカルボニル化合物を精度よく同時定量することが可能になった。また、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンはカルボン酸（低級脂肪酸）と反応して安定なヒドラジド誘導体を生成することを発見し、カルボン酸類、

アルデヒド類及びケトン類の同時分析法を確立した。さらに、生活活動・室温等で化学物質の濃度の変動を少なくするため1週間の長期間モニタリング用の拡散サンプラーを開発した。

#### (2) カルボニル化合物の暴露評価に関する研究

カルボニル化合物用拡散サンプラーDSD-DNPHを用いて全国調査を実施した。4年間の調査でホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドを含む主要なカルボニル化合物濃度にはほとんど変動がみられなかった。また、主要な放散源の一つである家具内部のホルムアルデヒド濃度を測定し、室内濃度への寄与を検討した結果、1000  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上の濃度を示す場合もあり、家具からの放散が室内濃度に大きな影響を及ぼす住宅が存在することが確認された。(厚生労働科学研究)

#### (3) 空气中揮発性有機化合物 (VOC) の分析方法に関する研究

種々の炭素系吸着剤について各VOC成分の破過容量を測定し、吸着特性について検討を行った結果、テルペン類やスチレン等の二重結合を有する化合物が他のVOCと全く異なる破過容量を示すことが明らかになった。そこで、複数の炭素系吸着剤を充填した多層捕集管によりCFC-12 (b. p. -29.8  $^{\circ}\text{C}$ )からテトラデカン (b. p. 254  $^{\circ}\text{C}$ )までのVOCの同時測定を可能にした。(厚生労働科学研究)

#### (4) 窒素酸化物測定用サンプラーの開発

トリエタノールアミン含浸シリカゲルおよび過マンガン酸カリウムを使用した一酸化窒素・二酸化窒素測定用サンプラーを開発した。このサンプラーを用いて室内空気を測定したところ、ストープの使用により窒素酸化物濃度が500 ppbを超えることが明らかになった。(厚生労働科学研究)

#### 2) 室内空気中の化学物質の安全性評価に関する研究

環境化学物質に対する応答性に影響を及ぼし得る異物代謝酵素等の発現量の個体差を網羅的かつ定量的に検討するために、10名のヒト肝臓由来 total RNA について cytochrome P450, UDP-グルクロン酸転移酵素等の異物代謝酵素 35 遺伝子, MRP2/ABCC2やMRP1/A等のトランスポーター6遺伝子及び異物代謝酵素・トランスポーター遺伝子の転写制御に関与するPCR, CAR等の核内レセプター (15 遺伝子) の計56 遺伝子のmRNA発現量をreal-time PCRで定量した。その結果、56 遺伝子中の42 遺伝子で3~10 倍の遺伝子発現量の個体差が認められることが明らかになった。

#### 2. 化粧品・医薬部外品関係

##### 1) 化粧品・医薬部外品原料の規格に関する研究

(1) 化粧品に用いられているタール色素の分離・分析法を薄層クロマトグラフ法、液体クロマトグラフ法で検討し、市販の口紅及び化粧水の実態調査を行った。

(2) 化粧品に配合が禁止されているビタミンK1の液体クロマトグラフ法による試験法を検討し、市販クリーム中の実態調査に応用した。

(3) 化粧品に用いられている界面活性剤のCHO細胞を用い

た安全性評価法に関する検討を行った。

##### 2) 三次元ヒト皮膚培養モデルを用いた経皮吸収試験に関する研究

コラーゲンゲルあるいはコラーゲンスポンジ膜上に繊維芽細胞で裏打ちされた角化細胞を培養し、三次元培養皮膚モデルを作成した。この皮膚モデルを用い、安息香酸ナトリウム、レゾルシン、サリチル酸、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル及び4-クロロ-m-クレゾールの経皮吸収を検討し、モルモットの腹部剥離皮膚での結果と比較検討した。(厚生労働科学研究補助金)。

##### 3) インド及びバングラデシュにおけるヒ素暴露評価に関する研究

前年度に引き続いて、インド・タミルナドゥ州及びバングラデシュ・ジョソール県サムタ村及びマルア村の地下水のヒ素汚染地域を対象に被害住民の尿、毛髪中あるいは食物中のヒ素汚染調査並びにヒ素汚染地下水を灌漑に用いている地域での土壌、農産物中のヒ素汚染調査を行った。(科学研究費補助金：特別研究員奨励費)

##### 4) 三次元皮膚培養細胞に対する各種化学物質の影響評価に関する研究

ヒト表皮角化細胞、ヒト樹状細胞、ヒト皮膚繊維芽細胞から成る三次元培養皮膚モデルを構築し、その免疫染色状態を観察した。またSDS, DNCBなどの化学物質を暴露して細胞毒性やサイトカイン放出量、免疫機能発現への影響を検討した。

#### 3. 水道水質関係

##### 1) 臭気官能試験 (厚生労働科学研究費)

フェノール水溶液の塩素処理により、短時間に塩化フェノールが生成し、臭気をより強く感じることを臭気官能試験によって明らかとした。塩素化フェノールを含む供試水を実際に口に含んで感じる臭気を調べたところ、従来の鼻で感応する方法に比べ数倍から数十倍の低濃度で臭気を感じるようになった。

##### 2) 有機リン系農薬およびオキソンのコリンエステラーゼ阻害活性評価 (厚生労働科学研究費)

有機リン系農薬オキソンのコリンエステラーゼ阻害活性の評価系を設定した。有機リン系農薬のオキソンの中で、コリンエステラーゼ活性を強く阻害する群とほとんど阻害しない群およびその中間の群の3群に区別できることが明らかとなった。塩素処理によるオキソンの生成は速やかに起こることがわかった。

##### 3) 多環芳香族炭化水素類の分析法の確立 (厚生労働科学研究費)

液体クロマトグラフ/質量分析計による、フルオランテンが0.05mg/L、ベンゾ(b)フルオランテンが0.02mg/L、ベンゾ(k)フルオランテンが0.01mg/L、ベンゾ(a)ピレンが0.01mg/L、ベンゾ(ghi)ペリレンが0.001mg/L、インデノ(1,2,3-cd)ピレンが0.001mg/Lを検出下限値とする分析方法を作成し

た。この方法では、ベンゾ(b)フルオランテン、ベンゾ(k)フルオランテンは分離することはできなかった。ベンゾ(a)ピレンを塩素と接触させると、時間の延長とともにベンゾ(a)ピレンは減少し、一塩素化体および二塩素化体と推測されるピークの面積値が増加することが明らかとなった。

4) 浄水工程におけるエストロゲン様活性物質の挙動 (厚生労働科学研究費)

汚泥・脱水ケーキ・浮上物質及び浄水場送水や返送水等に含有されている有機物質のエストロゲン様活性を評価した。水道原水に含まれるエストロゲン様活性物質は汚泥や浮上物質等に凝集・除去される。そのエストロゲン様活性は試料採取の時期や流域の環境に影響されて大きく変動する可能性が示唆された。浮上物質に含まれるエストロゲン様物質は、汚泥に比べ水道原水からの濃縮率が高いことがわかった。

5) コールタールエナメル塗装板からのエストロゲン様活性物質の溶出 (厚生労働科学研究費)

コールタールエナメル塗装ガラス板からの1mg/L塩素水もしくはミネラルウォーターへの溶出成分を評価した。溶媒抽出法と固相抽出法のどちらも塩素水よりもミネラルウォーターを用いた方が高いエストロゲン様活性を示した。溶媒抽出法と固相抽出法を比較した場合、溶出水に関わりなく固相抽出法により調製した方が高いエストロゲン様活性を示した。

6) 水道水源流域における親水性難分解有害物質の挙動 (環境省地球環境保全等試験研究費)

臭素酸イオン、アクリルアミドモノマーの水道水源域における実態調査を行った。アクリルアミドモノマーは、今回測定した地点では0.07mg/Lが最大値であった。臭素酸イオンは、事業所排水の影響を受け変動する可能性が示唆された。また、浄水処理工程では、使用される次亜塩素酸ナトリウムに含まれる不純物としての臭素酸が浄水中の臭素酸イオンに影響を及ぼすことが明らかとなった。

7) 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学的研究 (環境省地球環境保全等試験研究費)

マウス幹細胞を各器官の原始細胞へ分化させる *in vitro* の条件を検討した。アフリカツメガエル雄成熟個体に対して、17βエストラジオール、ビスフェノールAおよびオクチルフェノールが雌特異的タンパク質ピテロジェニンの誘導を引き起こす最低作用容量を検討した。

8) 温度応答性ポリマーによる環境汚染物質の同定・評価 (科学研究費)

温度応答性ポリマーを応用した液体クロマトグラフ用カラムを用い、LC/MS法による8農薬の分析法を確立した。4種の温度応答性ポリマーを比較検討した結果、DMAPAAM (分子量: 10,000) が結合能および結合量において、最も適切に特異的タンパク質を結合することができることが明らか

となり、その結合および脱離の条件を検討した。

9) 糖尿病等代謝疾患関連遺伝子の発現制御薬剤の探索と評価 (MF タンパク質科学)

ヒト脂肪前駆細胞が、脂肪細胞へ分化を決定する際に鍵として転写発現する遺伝子をDNAチップにより検索した。

10) ウレア系およびスルホニルウレア系農薬8種類の環境での存在量と塩素処理生成物の生物活性

ウレア系およびスルホニルウレア系農薬8種類について、全国12水道事業体の水道原水及び浄水における実態調査を行った。ダイムロンとジウロンの2農薬は検出頻度が高いが、濃度は低いレベルで年間を通じて検出されていた。ダイムロンは浄水工程で除去できている結果を得たが、ジウロンについては十分に除去できないことが示唆された。8農薬の塩素処理による生成物の検討を行った結果、塩素化体を検出した農薬もあったが、反応生成物には細胞毒性、変異原性、エストロゲン受容体結合性に対する影響は認められなかった。

4. 薬剤反応性遺伝子の多型解析

1) UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) の機能解析に関する研究

(1) 異型UGT1A9の機能解析

「薬剤反応性遺伝子解析による疾病対策・創薬推進事業」で日本人から見出されたUGT1A9の新規一塩基多型についてCOS-1細胞で発現させた組換えタンパク質を用いて機能解析を行い、SN-38グルクロン酸抱合活性の $V_{max}/K_m$ が野生型の30%程度まで低下することを明らかにした。

(2) 異型UGT2B4およびUGT2B7の機能解析

ヒト肝臓cDNAから野生型UGT2B4およびUGT2B7をクローニングした。UGT2B7については日本人で見出された一塩基多型を導入した異型UGT2B7安定発現細胞株 (Flp-In-293細胞) を樹立した。

2) UGTの発現制御に関する研究

UGT1A1遺伝子上流のPBREM (Phenobarbital Responsible Enhancer Module) を介して転写制御に関与する核内レセプターCAR (Constitutive Androstane Receptor) 遺伝子のクローニング及び機能解析を行った。その結果、従来から報告されているCAR (SV0) の他に、12塩基あるいは15塩基が挿入されたSV1、SV2をはじめ両者が挿入されたSV3及びExon 7が欠失したSV4の計4種類のスプライス変異体が存在することを発見した。

## 食 品 部

部 長 米 谷 民 雄

### 概 要

食の安全に注目が集まる中で、当部は食品部門の中心とし

て、例年以上に多数の業務を実施した。特に厚生労働本省の依頼による業務は益々大規模なものとなり、これまでも増して全国の地方衛生研究所や検査機関と協力体制を組んだ、わが国の総力を挙げての試験研究業務となっている。そのような中で、食品アレルギー業務の緊急性・重要性が総務省に認められ、平成15年10月に食品部第四室が増設された。さらに、残留動物用医薬品業務の緊急性が総務省に認められ、研究員が増員されることになった。

当部における主要業務は、残留農薬や残留動物用医薬品の分析法の作成と見直し、ダイオキシン類の汚染実態や摂取量調査、照射食品の検知法の開発、遺伝子組換え食品の検知法の開発、健康食品の有害物質の分析、有害重金属等の食品中有害物質の分析法の改良と実態調査、各種汚染物質の摂取量調査、食品アレルギー表示に伴う特定原材料検出法の開発及び評価・分析値の信頼性保証に関する研究などである。それに加えて、ヒューマンサイエンス振興財団の受託研究として「新機能素材の食品化学的評価と分析に関する研究」を行っている。

人事面では、平成15年10月の食品部第四室の増設に伴い、松田りえ子第2室長が第4室長に配置換えになり、宮原誠主任研究員が第2室長に昇格した。その第4室研究員として、吉岡靖雄博士が平成16年4月1日付で採用された。また、長岡恵研究員と堤智昭研究員が平成16年4月1日付で主任研究員に昇格した。さらに、生活安全総合研究事業リサーチ・レジデントとして、菊地博之氏が平成15年10月1日付で採用された。また、台湾行政院衛生署薬物食品検査局のWu Tsung Hsi氏を遺伝子組換え検知技術の研修のため受け入れた（平成15年7月27日～8月24日）。

海外出張としては、米谷民雄部長（平成15年8月23日～8月31日）と堤智昭研究員（平成15年8月21日～8月31日）がダイオキシン国際会議2003に出席のため、米国に出張した。穂山浩室長と渡邊敬浩研究員は、遺伝子組換え食品の検知法の講演と技術研修支援のため、フィリピンに出張した（平成15年7月6日～12日）。また穂山浩室長は、遺伝子組換え食品の検知技術の講演のため、韓国に出張した（平成15年11月25日～28日）。松田りえ子室長は第25回コーデックス分析法サンプリング部会に参加するため、ハンガリーに出張した（平成16年3月7～14日）。天倉吉章主任研究員が平成15年9月1日から平成16年8月31日までの予定でワシントン州立大学に留学中である。

#### 業務成績

(1) 食品の消費期限や賞味期限等の、期限表示を設定するためのガイドラインの策定につき検討を実施した（食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(2) 食品衛生法の残留農薬基準ポジティブリスト化に伴う試験法整備を目的として、GC/MSによる畜水産物中の残留

農薬一斉分析法を検討した。また、LC/MSによる新規農薬の分析条件を検討した。さらに、地方衛生研究所及び食品衛生検査指定検査機関等の協力の下に個別分析法及びGC/MSによる一斉分析法の検討を行った（食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(3) 食品衛生法の残留農薬基準告示（11農薬）に伴い、通知試験法の作成に協力した（医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(4) 地方衛生研究所職員2名を対象に、食品中ダイオキシン分析法講習会（2週間）を実施した（医薬食品局食品安全部監視安全課）。

(5) 食品衛生法の残留動物用医薬品基準ポジティブリスト化に伴う試験法整備を目的として、畜水産食品中の残留動物用医薬品分析法を検討した（食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(6) 「緊急時における畜水産食品中の新たな残留物質に関する検査法迅速作成ガイドライン」作成に協力した（医薬食品局食品保健部監視安全課）。

(7) 照射食品の安全性に関する文献調査を行い文献を採取した（食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(8) 地方衛生研究所8名を対象に遺伝子組換え検査法の研修を実施した（医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室）。

(9) 地方自治体衛生研究所および指定検査機関を対象に遺伝子組換えトウモロコシ定量法の外部精度管理を実施した（医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室）。

(10) 遺伝子組換え食品を用いた加工食品の実態検査を行った（医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(11) 健康食品アマメシバの有害成分の研究を行った（医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室）。

(12) スタック品種遺伝子組換えトウモロコシの実態調査を行った（医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室）。

(13) 大豆およびトウモロコシ加工食品中に含まれる遺伝子組換え食品の定量法の開発を検討した（医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(14) 国立保健医療科学院主催食品衛生管理コース（平成16年2月）で食物アレルギー及び遺伝子組換え食品の表示と検知法について講義を行った（国立保健医療科学院）。

(15) 食品中の無機ヒ素の分別定量法に関して、文献調査を実施した（食品等試験検査費、医薬食品局食品保健部基準審査課）。

(16) 食品中の鉛濃度実態に関する調査報告を行った（食品等試験検査費、医薬食品局食品保健部基準審査課）。

(17) 缶詰中のスズ濃度の実態に関する調査報告を行った（食品等試験検査費、医薬食品局食品保健部基準審査課）。

(18) 小麦中カドミウムの実態調査に関する報告を行った（食品等試験検査費、医薬食品局食品保健部基準審査課）。



(19) 食品からのセレン及びクロムの一日摂取量に関する調査報告を行った(食品等試験検査費, 医薬食品局食品保健部監視安全課)。

(20) 食品からの硝酸塩摂取量に関する調査報告を行った(食品等試験検査費, 医薬食品局食品保健部監視安全課)。

(21) 食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者研修会(平成16年2月)において, 測定の不確かさの推定について講習を行った。

(22) 保健医療科学院食肉衛生検査コース(平成15年6月)において, 残留抗菌性物質の生化学的検査法について, また, 分析法の評価について講習を行った。また, 同食品衛生管理コース(平成16年1月)において, 汚染物の摂取量調査について講習を行った。

(23) 薬事・食品衛生審議会の農薬・動物用医薬品部会, 食品規格部会, 添加物部会, 新開発食品調査部会, また, 残留農薬等分析法検討会, 第8版食品添加物公定書作成検討会, 既存添加物安全性評価検討会, 香料評価法検討会(以上厚生労働省医薬食品局食品安全部)や外部精度管理調査評価委員会(厚生労働省委託)に協力した。他省庁関係では, 中央環境審議会土壌農薬部会, 農薬専門委員会, 農薬登録保留基準設定技術検討会分析法策定分科会, ダイオキシソキソ類環境測定調査受注資格審査検討会(環境省), 農業資材審議会農薬分科会, 動物用抗菌性物質製剤調査会, 動物用一般用医薬品調査会, 動物用医薬品再評価調査会, 動物用医薬品残留問題調査会, ISO/TC34国内対策委員会の遺伝子組換え分析法に係わる専門分科会(以上農林水産省), 農作物等有害物質総合調査検討会(重金属)(農林水産省委託), 化学物質魚介類汚染調査検討会(水産庁委託), 農用地土壌及び農作物のダイオキシソキソ類等に関する検討会(環境省委託), 内分泌攪乱化学物質等による食事調査ワーキンググループ会議(環境省委託), 神奈川県化学物質等環境保全対策委員会(神奈川県)に協力した。

#### 研究業績

##### 1. 食品中の農薬の残留とその変動に関する研究

(1) 農薬及びその他の化学物質による動物性食品の複合汚染に関する調査研究

前年度に市販食品の残留農薬調査を行った試験溶液をGC/MS(SCAN)で再測定し, 調査対象外の農薬及びその他の化学物質の検索を行った。その結果, ベンゾフェノン, パラジクロロベンゼン, クレゾール及びリン酸トリブチルが肉類及び魚介類から高頻度で検出された(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

(2) 残留農薬分析の効率化と精度向上に関する研究

残留農薬分析の効率化のためにスターラーバー抽出法を検討し, 抽出条件の最適化を行った(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

##### 2. 食品汚染物の調査, 監視及び検知システムの確立とその

応用

(1) ダイオキシソキソ類測定法の開発・改良に関する研究

市販魚中のダイオキシソキソ類を検出する迅速法として, コプラナーPCBsに対するモノクローナル抗体を用いたイムノアッセイを検討し, 従来法である高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC/HRMS)の測定結果と比較した。その結果, コプラナーPCBs由来の毒性等量を把握するスクリーニング法として有用であることを明らかにした(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

(2) 食品中ダイオキシソキソ類のリスク低減化に関する研究

Ahイムノアッセイを用いて, ダイオキシソキソの毒性発現に対する植物性食品成分物の影響を検討し, フラボン類, フラボノール類, アントラキノソ類などがTCDDによるアッセイ系活性化を抑制する結果を得た(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

(3) ダイオキシソキソ類の摂取量等に関する研究

トータルダイエツトスタディーによってダイオキシソキソ類の一日摂取量を調べ, 平成14年度は1.49 pgTEQ/kgbw/日であることを明らかにした(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

3. 畜水産食品中の残留動物用医薬品分析法に関する研究

畜水産食品に残留する, 合成抗菌剤のエンロフロキサソソ, シプロフロキサソソおよびカルバドックスの代謝物であるキノキサリン-2-カルボン酸の分析法を開発した(厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

4. 照射食品の検知法の開発(国立機関原子力試験研究費)

(1) ESRを用いた検知法について検討を主におこなった。

魚介類, 骨付き肉等について, 線量依存性, シグナルの保持性など検知に必要な種々の特性を調べその有用性と限界を明らかにした。

(2) 照射食品中の蛋白質の変成を免疫化学的に調べ, その検知への可能性を検討した。

(3) 照射食品のDNA断片化を指標とする検知法を検討し, さらに検討を要することが明らかになった。

(4) 電子線照射における線量測定法について検討し, 標準的な方法を確立した。

5. 食物等によるアナフィラキシー反応の原因物質(アレルゲン)の確定, 予防・治療法の確立に関する研究(厚生労働科学研究費)

アレルゲンの抗原解析を行った。主要アレルゲンは, 鶏肉ではトリ血清アルブミン, 果物では低分子量タンパク質, 甲殻類及び軟体動物ではトロポミオソソ(TM)であった。魚類血合筋のアレルゲン性は普通筋より弱いこと, ホタテガイTMはメイラド反応に伴い特異的IgEに対する反応性が高まることが明らかにされた。

6. バイオテクノロジー応用食品等の安全性評価に関する研究(厚生労働科学研究費, 食品安全確保研究)

(1) 安全性審査を終了した遺伝子組換えジャガイモ全8系

統を対象とした定性検知法を開発した。本検知法には8系統を網羅的に検知するためのスクリーニング法、導入されている recombinant DNA に特異的な方法、系統に特異的な方法が含まれる。開発した全ての方法の妥当性を検証するため、6機関参加の協同試験を実施した。

(2) 遺伝子組換えジャガイモ NewLeaf ならびに NewLeaf Plus 特異的定量系に加え、スクリーニングを目的とした Cry IIIA 定量系を新たに開発し、これに基づく標準プラスミド DNA 分子の改良を行った。また、未加工ジャガイモから PCR に適合した質をもつ DNA を安定して抽出可能な方法として、CTAB抽出液を用いた方法を開発した。これら開発された方法を用い、内標比の算出試験、得られた内標比の検証試験 (in house validation) を実施した。

(3) 遺伝的特性を複数併せ持つ新たな遺伝子組換えトウモロコシ品種(スタック品種)の検知法を開発した。

(4) 現在までに定量分析法が開発されている6系統の遺伝子組換え作物(トウモロコシ5系統およびダイズ1系統)を対象に、スクリーニング試験を行うことが可能な競合PCR法の原理に基づく簡易型定量分析法の開発した。

(5) 遺伝子組換え食品の加工影響を科学的に数値化し、対象検体における定量可能性を明らかにするための検証法について検討をおこなった。

(6) 現在までに開発され公定法とされている遺伝子組換えトウモロコシ5系統およびダイズ1系統を対象とした定量分析法における安定性の向上を目的に、使用試薬等についての改良を行った。また、改良後の定量分析法を用いてコラボレーションスタディーを実施し、その妥当性について検証した。さらに定量分析実施可能な定量 PCR 機器の拡充を目的に、基幹機種を用いた検証試験を実施した。

(7) モデル加工食品を使用した遺伝子組換え食品定量分析法の適用可能範囲の検証

現行の定量分析法の加工食品への適用可能性について検証するため、複数のモデル加工食品を対象とし検証した。

7. 遺伝子組換え食品の腸内分解性・アレルギー性に関する研究 (厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)

遺伝子組換え食品のアレルギー性評価のための動物モデルの検討を行った。

8. 担子菌類中の有害物質の評価に関する研究 (厚生労働科学研究)

(1) 担子菌類中の有害成分と考えられている agaritine と、その代謝物を化学合成した。また agaritine の、LC/MS/MS を用いた高選択的高感度分析法を開発した。この方法を用い Agaricus 属キノコおよび Agaricus 属以外の各種キノコを分析し、キノコ製品中およびマッシュルーム (Agaricus bisporus) 中の含有量を明らかにした。

(2) アガリクスを含めたキノコ類中の金属を、化学形態も含めて解析することにより、キノコ類を評価することを目的とした。対象元素を選択するために、きのこ類中の金属につ

いて文献調査を行い、有害金属と必須金属の両方に関する情報を収集することができた。

9. 新開発食品の安全性・有効性に関する研究 (HS 財団受託研究)

(1)  $\beta$ -カロテン及びリコピンを混餌投与して、抗アレルギー活性を評価した。 $\beta$ -カロテン摂取は、免疫により Th2 側にシフトした Th1/Th2 バランスを Th1 側へ調節することで、即時型アレルギー反応を抑制することを明らかにした。

(2) リンゴ縮合型タンニン (ACT) を OVA の経口摂取感作誘導 W/W マウスに経口摂取させ検討した。その結果、ACT は経口感作誘導による TCR  $\gamma$   $\delta$  -Tcell の減少を抑制することにより、経口感作を抑制し、経口免疫寛容を誘導する可能性が示唆された。

(3) コンドロイチン硫酸を連続投与して *in vivo* の抗アレルギー活性を評価した。即時型アレルギーに対する CS の経口的活性を評価したところ、即時型反応に抑制が認められ、抗アレルギー活性の賦与が示唆された。またこれらの活性は、Th2型タイプのサイトカイン抑制によるもので、能動的な全身性の過剰免疫抑制による可能性が示唆された。

10. 日常食の汚染物質摂取量および汚染物モニタリング調査研究

(1) 日常食の汚染物質摂取量および汚染物モニタリング調査研究

国内に流通している食品に含まれる汚染物質の量と、その摂取量を明らかにするために、全国の衛生研究所の協力を得て、汚染物モニタリング調査と、マーケットバスケット方式による汚染物摂取量調査を実施した。汚染物モニタリングにおいては、全国47カ所での食品中汚染物検査データ22万件を収集し、食品中の汚染物の検出率、複数の汚染物による汚染状況を調査した。汚染物摂取量調査では、全国十カ所で各食品を通常の調理法に従って調製したトータルダイエット試料中の汚染物濃度を測定して、1日当たりの汚染物摂取量を推定した (厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

11. 分析値の信頼性確保に関する研究

(1) 均一化した魚試料を用いて、ダイオキシン分析の内部精度管理法を検討した。粉碎した茶試料を用いて、8機関についてダイオキシン分析の外部精度管理を行った。ダイオキシン分析精度管理試料 (魚) を作製した (厚生労働科学研究費食品・食品安全確保研究)。

(2) 非競合 ELISA 法の誤差構造を検討し精度予測を行った (HS 財団受託研究)。

(3) 分析の不確かさの推定方法を検討した。

12. 食品アレルギー表示に伴う特定原材料検出法の開発に関する研究

食品中特定原材料検知のための ELISA キット 10 種類の inter-laboratory validation を実施した (厚生労働科学研究費・食品安全確保研究)。

13. 必須アミノ酸製品等による健康影響に関する調査研究  
2002～2003年度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およびアニリン添加ナタネ油による有毒油症に関する文献を調査した（厚生労働科学研究費・食品安全確保研究）。
14. 食品香料の規格および摂取量に関する研究  
18類の食品香料約3000化合物について、食品香料の規格のあり方を検討するために、国内各社で設定されている規格を調査した。また、各化合物につき、年間使用量およびPCTT法による推定摂取量を求めた。（厚生労働科学研究費・食品安全確保研究）。
15. HPLC/HR-ICP-MS法による金属と食品成分・生体成分の結合の解析  
チオレドキシシン過剰発現および遺伝子欠損マウスなどとの比較を含め、骨髄細胞における必須金属や硫黄の存在状態分析を、HPLC/HR-ICP-MS法により解析した。
16. 放射性物質試験法に関する研究  
衛生試験法・注解の放射性物質試験法を改訂するために、ICP-MSを用いるウラン測定法とプルトニウム測定法につき検討した。

## 食品添加物部

部 長 棚 元 憲 一

### 概 要

当部における主要業務は、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。加えて「食品添加物公定書」の改訂及び「食品中の食品添加物分析法」に関する調査・研究を行った。

近年頻発している食品添加物関連の社会問題に対する行政対応として、香料の安全性評価法の検討、国際的に安全と認められ、広く使用されている未指定添加物の国主導による指定化、さらに既存添加物の安全性の見直し等の作業に追われた。また当部の大きな業務の一つである食品添加物公定書編纂に関しては、第8版の改訂を目指して食品添加物公定書検討委員会及び作業部会を結成し、活発な改訂作業を行った。平成17年3月を目途にまとめる予定となっている。上記の未指定添加物の国主導による指定化、既存添加物の公定書への掲載等を含め、近年の添加物問題を反映して多大な規格基準策定作業が集約されることになる。

人事面では、平成15年10月1日付で多田敦子博士が国立がんセンター研究所から第2室に異動した。また同博士は平成16年4月1日付で主任研究官に昇格した。

海外出張としては、秋山卓美主任研究官が米国ワシントン州立大学生物化学研究所における一年間の留学を終え平成15年8月3日に帰国した。また、河村葉子第三室長が第61

回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会に出席のためローマ（平成15年6月9日～21日）に出張した。

### 業務成績

- (1) 食品中の食品添加物の分析法では、強化剤L-アスコルビン酸2-グルコシドの食品中の分析法、セミマイクロポストカラム誘導体化HPLCによる生鮮野菜中の亜塩素酸塩の分析法を策定した（食品添加物策定費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (2) 未指定添加物の確認試験法に関する検討では、地方衛生研究所2機関、指定検査機関3機関の参加により、サイクラミン酸とTBHQのLC/MS, GC/MS, GC/FIDによる確認試験法のバリデーションを試みた（未指定添加物対策費、医薬食品局食品安全部監視安全課）。
- (3) 新規指定添加物の規格設定では、L-アスコルビン酸2-グルコシド、リン酸三マグネシウム等につき規格の設定に関する検討を行った。（食品添加物策定費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (4) 国際的な食品添加物の指定に関する調査では、国際的に汎用されている4種のポリソルベート、11種の加工デンプン、6種香料等につき、国主導で規格設定に関する検討を実施した（食品添加物策定費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (5) 食用黄色5号アルミニウムレーキの純度試験中、副成色素の試験法を検討した（食品添加物策定費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (6) マーケットバスケット方式による食品添加物の一日摂取量調査では、地方衛生研究所6機関の参加により、保存料と着色料の摂取量調査を実施した（食品添加物の一日摂取量調査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (7) 第8版食品添加物公定書作成準備のため、改正すべき品目の各条、及び新規収載候補とされる既存添加物品目の規格試験法案の妥当性について検討し、内容を整備した（食品添加物基準策定費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (8) 器具及び容器包装の告示試験法のうち、有害試験の使用や精度管理等で問題がみられた10試験法について、改正案を作成した（容器包装規格基準等作成費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (9) 紙製器具及び容器包装に含有されるビスフェノールA、ベンゾフェノン類等の溶出について調査を実施した（容器包装規格基準等作成費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (10) 薬事・食品衛生審議会における添加物部会及び同食品添加物調査会、器具容器包装部会（医薬食品局食品安全部基準課）、新開発食品検討調査部会新開発食品評価第一調査会（医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室）、医薬品添加物規格検討委員会（医薬食品局審査管理課）、日本薬局方部会医薬品添加物調査会、医薬品名称調査会、生物試験法委員会、総合委員会、国際調和検討委員会、伝達性海綿状脳症対策調査会、保険医療専門調査会（医薬食品局審査管理課）、

医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構技術評価委員会、第8版食品添加物公定書作成検討委員会及び同作業部会、内閣府食品安全委員会における遺伝子組換え食品等専門調査会、器具・容器包装専門調査会、及び新開発食品専門調査会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) 食品香料の規格定量法及び不純物に関する研究

標準添加法を用いたヘッドスペース-GC/FID (MS) による天然香料中の残留溶媒分析法の共同実験を行った(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (2) 天然添加物の規格設定及び有害試薬使用の排除のための研究

食品添加物「ルチン(抽出物)」のうち「ソバ全草抽出物」の成分分析法を開発するために、ソバ植物体中のフラボノイドのHPLC分析を行った(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (3) 天然食品添加物の規格基準策定に関する研究

天然着色料タマネギ色素の主成分の分析を行った。各種増粘多糖類の構成糖の分析を行った(一般研究費)。

##### 2. 食品添加物等の安全性に関する研究

###### (1) 行政検査を基にした摂取量に関する研究

ソルビン酸の行政試験結果をデジタル収集し、食品中のソルビン酸含有状況をデータベース化した。食品をマーケットバスケット法による食品群へ組み替えて一日摂取量を推定したところ、マーケットバスケット法や、生産量統計から得られている値とほぼ同等な値となった。(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)

###### (2) 食品中の未指定添加物の分析法の開発

未指定添加物の分析法として、チリ製品中のスダン色素、牛乳中の亜塩素酸の分析法を作成した(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (3) 既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

突然変異原性試験実施品目メバロン酸, 没食子酸, ログウッド色素等の既存添加物の成分研究を行った(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

##### 3. 器具・容器包装等に関する研究

###### (1) 器具・容器包装の規格試験法の精度向上に関する研究

塩化ビニル及び塩化ビニリデン試験法について、安全性が高くしかも高精度である代替法を確立した(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (2) 器具・容器包装の規格基準のハーモナイゼーションに関する研究

合成樹脂製器具・容器包装の規格基準のうち、合成樹脂規格及び溶出試験法について欧米と我が国の比較を行い、我が国におけるこれらの方向性を提案した(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (3) リサイクル包装材の安全性確保に関する研究

我が国の再生ポリエチレンテレフタレートについて、残存する揮発性物質、アルデヒド類、オリゴマー、金属類等について調査を行った(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (4) 国際標準化機構における玩具の規格基準に関する研究

玩具からのヒ素, カドミウム, 鉛, 水銀等8元素の溶出限度を定めているISO 8124-3について、上市前の玩具500検体の調査を行うとともに、規格値及び補正值について検討を行った(厚生労働科学研究費, 医薬食品局食品安全部基準審査課)。

###### (5) ポリエチレンテレフタレート中のホルムアルデヒド, アセトアルデヒド及びオリゴマーに関する研究

ポリエチレンテレフタレート(PET)中のホルムアルデヒド, アセトアルデヒド及びオリゴマーの分析法を確立し、容器包装中の残存量を分析するとともに、PETボトル入りミネラルウォーター中の含有量についても調査し、これらに影響を与える因子を明らかにした。

###### (6) 紫外線吸収剤及びベンゾフェノン誘導体のエストロゲン活性に関する研究

食品用途の合成樹脂に使用される紫外線吸収剤及びベンゾフェノン誘導体について、人由来のレセプターを介したレポータージーンアッセイにより、エストロゲン活性及び抗アンドロゲン活性を検討した(文部科学省科学研究費)。

##### 4. 食品の安全性に関する研究

###### (1) 異常型プリオン蛋白質汚染のインビトロ高感度検出法の開発

異常型プリオン蛋白質に高感受性培養細胞株を開発するために、ウシプリオン蛋白質遺伝子を導入したトランスフェクタント株における遺伝子発現を解析した(厚生労働科学研究費, 医薬食品局審査管理課)。

##### 5. その他の研究

###### (1) 無菌医薬品製造に関する国際規格の国内導入に関する研究

医薬品の無菌製造法に関する日本版「無菌医薬品製造に関するガイドライン」案を作成した。さらに国際規格を反映した日局微生物試験法の充実を目指し、「微生物の迅速検出法の日局導入」、「日局指定菌株の特性と維持管理」の日局導入評価研究を行った。(厚生労働科学研究費, 医薬食品局審査管理課)

###### (2) エイズおよび関連する新興・再興ウイルス感染症の医薬品候補物質のスクリーニングと新薬開発に向けた研究

企業、大学及び国公立研究所から寄せられた合計443サンプルについて抗HIV活性スクリーニングを行い、マイクロプレート法, Magic-5アッセイそれぞれ15サンプルに活性が認められた。さらに、特に強い作用を示した薬剤について作用機作, 及び薬剤耐性臨床分離株に対する作用等の検討を加えた。(厚生労働科学研究費, 医政局研究開発振興課)

## 食品衛生管理部

部 長 山 本 茂 貴

### 概 要

平成15年度は、食品等製造工程における微生物制御のための研究、食品における微生物学的リスクアセスメントに関する研究、カビ毒の検査法に関する研究を発展させた。業務関連では貝毒検査の制度管理、世界各国の乳及び乳製品の微生物規制状況調査を行った。また、保健医療科学院において開催された食肉衛生検査コース、食品衛生管理コース、食品衛生監視コースにおいて山本茂貴部長、五十君静信第1室長、町井研士第2室長が副主任を務めコースの運営に参加し、講義も担当した。調査研究として、1) 食品由来リステリア症に関する研究、2) サルモネラ菌の制御に関する研究、3) カンピロバクターの病原性に関する研究、4) 貝類における腸炎ビブリオ、カキにおけるノロウイルスのリスクアセスメントに関する研究を行った。人事面では、平成15年8月より、朝倉宏博士を研究員として採用した。また、奥谷晶子博士、山崎学博士を厚生労働科学研究費補助金の流動研究員として引き続き採用した。静岡県から1名、岡山市から1名、韓国から2名、法政大学から1名の研究生、東京家政大学から3名の実習生を受け入れた。海外出張に関しては、山本茂貴部長が平成16年3月1日から6日まで第4回食品及び栄養安全に関するアジア会議に出席のためインドネシアに出張した。また、平成16年3月27日から4月1日まで第36回Codex食品衛生部会に出席のため米国ワシントンDCに出張した。五十君静信第1室長は2月1日から2月7日までFAO/WHOの*Enterobacter sakazakii*の専門家会議に出席のためスイスジュネーブに出張した。また、3月1日から7日まで遺伝子組換え体の環境放出および食中毒に関する情報交換のため米国ワシントンDCに出張した。鈴木穂高研究員は平成16年3月15日から1年間ペンシルベニア大学へ出張した。

### 研究業績

平成15年度は1. 食品中の微生物のリスク評価に関する研究(厚生労働科学研究)タイにおける赤貝消費に伴う腸炎ビブリオのリスク評価を昨年度に継続して行い、日本でのリスクアセスメントモデル構築の基礎とした。カキにおけるノロウイルスのリスクプロファイルと汚染実態並びに食中毒実態調査を行い、汚染ウイルス量の実態および発症ウイルス量の実態を調査した。ここでの手法は今後食品微生物の規格・基準策定の科学的根拠を与える基礎となる。

2. ビブリオバルニフィカスによる重篤な疾病に関する研究(厚生労働科学研究)汽水域に生息する魚介類はビブリオバルニフィカスに汚染されていることがあり、肝臓に肝硬変などの疾患を有する人が生の魚介類を喫食することにより、重篤な敗血症を発症し、死に至ることがある。15年度はこれま

での全国患者発生推計等疫学的調査と、食品からの検査法の検討および食品や患者由来株の遺伝子解析を行った。その結果、過去10年で90例ほどの患者発生があり、年間170名の患者発生が推計された。また、有明海沿岸地域で特に多くの患者が報告されており、十数%が死亡していた。死亡した患者はいずれも肝硬変等肝臓に疾患を有していた。遺伝子解析では、食品及び患者由来株を比較するためのPCRを開発した。また、食品からの菌株分離を効率よく行う方法を開発した。3. 食品中のリステリアによる健康被害に関する研究(厚生労働科学研究) リステリア症は年間約80例ほど発生しているが、食品との関連を示唆する症例は確認されなかった。肉類、及び乳製品の一部及び生鮮魚介類の一部からはリステリアが分離された。特に肉類の汚染率は高かった。一方、病原性の強い血清型の分布は食品によって異なることが明らかとなった。4. 食品および環境中の食中毒原因菌の病原因子に対する免疫学的高感度検出法に関する研究(HS財団)サルモネラ菌の特定タンパク質を解析し、病原性発現の新たなメカニズムの解明に糸口を与えた。また、そのタンパク質を対象として免疫学的診断法の開発を行った。5. 食中毒菌および毒素のレセプター結合能等を応用した検査法の開発とその評価法の確立(HS財団)これまで、微生物の検査法として培養法や免疫学的方法が数多く開発されてきたが、食中毒菌に特有の糖鎖や毒素に結合するレセプターを応用して食品及び環境中の食中毒菌を検出する方法を開発するための基礎的研究を行った。6. 食品中のアフラトキシン分析法に関する研究。多機能カラムを用いる分析法には、種々の欠点が指摘されていることから、イムノアフィニティーカラム法及びその他の方法のうちイムノアフィニティーカラム法について検討した。7. 牛乳及び乳製品中のアフラトキシンM1の汚染調査。昨年度分析した全ての牛乳からアフラトキシンM1が検出されたことから市販されている牛乳、或いは乳製品の全てがアフラトキシンM1汚染を受けている可能性が大である。その由来は輸入されたコーンなどの配合飼料と推定されることから、これらの因果関係をも明らかにするために牛乳中のアフラトキシンM1実態調査を行っている。8. 食中毒菌の薬剤耐性に関する疫学的・遺伝学的研究(厚生労働科学研究)食品におけるカンピロバクターおよびリステリアの耐性株の出現につき検討を行った。

## 衛生微生物部

部 長 高 鳥 浩 介

### 概 要

当部の主要業務は、医薬品、医薬部外品、化粧品、医療用具、食品等に関連する有害微生物およびその産物に関する試験研究であり、構成する4室でそれぞれ継続実施してきた。

人事では、平成15年10月1日付けで相原真紀博士が研究員として採用され、第三室に配属された。

客員研究員として小沼博隆教授（東海大学海洋学部）、協力研究員として服部誠助教授（東京農工大学）、角田正史助教授（北里大学医学部）、太田利子助手（相模女子大学）を受け入れ、前年に続いて精力的に共同研究を進展させた。

高鳥は、国立保健医療科学院の併任、食品衛生に関する自治体職員の指導を担当した。それに併せて小西、工藤は国立保健医療科学院研修講師、宮原は地研職員を対象とした衛生微生物技術協議会講師として赤痢菌の新検出法を紹介し、工藤は食品衛生指定検査機関協会微生物研修会講師として派遣された。

高鳥、小西は第38回日米有毒微生物専門部会(UJNR)の日本側委員として参加した。会期は11月10-14日、科学セッションは当所の講堂で開催し、細菌、マイコトキシン等に関する研究報告を行った。

食品安全委員会専門委員、薬事・食品衛生審議会臨時委員、農林水産消費技術センター食品安全管理システム(ISO/TC34WG8)専門分科会委員などに協力した。

海外出張では、小西はJICA技術移転でマレーシア・クアラルンプールに7/22-8/30出張し、マイコトキシン技術指導を行った。小西、宮原は11月23-28日に国際医療団による技術指導の講師として、フィリピンのマニラ National Institute of Health, University of the Philippinesに出張し、小西はマイコトキシンと真菌、宮原は食中毒細菌の講義と実習を行った。宮原は、9月14-18日に The 117th AOAC International Annual Meeting and Exposition に参加した。

#### 業務成績

##### 1. 規格・規準・行政試験研究など

###### 乳・乳製品の微生物規準等の検討

昭和26年厚生省令第52号に規定された乳・乳製品である生乳、牛乳等の規格の見直し作業を進める検討に入った。

###### 魚介類中の微生物規準等の検討

コーデックスにおいて進められている腸炎ビブリオと魚介類のリスク評価に資するデータ収集について協力した。

リンゴ果汁中に含まれるパツリンの分析法の策定とコラボラティブ試験

リンゴ果汁中のパツリンの規格基準が設定されるのに伴い、パツリンの分析法の策定と妥当性試験を12機関で行った。

###### 国内流通食品・食品原料のマイコトキシン汚染実態調査

我が国で流通している食品・食品原料のマイコトキシン汚染実態を把握するために全国を5ブロックにわけ調査を行った。対象食品・食品原料およびマイコトキシンは以下の通りであった。リンゴ製品(リンゴジュース、リンゴジャム、幼児用リンゴ製品)などのパツリン、ベビーフード中のデオキシニバレノール、小麦粉中のデオキシニバレノール、コーン製品(コーンフレーク、スイートコーン、ポップコーンな

ど)中のフモニシン汚染を測定した。

###### トータルダイエット標品中のカビ毒汚染調査

国民のカビ毒に対する暴露実態を把握するために国民栄養調査の結果から作られたトータルダイエット標品に含まれるフモニシン、ゼアラレノンの汚染量を調査した。

###### 生乳中のアフラトキシンM1汚染調査

乳牛飼料のアフラトキシンB1汚染検出率が高いことを受けて、全国120箇所の生乳生産業者から生乳を定期的に採取し、アフラトキシンM1の測定をおこなった。

##### 2. その他

JICA派遣研修生の技術講習を行った。

#### 研究業績

##### 厚生労働科学研究

「サルモネラ制御に関する食品の高度衛生管理に関する研究」

サルモネラ食中毒の原因食品として鶏卵を用いた食品が重要であるが、鶏卵の取り扱い及び液卵の製造について調査解析を行った。鶏卵の生産・流通における管理の重要性と液卵における製造工程の高度衛生管理の重要点を整理し、安全な食品の供給について明らかにした

##### 「食品企業における健康危機管理に関する研究」

調査研究として「食品に付着・汚染する真菌の研究」を行った。備蓄玄米と前年産玄米の真菌汚染検査から、真菌定量と同定を行い備蓄米での真菌汚染の現状を報告した。「抗菌加工製品における安全性評価及び製品情報の伝達に関する調査研究」

抗菌剤として生活用品で用いられるイミダゾール系防腐剤(TBZ)及び界面活性剤(塩化ベンザルコニウム)の真菌による抵抗性を*in vitro*で検証し、抗菌剤入り生活用品には添加量で必ずしも効果期待できないことが分かった。

##### 「居住環境に基づく感染性疾患とその予防に関する研究」

居住環境にみる真菌の迅速かつ簡易な手法の評価を二重蛍光染色法及び市販ファンギフローラYによる蛍光測定から良好な結果が得られた。また、感染性疾患との関わりから環境中の真菌の動態を把握した。居住環境の中でも湿性な環境である水系環境は特異な真菌生態を有していることがわかった。

##### 「かび毒試験法の改良に関する研究」

オクラトキシンの分析法のコラボラティブ試験を行った。小麦、コーン、干しぶどうおよび生コーヒについてイムノアフィニティ法と多機能カラム法を検討するために妥当性試験を6機関で行った

##### 創薬等ヒューマンサイエンス総合研究

「健康被害をもたらす有害生物の制御・処理技術の開発に関する研究」

室内空気中のアレルゲンとしての真菌細胞の粒径分布を電気シグナルで測定するための研究を行い真菌細胞の粒径測定とその分布を解析することが可能となった。

「食中毒菌および毒素のレセプター結合能等を応用した検査法の開発とその評価法の確立」

食中毒予防効果のある糖ペプチドの検索および食中毒細菌と結合能力のある糖ペプチドを用いた食中毒の新規検査法の開発を行った。糖ペプチドと食中毒細菌との特異的な結合作用を利用して、腸管内で結合し感染予防効果を有する糖ペプチドをダイズ、チーズホエーなどの食品成分からその効果を明らかにし、さらに腸管出血性大腸菌と特異的に結合する鶏卵由来のオボムチン糖ペプチドを用いて、食中毒の新規検査法の開発を行った。

「医薬品等における汚染菌体成分検出のための正当な評価と新試験法の開発に関する研究」

ヒトのCD14, TLR2, TLR4, MD-2といった分子を連結したキメラプラスミドを細胞に導入することでヒトでの活性を正しく反映した菌体成分検出系を構築し得ることを示した。

「Toll-like receptor 4 結合分子 MD-2 の機能解析と創薬への応用」

エンドトキシンの認識にかかわるCD14, TLR4, MD-2分子のうちMD-2はエンドトキシン認識に加えTLR4の機能発現にも必須であることを明らかにした。

日本学術振興会科学研究

「感染症に対する内分泌かく乱物質の影響についての研究」

内分泌かく乱作用を有すると考えられる化学物質のうちカルバリルとアラクロールについて、エンドトキシンにより誘発される一酸化窒素産生に対する抑制作用機序を検討し、エンドトキシンにより活性化されるNF- $\kappa$ Bの抑制が原因であることを突き止めた。

「真菌性ズーノーシスの多様化とその発症要因の解明」

住環境にみる真菌性ズーノーシスおよび原因真菌について公衆衛生的観点から菌学・生態学、疫学、病態的研究を行い、真菌症の多様化を確認した。特にズーノーシス症例が従来の報告と比較してどのように変化しているか重点的に調査研究した。

「外断熱工法と居住空間のカビ防止に関する研究」

外断熱工法および内断熱工法による真菌汚染の被害程度を住宅及び病院で比較した。その結果外断熱工法による真菌汚染は一般に低いことが分かった。

環境省「感染症に及ぼす内分泌かく乱物質の影響に関する研究」

内分泌かく乱作用を有すると考えられる化学物質のうちいくつかはエンドトキシンの致死活性を上昇することを見出した。

新興感染症に関する研究として伝達性海綿状脳症に関連するプリオン蛋白質の特異性を解析し、ヒトグリオブラストーマ細胞株T98Gが産生する酵素処理抵抗性プリオン蛋白質は細胞膜上に存在して非イオン性界面活性剤に可溶性である事を明らかにした。

## 有機化学部

部長 奥田 晴宏

### 概 要

平成15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と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に関する研究, 4) MFタンパク質科学による創薬研究, 5) 医薬品の品質確保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、「プライマリーヒト肝・腎細胞を用いた薬剤曝露、遺伝子発現に関する研究」、「紫外線照射における健康影響とその予防に関する研究」、「超短半減期核種の新規導入反応の開発及びPET用イメージング剤への応用」に関する研究を行った。今年度新たに「医薬品の製造方法等の変更に伴う品質比較に関する研究」を実施した。

人事としては、山越葉子主任研究官が退職され、カリフォルニア大学サンタバーバラ校研究員となられた。併せて、研究の進展に伴い、丹野主任研究官が第一室に、袴田研究官が第二室の所属となった。

研究員の受け入れに関しては、昨年度から引き続き末吉祥子博士に客員研究員として研究に参画していただいた。

協力研究員として西尾俊幸博士（日本大学生物資源科学部助教授）、田中直子博士（大妻女子大学家政学部助教授）が引き続きNMRを利用した研究に従事された。また中西郁夫博士（放射線医学総合研究所研究員）及び治京玉記博士（(財)乙卯研究所研究員）がそれぞれ抗酸化剤の有効性と安全性に関する研究及びオキシコレステロールの研究に従事された。新たに協力研究員として貝沼（岡本）章子助教授（東京農業大学応用生物科学部）、西川可穂子博士（防衛医科大学校）の参画を得て、NMRを用いた研究を実施している。

国際会議のための外国出張としては、奥田が平成15年7月13日より17日（米国、ワシントンDC）および平成16年3月15日～21日（英国、ロンドン）で開催された日米EU医薬品規制調和専門家会議に出席した。

厚生労働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, 400MHz核磁気共鳴装置）の管理は、栗原第二室長及び福原第一室長が行った。

奥田、末吉客員研究員及び栗原第二室長は厚生労働省日本薬局方部会名称調査会あるいは化学薬品委員会委員として、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。奥田はまた、医薬部外品及び化粧品部会の臨時委員あるいは新医薬品の専門委員等として該当品目の審査に協力した。

## 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) 設計に基づきクマリン誘導体の合成を検討した。(一般研究費,平成14-15年度)
- 2) ヒドロキシアミジン類および関連誘導体を合成した。さらに,合成した化合物にフェントン反応を行ない, NO関連の生理活性に有望であることを見出した。(一般研究費,平成14-15年度)
- 3) 合成したフラレン誘導体を前駆体として用いて医療材料に用いるための高分子化を検討した。前年度に続き,新規な水溶性医療材料を指向したアミジノ誘導体を合成した。(一般研究費,平成14-15年度)
- 4) グリコシド結合開裂をトリガーとしてヒドロキノンまたはキノンを解離する化合物群の設計・合成を行った。(一般研究費,平成15年度)
- 5) 照射下, NOを発生する化合物として2-アミノ9-ニトロアクリジンN-オキドを合成した。(一般研究費,平成11-16年度)
- 6) 抗腫瘍活性化合物として分子内にN-オキド基を持つ水溶性化合物を合成した。(一般研究費,平成13-16年度)
- 7) カテキンの立体構造を平面に固定した平面型カテキンの細胞膜透過性を増強させる目的で,アルキル側鎖を有する誘導体を合成した。(文部科学省科学研究費補助金,平成14-16年度)
- 8) 標的タンパク質に対する結合性を評価するために, 1-amino-2,6-anhydro-1-deoxy-D-glycero-D-ido-heptitol を骨格とした化合物群の合成を行った。(一般研究費,平成14-16年度)
- 9) 抗エストロゲン作用をメカニズムとする抗腫瘍薬の開発を目的として,タモキシフェンの作用機構と毒性発現機構に基づいた誘導化を行った。(厚生労働科学研究費補助金,平成14-16年度)
- 10) 紫外線照射によって引き起こされるラジカル毒性の化学的解析を行った結果,フラボノイド系抗酸化剤がその予防に有効であることが予測された。(厚生労働科学研究費補助金,平成14-16年度)
- 11) 固相反応による<sup>18</sup>Fの導入反応を検討した。(文部科学省原子力研究費,平成14-17年度)
- 12) 固相担体をシリル源とする簡便なアセタール化反応を検討した。(一般研究費,平成15-16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) 赤ワインの抗酸化成分のレスベラトロールは銅イオン存在下,塩基選択的にDNA損傷を誘発することを明らかにした。(一般研究費,平成9-16年度)
- 2) カテキンやケルセチン等,代表的なフラボノイドについて抗酸化作用とprooxidant効果を解析して,構造との相関について検討を行った。(一般研究費,平成12-16年度)

3) 光アレルギーが問題となっているニトロムスク系香料は,還元剤存在下,光照射すると活性酸素を発生してDNA損傷を引き起こすことを明らかにした。(一般研究費,平成14-16年度)

4) psilocinの有機酸素ラジカルに対する反応を速度論的に解析して,ラジカル消去能と構造との相関を検討した。(厚生労働科学研究費補助金,平成14-16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) 走査型トンネル顕微鏡 (STM) による解析により適した分子を合成した。(一般研究費,平成13-15年度)
- 2) 高分解能核磁気共鳴装置 (NMR) を用いたP2X受容体のATP結合部位の立体構造解析を行った。(一般研究費,平成13-15年度)
- 3) VDR (ビタミンDレセプター) の新規リガンドの合成を行った。(一般研究費,平成14-15年度)
- 4) 自己組織化し,ヘリックス構造を形成するペプチドの設計と合成を行った(一般研究費,平成14-15年度)
- 5) 前年度に設計した包接化合物の化学合成を行った。(厚生労働科学研究費補助金,平成14-15年度)
- 6) 不溶性でX線解析の困難なP2X受容体の立体構造を類似の参照タンパクを用いてホモロジーモデリングした。(一般研究,平成15年度)
- 7) pH変化に耐性のある細胞を用いて,細胞内と細胞外のpH変化について,<sup>13</sup>P-NMRにより解析した(一般研究費,平成15年度)
- 8) タモキシフェンとその誘導体,および代謝モデル反応によって合成した酸化体のDNA損傷能を金属イオン存在下,解析した。(一般研究,平成14-16年度)
- 9) 分子シャペロンが認識するN結合型糖鎖のプロセッシング酵素と特異的に相互作用する hexopyranose を有する化合物群の合成を行った。(一般研究,平成14-16年度)
- 10) アンカー型ビタミンD3アナログの設計と合成を行った。(文部科学省科学研究費補助金,平成15-16年度)

## 4. 医薬品の品質確保に関する研究

- 1) CTD様式申請における製造方法の変更に関する研究を行った。(厚生労働科学研究費補助金,平成15-17年度)

以上の研究は,清水健彦,樋口 創(芝浦工業大学工学部:浦野四郎教授),野本哲史,増田 雄(日本大学生物資源科学部:奥忠武教授),山本恵美子(共立薬科大学薬学部:望月正隆教授),中村友里子(東京理科大学理学部:斎藤慎一助教授)及び所内関連各部の協力を得て行った。

研究の成果は日本農芸化学会2003年大会(横浜)日本ビタミン学会第55回大会(島根),第13回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(千葉),第10回日本がん予防研究会(札幌),第25回日本フリーラジカル学会(東京),12th Workshop on Vitamin D (Maastricht, The Netherlands),第40回化学関連支部合同九州大会(北九州市),第62回日本癌学会総会(名古屋),第52回応用糖質科学大会(仙台),The



ASBMR 25th Annual Meeting (Minneapolis, USA), 第18回生体機能関連化学部会・第7回バイオテクノロジー部会(熊本), Fifth AFMC international Medicinal Chemistry Symposium AIMECS 03(京都), 第36回酸化反応討論会(東京), 第40回ペプチド討論会(千葉), 第29回反応と合成の進歩シンポジウム(岐阜), 天然有機化合物討論会(京都), 第47回日本薬学会関東支部大会(東京), IKCOC-9(京都), Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research, Asia(ソウル, 韓国), 10th Annual Meeting of the Society for Free Radical Biology and Medicine(Seattle, USA), 日本環境変異原学会第32回大会(津), 日本フリーラジカル学会関東部会(東京), 第1回日本カテキン学会(横浜), 日本化学会第84春季年会(西宮), 日本薬学会第124年会(大阪), 日本農芸化学会2004年度大会(広島)で発表した。

また論文発表としては, Chem. Res. Toxicol., J. Org. Chem., Biosci. Biotech. Biochem., J. Nat. Prod., J. Appl. Glycosci., Chemistry Eur. J., Bioorg. Med. Chem. Lett., J. Bone Miner. Res. Suppl., Tetrahedron Lett., Peptide Science, Mutat. Res., Org. Biomol. Chem., Chem. Biochem. Interactions, ファルマシア, ビタミン, 医薬品研究等の学術誌並びに科学技術研究費補助金報告書, 厚生労働科学研究費補助金報告書等に発表した。

## 機能生化学部

部 長 澤 田 純 一

### 概 要

平成15年度の研究業務として, 4つの大課題, 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, 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究を継続して行った。

昨年度と同様に, 内容的には, 遺伝子組換え食品のアレルゲン性に関する研究及び薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究に大きな重点を置いて業務を行った。

遺伝子組換え食品の安全性に関しては, 昨年度に続き, アレルゲン性評価のための種々の試験系の検討・開発を行うと同時に, 組換え食品に発現されている導入タンパク質のアレルゲン性が低いことを明らかにする等, 消費者の不安の解消のための研究を進めた。

薬剤反応性遺伝子の多型解析に関しては, 「薬剤反応性遺伝子解析による疾病対策・創薬推進事業」を行うためのプロジェクトチームの中核として, 多型解析及び機能解析を担当し, 日本人の薬剤反応性遺伝子の詳細な遺伝型を明らかにした。今後の薬剤の安全性評価や適正使用に必要とされる多くの基盤的情報が得られている。

また, 手島第一室長を中心に RI 管理に関する業務を行っ

た。本年度においては, 人事院の監査を受けた。

外国出張は, 以下の通りである。澤田部長, ICH免疫毒性専門家会議に出席(平成15年10月7日~10月11日, ロンドン); 澤田部長, 韓国医薬品庁国際シンポジウムで発表(平成15年11月5日~7日, ソウル); 中村研究員, 第60回米国アレルギー学会で発表(平成16年3月19日~23日, サンフランシスコ)。

### 研究業績

#### 1. 免疫系細胞の機能に関する研究

(1) 「国際的動向を踏まえた医薬品等の新たな有効性及び安全性の評価に関する研究」の一環として, 「免疫毒性試験法の標準化に関する調査研究」を行い, 免疫毒性試験法ガイダンス案の作成を行うと共に, 2003年 ICH 大阪会議で免疫毒性試験がトピックス化されたことに伴い, ICH でのガイドライン作成に向けたアンケート調査を開始した(厚生科学研究費)。また, 含窒素系農薬とフタル酸エステルをモデル系として, 化学物質の複合投与によるアレルギー亢進の有無を遺伝子発現の面から検討し, 転写因子 Egr-1 の発現変化が有用なマーカーとなり得ることを示唆する結果を得た(厚生科学研究費)。さらに, 環境要因と小児のアレルギー発症との関係を調べるため, 多摩市と旭川市の3歳児147名を対象にアレルゲン特異的 IgE 抗体価等を指標とする疫学的調査研究を行った(厚生科学研究費)。

(2) 遺伝子組換え食品に発現されている導入タンパク質のアレルゲン性評価に関する研究として, 以下の検討を行った(厚生科学研究費, 重点支援研究費)。

1) アレルゲン予測の解析法の検討。既存アレルゲンと新規タンパク質の相同性を検討するための種々のバイオインフォーマティクス手法を比較検討した。また, B細胞エピトープの相同性も考慮に入れたバイオインフォーマティクス手法の開発に着手した。

2) 食物アレルギー動物モデルの開発。マウスを用いる経口感作について, 数種の系統の間の易感作性の相違や投与時の溶媒の影響について検討を行った。卵白アルブミンを抗原とした経口感作では, マスト細胞の欠損している W/W<sup>v</sup> マウスが, 最も被感作能が高いことを明らかにした。また, 平成15年度より, 動物モデルを用いる食物アレルギータンパク質の評価に関する国際共同バリデーション試験に参加し, 検討を開始した。

3) アレルゲンの分解性試験。タンパク質の人工胃液によるインビトロ分解性試験に関する国際標準プロトコール作成に関与した。また, 卵白中の主要なアレルゲンであるオボムコイドを用いて, 人工胃液により分解された断片と卵白アレルギー患者血清の反応性について検討を行い, 分解による反応性の変化を詳細に検討した。

4) 新規産生タンパク質と患者血清との反応性に関する検討。

新規産生タンパク質 CP4-EPSPS, CryI Ac に対するアレルギー患者血清中 IgE 抗体の反応性を, ELISA 及びウェスタ

ンプロット法で検討し、いずれのタンパク質に関しても、陰性の結果を得た。

5) 遺伝子組換え新規蛋白質の大腸菌での調製。組換え Cry1Ab 及び Cry9C タンパクの大腸菌における発現を検討した。

(3) 環境化学物質並びに薬物による過敏症亢進に関する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を行うとともに、それら因子の産生を制御する転写因子等を中心に DNA マイクロアレイを用いて解析を行った(特別研究費、文部科学省科学研究費)。また、イヌのマスト細胞に存在する高親和性 IgG 受容体の構造解析並びに受容体を介する情報伝達系の解析手法を検討した(文部科学省科学研究費)。

(4) 薬物アレルギーのインビトロ試験法を開発する目的で、薬物のタンパク質付加体生成の検討を行った。また、II 型主要組織適合性抗原(MHC class II) 結合性ペプチドへの薬物の結合を、RI 標識ペプチドを用いて評価する系を開発し、薬物のペプチド結合性とアレルギー性との相関を解析した。

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

中枢神経系における OBCAM(オピオイド結合性細胞接着分子)の機能解明を目的として、ウシ及びラット脳より GPI アンカー型糖タンパク質の抽出及び OBCAM の精製法を検討し、さらに糖鎖解析を行った(文部科学省科学研究費)。

3. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

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 に TAT ペプチドを連結させて RI 標識した。これをマウスの腹腔内に投与し、脳内移行性を検討した。

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の一環として、「薬剤反応性遺伝子解析による疾病対策・創薬推進事業」(医薬品機構基礎研究推進事業研究費)につき、以下の研究を行った。

(1) 前年度に引き続き、抗不整脈薬、ベータ遮断薬、ステロイド薬、抗てんかん薬等の薬剤反応性遺伝子(CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, UGT1A1, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT1A10, UGT2B4, UGT2B7, EPHX1, ABCB1, SLC22A1, SLC22A2, NR3C1, AHR, SCN5A 等)につき、一塩基多型等を主とする多型解析をダイレクトシーケンシング法により行った。また、ABCB1, UGT1A1, UGT2B4, UGT2B7, CYP3A4, CYP3A5 等の一部の遺伝子については、見いだした一塩基多型等を利用して、遺伝型(ハプロタイプ)の同定・分類を行った。

(2) 心臓のナトリウムチャネル SCN5A 遺伝子において新たに見いだしたアミノ酸置換を伴う一塩基多型に関して機能解析を継続し、機能変化を示すものを見いだした。また、CYP1A2, CYP2C8, SLC22A1, SLC22A2, AHR, GR 遺伝子で見いだされた新規多型についても機能解析を開始した。

(3) 薬物トランスポーター MDR-1 (ABCB1) 及びグルクロン酸抱合酵素 UGT1A7-10 の遺伝子多型の迅速・簡便な遺伝子診断法に関する検討を加えた。

## 代謝生化学部

部長 井上 和 秀

### 概 要

平成 15 年度の研究業務として、医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究、白血球の運動代謝制御に関する研究、刺激に対する細胞の情報伝達・機能発現機構に関する研究、脂質・脂溶性薬物の代謝・動態に関する研究、薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究、ならびに MF タンパク質科学による創薬研究等を行った。人事に関しては、特記事項はなかった。

### 研究業績

1. 白血球の運動代謝制御に関する研究

(1) 白血球のケモタキシス運動をペプチドで制御する手法を開発した。(ヒューマンサイエンス振興財団委託金)

(2) コフィリン結合蛋白を免疫沈降法で検討した。(文部科学省科学研究費)

(3) 白血球のアクチン制御蛋白の動態に対する内分泌攪乱物質の影響を検討した。(環境省地球環境保全予算)

2. 刺激に対する細胞の情報伝達、機能発現機構に関する研究

(1) 内分泌攪乱物質が食細胞機能に及ぼす影響について、蓄積したデータをもとに、総合評価を行った。(環境省地球環境保全予算)

(2) 食細胞機能発現における情報伝達系チロシンキナーゼの役割に関して、RNA 干渉法(siRNA)を用いて検討し、チロシンキナーゼ間での機能の違いについて解析を行った。(ヒューマンサイエンス振興財団補助金)

(3) 食細胞分化における転写因子の活性変動に対するインディルビンの効果を検討した。(厚生労働科学研究)

(4) 食細胞の活性酸素産生機能獲得に対する酸化ストレス誘起性化学物質の影響を検討した。(環境省地球環境保全予算)

3. 脂質の代謝・動態の制御に関する研究

肝からの VLDL 分泌の制御に関する研究では、コレステリルエステル合成阻害が肝中性脂質代謝に及ぼす影響を解析し、阻害による細胞内遊離コレステロール量の増加は核内受容体 LXR の活性化をもたらすものの、中性脂質合成を促進する転写因子 SREBP-1c の発現増加にはつながらないことを示した。(ヒューマンサイエンス振興財団委託金)

4. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

抗がん剤(イリノテカン)投与患者の生体試料を用い、イリノテカン及び代謝産物の薬物動態解析を行い、当薬剤の

薬剤反応性遺伝子(薬物代謝酵素, 薬物トランスポーター等)の遺伝子型(ハプロタイプ)との関連を調べた。その結果, 代謝率, 腎排泄等の薬物動態異常と相関する複数のハプロタイプが明らかとなった。(医薬品機構研究費)

#### 5. 核内受容体とそのリガンドによる動脈硬化の抑制研究

(1) 末梢細胞へのコレステロール蓄積を防ぐにはHDLとして運び出す必要がある。この過程に必須の膜トランスポーター ABCA1に着目し, 苔から抽出した化合物のなかから, 核内受容体 LXR を活性化し, マクロファージの ABCA1 遺伝子発現と HDL コレステロール排出を促進する化合物を見いだした。

(2) 新たなコレステロール低下薬として期待される FXR アゴニストについて, 生理的リガンドである胆汁酸の構造活性相関を解析し  $\beta$  位の置換基効果を明らかにするとともに, 側鎖のアルコールへの転換が細胞への輸送効率増加によるリガンド活性の上昇をもたらすことを示した。

(3) 脳髄黄色腫症(CTX)や Zellweger 症候群などの先天性胆汁酸代謝異常で蓄積する胆汁酸生合成中間体が極めて強力な FXR リガンドであり, FXR 標的遺伝子の発現誘導を介して胆汁酸の生合成および細胞外への排泄を制御できることを明らかにした。(医薬品機構研究費)

#### 6. 遺伝子発現の制御による脳卒中発症後の神経機能障害防制研究

脳卒中中で傷害を受けやすい海馬の神経機能はグリア細胞により制御されており, またその障害にはグリア細胞 P2X4 受容体が強く関係している。そこでグリア細胞の ATP 受容体発現を制御する核内受容体に関する研究として各種レチノイン酸受容体作用薬の P2X4 受容体遺伝子発現量に対する作用を検討したところ, 9-cis レチノイン酸が, ミクログリアの P2X4 受容体 mRNA 及びその機能を増大させることが明らかとなった。(医薬品機構研究費)

#### 7. 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

(1) 難治性疼痛に関与する ATP 受容体の機能解析と医療への応用では, 病態難治性疼痛モデルの神経因性疼痛, アロディニアの病態には, 脊髄後角の活性型ミクログリアに高濃度に発現した P2X4 の活性化が深く関与することが示された。(ヒューマンサイエンス振興財団委託金)

(2) 難治性疼痛発現における ATP 受容体を介するグリア-ニューロン相互作用の役割研究では, 神経因性疼痛モデルでは脊髄内グリア細胞が活性化されることを明らかにした。(文科省科学研究費)

(3) 細胞外 ATP を介したアストログリア-ニューロン相互調節機構の解明研究では, アストロサイト間の情報連絡 "gliotransmission" は, 主にアストロサイトから放出された ATP によって形成されていた。アストロサイト由来 ATP は, 近傍シナプスにも作用し, 海馬の興奮性シナプス伝達を, きわめてダイナミックに抑制した。アストロサイトは自発的 ATP 放出能をも有し, 海馬シナプス伝達を恒常的にも制

御していた。(文部科学省科学研究費)

## 安全情報部

部長 森川 馨

### 概要

安全情報部は, 平成 15 年 4 月 1 日, 化学物質情報部から新たに医薬品, 食品微生物及び食品化学物質の安全性情報に関する業務が加わり 5 室体制となった。

主たる業務としては, 医薬品及び食品の安全性に関する海外からの緊急情報及び学術情報を「医薬品安全性情報」「食品安全情報」として定期的に発行すると共にホームページにおいて提供した。また化学物質の安全性に関する国際協力事業を行った。また, 所内の研究情報基盤としてのネットワークの整備及び図書サービス業務等を行った。

人事面では, 平成 15 年 4 月 1 日付で大阪支所の辻澄子室長及び石光進室長がそれぞれ第一室長及び第四室長, 旧化学物質情報部の中田琴子室長が第五室長, 食品衛生管理部の春日文字室長が第二室長に配置換となり, 山本都主任研究官が第三室長に昇任した。また, 同年 4 月 1 日, 畝山智香子主任研究官が病理部より第三室に配置換となり, 同年 6 月 1 日より 12 月 15 日まで厚生労働省大臣官房厚生科学課科学技術調整官併任となった。さらに図書室に大橋正広事務官が医薬品機構研究振興部から赴任した。また同年 4 月 1 日, 山本美智子, 瀬川勝智両名が技術補助員として採用された。同年 7 月 1 日付けで第二室に窪田邦宏研究員, 9 月 1 日付けで第四室に森田健主任研究官, 第三室に登田美桜研究員が採用された。さらに平成 16 年 4 月 1 日には大阪支所から天野博夫主任研究官が第一室に配置換となった。

### 支援業務(業務成績)

1. 第 4 回政府間化学物質安全性フォーラム(IFCS IV, バンコク, 2003 年 11 月)に森川馨部長, 森田健主任研究官が出席し, 化学物質安全性に係る国際情勢に関し情報収集を行った。加えて, フォーラムに先立ち, 本邦のキャパシティビルディング活動をまとめ, 提供した。

#### 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

CICAD として出版された化学物質について, 要約(16 物質)及び全訳(7 物質)の翻訳を行い, 当所ホームページに掲載した。第 11 回最終原案検討会議(バルナ, 2003 年 9 月)に, 石光進室長及び森田健主任研究官が出席し, 7 化学物質の CICAD 原案について, リスク評価と最終検討を行った。

##### 2) 国際化学物質安全性カード(ICSC)の作成

日本分担分 9 物質の ICSC 原案を作成した。また, 73 物質の ICSC を日本語に翻訳し, ホームページ上で提供した。へ

ルシンキでの ICSC 原案検討会議（2003 年 5 月）に山本都室長が出席し、またブリュッセルでの ICSC 原案検討会議（2003 年 11 月）には山本都室長、森田健主任研究官が出席し、最終検討を行った。

### 3. 食品微生物の安全性に関する国際協力

春日文字室長が、平成 15 年 5 月 6 日～10 日までボローニャ大学獣医学部にて講義のため、同年 10 月 9 日～17 日までルガーノ（スイス）に国際食品微生物規格委員会（ICMSF）年次会議参加のため、平成 16 年 1 月 27～31 日までコーデックスと加盟各国への科学的助言の提供に関する FAO/WHO 合同ワークショップ参加および微生物学的リスクアセスメントにおけるリスクキャラクター化のガイドライン作成に関する会議参加のためジュネーブに、同年 2 月 29 日～3 月 5 日までアトランタにおいて FoodNet 様システムに関する国際会議ならびに関連学会に窪田邦宏研究員と共に出席した。また、同年 3 月 25 日～26 日までワシントン DC において ILSI の国際的な微生物学的リスクアセスメントのためのデータ収集に関する諮問委員会に参加した。

### 4. 研究情報基盤の整理

全所的ネットワークのセキュリティ強化のため、ユーザ登録の確認、パソコンの所内 LAN 接続時の MAC（Media Access Control）アドレス登録を必須にした。今年度から本格的にネットワーク監査を実施し、ネットワークセキュリティを強化した。

### 5. 図書・情報サービス

#### 1) 雑誌類の管理と相互貸借

雑誌 18 タイトルを新規に購入し、61 タイトルを中止し、単行本 167 冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は 257 タイトル、管理している単行本は 12,263 冊となった。文献の相互貸借事業に関しては、外部から 408 件の依頼を受け、外部へ 1,612 件を依頼した。

#### 2) 図書情報検索サービス

電子ジャーナルの採用を増加させた。

#### 3) 国立医薬品食品衛生研究所報告編集業務

当所の国立衛研報編集委員会に協力し、第 121 号の作成と配布に協力した。

### 研究業績

#### 1. 医薬品の安全性に関する研究

##### 1) 医薬品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集、解析、評価に関する研究

医薬品の安全性に関し国際機関や海外の規制機関からの緊急情報及び学術情報を「医薬品安全性情報」として定期的に発行すると共に、海外からの医薬品安全性情報を提供するための Web ホームページを構築し、提供した。また、医薬品の安全性に関する内外の学術文献及び国際機関・外国規制機関からの安全情報に関するデータベースを構築した。

##### 2) 医薬品の安全性、有効性評価に関する研究

現在、海外で問題となっている医薬品の安全性、有効性評

価に関する研究として、①成人病予防のためのホルモン補充療法と副作用、②小児大うつ病の薬物療法の有効性と安全性、③米国における小児臨床試験への取り組みと有効性、安全性の評価について調査・研究を行った。

##### 3) 医薬品製造におけるプロセスバリデーションと科学的品質保証に関する研究

固形製剤のプロセスバリデーションの研究として、①適切な製剤処方及び製法の予測、②造粒工程のスケールアップ、③機能性コーティング、④技術移管、⑤粉体の移送と飛散、⑥近赤外分光法等の固形製剤製造プロセスにおける重要項目について、事例に基づいてバリデーションの実施方法、評価方法等に関して研究を行った。

#### 2. 食品の安全性に関する研究

##### 1) 食品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集、解析、評価に関する研究

食品の安全性に関する国際機関や各国機関の最新情報、規制情報、アラート情報等を調査・収集し、「食品安全情報」を定期的に発行すると共に、重要な情報及び緊急性の高い情報について精査し問題点を検討した。食品添加物及び残留農薬の規制値に関するデータベースを構築し、また食品微生物及び食品化学物質の安全性に関する情報の Web ホームページを構築した。

##### 2) 食品中の化学物質のリスク評価のための文献収集

メチル水銀の毒性に関する情報、食品中のメチル水銀含量に関する情報及び残留ホルモン剤に関する文献を収集し、含有量や毒性など項目ごとにまとめ、問題点を検討した。

##### 3) 食品の安全性に関する厚生労働科学研究

###### ①食品中の微生物のリスク評価に関する研究

タイにおける赤貝による腸炎ビブリオ感染のリスクアセスメントモデルを策定した。調理中の二次汚染に関する確率モデルを策定した。

###### ②容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒のリスクアセスメントのために、リスクプロファイル案を作成した。

###### ③保育所の給食システムに関する研究

協力調理場ならびに保育所において衛生管理手法を実施し、微生物検査による検証を行うとともに、それに基づき衛生管理マニュアルの変更を提言した。

###### ④食品を介する家畜・家禽疾病のヒトへのリスク評価及びリスク管理に関する研究

と畜場法や食鳥処理法での規制対象疾病も含め、家畜ならびに家禽の疾病について文献調査を行い、ヒトの健康に及ぼす危険性について見直した。

#### 3. 化学物質の安全性に関する研究

##### 1) 不快害虫用殺虫剤の安全確保マニュアルに関する調査研究

家庭用品として不快害虫用殺虫剤に用いられている 37 化学物質について、物理化学的性状（沸点、融点、蒸気圧他）、

毒性(半数致死量, 無影響量, 無毒性量, 最小毒性量, 遺伝毒性, 発がん性他)等の情報を収集し, 安全確保マニュアルのデータベースを作成した。(移替予算)

#### 2) 子供の健康と化学物質安全性に関する国際動向調査

子供に対する化学物質の安全性評価に関する国際的動向を行政的側面及び学術的側面から調査するとともに, 問題となっている化学物質を整理し, 各国の施策を比較検討することにより, 今後必要とされる事項を検討した。

#### 4. 化学物質による緊急の危害対策を支援する知識情報基盤の研究

化学剤の物性・毒性情報を調査し, 健康危機管理情報webページに追加すると共に, 有機リン系農薬, 青酸化合物, 覚醒剤など中毒事例が多い15種類の分析法を記載した薬毒物分析シミュレーションシステムを構築した。また薬毒物分析, 救急・災害医療, 中毒情報その他の専門家等による専門家会合を開催し, 化学災害や化学テロなどの緊急時対応における問題点等について検討した。

#### 5. 生体分子の構造と機能に関する研究

タンパク質と化学物質の結合親和性に関するデータベース KiBank, 及びフラグメント分子軌道法に基づいたタンパク質-化学物質相互作用解析システム ABINIT-MP を開発・公開した。また, 医薬品の分析法バリデーションに関する研究を行った。

## 医 薬 安 全 科 学 部

部 長 長 谷 川 隆 一

### 概 要

当部の研究業務は医薬品の適正使用についての基礎的研究を行うことにより, 厚生労働行政のうち市販後医薬品の安全対策を支援することである。当部は非実験系と実験系の2部門からなっているが, 現在までの研究内容が安全対策支援の面から必ずしも十分でないとの判断から, 実験系研究員も直接的な安全対策支援研究に関与することとした。これは, 研究内容の継続性の面からも重要である。現在新たに立ち上げを検討している内容は, 厚生労働省に報告される副作用症例報告の活用方法の検討, 企業による市販後安全性監視の現状解析と海外比較, 患者の遺伝子多型情報に基づく薬剤の適正使用のためのガイドライン化の支援である。

平成15年度に行った主な研究内容は次の4項目である。医薬品の薬物動態相互作用についての研究では, スタチン系薬剤に注目し, 添付文書の記載状況調査, 文献情報の収集・整理・解析, 医療機関への予備的アンケート調査を行った。糖尿病治療薬の血中動態と代謝関連遺伝子の解析を行うための基礎的研究では, 糖尿病治療薬を投与されている患者の CYP2C9 の1塩基置換解析及びそれに伴う薬物動態と薬効の

解析を行った。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・創薬推進事業の一環としては, 昨年度に引き続き対象医薬品代謝関連遺伝子の1塩基置換, 薬物動態および遺伝子発現調節領域の解析を行っている。また, 薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究では, 日本人, 白人, 黒人のUDP グルクロン酸抱合酵素の遺伝子多型の解析を行った。

人事面では, 齋藤充生技官は平成15年10月1日付けで厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課より主任研究官に就任した。浦野勉第1室長は平成16年1月1日付けで医薬品医療機器審査センターに転出し, 三宅真二技官は平成16年2月1日付けで医薬品医療機器審査センターより第1室長に就任した。吉谷隆志医薬品機構派遣研究員は平成15年11月1日付けで医薬品医療機器審査センター審査官として採用されたため, 転出した。

海外出張としては, 長谷川部長は ICH Expert Working Group 会合(平成15年7月, ベルギー)に出席した。また, 鹿庭なほ子第3室長は「Twelfth North American ISSX (International Society for the Study of Xenobiotics) Meeting」(平成15年10月, 米国)に出席・発表し, 「Thirty-third Annual Meeting of the Korean Society of Pharmaceutics (KSP)」(平成15年11月, 韓国)にて招待講演を行った。

プロジェクト研究としては, 厚生労働科学研究費補助金研究事業として「薬物代謝酵素が関与する医薬品相互作用の添付文書等による適正な情報提供に関する研究」, 「国際的動向を踏まえた医薬品等の新たな有効性及び安全性の評価に関する研究」, および, 「薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究」, 創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業として「医薬品の適正使用に向けたヒト薬物代謝特性の解析・予測支援システムの構築とハイスループット試験系についての研究」, および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を行った。

### 業務成績

#### 1. 医薬品・環境化学物質の安全性評価に関する業務

a) 薬事・食品衛生審議会医薬品等安全対策部会, 中央環境審議会環境基準専門委員会, 医薬品 GLP 評価委員会, 新医薬品添加物専門協議に出席し, 安全性の評価を行った。

b) ICH E2E: Pharmacovigilance Planning の専門家ワーキンググループ会合に参加し, 討議した。

c) ICH Q3C/M: Impurity: Residual Solvents (Maintenance) の専門家ワーキンググループのラポータ(2001-2002)として, ICH 6 (10月, 大阪)で成果の発表を行った。

2. 皮膚適用製剤の生物学的同等性試験ガイドライン作成委員会に参加し, 「局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン」及び Q&A を公表した(2003年7月)。引き続き, 皮膚適用製剤の処方変更及び剤形追加に関連する生物学的同等性試験ガイドラインを検討中である。

3. 日本薬局方製剤委員会に参加し、主として採取容量試験及び製剤総則の改訂作業を行った。

#### 研究業績

1. 薬物代謝酵素が関与する医薬品相互作用の添付文書等による適正な情報提供に関する研究

a) 薬物代謝酵素チトクローム P-450 の医薬品添付文書中における記載状況

日本医薬品集データベース(2003年4月版)を用いて調査を行ったところ、9.3%の医薬品について関与するCYP分子種の記載が見られた。記載されているCYP分子種は、CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP1A2, CYP2C19の順で多かった。このうち、相互作用の項にCYP分子種が記載されていたのは約60%であり、これ以外は、作用の項のみに記載されていた。CYPに関する記載は、2000年から2003年の約3年間で2倍近く増加し、承認年別では、1991-96年で7-26%, 1999-2002年で43-51%に記載がみられ、特に1997-1999年間に大幅な増加が認められた。既に承認されている医薬品についても、CYPに関する情報の充実が必要と考えられた。

b) シトラスジュースと医薬品の相互作用に関する添付文書中の記載状況についての調査研究

シトラスジュースと医薬品の相互作用について公表文献より得られた情報と医薬品添付文書中の記載状況とを比較、検討した。グレープフルーツジュースは広範な医薬品に影響を及ぼすことが報告されていた。その他のシトラスジュースについても、数種の医薬品との相互作用が報告されており、添付文書による適切な相互作用情報の記載が必要であると考えられた。

c) スタチン系薬剤と他剤との臨床薬物動態相互作用について6種のスタチン系薬剤と他剤との薬物動態学的臨床相互作用に関する文献情報を収集・解析し、チトクローム P450 による代謝、およびMDR1とOATP2のような薬物トランスポータに関する非臨床相互作用の情報から、臨床薬物相互作用の予測性を推測・考察した。予測は定量的には難しいものの、定性的には高い確度で可能であると考えられた。一方、CYPを介した相互作用について、文献情報と添付文書における記載状況の比較を行ったところ、相互作用の項で、CYP分子種名の記載がない、AUC変化率等の相互作用の程度の記載がない、減量等の具体的な対処方法の記載がないなどの事例が見受けられ、作用メカニズム及び定量的な増減について、情報提供が必要であると考えられた。

d) 医薬品添付文書等による情報提供に関する予備的アンケート調査

医療用医薬品の添付文書に必要とされる情報提供のあり方について検討するため、(社)日本臨床薬剤師会会員施設の40施設を対象に、パイロット調査を実施した。この結果を踏まえ、平成16年度に本調査を実施する予定である。

2. 医薬品副作用データベースの活用に関する研究

我が国の副作用報告制度は、平成15年10月より、国際整合性

のある情報内容を電子媒体で収集する体制に切り替わった。そこで、この新しい副作用データベースについて厚生労働省医薬食品局安全対策課と連携し、医薬品の市販後安全対策へ寄与することを旨とした活用のための基礎的検討をおこなった。

3. グリメピリドの薬物動態に与えるCYP2C9遺伝的多型の影響

グリメピリドを服用している糖尿病患者での薬物動態に与えるCYP2C9の遺伝子多型の影響を調べるため、野生型およびCYP2C9\*3ヘテロ変異型の遺伝子型を有するグリメピリド服用患者での種々の薬物動態パラメーターを測定した。その結果、CYP2C9\*3ヘテロ変異型遺伝子を有する患者でのAUCは野生型遺伝子を有する患者の約2倍程度に増加していることが明らかになった。また、CYP2C9\*3ヘテロ変異型遺伝子を有する患者では、血糖値の低下作用が強く現れることがわかった。

4. 薬物動態関連遺伝子多型の人種差に関する研究—UDP Glucuronyl Transferase 1(UGT1)について—

白人種、黒人種、日本人各150人分の末梢血より抽出したDNAを用いて、UGT1A1のTATAボックス、ポジション211, 686における遺伝子型をパイロシーケンス法で決定し、アレル頻度の人種間差を検討した。TATAボックスでは(TA)の繰り返し数の違いから4つのタイプの遺伝子型が存在し、検討した中ではアレル頻度の人種差が最も著しかった。また、211G>A(G71R)の変異は、日本人に特有であった。ポジション686における変異は各人種とも頻度は0に近かったが、黒人種においては新規の変異686C>T(P229L)が見つかり、*in vitro*機能解析の結果、P229Lは野生型に比較して、蛋白の安定性および酵素活性がともに低いことが示唆された。

5. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

a) 遺伝子多型の解析に関する研究

昨年度に引き続き、薬剤反応性遺伝子の発現調節に関わる転写因子である、ヒトPXR(Pregnane X Receptor)およびヒトCAR(Constitutive Androstane Receptor)の遺伝子多型の解析を行った。

i. PXR遺伝子の解析

多型解析を行い、得られたSNPを利用して、遺伝子型の同定および分類を行った。アミノ酸置換を伴う新規SNP4種の機能解析を行い、変異型PXRはDNA結合能および活性が低下することを明らかにした(Drug Metab. Dispos., 32, 149-154, (2004))。また、PXR遺伝子の発現調節機構の解析を行い、核内因子が結合するDNA領域を新たに同定した。

ii. CAR遺伝子の解析

多型解析を行い、得られたSNPを利用して、遺伝子型の同定および分類を行った。新たに発見した26種の新規SNPのうち、アミノ酸置換を伴う新規SNPが2種見出された(Drug Metab. Pharmacokinet., 18, 413-418, (2003))。現在、これら多型の機能解析を行っている。

b) 薬物の体内動態に関する研究

- i. 抗がん剤：塩酸イリノテカン (CPT-11)  
 昨年度に引き続き、約60人の患者の血中CPT-11および代謝物SN-38, SN-38G, APC濃度をHPLC法にて測定した。CPT-11の薬物動態とUGT1A1およびMDR1の遺伝子多型との関連について、学術誌に発表した (Pharmacogenetics, 13, 741-754 (2003), Clin. Pharmacol. Ther. in press).
- ii. 抗がん剤：塩酸ゲムシタピン (dFdC)  
 昨年度に引き続いて、約110人の患者の血中dFdCおよび代謝物濃度をHPLC法にて測定した。dFdCの代謝酵素をコードする遺伝子CDAに変異208G>Aがあると、dFdCの代謝速度が低下することが示唆された。
- iii. 抗がん剤：パクリタキセル  
 昨年度に引き続き、約80人の患者の血液中のパクリタキセルおよび3種類の代謝物の濃度をHPLC法にて定量した。代謝物3'-p-OH-paclitaxelのAUCは、MDR1\*2/\*2の患者では同野性型ホモの患者よりも有意に増加する傾向にあったが、パクリタキセルの総クリアランスには両者で有意差は見られなかった。
- iv. 抗てんかん薬：カルバマゼピン (CBZ)  
 CBZの活性代謝物CBZ-epoxideを代謝する酵素エポキシドヒドロラーゼをコードする遺伝子EPHX1のハプロタイプを決定し、CBZ-epoxideの体内動態との関連を検討した。EPHX1のプロック2におけるハプロタイプ\*2およびプロック3におけるハプロタイプ\*1cがCBZ-epoxideの体内動態に影響を及ぼしていることが示唆された。
6. その他の研究
- a) ファルネソイドX受容体(FXR)の新規生理機能の探索  
 FXRによって発現が制御されている新規標的CYP遺伝子を探索したところ、副腎で発現しているCYPの誘導を調節していることを見いだした。
- b) CYP3A4の誘導におけるPXR, CAR, VDRの相互作用機構に関する研究  
 CYP3A4の誘導におけるpregnane X receptor (PXR), constitutive androstane receptor (CAR)およびビタミンD3受容体(VDR)の役割を明らかにすることを目的とし、PXRおよびCARをそれぞれ恒常的に発現するHepG2細胞株を樹立した。
- c) 承認後の製法変更と品質の保持  
 徐放性製剤について、製造工程等の変更を行っても変更前の製剤の品質が保持されていることを確認するための方法を検討し、ガイドラインとしてまとめ上げた。
- d) 市販後医薬品安全性監視の計画のためのガイドライン  
 ICH E2Eのメンバーとして活動し、ガイドラインは2003年大阪でのICH 6でステップ2に達した。現在はステップ4に向けてパブリックコメントの募集中である。ガイドラインは申請時情報の整理と市販後臨床調査・研究の計画策定を支援することを意図したものである。
- e) テトラプロモビスフェノールA (TBBPA) による予期されない新生児ラットでの腎毒性の発現に関する研究

TBBPAを新生児ラットに投与すると不可逆的な腎嚢胞を伴う腎毒性が発現するが、若齢ラット(5週齢)に10倍量以上のTBBPAを投与しても腎毒性の発現しないことを明らかとし、学術誌に公表した (Toxicol Lett, 150, 145-155 (2004)).

f) 薬物代謝酵素遺伝子の発現を指標とする安全性評価に関する研究  
 薬物代謝酵素遺伝子の発現量を指標として安全性を評価するためヒト薬物代謝酵素mRNAの高感度特異的な定量法を作成した。

## 安全性生物試験研究センター

### 安全性生物試験研究センター長 井上 達

安全センターの試験・研究業務は、1) 医薬品関連(麻薬、劇毒物などの物質、GLPの審査などを含む)、2) 食品・食品添加物関連、3) 農薬・残留農薬関連、4) 生活化学物質を含む新規ならびに既存の諸々の化学物質に関わる安全性評価(リスク・アセスメント)ならびにそれらの安全性管理(リスク・マネジメント)に関連する諸課題によって構成される。

1)の医薬品関連については、安全センターは内部審査に協力する形で審査センター各部の担当する申請書類の事前審査等に協力してきた。これまで審査は順調に行われてきたが、平成16年3月審査センターは改組、これまでの医薬品機構とともに再編され、4月より医薬品総合機構としてあらたな審査体制に入った。新年度早々にも新・総合機構との打合せも企画されており、今後とも一層、連絡を密にしてよりよい体制作りを目指すことになる。この間のその他の主な事項としては、医薬品審査国際協調やICH(大阪にて開催)に関連する安全性研究事業、医薬品審査に関する審査センターと旧・機構有志によるQ&A懇談会への知的支援(医薬品研究に連載)、医薬品の基剤やカプセルとの関連での(米国における発症問題を含む)牛海綿状脳症への対応、医薬品の環境影響リスク評価手法に関するad hoc予備調査(主任研究者・井上 達)、薬店外での販売に関連した「医薬品のうち安全上特に問題がないものの選定」への実務的な協力、米国FDAでのゲノミクス資料の申請受理に対応した技術的検討、などが取り上げられた。

2)の食品・食品添加物関連については、従来、いわゆる食検費にもとづく各種食品・食品添加物の変異原性試験(変異遺伝部)や、亜慢性試験(毒性部・病理部)などの点検作業が継続してきた。食品分野に於ける安全性措置については、昨年度は、平成15年5-7月をもって食品安全基本法の発足や食品安全委員会の設置などがすすみ、歴史的な節目の年となった。安全センターの各部長は専門研究者として、食

品安全委員会の専門部会にそれぞれ所属して、引き続き食の分野に於ける安全性面での貢献を開始した。当所は、これに対応して所内に長尾所長を中心に食品安全フォーラムを設置し、センターはその企画等に積極的に貢献した(12月7日、フォーラム開催)。この中で安全性評価のなされた食品・食品添加物のおもなものとしては、アクリルアミド、フロリドン、カドミウム、有機水銀、アマメシバ、ピロリジジンアルカロイド、などがあり、また、この期、残留農薬のポジティブリスト制への移行も実施された。これと併せて既存添加物489品目の安全性評価についても当センターは積極的に貢献してきたが、この間、流通実態調査にもとづく消除(24品目)、再調査(23品目)などの措置が進む中で、平成15年度は17品目の安全性確認作業(主任研究者 井上 達)が終了し、これまでの評価終了物質は32品目に達した。現在、試験・研究の既に進行中の14品目を含む61品目がデータの収集段階にある。香料の安全性評価についても変異原性の評価を含む評価基準を策定してさしあたり流通頻度の高い物質の中から必要な試験を開始した。

3)の農薬・残留農薬関連では、安全センターならびに食品部の各委員と、大学等の外部委員の協力によって行われてきた安全性評価業務(いわゆる農薬安評)が食品安全委員会に移した。当・安全センターのメンバーは、引き続きこれを通じて農薬の安全評価に携わることとなったが、センター全体としての日常業務は終了した。

4)の生活化学物質関連で特記すべき事項としては、長年、経済産業、環境、および厚生労働の各省で個別に行われてきた新規化学物質の化審法評価が、平成15年4月より経産・環境・厚労の三省合同審査の形で行われることになり審査基準の客観化などの作業もさらに進行した。また、この間、化審法に環境影響評価を加える改正も行われた。化学物質リスク評価推進事業報告の一環としてダイオキシン研究の到達点について講演会が開催された(2月駒場・3月仙台)。内分泌かく乱化学物質研究関連では、湘南国際村にて基礎科学シンポジウムを開催(主催：食品薬品安全センター)した他、WHO/IPCSのグローバル・アセスメントのフォローアップ会議が東京で開催されこれに貢献した(12月8-9日)。

調査業務としては、種々の国際機関(ICH, OECD, JECFA, JMPR, IPCS等)での各々の行政関連国際活動に対応したりスクアセスメント業務が行われている。OECDにおける内分泌かく乱関連や、皮膚刺激性関連の試験法の検討、JECFAの継続的な個別審議課題など取り扱い業務は膨大であるが、この期、JECFA, JMPRに対しては、毒性、薬理、病理、総合評価の各部門が協調してこれに貢献することが申し合わせられた。また11月、IPCSはトキシコジノミクスのワークショップをベルリンにて開催し、化学物質の安全性についてマイクロアレイなどゲノム科学が果たす役割についての検討をすすめた。ICH(医薬品等国際ハーモナイゼーション促進事業)に関しては、平成16年度から引き続き新たな厚生科学研究：

医薬品等国際ハーモナイゼーション促進研究推進班が発足し、その安全性部門として、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)などの4分野について、ガイドライン作成等専門家会合の開催・討論が行われることとなった。毒性関連のOECDテストガイドラインのコメント対応業務について、今年度より13項目のガイドライン項目に対してあらたなナショナルエキスパートを置いて活動がすすんでいる。

当・安全センターの試験・研究・調査の各業務の目的は一言にしていえば、諸種化学物質の安全性評価である。このため安全センターの各部では、先端技術の導入をも含む安全性評価手法の改善を常に積極的に推進する。cDNAマイクロアレイを応用した一般化学物質に標的をあてたトキシコゲノミクスのプロジェクト研究が進んでいる(平成15年度発足：主任研究者・菅野 純)。1 昨年開始した医薬品評価のためのトキシコゲノミクスプロジェクトとともに、進展が期待される。

最後に安全センターの人事と研究交流等の行事については、平成16年3月、川崎 靖動物管理室長(政令室)が37年余におよぶ勤務を終え退官し、後任に毒性部より児玉幸夫室長が配置換えにて就任した。以上の他には平成15年人事では部長・室長における特記すべき異動はなかった。尚、退官に先立ち川崎動物管理室長は、JICAのプロジェクトへの協力の一環として、9月21日から12月28日までの3ヶ月間医薬品安全性評価管理センターへと出張し、中期発がん性試験の指導にあたった。

以上、平成15年5月末現在のセンターの構成は、4部、1省令室で、室数は昨年度の毒性部における1減により14室となり、センター長1、部長4、省令室長1、室長15(内1名兼任)、主任研究官21(内1名兼任)、研究員6(内、1名兼任)、動物飼育長1で、研究員を合わせると総計49名である。この他、協力・流動研究員12、研究生・実習生8、および、技術・事務補助員14、客員研究官8が在籍する。尚、安全センターの組織については、毒性部動物管理室の省令室化、総合評価研究室の増員が、依然として安全センターの希求する将来へ向けての課題となっている。

研究交流等の招聘行事については、まず米国の非営利財団国際生命科学研究所からMichael Holsapple博士が来所した(7月24日)。4月28日-5月7日には、JICA中日友好プロジェクトの受け入れ機関・中国医薬品評価管理センターより、李波副所長がGLP研修の一環として来日。長井記念館にて開催されたトキシコジノミクス国際フォーラム関連では、WHO/IPCS課長Tim Meredith博士10月(8-12日)、トーマスジェファソン大学Thomas Knudsen教授(10月6-11日)、カリフォルニア大学アーバイン校助教教授Bruce Blumberg博士(10月5-16日)、ソウル国立大学Byung-Il Yoon博士(10月1-14日)がそれぞれ来所し、所内外の研究者と交流、フォー



ラムでの発表などを行った。また11月25日には、Su Zhi 博士、Li Guilian 博士、He Qinghua 博士、Ahang Yong 博士の一行がWHOのスタディ・ツアーにて医薬品安全性試験ネットワーク・GLPシステム管理に関する研修の一環として来所、明るる3月3日にはJICAsの研修の一環として、国家薬品監督管理局(SDA)安全監督管理司よりBian Ahen Jia 副司長、How Renping 調査員が、薬品生物製品検定所のWang Junzhi 博士とともに来所し、安全センター運営委員と情報交流した(世話人:本間変異遺伝部室長)。尚、トキシコ・インフォマティクスの研究者として招聘したテキサス大学M.D.アンダーセン癌センターのIlya Shmulevich 博士は、2月20-29日の日程で来日し、当センターにおける講演、討論など活発な研究交流を行った。

当センターからの海外出張については、今期も厚生労働省・文部科学省等の関連予算による、種々の国際機関での行政関連会議(ICH, OECD, JECFA, JMPR, IPCS等)あるいは各種学術関連集会等に対して、積極的な安全性センター構成するメンバーの参加がなされた。それらについては各部の報告に記載されるので省略する。なお、センター長は、OECDの内分泌かく乱関連のVMG会議(4/13-17, Paris), 化学物質安全評価会議(9/20-24, Valhalla, NY), WHO/IPCSのトキシコジノミクス検討会議(11/14-20, Berlin; 2/7-11, Geneva), 欧州代替法トキシコジノミクス会議(19/10-14, Ispra), WHO/IPCSリスク評価運営委員会(2/17-20, Beijing), へ派遣されたほか、ゴードン会議(6/21-28), 国際ギャップ結合会議(8/21-27), 韓国トキシコジノミクス国際フォーラム(10/12-13, Seoul), がんとジノミクスに関する日米会議(1/22-31, Maui), 米国毒性会議(3/21-28, Baltimore)などの学術関連集会にそれぞれ出張した。

## 毒 性 部

部 長 菅 野 純

### 概 要

安全性生物試験研究センター毒性部の所掌業務は、医薬品、医薬部外品、化粧品、医療用具又は衛生材料、毒物・劇物、農薬、殺虫剤、家庭用品、容器包装等の生活関連化学物質、食品や食品添加物などに関する安全性評価のための毒性分野の諸試験、及び実験動物の開発と飼育管理、並びにこれらに必要な研究、時宜に応じた安全性調査・リスクアセスメント、毒性発現機構の解明と安全性予知技術の開発のための基盤研究、並びに必要な毒性試験法開発研究等である。厚生労働省との連携のもと、5室体制でこれらの業務を遂行している。

人事面では、平成15年4月1日付にて、産学官トキシコゲノミクスプロジェクトのサブリーダーとして漆谷徹郎博

士(大阪支所生物薬品部第一室長と併任)を、また、研究員として、安彦行人博士、水川裕美子博士(任期付き)を迎えた。小野敦主任研究員は、10月1日付をもって厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室化学物質審査官併任を任ぜられた。また、平成15年3月31日をもって川崎靖動物管理室長が定年退官され、永年勤続表彰を受けた。また、門馬純子博士(平成9.6.30まで毒性部に在籍、平成15.9.30に医薬品医療機器審査センター審査第四部主任審査官退職)が表彰を受けた。李光勳博士がHS流動研究員として在籍した(平成14年4月1日~平成16年3月31日)。第四室との共同研究のため、石川亜紀博士が協力研究員として在籍した(10月1日~3月31日)。平成15年3月3日より平成15年8月14日まで中国医薬品安全性評価管理センターのXie Yin(謝寅) 学士がJICA派遣研究員として生殖発生毒性試験に関する研修を行った。短期研修では、同じく中国医薬品安全性評価管理センター副センター長の李波博士が4月28日から5月7日までGLP管理について研修を行った。また中国医薬品監督管理局(SDA)よりBian Zhen Jia, Hou Renping, Wang Junzhi 氏の訪問を受けた(3月3日)。独立行政法人農薬検査所からの本年度の研修には、中村正宏氏が来所した(9月16日~12月12日)。また新たに京都大学大学院地球環境学舎より鍛冶晴葉環境マネジメント専攻インターン研修生が研修を行った(4月1日~6月30日)。尚、非常勤、賃金職員等として井上玲子、渡辺忍の技術吏員があらたに業務に参加し、藤平千鶴子、宇佐美好子技術吏員、長野葉子事務吏員が退職した。薬師寺都(6月1日~9月30日)、壺井和子(9月26日~3月31日)の事務補助を得た。国外から、Thomas B. Knudsen 博士(Thomas Jefferson University 教授, 10月7日)、Tim Meredith 博士(WHO/IPCS, 10月8日)、Timothy Zacharewski 博士(ミシガン州立大学助教授, 10月8日)、Bruce Blumberg 博士(カリフォルニア大学Irvine校助教授, 10月15日)、Stephen Safe 博士(Texas A&M University 教授, 1月23日)、Richard Paules 博士(NIHS/NCT, 1月30日)、Ilya Shmulevich 博士(テキサス大学, 2月23日)を招へいし研究交流を行った。またOECDからRob Vissor 氏の来訪を受けた(10月20日)。

業務関連での海外出張では、菅野純部長は、韓国トキシコロジー学会学術年会(10月30~31日、韓国・ソウル)におけるトキシコゲノミクスに関する講演、アジアトキシコロジー学会第三回会議(2月1~6日)への出席と発表、分子細胞生物学に関するシンポジウム(2月28~3月4日、米国コロラド州キーストン)への聴講と出席(五十嵐、小野両主任研究員同行)、WHO/IPCS 関連ではトキシコゲノミクス研究に関する専門委員会(11月17~19日、ドイツ・ベルリン)及びそのFollow-up会議(2月9~10日、スイス・ジュネーブ)、及び癌に関するWorking Groupの専門委員会(米国・ワシントン, 3月4~5日)に出席し、本邦の現状について報告するとともに当該研究についての検討を重ねた。そ

の他、川崎靖動物管理室長は、医薬品安全性評価管理センター日中友好プロジェクトに参加（9月21～12月28日、中国・北京）し、指導に務めた。漆谷徹郎室長（大阪支所・兼任）は、米国実験生物学連合会議及び壁細胞研究会（4月10～17日、米国・サンディエゴ）への出席と講演、Affymetrix社訪問（3月19～20日、米国アリゾナ州スコッツデール）、第43回米国毒性学会学術年会（3月21～25日、米国・ボルティモア）に出席・発表した。平林容子第四室長は、第一回国際幹細胞研究会議学術年会（6月7～13日、米国・ワシントン）に出席・発表した。また、ダイオキシン2003：第23回塩素化環境汚染物質に関する国際シンポジウム（8月24～29日、米国・ボストン）（高木篤也主任研究官同出張・発表）、カリフォルニア大学Irvine校Bruce Blumberg博士との研究交流並びに米国血液学会（12月4～10日、米国・サンディエゴ）に出席・発表を行った。高木篤也主任研究官は、既述の出張の他、FAO/WHO合同残留農薬専門家会議（9月15～24日、スイス・ジュネーブ）のため出張した。

#### 試験業務

##### 1. 既存化学物質の毒性試験

個別的な試験の実施はなかったが、本年度は未検討の多数の既存化学物質を可及的速やかにより正確、安価に評価するための手法導入として、「化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究」（平成15年度厚労科研費補助金）を開始した。

##### 2. 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、遺伝子組換えトウモロコシについて、ラットによる慢性毒性・発がん性併用試験を継続中である。プロポリス、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。植物由来の健康食品について、ラットによる中期多臓器発がん性試験を開始した（食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室）。食品添加物については、既存添加物ジャマイカカシヤ抽出物の長期毒性試験及び国際的に汎用されている香料7品目についての安全性の検討を開始した（食品安全部基準審査課）。

##### 3. 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

6品目について、毒物劇物指定に必要な毒性データの確保、検討を行い、報告した（医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室）。

###### 2) 腐食性 *in vitro* 代替法試験法に関する基礎的検討

OECDテストガイドライン（Draft proposal for a new guideline 431）に準拠した *in vitro* 皮膚腐食性試験による腐食試験を上記1）の2品目を含む数品目の物質について実施した。

#### 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) 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確定試験として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、内分泌かく乱化学物質（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 Through Put Screening（HTPS）、げっ歯類子宮肥大試験、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。特に子宮肥大試験については、そのOECDテストガイドライン化に向けてのピアレビューの最終段階に入った。

内分泌かく乱作用は受容体原性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必ずしも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継続している。又、厚生労働省「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会」において、スクリーニング／テストングに関するスキーム作り際に際しての科学的進言を行ってきたが、本年度は詳細試験の概念的プロトコールとして「げっ歯類生涯試験」を含む「拡張試験スキーム」の承認を受け、追補その2の準備作業に入った。

###### 2) タール色素

「タール色素」に関する安全性の観点から、複数のタール色素について、その構造式から予想されたアリルヒドロカーボン受容体（AhR）に対する反応性を、試験管内実験にて検討し、実際、いくつかのタール色素がAhRと反応性を示すことを明らかにした。

###### 3) 既存化学物質の安全性評価

産業用途などに用いられている既存化学物質のうち、生産量が多く、これまでに十分な安全性評価が行われていない物質について、ラットにおける28日間試験及び簡易生殖試験の結果より毒性の有無と無影響量をもとに、安全性の評価のための調査を行った。

###### 4) 残留農薬の安全性評価

世界各国で使用されている農薬についての安全性評価のため2003年度はスイス・ジュネーブのWHO本部で開かれたFAO/WHO合同残留農薬専門家会議（JMPR）にて討議を行った。

#### 研究業務

##### 1. 毒性試験法の開発に関する実験的研究

###### 1) 化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究

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、新たに見いだされた関連遺伝子情報を元に基礎的研究を行っている。また並行して既知毒物の情報を基に、今後問題になりうる未知の新規毒物に充分対応で

きる全ゲノムを志向したマイクロアレイを用いた毒物検査解析システムの開発を検討してきた(環境公害予算)。

平成15年度は、多数の既存化学物質を可及的速やかにより正確、安価に評価するための基盤研究開発に向けての手法導入として、「化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究」(平成15年度厚労科研費補助金)を開始した。これは、網羅的遺伝子発現プロファイリングを基にした化学物質トキシコゲノミクスデータベースを構築することにより、インフォマティクス技術を活用した化学物質の安全性評価の為、より迅速、正確かつ安価な評価システムを構築することを目的とする。マイクロアレイを用いた形質非依存型トキシコゲノミクスのプロジェクトとして、従来にないデータ標準化法である Percellome 手法を用いて、平成15年3月までに約25化合物についての実験を実施した。またNTTコムウェアと共にデータベース構築に関わるシステムを立ち上げ、その第一段階を終了した。現在、アンスーパーバイズドクラスターリングなどの新解析手法を開発中である。また、経気道暴露や経胎盤暴露による影響を含む、より広い対象を解析するための手法の開発を行っている。

## 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15年度は前年度に引続き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、アポトーシス指標の他、マイクロアレイを用いてin vitroにおける複合毒性の分子メカニズム評価を進めている。特にパラコートによる遺伝子誘導パターンが典型的な酸化ストレス応答と異なるため、臓器特異性を含め追加検討を行っている。

## 3) 細胞内ストレス応答の毒性評価に関する研究

細胞内ストレス応答経路を解析するため、ワイルドタイプ、及びASK1ノックアウトマウスに毒性物質を投与し、各組織について遺伝子発現を網羅的に解析する。平成15年度はASK1ノックアウトマウスをSPF化したのち当所で繁殖を始めた。マウスが使用可能になるまでの間、正常マウスを用いたASK1関連遺伝子発現解析の対照実験、MPTP誘発性 Parkinson 病の条件検討を行った。

## 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に関する研究(文科省・国立機関等原子力試験研究, 特研・遺伝子発現班, HS 振興財団, 学振科研補助 基盤研究C)

造血細胞は、未分化な造血前駆細胞からさまざまな分化系列の細胞を含む。このため、従来の末梢血のモニターだけでは、前駆細胞に局限した潜在的な障害や、前駆細胞への障害性の波及度を予知することは困難である。ここではcDNAマイクロアレイを用いて、考えられる障害性の可能な限り広範な対象を念頭に置いた網羅的な遺伝子発現を把握することによって、一見すると毒性指標とは思われないような通常

の遺伝子発現を若干上回る(下回る)レベルの包括的な遺伝子発現影響を毒性発現スペクトラムとして把握し、これらを通じてメカニズムや標的の評価も視野に入れた、これまで見落とされがちであった多面的な毒性の評価を可能とする予知技術を確立するための解析を進めている。化学物質としては、明らかな遺伝毒性物質であるところのベンゼンの、野生型マウスにおけるエピジェネティックな発がん機構と、p53欠失マウスでの遺伝毒性発がん機構という、特異な白血病発症機構に着目し、また放射線障害としてはガンマ線の全身暴露後の、末梢血数では完全に回復するものの、幹細胞数では明らかにその遅延性障害が見いだされるポイントを中心に解析を進めている。

2) 個体レベルでの造血幹細胞動態解析法(BUUV法)の開発に関する研究(特研・遺伝子発現班, 文科省・国立機関等原子力試験研究, 学振科研補助 基盤研究C)

本BUUV法を用いた造血幹細胞動態解析により、以下3点を明らかにした。(1)これまで報告結果が錯綜していたベンゼン暴露時の造血幹細胞動態について、本法により初めて、ベンゼンの吸入暴露時の造血前駆細胞の細胞回転の停止と、暴露の中断による急速な細胞動態の亢進の実態を明らかにした。(2)アリアルハイドロカーボン受容体(AhR)欠失動物での定常状態の幹細胞動態の野生型との違いから背理的に、AhRシグナルの造血分化に果たす役割を明らかにした。(3)早老徴候を示すことが知られているklotho欠失マウスは、分化抗原陰性分画の細胞数や、未分化な造血幹細胞の数が多く、分化型の幹細胞の細胞回転分画が少ないことを明らかにした。

3) 遺伝子改変動物の発がん特性に関する研究(学振科研補助 基盤研究C)

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。

本年度の研究成果には、以下5項目が含まれる。(1)がん原性試験の低用量・閾値問題について:MNUを用いた白血病誘発実験で、野生型では閾値の存在を示唆する統計的尤度を与えたが、p53遺伝子のヘテロやホモの欠失動物を用いると、修復不全が顕在化した形で、ここでは閾値の存在の肯定は明らかに困難であった。(2)促進加齢モデルマウスとしてのklotho遺伝子変異マウスの発がん特性について、MNU単回投与により、ヘテロ欠失での個体レベルと、ホモ欠失を含む骨髄移植系を用いた検討、(3)種々のDNA障害の遺残と遺伝的不安定性を誘発することが知られるp53欠失マウスの発がん態様へのklotho遺伝子変異の与える加算効果の検討、および、(4)酸化ストレス緩和モデルマウ

スであり、個体レベルでの寿命延長を示す thioredoxin 遺伝子過剰発現マウスにおけるベンゼン誘発白血病発症の緩和現象と、その分子背景基盤としての遺伝子発現変異、並びに p53 欠失による修飾現象の観察、(5) エピジェネティック発がんの過程で機能的に発現が下降することの知られる細胞間結合単位を構成する connexin 分子の、肺並びに造血器における、急性障害性と発がんにおける 2 面的な役割の connexin32 欠失マウスを用いた検討。

### 3. 生殖・発生障害に関する基礎的研究

心臓中胚葉における *Mesp1* 発現細胞の細胞系譜解析を詳細に検討した。また体節形成に必須の転写因子 *Mesp2* の役割について、Notch シグナル系及び分子時計との関係の遺伝学的解析、正常胚と *Mesp2* 欠損胚によるキメラ解析、サブトラクション法による下流遺伝子の探索とその完全長 cDNA のクローニング、並びに当該遺伝子の機能解析のためのノックアウトマウスの作製に着手した。

### 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

アカゲザルによる胃内薬物自己投与試験法の技術改善と薬物精神依存サルの作製・維持を引続き行った。(監視指導・麻薬対策課)。

#### 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

(1) 内分泌かく乱化学物質による遺伝子発現変動パターンを網羅的に解析するため、卵巣摘出マウスに 17  $\beta$ -estradiol (E2), Bisphenol A, Genistein を単回投与し、投与後 2, 24 時間の遺伝子群発現を、GeneChip を用いて、網羅的に解析した。臓器として、子宮に加えて、肝臓、腎臓、海馬、視床下部を選び、同様に網羅的遺伝子発現変動検討を開始した。

(2) OECD/EDTA の推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：子宮肥大試験については、OECD におけるテストガイドライン化に供すべきマウスの反応性データのとりまとめを行った。

(3) 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、Luciferase 遺伝子をレポーターとして用いたエストロゲンレセプター beta サブタイプ蛋白を常時発現するためのプラスミドが導入されたヒト由来の細胞 (HeLa cell) を使用した、高速スクリーニング試験法の開発及びその検証を行った。

(4) 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かく乱化学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 DNA マイクロアレイ等を用いた解析を継続している。

(5) エストロゲン受容体の生体機能に関する知見、特に、エストロゲン受容体のスプライシングバリエーションの機能を個

体レベルで調べ、内分泌障害性化学物質の作用機序解明の一助とするため、エストロゲン受容体遺伝子改変マウスを作製し、受容体遺伝子の発現機序の改変による生体影響を調べている。

#### 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、及び葉酸投与によって p53 欠失マウスの外脳症発生が抑制されず、かえって増悪することを見いだした。これら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引続き検討している。特に神経管閉鎖直前の胎生 8.5 日の胎仔に注目し、遺伝子発現変動を網羅的に検索している。

#### 4) 表面プラズモン共鳴高速分析法

核内受容体の遺伝子転写メカニズムを応用した、内分泌かく乱化学物質の新規高速分析法構築のため、表面プラズモン共鳴バイオセンサーを用いて化学物質が受容体に与える影響の解析を行った。本年度は新たに最適化したエストロゲン受容体  $\beta$  (ER  $\beta$ ) 測定系を用いて、種々の化学物質が ER  $\alpha$ , ER  $\beta$  それぞれに及ぼす変化の測定を行い、化合物ごとの ER 分子選択性の検討を行った。また、ER による遺伝子制御メカニズムの詳細を明らかにするため、リガンド結合 ER への DNA の結合及びコファクターの結合による双方の相互作用へ及ぼすアロステリック効果について解析を進めた。

#### 5) 3D-QSAR

内分泌かく乱化学物質の計算探索と評価のため、これまでにエストロゲン受容体  $\alpha$  (ER  $\alpha$ ) リガンド結合体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 ER  $\alpha$  に結合する可能性があると予測された化合物群の中から任意に選び出された 100 化合物について、ER  $\alpha$  に対する結合活性値を予測し直すとともに、ER  $\alpha$  での検討から得られた知見を利用して新たにエストロゲン受容体  $\beta$  (ER  $\beta$ ) に対する結合活性値予測を行った。

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。この細胞及びそれらから得られる胚様体を利用して内分泌攪乱性化学物質の発生毒性への影響を評価する方法を形態及び遺伝子レベルで引続き検討している。

7) ダイオキシン類の健康影響、特にその TEF を中心としたリスク評価のための実験的基盤研究の分担研究として種々のダイオキシン類の口蓋裂誘導能と WHO-TEF との比較を行った。また、その作用機序を明らかにするため、胎児上顎部でダイオキシンにより影響を受ける遺伝子をマイクロアレイを用いて網羅的に検索した。

8) 内分泌かく乱化学物質のスクリーニング法として酵母を用いたステロイド受容体応答試験、肛門生殖突起間距離 (AGD)、陰茎包皮分離、膣開口、精子検査法、ラット新生児への経口投与方法、性的二型核の測定法について、検査法の普及に努めるためのビデオ撮影を実施した。

9) CLICファミリー蛋白質に属する parchorin は、水分移動組織特異的に発現し、塩素イオンチャンネルとして重要な役割を果たしていると思定されているがその生理的意義は明らかでない parchorin の病態生理の解明のため、ノックアウトマウス作製を目指した。平成15年度においてはターゲットベクター・組み換えES細胞の作製を経てキメラマウスを出生させた。以後、ノックアウトマウスを出生させ、そのフェノタイプを解析する予定である(文部科学省科研費)。

## 薬 理 部

部 長 大 野 泰 雄

### 概 要

平成15年度においては、有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究、医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究、生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究、医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究、医薬品等の細胞機能に及ぼす影響、およびメディカルフロンティア(MF)タンパク質科学による創薬研究に関する薬理学的研究を行った。これらの研究において特筆すべきことは、9月24日に小泉修一第一室長が「アストロサイトによるダイナミックなシナプス伝達制御 - 細胞外ATPの関与 -」に関する研究成果が認められ、日本神経化学会の最優秀奨励賞を受賞したこと、及び10月9日に小澤正吾第三室長が「日本人における疾病感受性遺伝子および薬物反応性遺伝子の多型」に関する研究成果が認められ、日本薬物動態学会の奨励賞を受賞したことである。

行政協力の面では、昨年に引き続き、新医薬品の承認審査、農薬のADI決定のための作業、新規及び既存化学物質の安全性評価、GLP評価などに協力した。なお、平成11年度より審査センターにおける新薬の承認審査について薬理学及び薬物動態学の面から大野部長、中澤室長、小澤室長及び紅林室長が中央薬事審議会臨時委員として専門協議に協力してきたが、平成16年度に医薬品の承認審査が独立行政法人医薬品医療機器総合機構に一本化されことから、今後の見直しが予想される。なお、平成15年9月より内閣府食品安全委員会の専門委員会が、また、平成15年10月より厚生労働省の薬事・食品衛生審議会の農薬・動物用医薬品部会が活動を始め、薬理部からも前者では動物用医薬品専門調査会、添加物専門委員会、及び農薬専門調査会に、後者では農薬・動物用医薬品部会および残留農薬安全性評価調査会での審議への協力を開始した。また、厚生労働省の担当部局と国立衛研との間でJECFAへの協力体制が協議され、薬理部では動物薬の会議に参画することとなった。

人事面では、HS流動研究員として平成14年4月より薬理部に所属し「難治性疼痛に関与するATP受容体の機能解

析と医療への応用」に関する研究を行ってきた多田 薫博士は引き続き研究に従事した。ミレニアムの流動研究員として平成14年11月に採用されていた久保 崇博士は平成15年度も引き続き薬理部で「薬剤反応性遺伝子多型の機能解析」を行った。

平成15年度においては、薬理部員の長期海外出張はなかった。国際会議のための出張としては、大野部長は日本とECVAMとの代替法研究に関する協力について討議するために、イタリアミラノ郊外のイプスラに出張した(8月4日～8日)。また、上海薬学会主催の薬物相互作用に関するシンポジウムでの講演及び中国のヒト組織利用研究機関からのヒト肝細胞の入手についての法的及び倫理的妥当性についての調査のため、中国に出張した(3月4日～6日)。更に、イタリアのローマで開催された第62回食品添加物に関するFAO/WHO合同会議(JECFA)に出席し、動物用医薬品のADI決定に参画した(2月4日-12日)。中澤室長はICHのS7B「QT延長を伴う心毒性の安全性薬理評価」のための審議のためベルギー(ブリュッセル)に出張した(7月13日～20日)。国際学会のための海外出張としては、小泉室長は英国ケンブリッジで開催された国際Ca<sup>2+</sup>シグナルシンポジウムに参加し、「海馬のシナプス伝達はグリア細胞により、ATPを介して即時的な制御を受けている」の演題で発表・議論を行った(9月4～6日)。また、イタリアのカメリーノで開催された医化学・薬理学プリナージックシンポジウムに参加し、「海馬培養細胞におけるATP依存的シナプス伝達抑制」の演題で発表・議論を行った(9月11～13日)。更に、米国ニューオーリンズで開催された北米神経科学会で「アストロサイト由来ATPによる恒常的なシグナル伝達制御」の演題で発表・議論を行った(11月8～12日)。佐藤研究員も同学会に出張し「エストロゲンはアルファタイプ膜エストロゲン受容体を介してアストロサイトのグルタミン酸取り込みを阻害する」の演題で、発表・議論を行った。

### 研究業績

1. 有効性安全性評価のための科学技術開発に関する研究  
(1) 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

ラット胚タンパクの二次元電気泳動による分析に必要なサンプルの前処理法及び泳動条件を確立した(厚特研)。

(2) インフォームドコンセントに基づいた外科手術切除ヒト組織のネットワーク体制の確立とヒト肝細胞を用いた試験系のバリデーション研究

手術により摘出されたヒト肝臓片から肝細胞を調製し、共同研究施設への肝細胞の配布方法について、肝細胞の薬物代謝酵素活性を指標に検討した。また、日本人肝組織中P450レベルについて検討し、日本人肝組織のCYP3A4レベルは欧米人に比べ低く、CYP3A5レベルは相対的に高いことを示した。また、ヒト初代培養肝細胞を用いて、CYP3A活性誘導系について詳細な検討を行い、確立した本試験系を用い

ることで多施設におけるCYP3A誘導能評価のバリデーションを行い、低濃度の誘導剤でも検出できることを明らかにした(委HS)。

(3) 動物を用いたヒト型薬物代謝酵素誘導能検索法と薬物動態における変動巾を規定する因子に関する研究

フッ化ピリミジン系抗癌剤の有効性に関する遺伝子の多型を解析し、5-FUの作用点、チミジル酸合成酵素をコードするTYMS遺伝子の5'-非翻訳領域の繰り返し配列に多型があること、3回繰り返し配列にはg>cの一塩基多型があること、また、3回繰り返し配列をホモで有する細胞株はFUdRに対する感受性が低い事を示した(委HS)。

(4) 化学物質の総合的安全性評価手法に関する研究

食品成分と医薬品等との相互作用について調査した。また、特定保健用食品成分を整理し、薬物との相互作用の可能性について考察した(厚移替)。

(5) 動物実験代替法の開発と利用に関する調査研究

酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験バッテリーについて文献的に評価し、水溶性の低い薬物に適応可能と思われること、false negativeが無いことを確認した。また、多施設による小規模バリデーションを実施し、先の評価結果を確認するとともに、評価における施設内および施設間のばらつきが少ない方法であることを明らかにした(厚科研)。

(6) 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

安全性薬理試験の一環としてのQT延長評価試験の実施および臨床試験との関わりについて検討した(厚科研)。

## 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

(1) 難治性疼痛に関与するATP受容体の機能解析と医療への応用研究

病態難治性疼痛モデルのアロディニアの病態に深く関与する脊髄後角ミクログリアでのp38リン酸化と疼痛発現との関連性を明らかにした(委HS)。

(2) 発達期中枢神経系におけるエストロゲンの作用

エストロゲンによるアストロサイトのグルタミン酸取り込み阻害作用の細胞内シグナル伝達経路を明らかにした(試一般)。

(3) 難治性疼痛発現におけるATP受容体を介するグリア-ニューロン相互作用の役割

難治性疼痛時の脊髄内ミクログリア細胞の動態を明らかにし、発現するATP受容体のサブクラスと痛みとの関連性を明らかにした(文科研)。

(4) グリア由来ATPによる即時的シナプス伝達制御に関する研究

グリア細胞(アストロサイト)間の情報伝達とATPとの関係を海馬初代培養細胞を用いて明らかにした(文科研)。

(5) 細胞外ATPを介したアストログリア-ニューロン相互調節機構の解明

アストロサイトから機械刺激に依存して放出されるATPが

シナプス伝達を制御していることを明らかにした(文科研)。

3. 生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究

(1) 受容体タンパク質における分子相互作用に関する研究  
ペプチドが一定の構造をとる条件を検索し、さらにATP受容体のモデルペプチドのプロトンシグナルをすべて同定した(試一般)。

(2) 原子間力顕微鏡等を利用した受容体タンパク質の研究  
ヒスチジンタグ付き受容体タンパク質を発現・精製を行なうとともに、大気中で原子間力顕微鏡観察を行なった(厚科研)。

4. 医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究

(1) 食品中化学物質の相互作用等に関する調査研究

PrometrynおよびAmetrynのヒトCYP発現系ミクロソームを用いた代謝実験においてCYP1A2, 3A4, 2C19等の代謝寄与率を算出した(厚科研)。

(2) 環境汚染化学物質の相乗毒性に関する薬物動態学的研究

ラットにおける、MBIおよび4-MMBI, 5-MMBIの代謝を肝ミクロソームを用いて検討し、代謝にはflavin-containing monooxygenase (FMO) および Cytochrome P450(CYP)分子種が関与していることを示した。また、ヒト非凍結肝細胞を用いて、4-MMBIおよび5-MMBIによる代謝酵素活性の誘導について検討した。5-MMBIはヒト非凍結肝細胞においてCYP3A4酵素誘導が観察され動物種により相違があることを明らかにした(試一般)。

(3) セミカルバジドの体内動態に関する研究

セミカルバジドの<sup>14</sup>C標識体を合成し、0.1-10mg/kgを経口投与時の血中動態について検討し、投与30分-1時間後にCmaxになること、また、血中濃度が用量に応じてほぼ直線的に増加することを示した。また、体内分布と生体成分との共有結合性について検討した(厚移替)。

(4) アクリルアミドの代謝と毒性抑制

アクリルアミドの代謝をラット肝細胞を用いて検討し、細胞中のグルタチオンの減少させることを示した。また、グリシダミドへの代謝にCYP2E1が関与していることを示した(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

(1) 化学物質に暴露したラット初期着床胚のプロテオーム解析による胚発育機能分子の探索

ラット初期着床胚のプロテオーム解析により、化学物質に暴露した胚において発現および機能に変化の認められるタンパクの検索法を確立した(文科研)。

6. 薬物反応性の遺伝多型に関する薬理学的研究

(1) 薬剤反応性遺伝子多型の解析に関する研究

抗癌剤及び循環器病薬等に関して薬剤反応性と関連付けられる多型の探索を継続した。また、薬剤反応性遺伝子多型の判定法の確立に着手した(財公研)。

(2) 多型性薬物代謝酵素の多型解析に関する研究

フッ化ピリミジン系抗癌薬の薬剤反応性関連遺伝子の多

型の遺伝子発現への影響を調べ、多型と薬効、副作用との関連を解析した(財公研)。

#### 7. MF タンパク質科学による創薬研究

遺伝子発現の制御による脳卒中発症後の神経機能障害防御研究

脳卒中中で傷害を受けやすい脳部位『海馬』で神経細胞及び神経細胞の応答を制御するアストロサイトに注目し、海馬でのATP受容体発現を制御する核内受容体を明らかとした(財公研)。

## 病 理 部

### 部 長 広 瀬 雅 雄

前年度に引き続き、化学物質の毒性・発がん性に関する病理学的研究、安全性評価のための新手法・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、小野寺博志主任研究官(医薬品医療機器審査センター審査第一部併任)が平成16年3月31日付けで退官した。一方、平成16年4月1日付けで井上薫研究員が着任した。また、トキシコゲノミクス・プロジェクトの公定書協会・流動研究員の瀧上周博士が平成16年3月31日付けで退所した。さらに、賃金職員として郷原麻美が平成16年4月1日付けで採用された。

短期海外出張として、広瀬雅雄部長は、韓国・ソウルで開催された「第一回食品中のアクリルアミドに関する国際シンポジウム」に出席し、講演を行った(平成15年8月19日～22日)。西川秋佳第一室長が、イタリア・ローマで開催された「第61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15年6月10日～6月19日)。また、西川秋佳第一室長が、タイ・バンコクで開催された第3回アジアトキシコロジー会議(平成16年2月1日～2月3日)および米国・オーランドで開催された第95回米国癌学会(平成16年3月27日～3月30日)に出席し、発表および討議を行った。さらに、渋谷淳第二室長及び今井俊夫第三室長が米国・バルチモアで開催された第43回米国トキシコロジー学会(平成15年3月22日～3月24日)に出席し、発表および討議を行った。

#### 研究業績

1. 食品中生成物質による臓器障害の抑制に関する研究(厚生科学研究費補助金)

1) アクリルアミドの経口投与によってラットに誘発される精巣ないし神経障害に対して、抗酸化物質である $\alpha$ -トコフェロール、ジアリルスルフィド、 $\alpha$ -リポイン酸の併用投与が抑制効果を示すかどうかの検討を行った結果、いずれも

病理組織学的に精巣障害を抑制することが明らかとなった。神経障害に関しては、 $\alpha$ -リポイン酸が部分的に神経症状を改善し、病理組織学的にも明らかな抑制効果を認めた。

2) アクリルアミドによる乳腺ないし甲状腺を標的としたラット発がん短期検出系の作出を目的として、MNUないしDMBA、DHPNをイニシエーターとした二段階発がん実験を行った結果、MNUとの組み合わせにより乳腺発がん短期検出系を確立した。

2. 食品添加物の毒性並びに発がん性の研究(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、アカネ色素が尿細管上皮の腺腫、腺癌を誘発することを明らかにし、塩化マグネシウム・トウガラシ色素・N-アセチルグルコサミンの慢性毒性試験、がん原性試験ならびに西洋わさび抽出物の13週間予備試験については実験を終了し最終評価中である。また、レバミゾールのがん原性試験は継続中で、トコトリエノールの慢性毒性試験、がん原性試験を開始した。

2) ラット・90日間反復投与毒性試験ではモリン・カテキン・ヒメマツタケの試験が終了し、最終評価した。

3) ヒノキチオールの心臓毒性を解析するため、ラットを用いて最高28週間の投与実験を行ったが、明らかな心毒性はみられなかった。

3. 食品中化学物質の相互作用等に関する調査研究(厚生科学研究費補助金)

1) 亜硝酸とアスコルビン酸を併用投与したラット前胃における、各種ラジカルの生成部位を免疫組織化学的に検討した結果、明らかなラジカル生成は認められなかった。

2) DENとDMHのラット肝・大腸発がんモデルを用いて、IQの発がん作用に対する肝・腎障害の影響を検討する実験を開始した。

3) IQと亜硝酸の複合作用による肝・大腸発がん増強機序に、酸化ストレス及び細胞増殖の関与している可能性が示された。

4) ファモチジン持続投与あるいは胃底腺切除ラットを用いて、Bt蛋白質の反復投与時における生体に及ぼす影響を検索した結果、Bt蛋白質の投与に伴う変化は認められなかった。

5) 大腸発がんプロモーターの併用により、食品中汚染物質MeIQxがマウス大腸腫瘍を誘発しうることを明らかにした

6) 食品汚染物質IQはラットに肺発がん促進作用を示すことを明らかにした。

4. 内分泌かく乱物質の人体影響に関する調査研究(厚生労働省がん助成金、厚生科学研究費補助金)

1) ラット乳腺腫瘍モデルに対する卵巣摘出、5FU、タモキシフェン、ニメスリドあるいはメカブ抽出物の1～3日間投与により増殖抑制が認められたが、アポトーシスの関与は認められなかった。

2) 低ヨード食を授乳期・幼若期に摂取させたラットにDHPNとDMBAで発がん処置した際の甲状腺及び乳腺に対

する発がん修飾作用を検討する実験を開始した。

3) ラットに対する28日間のメトキシクロール、ノニルフェノール、ジェニスタイン反復投与例の肝臓における網羅的遺伝子発現解析を行った結果、前年度エチニルエストラジオール投与例の検索により得られたエストロゲン作用の高感度指標候補遺伝子は同様に変動せず、それ以外の遺伝子でも物質間で共通に変動するものは得られなかった。

5. 化学物質による内分泌中枢かく乱作用の評価に関する研究（厚生科学研究費補助金）

1) フタル酸ジブチ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、新生期、離乳期、性成熟前後の時期で内分泌影響を検討した結果、今まで報告のない雌での下垂体機能を含む性分化影響を示すことが明らかとなり、雄では精巣そのものに対する影響は殆ど可逆性であったものの、今まで報告のない性成熟後での乳腺影響が最低用量より認められた。

2) フタル酸ジイソノニルのラットを用いた周産期曝露実験を行い、雄性児の乳頭・乳輪の出現（生後14日目）、離乳時での精巣の病理検索における精子細胞の分化の減少が最低用量以上で用量依存性に認められ、雄の性分化障害を示唆する変化と考えられた。

3) エストロゲン作用ないし抗アンドロゲン作用による脳の性分化障害を規定する遺伝子をマイクロアレイにより探索する目的で、エチニルエストラジオール(EE)の周産期曝露例とエストラジオールベンゾエート(EB)、フルタミド(FA)の新生ラットでの単回大量投与例の視床下部内側視索前野での部位特異的なマイクロアレイ解析を行った結果、EEによる脳の性分化障害にG蛋白質のシグナリングが介在している可能性が示唆され、EB、FAによる脳の性分化障害の初期にグルタミン酸受容体の関与している可能性が示唆された。

4) フタル酸エステル類による脳の性分化障害を規定する遺伝子をマイクロアレイにより探索する目的で、フタル酸ジエチルヘキシルの周産期曝露例の視床下部内側視索前野での部位特異的なマイクロアレイ解析を行った結果、雌で発現低下するものが最も多く、雌におけるこの神経核での性分化影響が示唆された。また、雄でDEHPにより発現低下したもののうち、エチニルエストラジオールと同様のG蛋白質シグナリングの構成要素が見出された。

6. 発癌メカニズム解明のための新手法に関する研究

1) 肝薬物代謝第Ⅱ相酵素群の転写因子であるNrf2を欠損したマウスにペンタクロロフェノールを投与した結果、肝DNA中の8-oxodGレベルが顕著に上昇し、ペンタクロロフェノールによる酸化ストレスに対する防御機構にNrf2の関与する可能性が示された。

2) Nrf2欠損マウスにIQを混餌投与した結果、野生型に比較し肝腫瘍の発生が増加した。

7. 動物による発がん性評価のための新手法確立とその意義

に関する研究（文部科学省科学研究費）

マウスを用いたDNAメチル化を指標としたin vivo短期発がん性指標遺伝子の網羅的検索のためのメチル化配列特異的なマイクロアレイの開発を目的として、各種発がん物質を28日間混餌投与する動物実験を終了し、メチル化DNA断片のクローニングを継続した。

8. 発がんプログレッション過程を規定する細胞内因子の発現解析研究（厚生労働省がん助成金）

ラット甲状腺発がんモデルにおいて腫瘍細胞の増殖ならびに浸潤に対するCOX-1/COX-2発現との関連性を検討した結果、腫瘍細胞ではCOX-2の発現が低下することを明らかにした。また、発がんプログレッションと炎症との関連性を明らかにする目的で、F344 (mu/mu)ラットを用いた実験を行った結果、T細胞免疫の関与する炎症との関連性が示唆された。

9. 酸化的ストレスの発癌過程に及ぼす影響に関する研究  
臭素酸カリウムを雌雄のラットに4週間飲水投与した結果、雌ラットにおいては、腎DNA中の8-oxodGの増加と腎尿細管上皮細胞の増殖活性亢進との間に用量相関が認められ、細胞増殖の誘導に酸化ストレスの関与が示唆された。

10. 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）

1) 独自に開発したハムスター中期膀胱発がんモデルは、修飾物質をイニシエーション期またはポストイニシエーション期に分けて投与することにより、それらの作用機序の解明にも有用である可能性を示した。

2) ラット大腸発がん中期モデルを確立する目的で、DMH-DSSモデルを用いて、ニメスリド、デオキシコロール酸等既知の大腸発がん修飾物質の作用を検索する実験を行い、10-20週間で腫瘍性病変を最終指標とした検索が可能であることを示した。

11. 遺伝子改変動物を用いた突然変異と発がんに関する研究（文部科学省科学研究費）

1) gpt deltaラットを用いて、臭素酸カリウムの発がん性を検討する実験を継続した。

2) C57BL/c系gpt deltaマウスにペンタクロロフェノールを13週間混餌投与した結果、肝において変異原性は認められなかった。

3) 発がん分子機構の解明を目的として、Nrf2欠損gpt deltaマウスの作成を開始した。

12. 導入遺伝子を生体内探索子とする内的発がん分子機構の解明（文部科学省科学研究費）

レポーター遺伝子導入ラットを用いて、種々の肝発がん物質の変異原性と発がん性を比較した結果、MeIQx、NPYR及びDEHPに特徴的な発がんの分子機構の存在する可能性が示された。

13. 喫煙による発がんの修飾に関する実験的研究（喫煙財団委託研究費）



1) MeIQx をラットに単回投与し、肝薬物代謝系酵素に及ぼす影響を検討した結果、CYP1A2が増加し、複数のヘテロサイクリックアミンの変異原性を上昇させた。

2) タバコ煙を曝露したハムスター肝S9により、タバコ特異的なニトロサミンNNKが活性化された。

3) 肺発がん物質短期検出系 rasH2/BHT モデルを用いてメチルコラントレンの肺発がん性を9週間で検出した。

14. 食品による膀胱発がんに関する研究(厚生科学研究費補助金)

1) 高用量の遺伝毒性膀胱発癌物質を与えた後、低用量の同発癌物質およびBITCを同時投与すると、膀胱発癌が強く促進されることを明らかにした。

2) 3種の遺伝毒性膀胱発がん物質とBITCを短期間同時投与した時の、膀胱上皮の細胞増殖活性を検討した結果、いずれも活性が亢進した。

15. 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。

16. 血管新生抑制物質の *in vitro* 安全性評価予測システムの構築に関する研究(厚生科学研究費補助金)

血管新生抑制物質の *in vitro* 安全性評価予測システムを構築する目的で、腫瘍細胞と初代培養血管内皮細胞(正常ヒト臍帯静脈由来のHUVECs)の共培養系を確立したが、指標とすべき腫瘍細胞でのVEGF産生を確認できなかった。

## 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。さらに、平成15年度から厚生労働科学研究費の補助を受け、遺伝毒性の評価、解釈に関する研究、および構造活性相関に関する研究に着手した。国際協力事業として、国際協力事業団に協力し、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を継続中である。

食品添加物である食用赤色2号、コウジ酸等の生体内遺伝毒性が問題となったのをきっかけに、日本環境変異原学会の中に化学物質の遺伝毒性を考える戦略に関する臨時委員会を組織すると共に、厚生労働科学研究費補助金「既存添加物における遺伝毒性評価のための戦略構築に関する研究」を立ち上げて検討を開始した。我々の考え方、研究方向を検証

してもらうため、海外から遺伝毒性分野の専門家を9名招聘し、コンサルテーション会議を開催すると共に、遺伝毒性の閾値問題を中心とした国際シンポジウムを平成16年2月に開催した。

一般工業化学物質に関しては、化審法が改正され安全性の評価体制が変わりつつあるが、既存物質に関する評価は約2万種類もあることから、効率の良い方法が模索されている。平成15年度より厚生労働科学研究費補助金による「化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究」を開始した。既存の予測システムの評価と共に、我々独自の新しいシステムの開発も行っており、細菌を用いる復帰突然変異試験データに関するデータベースを用いてルール作りと検証を行っている。

放射線によるDNA損傷のモデルとして、制限酵素によるDNA切断を利用した系の確立に成功した。制限酵素I-SceI配列(18bp)をヒト細胞の特定のゲノム部位に挿入し、その制限酵素を細胞内で発現させることにより、その部位に確実にDNAの2本鎖切断を導入することができる。これまでの遺伝子突然変異の研究は、外来性の環境変異原物質を細胞に暴露し、ゲノム中に偶然に生じたDNAの変異を観察することにより、変異原物質のDNA損傷の程度や、その性質を予想するという、いわゆるレトロスペクティブな研究が主であったが、この系はゲノム中に生じた2本鎖切断型DNA損傷の運命を完全にトレースすることが可能となり、細胞死やDNA修復の研究に大きく貢献できることが期待できる。

ヒト型 *in vitro* 遺伝毒性試験系の確立を目指し、ヒト細胞、ヒト代謝系を基礎としたマルチエンドポイントからなる *in vitro* 遺伝毒性法の評価に関する共同研究を、日本環境変異原学会・ほ乳類動物試験分科会の協力の基に、進行中である。これまでの遺伝毒性試験は、バクテリア、齧歯類細胞、動物を用いて、主として遺伝毒性の有無を判定するものであったが、本研究ではヒト型試験系における反応性の特異性から、ヒトに対する遺伝毒性のリスク評価を目指すものである。

第3期クロスオーバー研究の最終年度として、原子間力顕微鏡を用いウラシルを含むDNA鎖に好熱古細菌のBファミリ DNA ポリメラーゼが結合する様子を可視化した。この成果は放射線影響学会第46回大会および第26回日本分子生物学会年会で発表した。また、DNA損傷部位を乗り越えて複製を続けるYファミリ DNA ポリメラーゼの酸化損傷dNTPを取り込む特異性が、染色体複製を行うDNAポリメラーゼとは顕著に異なることを明らかにした(HS財団受託研究費「国際研究 Grant 事業」)。この成果に関し、能美室長は米国ニューメキシコ州にて開催されたキーストン・シンポジウム(バクテリア・クロモソーム)で招へい講演を行った。Yファミリ DNA ポリメラーゼのうち大腸菌DinB(DNA pol IV)を発現するサルモネラ菌株については、多環芳香族炭化水素の変異原性に対して高い感受性を示すことを明らかにした。この菌株はハイ・スループット試験の

テスター株として有用である（HS 財団受託研究事業）。また、開発した *gpt delta* トランスジェニックラットの評価を進め、ラットの腎に発がん性を示す臭素酸カリウムの変異原性を検出し変異スペクトルを決定した（厚生労働省がん研究助成金）。環境化学物質の遺伝毒性に関する基盤研究の進め方について論議するため、日本環境変異原学会に「将来構想委員会」を設置し討論を開始した。

細胞バンク事業においては、HeLa細胞のクロスコンタミネーションに関する調査終了後、他の細胞相互でのクロスコンタミネーションの発生についての調査を継続して実施してきた。調査は新規に収集した細胞と細胞バンク内で培養した細胞の全てについて網羅的な調査を実施している。昨年度までの調査によって明らかになったところではおよそ500種類のヒト細胞についての調査を完了した段階で24種の細胞についてクロスコンタミネーションがあることを明らかにした。また、そのうち1種類については、細胞バンク内部での細胞の取り違いによるものであることが強く示唆された。細胞のクロスコンタミネーションの問題は国際的にも大変深刻で2004年度に開催される国際インビトロバイオロジー学会（旧組織培養学会、サンフランシスコ）で重要課題として取り上げる予定である。

さらに、昨年度は新しいタイプの細胞汚染が1件発見された。細菌による培養細胞の汚染については、細菌の増殖能力が高いのが普通で、比較的早く発見されると信じられてきていた。しかし、増殖が極めて遅い細菌の汚染があるらしいことが示唆され、この場合発見が大変困難であることが次第に明らかになりつつある。こうしたものは、これまで多くの研究室で見逃されてきていた汚染で、事実を早急に明らかにしなければならない課題として浮上りつつある。

ヒト培養細胞を利用する上での研究倫理の課題については引き続き検討課題として、英国と米国を中心に情報収集にあたっている。こうした情報を参考にしながら、研究利用を目的に血液の利用を市民に依頼する場合の説明用ビデオの作成を試みた。ヒトゲノム研究の成果は、医療というマーケットを開拓することともなるので、ヒトを研究するための環境を整えなければならない。科学的側面ではヒトという生物種に対応することと、市民に協力を依頼するという側面で倫理といわれるものに係わらざるをえない時代となりつつある。当部では国立医薬品食品衛生研究所研究倫理審査委員会設立の準備段階から深く係わり、現在も当該委員会の事務局として委員会の準備、議事要旨の作成等において中心的な役割を果たしている。

行政支援業務として薬事・食品衛生審議会臨時委員、食品安全委員会専門調査会委員として、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。化審法の改正作業に伴い、新規化学物質、既存化学物質の遺伝毒性関連事項ならびに定量的構造活性相関（QSAR）に関する事項の検討に協力した。

人事面では、平成15年11月1日付けで田邊秀之主任研究官が総合研究大学院大学大学院に転出となった。平成15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、化学物質の遺伝毒性に関する構造活性相関を検討するためのデータ入力等を担当していただいた。

短期海外出張としては、林部長は3月30日から4月4日までイタリアミラノに出張し、OECD主催の第1回（定量的）構造活性相関に関する臨時専門家会議に出席した。林部長は5月9日から5月16日まで米国に出張し、第34回環境変異原学会年大会に参加し、評議員会をはじめ各種委員会に出席した。能美室長は5月9日から21日まで米国へ出張し、第34回環境変異原学会において発表を行い、コロンビア大学放射線腫瘍学部を訪問し「*gpt delta* トランスジェニックラットおよびマウスに関する」セミナーを行った。増井主任研究官は、5月31日から6月5日まで米国のシアトルとポートランドに出張し、米国組織培養学会のプログラム委員会と培養細胞標準化委員会に出席し、主として再生医療分野における情報交換ならびに議論を行った。本間室長は日米がん研究協力事業による米国派遣研究者として6月7日より8月6日まで、カリフォルニア大学・リバーサイド校、セントジュード小児病院研究所、米国食品安全局・国立毒性学研究センターに出張し、ほ乳類細胞におけるDNA2本鎖切断修復機構の研究、および遺伝毒性試験法の標準化についての共同研究を実施した。グルーズ主任研究官は7月14日から8月7日までチェコ共和国プラハに出張し、プラハ国立植物試験研究所にて植物におけるDNA損傷耐性に関する研究打合せを行った。本間室長と山田主任研究官は8月23日から9月2日まで英国アバディーンに出張し、第33回ヨーロッパ環境変異原学会に参加した。それぞれ「ヒト細胞におけるDNA2本鎖切断修復機構」および「光照射に依存したベンツピレンのDNA付加体からの活性酸素の発生」に関する示説発表を行った。また、同時に開催されたマウスリンフォーマ試験法の国際標準化に関する会議にも出席した。林部長と田辺主任研究官は9月9日から9月14日にドイツエッセンに出張し、第6回染色体異常に関する国際シンポジウムにおいて「小核試験の長所と限界：造血組織以外を用いる小核試験のバリデーション」について講演を行った。能美室長は10月2日から10月12日までイタリアのローマ、ピサ、ナポリに出張し、HS財団国際研究グラント事業の一環として、ローマのイタリア国立衛生研究所、ナポリのCNR研究所を訪問し、突然変異タンパク質の構造解析に関する研究打合せを行った。また、第8回国際抗変異発がん抑制機構研究会に出席して「ヒト8-ヒドロキシグアニンDNAグリコシラーゼの遺伝的多型と変異抑制に関する」発表を行った。林部長は9月28日から10月3日に英国リーズに出張し、「化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究」を行うと共に、平成16年2月に開催される国際シンポジウムに関する打合せを行った。林部長は10月29日から11月1日

まで韓国ソウル市に出張し、日本環境変異原学会と韓国環境変異原学会共催のシンポジウムに参加し、「*In vivo* 小核試験-歴史的考察と現状」について招待講演を行った。また、両学会の協力関係について話し合った。本間室長は11月16日から11月23日まで中国成都に出張し、第4回中国環境変異原学会に参加し、「ヒト細胞でのDNA2本鎖切断の運命」に関する講演を行った。林部長は平成16年1月20日から1月24日に英国リーズに出張し、再度「化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究」を行うと共に、平成16年2月に開催される国際シンポジウムに関する最終打合せを行った。林部長は1月31日から2月8日にタイ国バンコクおよびチェンマイに出張し、第3回アジアトキシコロジー学会に参加し、「*In vivo* 小核試験の新しい展開」および「遺伝毒性試験結果の評価と解釈に関する戦略」に関する講演を行うと共に、アジア環境変異原学会連名の役員会を主催した。能美室長は2月2日から2月14日まで、原子力試験研究クロスオーバー研究の一環として、カナダ衛生研究所(Health Canada)、米国ネブラスカ大学でセミナーを行い、キーストン・シンポジウムにおいて「YファミリーDNAポリメラーゼによる酸化損傷dNTPの取り込み」に関する講演を行った。林部長は2月26日から3月3日に中国北京に出張し、「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」に関し、「GLP試験におけるコンピュータシステムとコンピュータバリデーション」に関する講演と指導を行うと共に、げっ歯類を用いる小核試験をはじめとする遺伝毒性試験に関して実技を含めた指導を行った。山田主任研究官は2月13日から2月20日までイタリア共和国及びドイツ連邦共和国に出張した。イタリアでは国立蛋白酵素学研究所を訪れHS国際研究グラント事業における共同研究者(ピサーニ博士)と研究打ち合わせをするとともに、セミナーを行った。ドイツではダルムシュタット工科大学のシュレパー博士を訪れ、共同研究の可能性について議論するとともに、セミナーを行った。増井主任研究官は3月13日から3月21日まで英国ロンドン他に出張し、英国のヒト由来の研究資源を医学・生物学研究に利用するための社会基盤について、主としてヒト遺伝学知識研究普及施設を調査研究した。本間室長は3月21日から3月28日まで米国バルチモア、およびシカゴに出張し、第43回米国毒科学学会に参加し、遺伝毒性によるリスク評価方法に関する情報交換を行った。また、アクリルアミドの遺伝子傷害性に関する共同研究の打ち合わせを行った。

#### 研究業績

##### 1. 食品添加物の変異原性に関する研究

既存添加物の内、変異原性試験で標準的組み合わせのそろっていないものに関し、実際に試験をすると共に、変異原性試験の総括を行った。平成15年度はヒキオコシ抽出物、サンダラック樹脂、複数ロットの木酢液、ヒメマツタケ抽出物、メバロン酸、ログウッド色素、グレープフルーツ種子抽

出物、および没食子酸に関して検討した(厚生労働科学研究費)。

##### 2. 抗菌加工製品における安全性評価及び製品情報の伝達に関する研究

抗菌剤の遺伝毒性に関し、これまでにやってきた試験結果のまとめを行った。被験物質の性質上、細菌を用いる復帰突然変異試験では評価困難なものもあり、マウスリンフォーマTK試験による評価可能性について検討した(厚生労働科学研究費)。

##### 3. 既存添加物における遺伝毒性評価のための戦略構築に関する研究

日本環境変異原学会の協力を得て食品関連物質の遺伝毒性をどのように評価するか戦略について検討した。コウジ酸をモデル化合物に選び、不足していると考えられる実験の追加をすると共に、毎月定例の班会議を持つと共に、海外の専門家を招聘してコンサルテーションを受けると共に、国際シンポジウムを開催した(厚生労働科学研究費)。

##### 4. ハイ・スループット遺伝毒性試験系の開発

ヒトCYP1A1と大腸菌DNAポリメラーゼkappaを発現するサルモネラ株が、ベンツピレンをはじめとする多環芳香族炭化水素に高い感受性を示すことを明らかにした(HS財団受託研究費)。

##### 5. 個体レベルで見る遺伝子再編成と発がんに関する研究

p53<sup>+/+</sup>およびp53<sup>-/-</sup>/gpt deltaトランスジェニックマウスにアルキル化剤(DHPN)を投与した(厚生労働省がん研究助成金)。

##### 6. ヒトがん発生に係わる環境要因及び感受性要因に関する研究

ニトロソ化合物によりYG7108株に誘発される変異スペクトルを解析した(厚生労働省がん研究助成金)。

##### 7. *in vivo*での突然変異と発がんの関連に関する研究

臭素酸カリウムによってgpt deltaラットに誘発される欠失型突然変異のスペクトルを解析した(厚生労働省がん研究助成金)。

##### 8. ヒト肝細胞を用いた新しい遺伝毒性試験系の開発

ヒト肝由来培養細胞株FLC-4, HepG2を用いた*in vitro*小核試験法を確立した。また、薬剤選択マーカーを組み込んだ細胞を樹立し、遺伝子突然変異検出系を確立した(HS財団受託研究費)。

##### 9. 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の結果を総括した。

##### 10. 遺伝子欠損マウスを用いた大気からの変異原物質暴露の鋭敏な検出と影響評価

Nrf2欠損gpt deltaマウスにディーゼル排ガスを暴露した

(文部科学省科学研究費補助金)。

11. ヒトリンパ球細胞を基礎とした遺伝毒性試験系の構築  
ヒトリンパ球細胞WTK-1を基礎とした遺伝子突然変異試験の系にヒトS9を導入し、ヒト型薬物代謝能を有する系を構築した。これを用いてニトロサミン、ヘテロサイクリックアミン等のヒトに対する遺伝毒性を評価した。
12. *In vitro* 小核試験の確立と結果の評価に関する研究  
ヒトリンパ芽球細胞株WTK-1を用いて、染色体異数誘発物質であるトリクロロフォンと、カルベンダジムの小核誘発性を検討した。異数性の確認にFISH法の導入を試みた。(厚生労働科学研究費)。
13. 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  
好熱古細菌のBファミリーDNAポリメラーゼがDNA中のウラシルに結合する様子を原子間力顕微鏡により可視化した(国立機関原子力試験研究費, 文部科学省)。
14. 好熱性誤りがちDNAポリメラーゼの結晶構造解析に関する基礎的研究  
好熱古細菌のYファミリーDNAポリメラーゼが8-oxo-dGTPを鋳型鎖のアデニンの向かい側に選択的に取り込む原因を検討した(HS財団受託研究費「国際研究 Grant 事業」)。
15. 超低線量放射線により誘発されるDNA2本鎖切断モデル細胞の構築と、それを用いたDNA修復の研究  
ヒトリンパ球細胞株の特定の遺伝子領域に制限酵素部位I-SceIを導入することに成功した。この制限酵素を細胞内で発現させることにより、確実にヒトゲノム内に1つのDNA2本鎖切断を導入できることが明らかとなった(国立機関原子力試験研究費, 文部科学省)。
16. 化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究  
既存の予測システムの評価を行うと共に、新しいシステムの開発を開始した。既存の予測システムとしてDEREKを選択し、細菌を用いる復帰突然変異試験データについて検討した。また、我々独自のシステムとしてアドメワークスの開発に着手した(厚生労働科学研究費)。
17. 培養細胞研究資源の整備に関する研究(基盤整備)  
分譲及びシードカルチャーの培養を123回実施し、全体で約5000アンプルを作成した。培養を通じて微生物汚染の調査、クロスコンタミネーションの調査を実施し、高品質細胞の提供基盤を確立しつつある。継続した調査によって国内で相当数のクロスコンタミネーションが発生していることが判明しつつある。
18. ヒト組織の創薬研究資源化に関する研究  
これまでの研究倫理の調査研究成果とビデオ作成の経験を生かして、ヒトの組織の利用法として重要性を増した、ヒトゲノム研究について、一般市民への理解を得るためのパンフレットを制作した(HS財団受託研究費)。
19. 生命科学研究基盤である培養細胞の収集・保存・供給シ

ステムの整備に関する研究

平成15年度は23種の新規培養細胞の受入、研究資源化を完了した。マイコプラズマ汚染除去、クロスコンタミネーションの確認により新規登録数は目標には至らなかったが、品質管理のハードルを上げるに従ってこの傾向は顕著になりつつある。品質管理体制の整備を推進するに従って研究資源情報サーバの改善と情報量が拡大しつつある。画像データはH13年度末までに7800枚となり、ホームページ上で公開した。また、H13年度末までに培養細胞のクロスコンタミネーションが26種となっていることを確定した(厚生労働科学研究費)。

## 総合評価研究室

室長 江馬 眞

### 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。

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及び既存化学物質の安全性評価及び現在進行中の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、環境化学物質及び水道汚染物質の毒性評価に関する研究を行っている。

行政支援業務として、食品安全委員会、薬事・食品審議会、水質基準逐次改正委員会等の医薬品、食品関連物質、工業化学物質等の安全性確保のための厚生労働行政に協力した。

人事面では、鎌田栄一主任研究官は平成13年4月2日より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及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15年10月1日に併任が解除された。また平成15年10月1日付けで日本食品協会化学物質リスク研究推進事業リサーチレジデントとして高橋美加博士が採用され、平成15年12月1日付けで事務補助員として松本真理子氏が採用された。

海外出張としてはOECD関連で、江馬室長が「第16回高生産量化学物質初期評価会議」(平成15年5月, フランス)、「第17回高生産量化学物質初期評価会議」(平成15年11月, イタリア)、「OECD高生産量化学物質のカテゴリー設定と使用に関するワークショップ」(平成16年1月, ベルギー)また江馬室長と松本事務補助員が「第18回高生産量化学物質初期評価会議」(平成16年4月, フランス)に出席した。松本事務補助員は評価会議に先だって行われた「IUCLIDの使用に関する講習会」にも参加した。また、江馬室長は「JICA: 医薬品安全性評価管理センター日中友好プロジェクト 生殖発生毒性シンポジウム」(平成15年10月, 中国)の

演者として北京に、「第23回ハロゲン化有機環境汚染物質とPOPSに関する国際シンポジウムDIOXIN 2003」(平成15年8月, 米国), 「第41回欧州トキシコロジー学会」(平成15年9月, イタリア)に出張した。また「第43回米国トキシコロジー学会」(平成16年3月, 米国)において $\beta$ -thujaplicinのラットにおける発生毒性について発表した。広瀬主任研究官は、「第23回ハロゲン化有機環境汚染物質とPOPSに関する国際シンポジウムDIOXIN 2003」(平成15年8月, 米国)と「第43回米国トキシコロジー学会」(平成16年3月, 米国)に出張した。また「第4回IUCLIDユーザーグループ専門家会議」(平成15年7月, フランス)に出席した。

化審法GLPの査察には、当室から1カ所、延べ1名が参加した。

#### 業務業績

##### 1. OECD高生産量化学物質の初期評価文書の作成及び発表

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、初期評価文書を作成・提出し初期評価会議で討議している。平成15年5月に開催された第16回高生産量化学物質初期評価会議では、4物質の評価文書(Butanedioic acid, disodium salt・Hexadecanoic acid, 2-sulfo-1-methylester, sodium salt・1, 1, 2-Trichloroethane及びp-t-Butylphenol)を提出し合意された。また日本産業界が提出した評価文書については、その原案作成に協力すると共に提出前の評価及び評価会議での支援を行った。その結果、日本産業界作成の5物質の評価文書(2-(Dimethylamino)ethyl acrylate・m-Toluic acid・N-tert-butyl-2-benzothiazosulfenamide・m-Toluenesulfonic acid, 6-amino及びo-Acetoacetoluidide)も同会議で合意された。第17回会議(平成15年11月)及び第18回会議(平成16年4月)も同様の手順で進められ、第17回会議では日本政府から1文書(Benzene, 1, 4-dimethyl-2-(1-phenylethyl)-), 日本産業界から5文書(Ammonium chloride・Cyanoguanidine・Phenol, 2, 4, 6-tribromo・Benzene, 1-chloro-2-(chloromethyl)-及び2-Butanone oxime)を提出し合意された。第18回会議では日本政府作成の2文書(N, N-Dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide及び3-Methoxy-3-methyl-1-butanol), 日本政府の試験データを入れて修正・完成させた独国作成の評価文書(N-(1, 3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-1, 4-benzene diamine)及び日本産業界作成の評価文書(Calcium hypochlorite)が合意された。また、日本産業界が米国と作成した評価文書(Short chain alkyl methacrylates esters)またはベルギーと作成した評価文書(Gluconates)も合意された。

##### 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15年度は計127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15年度は13物質についての15試験の試験計画書確認作業、16物質についての33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及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. 3省共同化学物質データベース構築に伴う業務

平成16年度から実施する厚生労働省、経済産業省、環境省共同の化学物質データベースの構築・運用に関するプロジェクトチームに参画した。

##### 6. その他(各種調査会等)

食品安全委員会(農薬専門調査会、動物用医薬品専門調査会、添加物専門調査会、器具・容器包装専門調査会)、薬事・食品衛生審議会(化学物質調査会、水質管理専門委員会、化学物質審査規制制度の見直しに関する専門委員会委員会、家庭用品安全対策調査会、先天異常検討会)、水質基準逐次改正委員会、医薬品GLP評価委員会、化学物質安全性評価委員会、環境省ダイオキシン類の動物実験評価検討委員会、経済産業省ミレニアム事業試験法開発委員会の活動に協力した。

#### 研究業務

##### 1. 化審法における既存化学物質及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12試験データ及び新規化学物質の127試験データをデータベースに入力し、今後、QSAR解析用にデータベースの構造の変更作業を行った。

##### 2. 化学物質の乳幼児における毒性発現に関する研究

化学物質を出生直後から生後21日までのラットに投与した新生児試験法と6週齢の同系ラットを用いた28日間投与試験の試験結果を比較して新生児の感受性について検討した。3-Methylphenol及びtetrabromobisphenol Aの新生児ラットと幼弱ラットとの毒性発現を比較検討した結果については学術誌に公表した(J. Toxicol. Sci., 28, 59-70 (2003); Toxicol. Lett., 150, 145-155 (2004))。

##### 3. ラット $\alpha$ 2U-グロブリンの分析手法に関する研究

雄ラット尿から $\alpha$ 2U-グロブリンに対するウサギ抗血清を使用し、腎組織標本上で免疫組織学的に同定できる手法を

開発中であるが、15年度は、免疫染色の定量性を確認するために、画像解析を行い、定量性のあることが確認できた。

#### 4. 内分泌かく乱化学物質の毒性評価に関する研究

フタル酸／アジピン酸エステル類の生殖障害に関する調査研究において、最新のフタル酸／アジピン酸エステル類に関する生殖発生毒性や毒性発現メカニズムに関する文献調査及び整理を行った (Reprod. Toxicol., 17, 407-412 (2003), 第43回日本先天異常学会にて発表) [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15年度は、昨年度の我が国の水道水質基準の全面的な見直し作業のために、化学物質の毒性情報収集・整理と健康影響評価値の算定を行った中で要検討項目となった、アクリル酸、酢酸ビニル、2,4-ジアミノトルエン、2,6-ジアミノトルエン、N,N-ジメチルアニリン、トリエチレントラミン、ヒドラジン、1,2-ブタジエン、1,3-ブタジエン、アセトアルデヒドの10物質について、さらに毒性情報を収集し、整理すると共に健康影響評価値の設定が行えるかどうかについての検討をおこなった。 [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

厚生労働科学研究費「ダイオキシン類の健康影響とくにそのTEFを中心としたリスク評価のための実験的基盤研究」に引き続き「内分泌かく乱化学物質(ダイオキシン類を含む)の胎児・新生児によるリスク予測に関する総合研究」において、ダイオキシンによる奇形誘発に關与する遺伝子解析、ダイオキシンのエピジェネティックな発がん機構の解析モデルの検討などを継続している (DIOXIN 2003にて発表) [厚生科学研究主任研究] ダイオキシン類の健康影響、特にそのTEFを中心としたリスク評価の為の実験的基礎研究において、15年8月に米国ボストンで行われたダイオキシンシンポジウム2003に出席し、海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集した [厚生科学研究分担研究]。内因性リガンドの存在を前庭とするダイオキシンリスクの再評価に関する研究においては、雌雄ラットの血中、尿中及び主要器官のインディルビンの分析と解析を行うための動物実験計画を策定した (DIOXIN 2003にて発表)。 [厚生科学研究分担研究]

#### 7. 化学物質の生殖発生毒性に関する研究

化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究においては、マウスにおけるジブチルスズの着床阻害作用について検討した [厚生科学研究分担研究]。1-Butanolのラットにおける発生毒性、2-(3,5-ジ tert-2-ヒドロキシフェニル)-5-クロロベンゾトリアゾール (CAS No. 3864-99-1) のラットにおける発生毒性及び生殖毒性について検討した。

#### 8. 化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究

本研究では、化学物質のリスク評価を実施する上で必要とされる毒性を予測するにあたり、評価に必要不可欠である試験項目について、定量的構造活性相関予測やそれに関する研究領域において、国際的に使用されているいくつかの構造活性相関コンピュータープログラムの検証を行い問題点の洗い出しを行うと共に、予測精度を上げるためのアルゴリズムの改良を行っている。15年度は、AMES試験に対して、3つのSARモデル (DEREK, MULTICASE, AdmeWorks) を適用し解析した結果、3つのモデルを組み合わせることによって、偽陰性を10%以下に抑えることが示された。また、DEREKおよびAdmeWorksのさらなる予測精度向上のためのプログラムの改良を行っている。 [厚生労働科学研究分担研究]。

### 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は発足以来、国立医薬品食品衛生研究所各部や厚生労働省、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構など各方面のご支援をいただき、平成15年度の審査センター業務はおおむね順調に推移した。

また、平成11年11月に中央薬事審議会の審査関係の調査会は廃止され、平成12年度から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を行い (専門協議)、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し、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、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に当たってきたところである。

平成15年度の組織については、平成15年7月に企画調整部長の廃止に伴い企画主幹が設置され、審査業務室、審査情報室はセンター長の下に置かれた。定員は70名 (厚生労働省併任の企画主幹を除く。) であった。人事関係については、平成15年8月29日付けで、平山佳伸審第一部長が厚生労働省に異動し、後任に赤川治郎審査第一部長が就任し、また、姫野孝雄企画主幹が異動し、後任に青木重仁企画主幹が就任した。

なお、当審査センターは、平成16年4月の独立行政法人医薬品医療機器総合機構の発足に伴い廃止され、その業務と職員は同機構に引き継がれる。

企画主幹、審査第一部、審査第二部、  
審査第三部、審査第四部

企画主幹	青木重仁
(前企画主幹・企画調整部長)	姫野孝雄
審査第一部長	赤川治郎
(前審査第一部長)	平山佳伸
審査第二部長	森 和彦
審査第三部長	辻村信正
審査第四部長 (併)	豊島 聰

## 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薬事食品衛生審議会薬事分科会の関係部会で審議が行われるが、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、審査業務課又は審査情報室においては、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労働省への送付、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、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、泌尿生殖器用薬等を、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、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おり、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ている。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が、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、必要に応じて企業に見解を照合したり、コメントを行う形で注意喚起する等、所要の対応を行っている。また、これらは審査に当たっての参考情報として、適宜活用を図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実施した。

## 業務実績

平成15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。

製造又は輸入の承認申請について審査センターの審査を終了し、審査結果を厚生労働省に送付した品目数は、医薬品、医薬部外品及び医療用具の合計で11,161件に上る。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2,957件の届出があった。また、治験中の副作用報告として33,179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8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136品目、医薬品再評価(品質再評価)については933品目の処理を行った。

## 大 阪 支 所

前支所長 外 海 泰 秀  
支所長事務取扱 早 川 堯 夫

## 概 要

平成15年度は、大阪支所の法円坂庁舎の閉所に向けた動きが最終段階に入り、医薬品分析用標準品の日本公定書協会への移管を3度に分けて完了した。色素標準品については省令改正があり、22品目を日本公定書協会へ移管した。また、食用タール色素製品検査の技術移転研修会を2度行い、委譲先を4登録検査機関に確定し、平成16年2月27日の改正法施行により移管を完了した。また、図書の整理、重要物品である機器類の廃棄等を極力行った。

試験検査業務については、標準品製造業務が例年通りに行われ、食用タール色素の製品検査が引き続き実施された。

平成15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、次の通りである：食用タール色素の製品検査197件について実施し、2件が不合格となった。また、標準品については、医薬品試験用標準品25品目につき、計2004個を製造した。

平成15年度の厚生労働科学研究費補助金による研究2課題、文部科学省科学研究費補助金による研究1課題を実施したほか、厚生労働省特別研究1課題、食品等試験検査費による研究1課題を実施した。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通りである。

人事面では、平成15年7月1日付けで木下博貴技術補助員が採用され、平成15年7月31日付けで中野真希技術補助

員が退職し、平成15年12月31日付けで齊藤博幸薬品試験部第二室長が退職し、平成16年3月31日付けで外海泰秀支所長、吉井公彦食品試験部主任研究官、田中寿一生物試験部技官、酒井正行庶務課長、東野ミツエ事務官が退職し、同日付けで森田有紀子、村上美保、古川みづき、木下博貴の各技術補助員及び服部功寛、大城戸俊次、前田早織の各事務補助員が退職した。外海支所長は、38年の長きにわたり、研究職として精励勤務し、数々の研究業績を挙げられるとともに、支所の業務遂行と発展のために多大な貢献をされた。とくに支所長として支所の業務移管や整理、法円坂支所閉所という困難な時期を乗り切られた。酒井課長は35年3ヶ月、東野主任は37年にわたり、事務官として当所の業務に尽力され、その功労は大であり、心から敬意と謝意を表したい。吉井技官、田中技官はともに、平成16年4月1日より大阪府職員として採用された。今後の活躍を期待したい。また、平成16年4月1日付けで谷本剛薬品試験部長は大阪支所医薬基盤研究施設基盤研究第二プロジェクト長に配置換えとなり、小出達夫薬品試験部主任研究官は本所薬品部へ、天野博夫生物試験部主任研究官は本所安全情報部へ、高松明雄生物試験部技官は和歌山薬用植物栽培試験場へそれぞれ配置換えとなった。

また、平成16年3月19日には法円坂庁舎の閉所式をKKRホテル大阪で開催した。所長、副所長、総務部長並びに大阪支所現職員、旧職員とともに、来賓として近畿厚生局長、大阪府健康福祉部長、大阪府立公衆衛生研究所長、大阪医薬品協会長を迎えて、記念式典を挙行了した。

## 薬 品 試 験 部

前部長 谷 本 剛

### 概 要

平成15年度は研究面では、医薬品の品質規格及び試験法に関する研究、医薬品の品質確保に関する研究、日本薬局方の質的向上及び信頼性確保に関する研究、アポリポ蛋白質脂質膜結合機構に関する研究、熱帯病治療薬の開発に関する研究、標準品の品質標準に関する研究などを行い、厚生労働科学研究費補助金による医薬等医療技術リスク評価研究事業の2課題に主任研究者及び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。

業務面では、主たる業務である標準品製造及び新規標準品の制定を引き続き実施した。日本薬局方における標準品の充実に伴い標準品の需要は年々増加しているが、標準品製造業務が日本公定書協会に順次移管され、15年度は約2,500個を交付した。また、脳下垂体後葉標準品の本質を合成ペプチドに変更する作業を完了させた。また、15年度末の大阪支所改組に伴う業務の整理・移管のうち、標準品製造交付業務は厚

生労働本省との協議により日本公定書協会に完全移管されることとなり、平成15年7月及び10月にそれぞれ15品目及び13品目を移管し、平成16年3月に22品目を移管し、交付を廃止する14品目を除いたすべての品目が日本公定書協会に移管された。

その他、薬事・食品衛生審議会の各種調査会における審議及び日本薬局方の改正作業、医薬品の承認審査に係わる専門協議等の行政への協力を行った。また、国際協力事業団、国際厚生事業団の研修事業に協力した。

人事面では、平成15年12月31日付けで齊藤博幸第二室長が退職し、大阪支所の組織再編に伴い平成16年3月31日付けで非常勤職員の村上美保、森田有紀子の両氏が退職し、平成16年4月1日付けで谷本剛部長は大阪支所医薬基盤研究施設基盤研究第二プロジェクト長に配置換えとなり、小出達夫技官は薬品部第三室に配置換えとなった。

短期海外出張では、谷本剛がPDG会合に出席するためにベルギーに出張し（平成15年7月13日～7月20日）、更に不正医薬品対策セミナーの講師としてラオスに出張した（平成15年12月7日～12月14日）。

### 業務成績

#### 1. 標準品製造

医薬品試験用標準品は公定書協会にその製造と交付を順次移管し、その間に25品目、合計2004個の製造を行った。また、脳下垂体後葉標準品の本質をウシ脳下垂体アセトン粉末から化学合成したオキシトシンペプチド及びバソプレシンペプチドに変更し、平成16年2月より交付を開始した。

#### 2. 国際協力

国際協力事業団のフィリピン薬局方制定プロジェクトに関連してフィリピン薬局方標準品の製造に関する研修のために、平成15年3月から6ヶ月間の予定で研修生1名を受け入れ、9月に研修を修了した。平成15年7月にブリュッセルで開催されたPDG会議、同11月に大阪で開催されたICH6及びPDG会議にJP委員として谷本剛が出席した。平成15年12月にラオスで開催された不正医薬品対策セミナーに谷本剛が講師として参加した。

#### 3. その他

薬事・食品衛生審議会の各種調査会において、日本薬局方の改正作業（医薬食品局審査管理課）や医薬品の承認審査（審査センター）に協力した。また、ISO/REMCO国内対策委員として標準物質規格に関する検討に協力した。

### 研究業績

#### 1. 医薬品の分析化学的研究

##### (1) 医薬品の規格及び試験法作成に関する研究

動物組織を用いない医薬品品質試験法の確立に関する研究：(i) BSE問題に関連して、ウシの脳及び全血を試薬として用いるヘパリン製剤の品質試験法の代替法として抗Xa活性測定法を基本原理とした生化学的試験法を確立し、日局14第二追補に反映させることとした。(ii) 脳下垂体後葉標



準品の本質が合成オキシトシン及びバソプレシンに変更されたことに伴い、オキシトシン注射液及びバソプレシン注射液の規格及び試験方法の変更を検討し、日局14第二追補に反映させることとした。(iii)脳下垂体後葉標準品の本質の一部を合成オキシトシンに変更され、オキシトシン注射液の規格試験法が改められたことから、オキシトシン原薬の日局収載が必要となり、「オキシトシン」の日局原案を作成し、日局14第二追補に反映させることとした。

(2) 医薬品の最新品質管理技法の導入及び薬事法改正への対応等による日本薬局方の質的向上並びに信頼性確保に関する研究

(2)-1 日本薬局方作成基本方針を踏まえた日局の質的向上に関する研究：①収載品目の充実に関しては、日局15には約300品目の新規収載が計画されており、これを実現するには原案審議体制の見直しが必要となり、原案の事前整備システムを導入した新しい効率的審議システムを構築した。更に原案整備の一定性を確保するためには原案評価指針の策定が必要と考えられ、日局原案評価指針(案)を作成した。②標準品の整備及び充実に関しては、標準品整備をめぐる問題を日局標準品のあり方を踏まえて分析し、日局委員会における標準品設定の考え方や手順が不明確なこと、日局委員会と標準品製造機関との情報交換が乏しいこと、国際的整合性の確保に関する視点が欠落していること等を行政当局に提示した。更に、標準品の高度品質管理技法の確立の一環として、保存安定性の問題が懸念される生物薬品標準品の長期保存安定性予測システム及び *in vitro* 活性評価システムの構築を検討し、生物薬品標準品も本質的には速度論的解析が可能なことを実験的に示し、生物検定法による性腺刺激ホルモンの活性評価が培養細胞を用いて簡便かつ高感度に行えることを示した。(厚生労働科学研究費)

(2)-2 薬事法改正及び外国薬局方の現状を踏まえた日局の構成のあり方に関する研究：薬事法改正により日局15から2部構成が廃止されるため、日局の1部構成への移行にともなう薬局方全体の構成のあり方、薬局方の構成の変更に対応した通則の見直し、医薬品各条での医薬品の具体的な配列方法などについてそれぞれの試案を提示した。医薬品各条の構成及び配列に関しては、医薬品を4類に分類して収載するのが合理的であることを示し、その具体的な試案を提示した。(厚生労働科学研究費)

(3) 医薬品の製造方法等の変更に伴う品質比較に関する研究  
改正薬事法で承認内容の軽微な変更は届出の対象とされたが、届出の具体的な範囲は明確にされていない。そこで、特に製造方法に関してその承認の範囲と承認内容の軽微な変更の範囲について検討し、届出に該当する軽微な変更事項の試案を作成した。(厚生労働科学研究費)

## 2. 創薬基盤技術の開発に関する生物化学的研究

(1) 南米産薬用植物由来セスキテルペンの抗リーシュマニア作用に関する研究

リーシュマニア治療薬の開発を目的として南米産薬用植物 *Elephantopus mollis* より単離したセスキテルペン *Elephantopin* の抗リーシュマニア活性は、*in vivo* において宿主細胞内のGSHによってその活性が阻害されるため、何らかの化学的修飾によりプロドラック化の必要性があることが考察された。

(2) アポリポタンパク質Eの脂質及び細胞受容体結合の分子機構

血中や脳内でのコレステロール転送を担い、その遺伝分子多型がアルツハイマー病発症に深く関与することが知られているアポEの細胞受容体結合の分子論解明を目的として、大腸菌発現系によって得た3種類のアポE分子多型アポE2、E3、E4並びにそれらのN末、C末側機能ドメインのヘパリン結合特性を検討した。リアルタイムな速度論的解析が可能な表面プラズモン共鳴(SPR)法による測定結果から、アポEのヘパリン結合が従来の単一反応とは異なる二段階反応であることを見出した。さらに、アポE中のヘパリン結合主要アミノ酸残基であるリジンをアラニンに改変したアポE変異体を作製しヘパリンに対する結合を比較することで、ヘパリン結合部位の同定にも成功した(文部省科学研究費)。

## 3. 標準品に関する研究

脳下垂体後葉標準品はウシ脳下垂体後葉のアセトン乾燥粉末を原料として製造していたが、BSE問題の発生によりウシ脳の入手が困難になったので、化学合成したオキシトシンペプチド及びバソプレシンペプチドを原料とした脳下垂体後葉標準品に改めることとし、それぞれの原料の力価を現行標準品を対照とした生物検定法で求めた。

## 食 品 試 験 部

前部長(支所長事務取扱) 外海 泰 秀

### 概 要

昨年に引き続き食用タール色素及びレーキの製品検査並びに色素標準品原料の品質検査を行うと共に、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等を行った。製品検査の登録検査機関移管に向けて、平成15年7月7日～7月11日に5機関各1名ずつ合計5名に対して、又平成16年3月10日及び3月11日に2機関各2名ずつ合計4名に対して、製品検査の技術指導を行った。

人事面では平成15年7月1日から木下博貴技術補助員が採用され、平成15年7月31日に中野真希技術補助員が退職した。平成16年3月31日付けで外海泰秀部長、吉井公彦主任研究官及び古川みづき、木下博貴 各技術補助員が退職し、辻第二室長が併任解除になった。

海外出張では外海泰秀部長が平成15年6月1日から4日

まで第3回環太平洋農薬国際化学会議（ハワイ州， Honolulu）に出席し，発表した。

#### 業務成績

##### 1. 製品検査

タール色素及びタール色素レーキ 197 検体（平成 15 年 4 月 1 日～平成 16 年 3 月 31 日）について検査を行った。197 検体中 2 検体が不合格となり，他は全て合格であった。

#### 研究業績

##### 1. 食品添加物等の安全性に関する研究

食品添加物の製品検査等の規格に関する試験法の作成として，第 7 版食品添加物公定書に定めている食用青色 2 号（B2）の純度試験のうち，ペーパークロマトグラフィー（PC）による試験法の代替法として，HPLC による定性・定量法を作成した。また，B2 主色素（B2m），B2 異性体（B2iso）及び副成色素（B2sub）については，LC/MS の MS スペクトルによる確認法を作成した。この方法を用いて平成 10～14 年度の製品検査合格の B2，14 検体中の B2m，B2iso 及び B2sub を測定したところ，いずれも JECFA 及び CFR の規格を適合していることが判明した。その他，タール色素の規格に関する検討を行った。

##### 2. 残留農薬の分析等に関する研究

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金による「残留農薬分析の効率化と精度向上に関する研究」を行った。LC/MS による農薬一斉分析確立を志向し，エレクトロスプレーイオン化（ESI）法を用いる質量分析検出及び農薬分離に適した分析条件（基本条件）を選定し，270 種の農薬を分析した。各分析データは，スペクトルスコピックアプローチ（検出・感度・定性），クロマトグラフィックアプローチ（分離・定性）により解析し，ESI-LC/MS 法による分析が可能か否かの判断を行った。全分析農薬数 270 成分中，検出可能農薬 229 成分，良好なピーク分離が期待できる農薬 198 成分，逆相系固相抽出法により濃縮・前処理が期待できる農薬 172 成分であることが判明した。全ての分析データは，マスクロマトグラフ及びマススペクトルをまとめデータ集（電子資料）を作成した。

##### 3. 輸入食品検査に関する研究

マラチオンを分解する小麦由来酵素は，カルボキシルエステラーゼと考えられた。本年度は，カルボキシルエステラーゼを非変成で電気泳動後ザイモグラフィーを行い，本酵素の活性を観察した。分子量約 4 万 5 千前後にカルボキシルエステラーゼ活性があり，これはカルボキシルエステラーゼの単量体と考えられた。また，本酵素は凝集しやすく，多くのカルボキシルエステラーゼ活性は，約 12 万から 30 万までの分子量帯に見られた。

## 生物試験部

### 前部長（支所長事務取扱）外 海 泰 秀

#### 概 要

前年度に引き続き，厚生労働省特別研究「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」に参加した。

人事面では天野博夫主任研究官が本所安全情報部へ，高松明雄技官が和歌山薬用植物栽培試験場へ配置換えとなり，田中寿一技官が退職した。

#### 業務成績

なし

#### 研究業績

##### 1. 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

培養マウスセラチノサイトにおいて，IGSR 遺伝子群のノックダウン実験を行った。IGSR-1 配列の siRNA 処置を行ったマウスセラチノサイトは対照配列 siRNA 処置細胞に比較して有意に細胞数が少なく，この遺伝子がマウスセラチノサイトにおいて何らかの生理的役割を果たしていることが示唆された。

##### 2. 創薬研究及び創薬研究資源の開発に関する研究

アンチジーン法によるヒト c-erbB 遺伝子の発現抑制効果を検討した。

## 北海道薬用植物栽培試験場

### 場 長 柴 田 敏 郎

#### 概 要

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」，厚生科学研究費補助金による「薬用植物の確保と遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究」として，セリ科の多年草ヨロイグサとウイキョウの生育特性に関する基礎的研究を実施し，各々報告書を提出した。

一般市民への啓発活動として，第 5 回薬用植物に関するワークショップ「北方の薬草とその利用を考える 紫根」を，平成 15 年 8 月 2 日～3 日の 2 日間にわたり日本生薬学会北海道支部及び名寄市北国博物館と共同開催し，3 名の講師による講演会，並びに名寄市ピヤシリ山における野外薬用植物観察会及び染色実習を行い，合計約 190 名の参加のもと盛況の内に終了した。終了後記録集を作成し，希望者に配布した。

実習生として，平成 15 年 8 月 1 日より平成 15 年 8 月 15 日まで齋藤裕子氏（中部大学）を受け入れた。

## 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 44件 67種

分譲 33件 71種

## 2. 指導業務

380名の来場者へ薬用植物の情報提供と栽培指導を行なった。名寄市及び上川郡風連町のけし耕作者5名に対する栽培指導、中川郡美深町において薬草園管理指導、上川郡風連町及び上川郡当麻町における薬草生産栽培者への現地栽培指導、並びに、北海道医療大学、上川郡下川町教育委員会、名寄市漢方研究会、名寄市教育委員会及び中川郡美深町建設業組合の依頼により北方系生薬、薬用植物に関する解説を行った。また、平成16年5月12日に北海道高等学校理科研究会名寄支部会員18名に対して、同支部の依頼により北方系生薬、薬用植物に関する研修会を試験場内にて実施した。農薬取締法の改正に伴う薬用植物等マイナー作物の農薬使用経過措置に関する指導を薬草生産者及び関係機関担当者へ行なった。

## 研究業績

## 1. けしの直接抽出法に関する研究

年間合計施肥量を同一にして基肥と追肥の施用割合が生育、果殻収量に及ぼす影響について4試験区を設定して検討した結果、一定量を追肥として分与した場合にさつ果長が有意に増加することが認められ、10a当たりの果殻、果梗収量は施肥量間で有意な差はなかったが、追肥割合の高い区において高収量を示した。モルヒネ含量は試験区間により有意差は認められなかったが、コデイン含量は、追肥割合の高い試験区で含量が高く、追肥の効果が示唆された。窒素含有率は葉>果殻>茎>根の順に高かったが、施肥量の違いによる有意な差は認められなかった。また、追肥時期として3時期を比較したが、全量基肥とした場合と差は認められなかった。

## 2. 薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験

## (1) ウイキョウの栽培研究

本種の最適な収穫時期を設定するために、開花後の登熟期間が果実の色及び精油含量に及ぼす影響について、昨年追試を行った結果、再現性が認められ、生薬を目的とした分果の収穫は開花後44~50日目程度が好ましく、遅くとも55日目までには収穫を終了することが望ましいと考えられた。一方、増殖を目的とした果実の採取の場合には完熟状態となる60日目以降が適当と考えられた。

生育や種子収量に及ぼす窒素の施用量や施用時期の影響に関して、9試験区を設定して2年生株について圃場試験により検討した。その結果、春期の施用は茎葉の生育には貢献するが、多量に施した場合、茎葉が過繁茂状態となり、種子重量の増加には影響が少ないと考えられ、茎の倒伏が発生しにくい、効率的な栽培には、窒素肥料は春期には控え、夏期に1株当たり5~10g程度施す方法が適当と考えられた。

## (1) ヨロイグサの栽培研究

セル苗を利用した1年生栽培における施肥量の違いが収量に及ぼす影響について明らかにするため、10a当りの施肥量を窒素5~15kg、リン酸6~18kg、加里5~15kgの範囲で4試験区を設定して検討した。根重は8月下旬から収穫期の11月にかけて大きく増加し、収穫期の根重は窒素や加里を7.5kg以上、リン酸9kg以上施した区で効果が認められた。また、11月の収穫期における10a当り窒素吸収量は根で12.5~15.4kg、地上部で2.4~3.3kgを示した。

## 3. カンゾウの国内栽培に関する研究

## (1) 種子繁殖による栽培法の検討

種子により繁殖させ、トレンチャーによる深耕栽培における生育、並びに種子の発芽特性について検討した。その結果、特に主根の発達が良好で、9月25日には地下部乾物重は17g/株に達した。グリチルリチンの含量を経時的に調査した結果、9月25日に最高値を示したが局方の基準値(2.5%)を上回ることがなかった。希エタノールエキス含量は、生育の経過とともに順次増加する傾向が認められたが、8月、9月の試料では局方の基準値(25.0%)を満たさず、10月になって満たすことが判明した。また、種子の発芽について、発芽適温は25°Cであること、市販の家庭用精米機での処理により容易に硬実性は打破されることが判明し、発芽試験14日目には80%以上の高い発芽率が得られることが判明した。

## (2) ストロンの繁殖による個体における栽培年数が生育及び品質に及ぼす影響

*Glycyrrhiza uralensis* 及び *G. glabra* の2種5系統をストロンの切断により繁殖し、圃場で5年間栽培してグリチルリチン及び希エタノールエキス含量を調査した結果、4年生までは、いずれの種、系統における根及びストロンにおいても局方の基準値を満たす結果は得られなかったが、5年生ストロンでは *G. uralensis* の3系統で局方値を上回る値を示し(2.65~3.12%)、栽培年数が関与していることが判明した。なお、根では5年生でも1.48~2.00%で局方値に満たなかった。一方、各系統の5年生の収量(地下部乾物重)を比べた結果、*G. glabra* の2系統が(699~890g/m<sup>2</sup>)、3系統の *G. uralensis* (693g/m<sup>2</sup>以下)に比べ高い収量を示した。

## 4. ハトムギの新品種育成に関する研究

ハトムギは、子実が意苡仁として漢方薬原料に、種子はハトムギ茶として健康食品や食品に利用され、毎年数百トンが使用されているが、元来温暖な地域を好むため、使用量の多くは中国やタイなどから輸入され、北海道においてはこれまで栽培が不可能であった。北海道試験場において20年におよぶ選抜、固定、基準品種との比較試験を行った結果、出穂期が早く、成熟期が早い極早生品種で、北海道北部地域においても栽培可能な品種の育成に成功し、「北のはと」と命名した。本新品種は、現在日本で登録されている品種の中では最北の場所(北緯44°22')で育成された品種で、今後、北

海道における大規模機械化栽培生産を可能にするものである。

#### 5. セリ科植物分果中にみられる油管の分布について

セリ科植物には多くの重要な薬用植物が含まれ、分果の形態や分果中を通る油管の状態により分類されるが、植物図鑑等にはすべての種について詳細な記述はなされておらず、種の同定や識別に困難を伴うため検討を行った。その結果、シシウド属植物は、横断面全体の油管個数と合生面の油管個数により大きく4つに分類できること、日本産ミシマサイコは未熟の種子では油管は認められるが成熟種子では不鮮明になることが判明し、この性質は同属のホタルサイコや中国産の *Bupleurum* 属植物とは明らかに異なることが判明した。日本に野生する31属75種のセリ科植物の内、これまでに23属46種について明らかにした。

### 筑波薬用植物栽培試験場

場 長 木 内 文 之  
前場長 関 田 節 子

#### 概 要

厚生労働省の組織改編に伴い、独立行政法人「医薬基盤研究所」の設立がはかられ、幾多の紆余曲折を経て薬用植物栽培試験場は国立医薬品食品衛生研究所から医薬基盤研究所に所属替えとなることとなり、その準備が進められている。食の安全に関連して農林水産省は農薬取締法を改正し栽培作物に使用する農薬を登録制で管理することにした。この中で、国内栽培されている薬用植物に対しては明確な方針が示されていなかったが、平成15年3月に全ての作物と同等の措置をすとの見解が出され、マイナー作物と同様の問題点を抱えることとなった。そこで、筑波を中心に各薬用植物栽培試験場は厚生労働省医政局研究開発振興課と連携をはかり、関連企業団体を通じて栽培時の農薬事情について調査を行い、データのまとめ等により対策を講じている。

人事面に関しては、平成16年3月31日付で関田節子前場長が定年退官され、後任に木内文之の育種生理研究室長が同年4月1日付で昇任した。また、同日付で菱田敦之研究員が主任研究官に昇格し、任期付研究員として河野徳昭博士が採用された。平成15年4月1日～平成16年3月31日まで中根孝久氏（お茶の水女子大学）を研究生として受け入れた。

海外出張として、関田節子場長が、ジュネーブWHO本部で開催されたWHO Consultation on Good Agricultural and Field Collection Practices for Medicinal Plants, WHO Working Group Meeting on Safety Assessment of Herbal Medicines（平成15年7月7-9日、10-11日）、韓国食品薬品安全庁によるInternational Seminar on the Harmonization of Oriental Herbal Medicine（ソウル、平成15年9月4-5日）及び生薬・薬用植物に関する国際調和のための西太平洋地区討論会（FHH: Western Pa-

cific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines）（昆明、平成15年11月25-29日）で講演した。木内文之の育種生理研究室長、瀧野裕之主任研究官がアラブ首長国連邦の薬用植物利用の視察を行った（平成15年6月20-24日）。HS財団国際グラント研究により、関田節子場長、瀧野裕之主任研究官が、またカラチ大学の招聘により木内文之の育種生理研究室長が天然物化学国際会議ポストシンポジウム「世界のリーシュマニア症、現状とそのコントロール」で講演した（カラチ、平成16年1月10-17日）。また、HS財団国際グラント研究により関田節子場長、瀧野裕之主任研究官がペルーとの研究連絡会議に出席し発表と調査を行った（リマ、平成16年2月6-15日）。

本年度の施設関係では、「薬用植物資源研究棟」が平成15年11月11日に着工し、本年9月の竣工に向けて工事が進められている。

研究業務としては、厚生労働科学研究費補助金により「遺伝子組換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究」、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「あへんのモルヒネ含有率試験」、ヒューマンサイエンス振興財団国際グラント研究「天然薬物からのリーシュマニア治療用リード化合物の探索と生体機能の解明」を実施した。

平成16年3月4日、筑波試験場会議室において、長尾所長・早川副所長・谷田総務部長・合田生薬部長出席のもと、平成15年度薬用植物栽培試験場業務打ち合わせ会議を開催し、独立行政法人所属替に関する経過説明、問題点、今後の要望について検討し、平成15年度研究業務を報告した。次いで、3月5日、独法化の対策、平成16年度研究実行計画を討議した。また、平成15年7月18日、薬用植物フォーラム2003をつくば市の文部科学省研究交流センターにて開催し、水沼周市氏（厚生労働省医政局研究開発振興課）、磯崎博司氏（岩手大学）、Sergio Pena-Neira氏（国連大学）、水上元氏（名古屋市立大学）、山路弘樹氏（株式会社ツムラ）、御影雅幸氏（金沢大学）の招待講演及び関田場長の研究報告を行った。

#### 業務実績

##### 1. 種子交換及び保存業務

交換用種子保管数（INDEX SEMINUM記載分）1,111点

15年度入手種子数 677点

分譲種子数 3,834点

種子目録配布数 73ヶ国 449機関

##### 遺伝資源保存数

低温保存試験用種子 2,243点

低温保存交換導入種子 6,100点

超低温保存培養体 30点

##### 2. 指導業務

ケシ（岡山県）、ミシマサイコ、ハトムギ（茨城県）の現地栽培指導、群馬県及び栃木県業務課などに対するけし及び

麻薬原料植物の講習会、薬用植物生産者団体、高校生などの施設見学、一般市民に対する薬用植物に関する知識の普及（つくば科学技術週間一般公開、つくばちびっ子博士）などを行った。

#### 研究業績

##### 1. ケシ属植物の形態とアルカロイド

ケシ属 *Oxytona* 節の植物であるハカマオニゲシ (*Papaver bracteatum* Lindl.) (PB) は、法律により一般の栽培・所持が禁止されているが、植物の形態的特徴が同節植物である *P. orientale* L. (PO) 及び *P. pseudo-orientale* (Fedde) Medw. (PPO) と酷似しているため、特に栄養成長期においては判別が困難である。そこで、これらの植物及び PB と PPO の交配種について、花の特徴と未熟果実から得られる乳液中のアルカロイド成分について調査した。PB、PO 及び PPO のほとんどの個体の花の特徴は、これらの植物の自生種について Goldblatt が報告した分類学的研究と一致し、3種の判別が可能であった。また、乳液に含まれる主アルカロイドも Goldblatt の報告通りであり、PB: テバイン、PO: オリパイン、PPO: イソテバインであった。PB と PPO の F1 交配種の花は両親の中間型で変化に富み、乳液中にはテバインとイソテバインの両方が検出された。PO 及び PPO には例外的な個体も認められ、乳液中にテバインを含むものが認められた。(厚生労働科学研究費)

##### 2. ケシ形質転換体の形態とアルカロイド

日本産 *Agrobacterium rhizogenes* で形質転換したケシを用いての環境評価実験系の確立を目的に、その形態とアルカロイドを調べた。ケシ(一貫種)の形質転換体及び非形質転換体はファイトロン内で正常に生育・開花したが、開花までの日数及び草丈が大きく異なり、非形質転換体は移植後47日後に開花し草丈が60cmであったのに対し、形質転換体では71日後に開花し草丈38cmであった。また、形質転換体の花弁には深い切れ込みが認められた。アヘン中の主アルカロイドには顕著な差が認められ、非形質転換体ではモルヒネ(10.9%)であったのに対し、形質転換体ではテバイン(16.3%)であった。(厚生労働科学研究費)

##### 3. 物質輸送エンジニアリングによる新規有用植物の育種

植物有用二次代謝産物の蓄積・分泌に関わるトランスポーターの cDNA の導入により二次代謝産物を高蓄積する植物あるいは病虫害や環境ストレスに耐性を持つ植物を作成しこれを高度利用するための分子育種技術に係る基礎的知見を得ることを目的に、遺伝子組換えオウレンの作出とその解析を行った。ベルベリン生産性オウレン培養細胞からクローン化された輸送体遺伝子 cDNA (*Coptis japonica* multidrug resistance 1, *Cjmdr*) をアグロバクテリウム (PMP90 株) を用いてセリバオウレン (*Coptis japonica* Makino var. *dissecta* Nakai) に導入し、不定胚培養系4クローン(センス及びアンチセンス各2クローン)を得た。これらのクローンのうち、ゲノム PCR 等により外来遺伝子の存在

が確認出来たセンス1クローンから再生した植物体を土壌に移植し、ファイトロン内で栽培したところ、形態的变化は認められなかったが、根、葉柄、葉における *Cjmdr1* mRNA の発現が低下していた。

##### 4. ハトムギ育成系統の種苗特性調査

タイ国産ハトムギを父親に、国内在来種(筑波系統)を母親として交配を行い、新たな特長を持つハトムギを作出した(系統名: R-21)。新品種としての種苗登録を行うため、岡山在来種を比較品種に用い、種苗特性調査を行った。R-21は葉身や葉鞘が赤紫色を帯び、柱頭の色もまた濃赤紫色であり、岡山在来種に比べ草丈が高く、成熟時期はやや遅いなどの区別点がある。特に大きな特長は、果実及び種子が大きいことであり、それぞれの100粒重(風乾重)は、R-21では17.0~20.5gと12.0~14.5g、岡山在来種では10.5~12.0gと6.5~8.0gであった。

##### 5. 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の探索に関する研究

熱帯地方特有の感染症であるリーシュマニア症に対する薬剤を開発することを目的とし、ペルー、ネパール、ミャンマー産の生薬ならびにミャンマー産樹木材74種のエキスの抗リーシュマニア活性のスクリーニングを行った。ミャンマー産ウルシ科 *Semecarpus anacardium* (現地名 Chi Thee) の堅果ならびにマメ科 *Millettia pendula* (現地名 Thinwin) の材のエキスに強い活性が見られたことから、活性成分の単離・構造決定を行い、*S. anacardium* からは、urushiol 関連化合物3種を、*M. pendula* からは pendulone を得た。また、ペルー共和国と共同で現地薬用植物 *Piper angustifolium* (現地名 Matico) に関する成分研究を行い、2種類の活性化化合物を単離し、ペルー側においてペルーリーシュマニア原虫を用いた活性試験が行われている。現在 *in vivo* における活性試験の検討を行っている。(HS 国際グラント研究)

##### 6. 生薬ブシの薬局方収載に関する研究

現在流通しているブシ製品はその製法、減毒法が異なっており、薬局方収載にあたっては、それに応じた定義付けが必要となる。減毒法に応じてブシ1、ブシ2、ブシ3とし、それぞれに応じた性状、総アルカロイド量、灰分を規定した。安全性の確認として HPLC での定量試験法を検討したが、ジエステルアルカロイド4成分の同時定量は困難であることから、HPLC 法によるジエステル体の純度試験法として検討した。4成分のそれぞれの限度値を減毒法に応じて規定した。

##### 7. DNA 塩基配列と SNPs による生薬基原植物の鑑別

形態的にウスバサイシン、ケイリンサイシン、オクエゾサイシン及びウスゲサイシンと同定された標本の葉緑体 DNA の *rpl16* 及び *rpl16-rpl14* 介在配列領域の塩基配列を比較することにより、1970~80年代に「細辛」として収集されたものの、生薬として加工されているため形態学的には基原植物の判別ができない標本の鑑別を行った。検討した標本4検体のうち、2検体はウスゲサイシンの塩基配列と一致し、他の

2 検体は 4 種のウスバサイシン属植物とは異なる塩基配列を示した。(HS 若手研究者奨励研究)

#### 8. けしの直接抽出法に関する研究

けし直接抽出法に適した栽培条件を確立するため、選抜した系統を用い、春播き栽培における栽植密度とけし果殻及びアヘンアルカロイド収量との関係を検討した。morphine, codeine 及びアヘンアルカロイド総含量は栽植密度に影響されず、これらの単位面積あたりの収量は、けし果殻の収量に依存することが明らかになった。けし果殻の収量を増加させる栽培法として、分枝果の発生が少ない‘南広3号’では、株間を5cm程度として主茎果数を増やし、分枝の発生が大である‘トルコ4-2’では、株間10cm程度として分枝果の収量を増やす方法が有効であった。‘南広3号’は、他の系統と比較し、株間5cm区のmorphine収量が最も高く、栽植密度が高い試験区でも枯死株数が明らかに少なかった。従って春播き栽培には、‘南広3号’の畝幅70cm、株間5cmでの栽培が適すると結論した。(委託研究)

#### 9. ショウマ類の成分分析

生薬ショウマの基原植物4種について、HPLC法及びLC/MS法により成分比較を行った。サラシナショウマ(*C. simplex*)の場合、産地によってcimifugin又はcimifugin glucosideを5 mg/g以上含むものと、ほとんど含まないものがあり、移植栽培後数年を経たものはcimifuginよりもcimifugin glucosideを多く含有する傾向があった。また、cimigenol及びcimigenol xylosideについては検出されても極少量であった。他の基原植物については、*C. foetida*及び*C. heracleifolia*は*C. simplex*と同じ傾向を示したが、*C. dahurica*にはcimifugin, cimifugin glucosideともほとんど含まれなかった。(厚生労働科学研究費)

### 和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 木 内 文 之  
前場長 関 田 節 子

#### 概 要

前年度に引き続き、栄養体で保存している薬用植物を植栽し、シャクヤク、マオウ等数種の試験用薬用植物を栽培した。

人事面に関しては、平成16年3月31日付けで関田節子前場長が定年退官され、後任に木内文之之育種生理研究室長が同年4月1日付けで昇任した。なお、今年度より筑波薬用植物栽培試験場併任から兼任に制度が変更された。また、同日付けで志賀幸生技官が種子島薬用植物栽培試験場に転任し、後任に大阪支所生物試験部高松明雄技官が着任した。

#### 業務成績

##### 1. 種子(種苗)交換業務

採種 90種(筑波試験場に送付)

##### 2. 栽培業務

シャクヤク、ジョチュウギク、ミシマサイコ、マオウ等60種の種子採取用及び試験用(筑波に送付)薬用植物の栽培を行った。

標本園植物95種、樹木園植物89種、温室植物118種の維持栽培を行った。

和歌山県の依頼により、平成15年11月15日の同県主催の「薬草フェア」で配布する薬用植物種子を準備した。

### 種子島薬用植物栽培試験場

場 長 香 月 茂 樹

#### 概 要

人事面では平成16年3月31日を以て錦木紘一圃場作業長が定年退官となり、後任として同年4月1日付けで志賀幸生技官が和歌山試験場から配置換えとなった。

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」を実施した。厚生労働科学研究費補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業「薬用植物の保存と遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究」「マオウの国内栽培に関する研究」等を実施した。

種子島が生自北限となっているモンパノキの唯一の個体(1949年頃西之表市住吉海岸で発見され市の天然記念物に指定、自然界では1962年頃絶滅)を、取り木により200鉢あまりに増殖したものを島内1市2町に譲り渡し、各所に植栽された。この模様は、新聞・テレビで報道された。

備品については、プレハブ式冷蔵庫の老朽化(設定温度に対する異常反応、充填用フロンガスの製造中止、故障部品の調達の困難等)のため、更新した。

気象面では、梅雨の期間は6月9日から7月22日の44日間で、総降雨量は746.5mmであった。降霜が4回(12月21日、12月28日、1月31日、3月5日)、アラレ・ミズレが6回あつた。台風の接近・通過は4個あり、内容は下記のとおりである。

6月19日	9号
最大瞬間風速	25.1m/s・総降雨量 22.5mm
8月6日～8日	10号
最大瞬間風速	43.1m/s・総降雨量 72.0mm
9月12日	14号
最大瞬間風速	21.9m/s・総降雨量 1.0mm
9月19日～20日	15号
最大瞬間風速	24.1m/s・総降雨量 95.5mm

#### 業務成績

##### 1. 種子交換

採種 448点(筑波試験場へ送付)

内訳	野生種	268点
	栽培種	180点
	露地	172点
	温室	8点
受入	26件	48点
分譲	29件	121点以上

## 2. 指導業務

見学者 44件 196名以上

問い合わせ件数は60件以上あり、内訳（重複あり）は種苗の入手法12、栽培法22、植物鑑定23、薬効・用法11、加工・調整5、その他（生産地・動物など）2件であった。

10月5日の漢方薬・生薬研修会薬草園実習で6名を受け入れた。

## 研究業績

### 1. けしの直接抽出法に関する研究

直接抽出法の場合、ケシの形態からすると脇芽の摘蕾を実施せず、分枝も充実させて収穫した方が増収効果が期待できる。このため開花期に頂芽を除去し強制分枝を行ったが、この時期では大変遅すぎる結果となった。

### 2. オミナエシの栽培に関する研究

株分け繁殖の定植時の株の処理法を変えて収量に及ぼす影響について検討した。処理法にはほとんど関係なく、多くは抽苔した。また、種子繁殖法と比較し、欠株が多く、収穫物の品質のばらつきも大であった。

### 3. サジオモダカの種子島における栽培に関する研究

夏までに播種した場合、抽苔が著しく、塊茎も市場品のように紡錘形や球形とはならず、生薬としては問題であった。

### 4. マオウ(*Ephedra distachya*)の栽培に関する研究

—生育の経年変化について—

春日部試験場由来で、筑波試験場で保存している個体の、1999年に導入してからの継続研究である。国内栽培においては優良系統を選択すれば、定植後3年目で1回目の収穫が、その後2年ごとに収穫が可能と推察された。しかし、収穫時期によってはしばしば採取後の枯死が見られた。

### 5. ヒキオコシの経年栽培に関する研究

挿し木・実生・株分けのいずれの繁殖法においても、適切な管理法（施肥法・採取時期等）により、5年間は極端な減収もなく、栽培可能であった。

### 6. 栽培・野生薬用植物の発芽に関する研究

ニガキを2002年7月に採種し、常温・低温でそれぞれ乾燥・湿潤状態で貯蔵し、発芽試験を実施した。常温乾燥では早期に発芽能力が失われた。常温湿潤や低温貯蔵したものは、長期に亘って発芽した。

### 7. 系統保存に関する研究

ハマセンダンにホンゴシユユを2002年3月に接ぎ木したものは、翌年には開花・結実し、現在も良好に生育している。また、キハダを接ぎ木したのも生育は良好である。

串木野市の絶滅寸前のカンランの穂木を2003年9月に入

手し、共台による接ぎ木を行った。約3%の活着率で、現在2株が生育している。

### 8. 薬用植物に使用されている農薬に関する研究

局方・局外生規収載の基原植物を中心に230点の植物について調査し、作物と農薬の組み合わせは5349組あった。94点の植物については未栽培であったり、農薬使用の有無や使用農薬の種類の特定ができなかった。

(平成 16 年 3 月 31 日現在)

## (客員研究員) 19 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	センター	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	
降矢 強	医薬品機構	センター	12.6.1		男	
門脇 孝	東京大学大学院医学研究科	薬理部	13.3.15	16.3.31	男	
石橋 無味雄	元当所薬品部	薬品部	13.4.1	16.3.31	男	
岡安 勲	北里大学医学部病理学教室教授	センター	13.4.1		男	
相賀 裕美子	元当所毒性部	センター	13.4.1		女	
末吉 祥子	元当所有機化学部	有機化学部	13.4.1		女	
横井 毅	金沢大学大学院医学系研究科教授	薬理部	13.9.15	16.3.31	男	
黒川 雄二	元安全性生物試験研究センター長	センター	13.12.1		男	
小野 景	元当所代謝生化学部	代謝生化学部	15.3.1		男	
金子 豊	元当所毒性部	毒性部	15.4.1		男	
関澤 純	元当所化学物質情報部	安全情報部	15.4.1		男	
小沼 博隆	元当所衛生微生物部	衛生微生物部	15.4.1		男	
村井 敏美	元支所生物試験部室長	支所生物試験部	14.5.1	16.3.31	男	
中川 ゆかり	元支所生物試験部	支所薬品試験部	15.5.1	16.3.31	女	

## (協力研究員) 17 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	
壺井 功	日本大学医学部	毒性部	11.4.1		男	
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	
内山 茂久	千葉市環境保健研究所	環境衛生化学部	13.4.1		男	
田中 直子	帝京大学医学部	有機化学部	13.7.1		女	
原田 隆範	立教大学大学院	安全情報部	13.12.1	16.3.31	男	
丸山 典夫	(独)物質・材料研究機構	薬品部	14.4.1	16.3.31	男	
中西 郁夫	(独)放射線医学総合研究所	有機化学部	14.4.22		男	
重松 美加	ヒューマンサイエンス振興財団	食品衛生管理部	14.6.1	16.3.31	女	
服部 誠	東京農工大学農学部助教授	衛生微生物部	14.6.1		男	
治京 玉記	(財)乙卯研究所	有機化学部	15.3.1		女	
角田 正史	福島県立医科大学助教授	衛生微生物部	15.7.1		男	
竹村 玲子	(財)沖中記念成人病研究所研究室長	安全情報部	15.8.1		女	
石川 亜紀	国立遺伝学研究所系統生物研究センター	毒性部	15.10.1	16.3.31	女	
貝沼 章子	東京農業大学応用生物科学部醸造科学科助教授	有機化学部	16.1.1		女	
西川 可穂子	お茶の水女子大学人間文化研究科人間環境科学助手	有機化学部	16.1.1		女	

## (重点支援協力研究員) 6 名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
高木 加代子	科学技術振興事業団	機能生化学部	8.8.26		女	
秋山 晴代	科学技術振興事業団	機能生化学部	13.1.1		女	
豊田 淑江	科学技術振興事業団	遺伝子細胞医薬部	15.1.1		女	
伊藤 さつき	科学技術振興事業団	遺伝子細胞医薬部	15.1.1		女	
古田 美玲	科学技術振興事業団	遺伝子細胞医薬部	15.1.1		女	
佐藤 雄嗣	科学技術振興事業団	機能生化学部	15.4.1		男	

## (特別研究員) 2 名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
細野 哲司	日本学術振興会	遺伝子細胞医薬部	15.1.1		男	
神吉 けい太	日本学術振興会	病理部	15.1.1		男	



## (日本学術振興会外国人特別研究員) 4名

氏 名	国名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
Jun Yang	中 国	東京工業大学生命理工学研究科	療品部	13.10.1	15.9.30	女	
李 京 烈	韓 国	大韓バイオリンク	病理部	14.9.16		女	
ToddJ. STEDEFORD	米 国	南フロリダ大学神経学部	医薬安全科学部	14.11.1	15.5.24	男	
TaritROYCHOWDHURY	イ ン ド	ジャダプール大学環境科学部	環境衛生化学部	15.10.31		男	

## (医薬品機構・派遣研究者) 10名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
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	
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	16.3.31	男	
金 秀 良	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	機能生化学部	13.4.1		男	
鈴 木 琢 雄	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	生物薬品部	13.10.1		男	
児 野 聡	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	機能生化学部	14.4.1		男	
池 田 仁 子	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	機能生化学部	14.8.1		女	
久 保 崇 志	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	薬理部	14.11.1		男	
吉 谷 隆 志	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	医薬安全科学部	14.11.1	16.3.31	男	
掛 谷 知 志	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	代謝生化学部	15.4.1		男	
為 広 紀 正	医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構	代謝生化学部	15.4.1		男	

## (リサーチ・レジデント) 8名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
アハトサイフディン	(財) 日本公定書協会	療品部	13.11.1	16.3.31	男	
スザルジョマフュー	(財) 日本公定書協会	療品部	15.1.1	15.6.6	女	
長 幡 操	(財) 日本公定書協会	療品部	15.10.1		女	
奥 谷 晶 子	(財) 日本食品衛生協会	食品部	14.4.1	15.12.31	女	
菊 地 博 之	(財) 日本食品衛生協会	食品部	15.10.1		男	
高 橋 美 加	(財) 日本食品衛生協会	変異遺伝部	15.11.1		女	
山 崎 学	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	食品衛生管理部	15.4.1		男	
橋 井 則 貴	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	15.12.1		男	

## (研究支援者) 1名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
小 泉 朋 子	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	15.12.1		女	

## (流動研究員) 17名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
田 中 理 恵	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生薬部	13.10.1	16.3.31	女	
相 原 真 紀	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	衛生微生物部	13.10.1	15.9.30	女	
志 水 美 文	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	食品添加物部	14.4.1	15.7.31	女	
李 光 勲	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	センター	14.4.1	16.3.31	男	
多 田 薫	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	代謝生化学部	14.4.1	16.3.31	女	
小野瀬 淳 一	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	病理部	14.4.1	15.9.28	男	
麻 見 安 雄	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	14.4.1	16.3.31	男	
小 林 一 夫	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	衛生微生物部	14.4.1	16.3.31	男	
何 晋 徳	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	薬理部	14.10.1	15.4.30	男	
橋 井 則 貴	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	15.4.1	15.11.30	男	
徐 利 志	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	遺伝子細胞医薬部	15.4.1	15.12.31	男	
柳 楽 勤	(財) 医療機器センター	療品部	14.10.1		男	
瀧 上 周	(財) 日本公定書協会	所長	14.12.1	16.3.31	男	
宮城島 利 一	(財) 日本公定書協会	所長	15.1.1		男	
パネミラジヤゲル	(財) 日本公定書協会	毒性部	15.1.1	16.3.31	男	
中 津 則 之	(財) 日本公定書協会	毒性部	15.2.1		男	
欒 洋	(財) 日本公定書協会	遺伝子細部医薬部	15.10.1		女	

## (研究生) 53名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備考
田 中 光	東邦大学教授	生物3室	12.4.1	16.3.31	男	
小 泉 直 也	昭和薬科大学教授	遺伝	12.4.1		男	
清 水 雅 富	大妻女子大学教授	変異2室	12.4.25	16.3.31	男	
佐 藤 義 隆	東京大学医学部助教授	機能	12.10.1	16.3.31	男	

畑	尾史彦	東京大学大学院医学系教授	衛微 1 室	13. 4. 1			男	
中	根孝久	昭和薬科大学理事長	筑波	13. 4. 6	16. 3. 31		男	
赤	石樹泰	日本大学薬学部教授	薬理 2 室	14. 3. 1	16. 2. 29		男	
平	山明子	共立薬科大学学長	代謝 1 室	14. 4. 1	16. 3. 31		女	
小久保	清子	大妻女子大学教授	変異 2 室	14. 4. 1			女	
生	島裕子	明治薬科大学教授	薬理 2 室	14. 4. 1	16. 3. 31		女	
八	幡紋子	昭和薬科大学教授	薬理 3 室	14. 5. 1	16. 3. 31		女	
淺	井美里	法政大学教授	食衛 1 室	14. 5. 1	16. 3. 31		女	
檜	大介	九州大学大学院教授	代謝	14. 6. 3	16. 3. 31		男	
小原	有弘	名古屋市立大学教授	変異	14. 6. 17	16. 3. 31		男	
井上	かおり	星薬科大学教授	代謝	14. 7. 1	16. 3. 31		女	
北	泰樹	岐阜大学大学院教授	病理 1 室	14. 7. 1	16. 6. 30		男	
小	林幸幸	九州大学大学院教授	遺伝 2 室	14. 8. 1	15. 7. 31		男	
藤	本幸弘	東京大学大学院教授	機能 2 室	14. 10. 1	15. 9. 30		男	
鍛	治奈	京都大学地球環境学舎長	毒性	15. 4. 1	15. 6. 30		女	
原	島瑞	日本大学生物資源科学部教授	生物 3 室	15. 4. 1			女	
中	村亮	東邦大学薬学部助教授	遺伝 2 室	15. 4. 1			男	
大	門佳行	共立薬科大学学長	食添 3 室	15. 4. 1	16. 3. 31		女	
加	藤津美	東京農工大学農学部部長	衛微 4 室	15. 4. 1			女	
梶	川申	立教大学理学部生命理学科科長	病理 2 室	15. 4. 1	16. 3. 31		女	
桜	井春奈	東京農業大学生物応用科学科	食衛	15. 4. 1			男	
河	原陽介	昭和薬科大学教授	生物	15. 4. 1			女	
若	林薫	昭和薬科大学毒物学教室	代謝	15. 4. 21			男	
田	中宏	昭和薬科大学学長	食品	15. 4. 23			女	
大	槻昌	昭和薬科大学学長	薬理	15. 5. 15	16. 3. 31		男	
高	松大	千葉大学大学院医学薬学教育部長	生薬	15. 6. 1			男	
吳	松大	東京工業大学大学院教授	有機	15. 6. 30			男	
金	台憲	行政院衛生署薬物食品検査局長	食品	15. 7. 28	15. 8. 22		男	
木	村真	慶熙大学校大学院食品工学科教授	食衛 1 室	15. 8. 20			男	
謝	真一	岡山市長	食衛	15. 9. 1	15. 9. 30		男	
李	東熙	中国上海市薬品検査所第一副所長	薬品 3 室	15. 9. 1	16. 2. 26		男	
中	村正宏	延世大学校医科大学副教授	衛微	15. 9. 1			男	
浅	野子	(独) 農薬検査所理事長	毒性	15. 9. 16	15. 12. 12		男	
川	崎勝	岐阜県食肉衛生検査所所長	食品	15. 10. 1	15. 10. 31		女	
伊	藤友	(財) 食品薬品安全センター秦野研究所長	食衛	15. 10. 1			男	
Hong, chonghui	園子	お茶の水女子大学生生活科学部教授	療品	15. 10. 24			女	
堤	園子	韓国食品医薬品安全庁	遺伝	15. 11. 1			女	
漆	畑健	岡山県知事	食衛	15. 11. 17	15. 12. 12		女	
伊	藤里	静岡県健康福祉部長	食衛	15. 11. 17	15. 12. 12		男	
松	橋健	星薬科大学学長	療品	15. 11. 18	16. 3. 31		女	
高	浦治	(財) 日本冷凍食品検査協会横浜事業所長	食品	15. 12. 1	16. 3. 31		男	
牧	野新	東海大学海洋学部長	衛微	15. 12. 2			男	
瀨	下文	麻布大学獣医学部助教授	衛微	15. 12. 2	16. 3. 31		男	
石	井雄	星薬科大学学長	療品	15. 12. 11	16. 3. 31		女	
ChaeGyu-Han	裕二	星薬科大学学長	病理	15. 12. 15			男	
阿	部裕	韓国食品医薬品安全庁	遺伝	16. 1. 1			男	
出	水庸	東京農工大学工学部生命工学科教授	生薬	16. 1. 1			男	
山	田勉	九州大学教授	有機 2 室	16. 1. 19	16. 2. 18		男	
		名古屋市立大学大学院薬学研究科教授	遺伝	16. 3. 1			男	

(実習生) 43 名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
蒲生 優	日本大学生物資源科学部教授	生物 2 室	15. 2. 20	16. 3. 5	男	
野本 哲	日本大学生物資源科学部教授	有機 1 室	15. 3. 1	16. 3. 31	男	
増田 雄	日本大学生物資源科学部教授	有機 1 室	15. 3. 1	16. 3. 31	男	
杉山 由	北里大学理学部教授	衛微 1 室	15. 3. 1	16. 2. 27	男	
鈴村 光	実践女子大学教授	衛微 2 室	15. 4. 1	15. 8. 1	女	
中木 友	東京理科大学理学部化学科教授	有機 1 室	15. 4. 1	16. 3. 31	女	
田村 徹	日本大学生物資源科学部長	生薬	15. 4. 1	16. 3. 25	男	
寺西 清	日本大学生物資源科学部長	食品	15. 4. 1	16. 3. 25	男	
宮崎 和	日本大学生物資源科学部長	食添 2 室	15. 4. 1	16. 3. 25	男	
戸島 貴	日本大学生物資源科学部長	食添 2 室	15. 4. 1	16. 2. 3	男	
西山 貴	日本大学生物資源科学部長	食添 2 室	15. 4. 1	16. 3. 25	男	
齋藤 直	麻布大学獣医学部教授	食衛 2 室	15. 4. 1		女	
中島 直	東京薬科大学生命科学部教授	生薬	15. 4. 1	16. 3. 31	女	

田村憲美津	東京農工大学農学部部長	衛微 4 室	15. 4. 1	16. 3. 4	男
清水健彦	芝浦工業大学工学部教授	有機 1 室	15. 4. 1	16. 3. 31	男
樋口創	芝浦工業大学工学部教授	有機 1 室	15. 4. 1	16. 3. 31	男
安田寛	共立薬科大学学長	医薬 2 室	15. 4. 1	15. 12. 12	男
岡村瑞穂	東京家政大学家政学部教授	食衛 1 室	15. 4. 1	16. 3. 31	女
服部仁美	東京家政大学家政学部教授	食衛 1 室	15. 4. 1	16. 3. 31	女
水野純子	東京家政大学家政学部教授	食衛 1 室	15. 4. 1	16. 3. 31	女
水平貴政	北里大学理学部生体防御学講座教授	衛微	15. 4. 1	16. 2. 27	女
山口絵美	北里大学理学部教授	環境	15. 4. 1	16. 3. 31	女
高山祥子	北里大学理学部教授	環境	15. 4. 1	16. 3. 31	女
山本恵美子	共立薬科大学学長	有機 1 室	15. 4. 8	15. 12. 13	女
石川智与	共立薬科大学学長	食添 2 室	15. 4. 9	15. 12. 11	女
籠橋明子	共立薬科大学学長	食添 2 室	15. 4. 9	15. 12. 11	女
渡邊裕佳	共立薬科大学学長	代謝 1 室	15. 4. 9	15. 12. 12	女
関口将二	東京農業大学応用生物科学部教授	衛微	15. 4. 14	16. 3. 31	男
中原徳之	東京農業大学応用生物科学部教授	衛微 3 室	15. 4. 16	16. 3. 31	男
三浦香寿子	昭和大学薬学部長	環境	15. 4. 17	15. 12. 26	女
国房恵巳子	九州大学大学院教授	代謝	15. 5. 1		女
藪根ちあき	お茶の水女子大学生生活科学部教授	衛微	15. 5. 1	16. 3. 31	女
服部一也	東京農業大学応用生物科学部教授	衛微	15. 5. 1	16. 3. 31	男
松崎陽輔	東京農業大学応用生物科学部教授	衛微	15. 5. 1	16. 3. 26	男
齋藤裕子	中部大学学長	北海道	15. 8. 1	15. 8. 15	女
長谷川まゆみ	共立薬科大学学長	医薬	16. 2. 15		女
山内明日香	日本大学生物資源科学部部長	有機 2 室	16. 2. 19		女
長谷川哲也	東邦大学薬学部医療薬学教育センター助教授	遺伝	16. 3. 1		女
金子訓子	共立薬科大学教授	生薬	16. 3. 1		女
小柳仁美	日本大学生物資源科学部教授	生物	16. 3. 1		女
原田佳呼	日本大学生物資源科学部教授	生物	16. 3. 1		女
山本磨耶	北里大学理学部生体防御学講座	衛微	16. 3. 1		女
武井大侑	学校法人東京医薬専門学校長	環境 3 室	16. 3. 1		男

Jun Okabe<sup>\*1</sup>, Akiko Eguchi<sup>\*1,3</sup>, Renu Wadhwa<sup>\*1</sup>, Randeep Rakwal<sup>\*2</sup>, Rumi Tsukinoki<sup>\*4</sup>, Takao Hayakawa<sup>\*5</sup> and Mahito Nakanishi<sup>#\*1,6</sup>: **Limited Capacity of the Nuclear Matrix to Bind Telomere Repeat Binding Factor TRF1 May Restrict the Proliferation of Mortal Human Fibroblasts**

*Human Molecular Genetics*, 13, 1-9 (2004)

The maintenance of telomere integrity is essential for prolonged cell proliferation, and failure in this mechanism is a most consistent manifestation of cellular senescence. In this study, we investigated the role of telomere repeat binding factor (TRF1) in the proliferation of human fibroblasts. TRF1 expression is upregulated in a large variety of immortal human cells and supports *de novo* telomere formation in a dose-dependent manner. These observations suggest that the suppression of TRF1 might limit telomere maintenance and thus the life span of mortal cells. However, primary fibroblasts ectopically overexpressing TRF1 were unable to avoid senescence. On the other hand, exogenously expressed TRF1 in primary fibroblasts neither supported *de novo* telomere formation nor bound to the nuclear matrix as tightly as observed in immortal cells that show upregulated TRF1 expression. We present evidence suggesting that mortal human cells lack specific ligand(s) that anchor TRF1 to the nuclear matrix and that this contributes to their limited lifespan.

Keywords: telomere repeat binding factor, telomere integrity, prolonged cell proliferation

<sup>\*1</sup>Gene Function Research Center

<sup>\*2</sup>Institute for Biological Resources and Functions, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

<sup>\*3</sup>Japan Society for the Promotion of Science

<sup>\*4</sup>Osaka University Graduate School of Medicine.

<sup>\*5</sup>National Institute of Health Science

<sup>\*6</sup>Gene Function Research Laboratory, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

To whom correspondence should be addressed: Mahito Nakanishi; 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki, 305-8562, Japan; Tel:0298-61-3040; FAX:0298-61-2798; E-mail:mahito-nakanishi@aist.go.jp

小嶋 茂雄, 檜山 行雄, 寺下 敬次郎, 柳原 義彦: 医薬品の品質管理における **Process Analytical Technology (PAT)** の活用 - 欧米の活発な動きにわが国はどう対応するのか? -

ファームテクジャパン, 19, 1471-1489 (2003)

PATは、最近の科学技術の発展により種々の特性をリアルタイムあるいはそれに近い形で測定できる分析手段が開発されてきたことを背景に、医薬品の製造プロセスを効率的なものに改善したいというニーズに後押しされて、欧米で提唱され始めた分析技術をベースとした品質保証の方法論ともいうべきものである。PATの活用により、製造プロセスの進行に伴う特性の変化を測定して解析することによって、製造プロセスに対する理解を深め、品質担保のキーとなる要因を把握して、製造工程にフィードバックし

て、その要因を適切なレベルにコントロールできるように改善することができれば、医薬品の品質保証のレベルを高めることができる。さらに、キーとなる要因をリアルタイムでモニターできれば、そのデータを品質担保の指標にすることができる。

PAT活用を巡る最近の動きは、製薬企業各社に、規制でしぼられているからという消極的な動機からではなく、自ら“Good Practice”を積極的に実践して、恒常的に品質の維持向上に取り組むことを求めているように思われる。

Keywords: Quality control of pharmaceuticals, process analytical technology (PAT), Concerns on applying PAT in Japan

小嶋 茂雄, 山田 哲, 神谷 明良, 寺田 勝英: **PAT (Process Analytical Technology) の課題・将来展望 (座談会)**

ファームテクジャパン, 19, 1491-1504 (2003)

グローバル化が進む日本の医薬品産業において、PATに関する関心が非常に高まっていることを背景に、2003年7月に「新しい医薬品工程管理技術 - Process Analytical Technology (PAT) セミナー」が千葉大学で開催された。

この座談会は、PATセミナーを前に、小嶋茂雄(国立医薬品食品衛生研究所)、山田哲(大塚製薬株式会社)、神谷明良(ファイザー製薬株式会社)および寺田勝英(東邦大学薬学部)の4氏にお集まりいただき、PATの現状と課題、将来展望、特にわが国におけるPAT活用の可能性などについて、忌憚のない意見を交換したものである。

Keywords: Quality control of pharmaceuticals, Process analytical technology (PAT), How to promote PAT in Japan

小嶋 茂雄, 太谷 淑郎: 品質にかかわるトピックの動向 - **Q3B(R)** -

医薬品研究, 34, 451-474 (2003)

ICHの原薬の不純物に関するガイドラインの改定(Q3A(R))については、昨年(2002年)2月のブリュッセルでのQ3A/B(R)専門家会議(Q3A/B(R)-EWG会議)で合意に達し、既に2002年12月16日付けで国内に通知されており、2004年4月1日から施行されることになっている。これに続いて、2003年2月の舞浜でのEWG会議で製剤の不純物に関するガイドラインの改定(Q3B(R))が合意に達したので、その改定内容について詳しく報告した。

改定による変更点、特に構造決定ならびに安全性確認の要/不要の判定に関する点を良く理解し、このガイドラインを有効に活用して欲しいものである。

Keywords: Revision of ICH Guideline Q3B, Impurity in drug products, Revision of rounding rule

小嶋 茂雄, 檜山 行雄, 和田 征夫, 北澤 義夫: 日本における品質保証の課題 - 産官学の連携に向けて - (座談会)

ファームテクジャパン, 20, 429-443 (2004)

医薬品品質フォーラムが設立され、2004年1月にその第1回シンポジウムが昭和大学で開催された。この座談会は、同フォーラム設立のねらいが産官学の人が集まってわが国における品質保証の課題についてフランクにディスカッション

ンする場を提供することにあることを踏まえて、小嶋茂雄（フォーラム代表世話人）、檜山行雄（国立医薬品食品衛生研究所）、和田征夫（日本製薬工業協会）、北澤義夫（日本製薬工業協会）の4氏にお集まりいただき、産官学が連携して医薬品の品質保証のレベルアップを図る上での課題や将来展望に関して、意見を交換したものである。

Keywords: Level up of quality assurance for pharmaceuticals, Issues to be solved in Japan, Collaboration of people in industries, regulatory sides and academies

Aoyagi, N., Rimando, A. P., Izutsu, K., Katori, N., Kojima, S. : **Abnormal dissolutions of chlorpromazine hydrochloride tablets in water by paddle method under a high agitation condition**

*Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 1021-1024 (2003).

All sugar-coated tablets of chlorpromazine hydrochloride except for those produced by one manufacture showed concave dissolution profiles in water by paddle method at 100 rpm but not at 50 rpm. The study was undertaken to clarify the agitation-dependent abnormal dissolutions. The strange dissolutions were also observed in water at different ionic strengths but not in buffer solutions of pH 1.2, 4.0 and 6.8. When monitored, the pH's of water in dissolution vessels for the abnormal tablets increased with time at 100 rpm and some of them exceeded pH 8 but did not at 50 rpm. The solubility of chlorpromazine hydrochloride decreased with the increase of pH which was too low to dissolve the whole amount of drug contained in a tablet at pH 8. The elevation of pH seemed to be mainly brought about by dissolution of calcium carbonate popularly used for sugar-coated tablets, because larger amount of calcium ion was dissolved out from the abnormal tablets at 100 rpm than from a normal tablet and from them at 50 rpm. These findings indicate that the concave dissolution profiles should be caused by the decrease of drug solubility with increase in pH of water, probably because of dissolution of calcium carbonate. We should pay attention to the change in pH of water which may differ depending on the agitation speed of dissolution tests.

Keywords : dissolution test, chlorpromazine hydrochloride tablet, change in pH

Izutsu, K., Rimando, A. \*, Aoyagi, N., Kojima, S. : **Effect of sodium tetraborate (borax) on the thermal properties of frozen aqueous sugar and polyol solutions.**

*Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 663-666 (2003)

The effect of sodium tetraborate ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , borax) on the thermal property of frozen aqueous sugar and polyol solutions was studied through thermal analysis. Addition of borax raised the thermal transition temperature (glass transition temperature of maximally freeze-concentrated solutes;  $T_g'$ ) of frozen sucrose solutions depending on the borax/sucrose concentration ratios. Changes in the  $T_g'$  of frozen mono- and disaccharide solutions suggested various forms of complexes, including those of a borate ion and two saccharide molecules. Borax exerted the maximum effect to raise the oligosaccharide and dextran  $T_g'$ 's at borax/saccharide molar ratios of approximately 1-2 (maltose and maltooligosaccharides), 2 (dextran 1,060), 5 (dextran 4,900), and

10 (dextran 10,200). Further addition of borax lowered  $T_g'$ 's of the saccharide solutions. Borax also raised  $T_g$  and  $T_g'$  temperatures of frozen aqueous glycerol solutions. The decreased solute mobility in frozen solutions by the borate-polyol complexes suggested higher collapse temperature in the freeze-drying process and improved stability of biological systems in frozen solutions.

Keywords: glass transition, borate, freeze-drying

\* Bureau of Food and Drugs, Philippines

Izutsu, K., Ocheda, S. O. \*, Aoyagi, N., Kojima, S. : **Effects of sodium tetraborate and boric acid on nonisothermal mannitol crystallization in frozen solutions and freeze-dried solids.**

*Int. J. Pharm.*, **273**: 85-93 (2004)

The purpose of the present study was to elucidate the effects of sodium tetraborate (borax) and boric acid on the crystallization of mannitol in frozen aqueous solutions and freeze-dried solids. Thermal analysis of frozen solutions showed that sodium tetraborate inhibits mannitol crystallization at sodium tetraborate/mannitol molar concentration ratios of approximately 0.05, which is much lower than the other co-solutes studied (boric acid, sucrose, sodium phosphate buffer). Inhibition of the mannitol crystallization in frozen solutions resulted in highly amorphous mannitol in the freeze-dried solids. Mannitol remained in an amorphous state in some of the combination freeze-dried solids, even at elevated temperatures. Changes in the thermal transition temperatures (glass transition temperature of maximally freeze-concentrated solute ( $T_g'$ ) and glass transition temperature of freeze-dried solid ( $T_g$ )) suggested reduced mannitol molecular mobility with increases in the sodium tetraborate ratio. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analysis of the bovine serum albumin secondary structure showed apparent protein structure-stabilizing effects of the amorphous mannitol and sodium tetraborate combination during the freeze-drying process. The mannitol and sodium tetraborate combination also protected lactate dehydrogenase from inactivation during freeze-drying. We conclude that the complex formation and the accompanying reduction in molecular mobility make sodium tetraborate an effective mannitol crystallization inhibitor in frozen solutions and freeze-dried solids.

Keywords: freeze-drying, amorphous, complexation

\* Bureau of Food and Drugs, Philippines

Izutsu, K., Aoyagi, N., Kojima, S. : **Protection of protein secondary structure by saccharides of different molecular weights during freeze-drying.**

*Chem. Pharm. Bull.*, **52**: 199-203 (2004)

The protective effects of saccharides with various molecular weights (glucose, maltose, maltotriose, maltotetraose, maltopentaose, maltoheptaose, dextran 1,060, dextran 4,900, and dextran 10,200) against lyophilization-induced structural perturbation of model proteins (BSA, ovalbumin) were studied. FT-IR analysis of the proteins in initial solutions and freeze-dried solids indicated that maltose conferred the greatest protection against secondary structural change. The structure-stabilizing effect of maltooligosaccharides decreased in increasing the number of sac-

charide units. Larger molecules of dextran also showed a smaller structure-stabilizing effect. Increasing the effective saccharide molecular size by a borate-saccharide complexation reduced the protein structure-stabilizing effect of all of the saccharides except glucose. The results indicate that the larger saccharide molecules, and/or the complex formation with borate ion, reduce the free and accessible hydroxyl groups to interact with and stabilize the protein structure by a water-substitution mechanism.

Keywords: freeze-drying, protein formulation, stabilization

伊豆津 健一, 青柳 伸男, 小嶋 茂雄: ホウ素-ポリオール錯体凍結水溶液の物性と凍結乾燥時のタンパク質安定化作用

低温生物工学学会誌 49: 115-118 (2003).

タンパク質医薬品も製剤モデルを用い, 物性とタンパク質二次構造に対するホウ砂 (4 ホウ酸ナトリウム) の影響を検討した. 二糖類とホウ砂の錯体形成は凍結溶液の凍結乾燥品ガラス転移温度の上昇など分子運動抑制作用を示す一方で, 糖によるタンパク質二次構造安定化作用を抑制する事が明らかとなった.

Keywords: freeze-drying, protein formulation, stabilization

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S.: **Molecular mobility of lyophilized poly(vinylpyrrolidone) and methyl cellulose as determined by the laboratory and rotating frame spin-lattice relaxation time of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$**

*Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 1289-1292 (2003)

Laboratory- and rotating- frame spin-lattice relaxation times ( $T_1$  and  $T_{1\rho}$ ) of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  in lyophilized poly(vinylpyrrolidone) (PVP) and methylcellulose (MC) are determined to examine feasibility of using  $T_1$  and  $T_{1\rho}$  as a measure of molecular motions on large timescales related to the storage stability of lyophilized formulations. The  $T_{1\rho}$  of proton and carbon was found to reflect the mobility of PVP and MC backbones, indicating that it is useful as a measure of large-time-scale molecular motions. In contrast to the  $T_{1\rho}$ , the  $T_1$  of proton measured in the same temperature range reflected the mobility of PVP and MC side chains. The  $T_1$  of proton may be useful as a measure of local molecular motions on a smaller-time-scale, although the measurement is interfered by moisture under some conditions. The temperature dependence of  $T_1$  and  $T_{1\rho}$  indicated that methylene in the MC molecule had much higher mobility than that in the dextran molecule, also indicated that methylene in the PVP side chain had a higher mobility than that in the MC side chain.

Keywords: molecular mobility, NMR, glass transition

Yoshioka, S., Tajima, S., Aso, Y., Kojima, S.: **Inactivation and aggregation of  $\beta$ -galactosidase in lyophilized formulation described by Kohlrausch-Williams-Watts Stretched exponential function**

*Pharm. Res.*, **20**, 1655-1660 (2003)

The purpose of study was to examine whether the empirical Kohlrausch-Williams-Watts (KWW) equation is applicable to not only protein aggregation but also protein denaturation in lyophilized formulations. Lyophilized  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -GA) formulations containing polyvinylalcohol and methylcellulose

were used as model formulations. The possibility of predicting storage stability based on the temperature dependence of the estimated parameters of inactivation/aggregation time constant ( $\tau$ ) and its distribution ( $\beta$ ) was discussed. Inactivation and aggregation of  $\beta$ -GA were describable with the empirical KWW equation, regardless of whether the temperature was above or below the NMR relaxation-based critical mobility temperature ( $T_{mc}$ ), or whether protein molecules with different degrees of deformation resulting from stresses during lyophilization exist in the formulation. The estimated  $\beta$  parameter for protein aggregation decreased rapidly as temperature increased beyond  $T_{mc}$  because the mobility of polymer molecules increased in the initial stages of glass transition. The time required for 10% enzyme to aggregate ( $t_{90}$ ) calculated from the  $\tau$  and  $\beta$  parameters exhibited a change in temperature dependence gradient near  $T_{mc}$ . In contrast,  $t_{90}$  for protein inactivation exhibited temperature dependence patterns varying with the excipients. The  $t_{90}$  calculated from the estimated  $\tau$  and  $\beta$  parameters was found to be a useful parameter for evaluating the stability of lyophilized  $\beta$ -GA formulations. The prediction of  $t_{90}$  by extrapolation was possible in the temperature range in which  $\beta$  did not rapidly vary with temperature.

Keywords: aggregation, molecular mobility, glass transition

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S.: **Prediction of glass transition temperature of freeze-dried formulations by molecular dynamic simulation**

*Pharm. Res.*, **20**, 873-878 (2003)

The purpose of the study was to examine whether the glass transition temperature ( $T_g$ ) of freeze-dried formulations containing polymer excipients can be accurately predicted by molecular dynamics simulation using software currently available on the market. Molecular dynamics simulations were carried out for isomaltodecaose, a fragment of dextran, and  $\alpha$ -glucose, the repeated unit of dextran, in the presence or absence of water molecules. Estimated values of  $T_g$  were compared with experimental values obtained by differential scanning calorimetry (DSC). Isothermal-isobaric molecular dynamics simulations (NPTMD) and isothermal molecular dynamics simulations at a constant volume (NVTMD) were carried out using the software package DISCOVER (Material Studio) with the Polymer Consortium Force Field. Mean-squared displacement and radial distribution function were calculated. NVTMD using the values of density obtained by NPTMD provided the diffusivity of glucose-ring oxygen and water oxygen in amorphous  $\alpha$ -glucose and isomaltodecaose, which exhibited a discontinuity in temperature dependence due to glass transition.  $T_g$  was estimated to be approximately 400K and 500K for pure amorphous  $\alpha$ -glucose and isomaltodecaose, respectively, and in the presence of one water molecule per glucose unit,  $T_g$  was 340K and 360K, respectively. Estimated  $T_g$  values were higher than experimentally determined values because of the very fast cooling rates in the simulations. However, decreases in  $T_g$  upon hydration and increases in  $T_g$  associated with larger fragment size could be demonstrated. The results indicate that molecular dynamics simulation is a useful method for investigating the effects of hydration and molecular weight on the  $T_g$  of lyophilized formulations containing polymer

excipients, although the relationship between cooling rates and  $T_g$  must first be elucidated in order to predict  $T_g$  values observed by DSC measurement.

Keywords: molecular dynamics simulation, glass transition temperature, lyophilized formulation

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S.: **Temperature- and glass transition temperature-dependence of biomolecular reaction rates in lyophilized formulations described by Adam-Gibbs-Vogel equation**

*J. Pharm. Sci.*, **93**, 1062-1069 (2004)

Bimolecular reaction rates in lyophilized aspirin-sulfadiazine formulations containing poly(vinylpyrrolidone)(PVP), dextran and isomalto-oligomers of different molecular weights were determined in the presence of various water contents, and their temperature- and  $T_g$ -dependence was compared with that of structural relaxation time ( $\tau$ ) calculated according to the Adam-Gibbs-Vogel (AGV) equation, in order to understand how chemical degradation rates of drugs in lyophilized formulations are affected by molecular mobility. The rate of acetyl transfer in PVP K30 and dextran 40k formulations with a constant  $T_g$ , observed at various temperatures, exhibited a temperature dependence similar to that of  $\tau$  at temperatures below  $T_g$ . Furthermore, the rates of acetyl transfer and the Maillard reaction in formulations containing  $\alpha$ -glucose polymers and oligomers increased, as the  $T_g$  of formulations decreased, either associated with decreases in molecular weight of excipient or with increases in water content. The observed  $T_g$  dependence was similar to that of  $\tau$  in the range of  $T_g$  higher than the experimental temperature. The results suggest a possibility that bimolecular reaction rate at temperatures below  $T_g$  can be predicted from that observed at the  $T_g$  on the basis of temperature dependence of structural relaxation time in amorphous systems, if the degradation rate is proportional to the diffusion rate of reacting compounds.

Keywords: lyophilized formulation, glass transition temperature, molecular mobility

Aso, Y., Yoshioka, S., Kojima, S.: **Molecular mobility-based estimation of the crystallization rates of amorphous nifedipine and phenobarbital in poly(vinylpyrrolidone) solid dispersions**

*J. Pharm. Sci.*, **93**, 384-391 (2004)

The overall crystallization rates and mean relaxation times of amorphous nifedipine and phenobarbital in the presence of poly(vinylpyrrolidone) (PVP) were determined at various temperatures in order to gain further insight into the effect of molecular mobility on the crystallization rates of amorphous drugs and the possibility of predicting stability from their molecular mobility. Nifedipine-PVP (9:1 w/w) and phenobarbital-PVP (95:5 w/w) solid dispersions were prepared by melting and rapidly cooling of mixtures of each drug and PVP. The amount of amorphous nifedipine remaining in the solid dispersion was calculated from the heat of crystallization, obtained by differential scanning calorimetry. The amount of amorphous phenobarbital remaining in the solid dispersion was estimated from the change in the heat capacity at its glass transition temperature ( $T_g$ ). Time required

for the amount of amorphous drug remaining to fall to 90% ( $t_{90}$ ) was calculated from the time profile of the amount of amorphous drug remaining. The  $t_{90}$  values for the solid dispersions studied were 100-1000 times longer than those of pure amorphous drugs when compared at the same temperature. Enthalpy relaxation of the amorphous drugs in the solid dispersions was reduced compared to the pure amorphous drugs, indicating that the molecular mobility of the amorphous drugs is reduced in the presence of PVP. The temperature dependence of mean relaxation time ( $\tau$ ) for the nifedipine-PVP solid dispersion was calculated using the Adam-Gibbs-Vogel equation. Parameters  $D$  and  $T_0$  in this equation were estimated from the heating rate dependence of  $T_g$ . Similar temperature dependence was observed for  $t_{90}$  and  $\tau$  values of the solid dispersion, indicating that the information on the temperature dependence of the molecular mobility, along with the crystallization data obtained at around the  $T_g$ , is useful for estimating the  $t_{90}$  of overall crystallization at temperatures below  $T_g$  in the presence of excipients.

Keywords: Crystallization, Stability, Relaxation time

坂本知昭, 檜山行雄, 小嶋茂雄: **品質管理における保証システムのあり方 その1 クロマトグラフ分析におけるデータ評価と品質保証システムのあり方—分析のばらつきが試験判定に与える影響—**

ファームテックジャパン, **20**, 65-72 (2004)

医薬品の有効性と安全性を確保するために、製造会社には Good Manufacturing Practice (GMP)に基づく保証システムを構築することが義務付けられており、そのシステムでは製造される医薬品の品質の恒常性を維持することが最も重要な課題としている。その恒常性が保たれていることを確認する手段の一つとして品質試験を行うが、通例は医薬品の「規格及び試験方法」により規定された試験を行い、各試験項目について合否を判定し、最終的にその医薬品の総合（出荷）判定が行われる。品質試験で重要なことは、試験で得られる結果及び判定の質を恒常的に維持することであり、そのためには開発段階からの情報や分析法、または分析者がもつ固有の偏りや「ばらつき」を制御又は管理することが有用な手段であると考えられる。品質試験業務の遂行において、特に最近では定量的試験に重要な役割を果たしているクロマトグラフ法を例として、得られる結果をどのようにして判定に反映し、また品質試験の質の恒常性を維持するための保証システムのあり方について考察を行った。

Keywords: quality risk management, HPLC analysis, double standard

小山 靖人, 檜山 行雄: **品質保証システムの構築を目的とした今後のGMPのあり方—薬事法改正とGMPのグローバル化に対応して 1.**

ファームテックジャパン **19**, 1343-1354 (2003)

小山靖人, 檜山行雄: **品質保証システムの構築を目的とした今後のGMPのあり方—薬事法改正とGMPのグローバル化に対応して 2.**

ファームテックジャパン **19**, 1533-1543 (2003)

わが国で流通する医薬品の品質保証システムのあるべき姿を構築することを目的として、平成14年度より檜山行雄（国立医薬品食品衛生研究所）を主任研究者とする厚生労働

科学研究 (H14- 医薬-04)「医薬品の最新の品質システムのあり方・手法に関する研究を開始した。初年度は、改正薬事法の施行を前提に現在のGMPの課題を取り込み、欧米との相互GMP査察にも耐えるGMPを提言することを研究目標とした。研究にあたって個別専門分野ごとに、品質保証システム 薬事法制とガイドライン 技術移管, および試験室管理の4班が編制され、品質保証の原理原則にもとづいた研究が実施された。

本報告では製造所における品質保証システムにかかわるGMP上の課題と問題点を考察し、薬事法制の体系、品質部門の役割と製造管理者・品質管理責任者の位置づけ・製造管理責任者の位置づけ、逸脱管理、変更管理、製品品質の照査、自己点検と内部監査、教育訓練重要事項として抽出した。これらの課題と問題点に対し、進展するGMPのグローバル化をも視野に入れるためCGMP・EU GMP・WHO GMP・ICH Q7Aを参照しながら研究を実施し、その結果を提言とその根拠としてまとめた。提言には関連した補足事項や反対意見も必要に応じて追記し、わが国のGMPの現状を把握できるように努めた。

Keywords: Good Manufacturing Practices(GMP), Quality Assurance, Pharmaceutical Affair Law

Ishii-Watabe, A., Uchida, E., Iwata, A.<sup>\*1</sup>, Nagata, R., Satoh, K.<sup>\*1</sup>, Fan, K.<sup>\*2</sup>, Murata, M.<sup>\*2</sup>, Mizuguchi, M., Kawasaki, N., Kawanishi, T., Yamaguchi, T., and Hayakawa, T.: **Detection of replication-competent adenoviruses spiked into recombinant adenovirus vector products by infectivity-PCR**

*Molecular Therapy*, **8**, 1009-1016 (2003)

The presence of replication-competent adenovirus (RCA) in clinical lots of adenovirus vectors raises a variety of safety concerns. In order to detect RCA in adenovirus vector products, the cell culture/cytopathic effect (CPE) method has generally been preferred. However, it is difficult to evaluate the amount of RCA clearly and quantitatively by this method. In addition, the cell culture/CPE method requires large-scale cell culturing and a substantial amount of time. For the purpose of establishing a method to detect RCA more sensitively and rapidly, we developed the infectivity PCR, a hybrid method that combines the infectivity assay and quantitative PCR. This method allows RCA to be quantified by real-time quantitative PCR using primers and a probe designed for E1 DNA. By infectivity PCR, 1 pfu of RCA spiked into 10<sup>9</sup> particles of adenovirus vectors could be detected. In contrast, CPE was observed in the cells infected with 10<sup>4</sup> pfu of RCA spiked into 10<sup>9</sup> particles of adenovirus vectors. The glass-beads method was suitable for extracting DNA rapidly from the RCA-infected cells. These results showed that the infectivity PCR combined with the glass-beads-based DNA extraction method was useful for the detection of RCA in adenovirus vector products.

Keywords: replication-competent adenovirus, adenovirus vector, infectivity PCR

\*1 埼玉県赤十字血液センター

\*2 JSR-KK 筑波研究所

Harazono, A., Ema, M. : **Suppression of decidual cell response induced by dibutyltin dichloride in pseudopregnant rats: as a cause of early embryonic loss**

*Reproductive Toxicology*, **17**, 393-399 (2003)

In our previous study, dibutyltin dichloride (DBTCl) caused pre-implantation embryonic loss and postimplantation embryonic loss in rats following administration at 7.6 mg/kg and above on days 0 to 3 and at 3.8 mg/kg and above on days 4 to 7 of pregnancy, respectively. This study was designed to assess the effects of DBTCl on uterine function as a cause of early embryonic loss using pseudopregnant rats. DBTCl was given orally to pseudopregnant rats at 3.8, 7.6, or 15.2 mg/kg on pseudopregnant day (PPD) 0 to PPD 3 or on PPD 4 to PPD 7. The decidual cell response was induced by bilateral uterine scratch 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 DBTCl at 7.6 mg/kg and above on PPD 0 to PPD 3 and PPD 4 to PPD 7. DBTCl had no effect on the serum estradiol levels and number of corpora lutea. Administration of progesterone reversed the suppression of uterine decidualization in rats given DBTCl on PPD 0 to PPD 3. It can be concluded that DBTCl suppresses the uterine decidual cell response and decreases progesterone levels, and these effects are responsible for early embryonic loss due to DBTCl exposure.

Key words: Dibutyltin dichloride, Decidual cell response, Rat

Gotoh, Y.<sup>\*1</sup>, Niimi, S., Hayakawa, T., Miyashita, T.<sup>\*2</sup> : **Preparation of lactose-silk fibroin conjugates and their application as a scaffold for hepatocyte attachment**

*Biomaterials*, **25**, 1131-1140 (2004)

We prepared glycoconjugates (Lac-CY-SF) by the homogenous chemical modification of solubilized silk fibroin (SF) with lactose bearing the galactose residue using cyanuric chloride (CY) as a coupling spacer and examined the usefulness of their application as a scaffold for hepatocyte attachment. The covalent immobilization of lactose into SF was assessed by several criteria including 1H-NMR measurements and reactions with lectins such as Ricinus communis agglutinin (RCA120) and fluorescein isothiocyanate-labeled RCA120 (FITC-RCA120). The 1H-NMR spectrum of Lac-CY-SF showed new broad peaks attributed to methine and methylene protons of lactose, and by the integrated intensities of the peaks the weight ratio of lactose to SF in Lac-CY-SF was determined to be 0.20. Addition of RCA120 to Lac-CY-SF solution caused an increase in the turbidity of the Lac-CY-SF solution. Incubation of Lac-CY-SF films with FITC-RCA120 showed that the fluorescence emitted from the whole surface of Lac-CY-SF films. Furthermore, we examined the effect of the Lac-CY-SF conjugate-coating onto polystyrene culture dishes on the attachment of rat hepatocytes and their morphology. Attachment of hepatocytes onto 0.1% (w/v) conjugate-coated dishes showed about an 8-fold increase as compared with that on uncoated dishes, being comparable to that on collagen-coated dishes, whereas the attachment on the SF-coated dishes was lower than that on uncoated dishes. Hepatocytes cultured onto the conjugate-coated dishes for 2.5 h showed smaller round-shaped morphology compared to those on collagen-coated dishes. After 2 days of culture in medium containing 100 nM insulin and 100 nM dexamethasone, hepatocytes on the conjugate-coated dish formed monolayer



islands with a slightly dispersed morphology, while hepatocytes cultured on collagen-coated dishes were uniformly spread flat. These results indicate that the Lac-CY-SF conjugates are useful as a scaffold for hepatocyte attachment, but the morphology of hepatocytes cultured on the conjugate-coated dishes is different from that on collagen-coated dishes.

**Keywords:** silk fibroin, Lactose, Glycoconjugates

\*1 生物資源研

\*2 東北大多元研

Tanaka, H.<sup>\*</sup>, Kawanishi, T., Shigenobu, K.<sup>\*</sup> : **Optical Bioimaging: From Living tissue to a single molecule: atrio-Ventricular difference in myocardial excitation-contraction coupling & Sequential versus simultaneous activation of SR Ca<sup>2+</sup> release units**, *J. Pharmacol.Sci.*, **93**, 248-252 (2003)

Rapid-scanning confocal microscopy has been applied to the analysis of early phase Ca<sup>2+</sup> transients in ventricular and atrial cardiomyocytes. On electrical stimulation of ventricular myocytes, Ca<sup>2+</sup> concentration begins to rise earliest at the Z-line level and becomes uniform throughout the cytoplasm within about 10 ms after the onset of the action potential; transsarcolemmal Ca<sup>2+</sup> influx triggers Ca<sup>2+</sup> release from release sites on the junctional sarcoplasmic reticulum (SR) coupled to T-tubules at the Z-line throughout the cytoplasm. In atrial myocytes lacking the T-tubular network, transsarcolemmal Ca<sup>2+</sup> influx during an action potential triggers SR Ca<sup>2+</sup> release only at subsarcolemmal region. SR Ca<sup>2+</sup> release then spreads towards the central region of the cell through a propagated Ca<sup>2+</sup>-induced-Ca<sup>2+</sup> release mechanism. The atrio-ventricular difference in excitation-contraction coupling mechanisms underlies some of the atrio-ventricular difference in response to physiological and pharmacological stimuli.

**Key words:** Calcium, Bioimaging, cardiomyocyte

\* 東邦大学薬学部

Tanaka, H.<sup>\*</sup>, Kawanishi, T., Shigenobu, K.<sup>\*</sup> : **Atrio-ventricular difference in myocardial excitation-contraction coupling -- influence of T-tubules and endocardial endothelium --**, *Recent. Res. Devel. Physiol.*, **1**, 253-262 (2003)

The Mechanism for triggering of Ca<sup>2+</sup> release from the sarcoplasmic reticulum and the functional significance of the endocardial endothelium were compared between atrial and ventricular myocardia. The early phase Ca<sup>2+</sup> transients in cardiomyocytes were visualized with rapid-scanning confocal microscopy. The difference of the response to various transmitters and pharmacological agents are compared between atrial and ventricular myocardia. From the results, the influence of T-tubules and endocardial endothelium on E-C coupling and inotropy is discussed.

**Key words:** calcium, cardiomyocyte, EC-coupling

\* 東邦大学薬学部

Kobayashi, T., Kawai, H., Suzuki, T., Kawanishi, T., and Hayakawa, T.: **Improved sensitivity for insulin in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry by premixing -cyano-4-hydroxycinnamic acid matrix with transferrin**

*Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 1156-1160 (2004).

This report describes an enhancement of the signal intensities of proteins and peptides in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOFMS). When  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA) premixed with human transferrin (Tf) was used as a matrix, the signal intensity of insulin was amplified to more than ten times that of the respective control in CHCA without Tf. The detection limit of insulin was 0.39 fmol on-probe in the presence of Tf, while it was 6.3 fmol in the absence of Tf. The signal intensity of insulin was also enhanced when the CHCA matrix was premixed with proteins other than Tf (80 kDa), such as horse ferritin (20 kDa), bovine serum albumin (BSA, 66 kDa), or human immunoglobulin G (150 kDa). The optimum spectrum of insulin was obtained when the added amount of protein was in the range 0.26-0.62 pmol, regardless of the molecular weight of the added protein. Tf and BSA outperformed the other tested proteins, as determined by improvements in the resulting spectra. When the mass spectra of several peptides and proteins were recorded in the presence of Tf or BSA, the signal intensities of large peptides such as glucagon were enhanced, though those of smaller peptides were not enhanced. In addition, the signal enhancement achieved with Tf and BSA was more pronounced for the proteins, including cytochrome C, than for the large peptides. This enhancement effect could be applied to improve the sensitivity of MALDI-TOFMS to large peptides and proteins.

**Key words:** protein, MALDI, TOF MS, CHCA

Yomura, K.<sup>\*1</sup>, Nakamura, Y.<sup>\*1</sup>, Ishimatsu, M.<sup>\*1</sup>, Kikuchi, Y.<sup>\*1</sup>, Hashimoto, K.<sup>\*1</sup>, Sakakibara, I.<sup>\*1</sup>, Terabayashi, S.<sup>\*1</sup>, Higuchi, M.<sup>\*1</sup>, Amagaya, S.<sup>\*1</sup>, Aburada, M.<sup>\*1</sup>, Okada, M.<sup>\*1</sup>, Kondo, S.<sup>\*2</sup>, Arimoto, K.<sup>\*3</sup>, Aimi, N.<sup>\*4</sup>, Goda, Y., Sekita, S., Satake, M.<sup>\*5</sup> : **Assay for the Total Alkaloids in Uncaria Thorn by HPLC**: *IyakuHinkenkyu*, **35**(3), 143-165 (2004).

Rhynchophylline and hirsutine are representative alkaloids in Uncaria species. In this paper, a high-performance liquid chromatographic (HPLC) method for the determination of total alkaloids (sum of rhynchophylline and hirsutine) is described and results of the studies on HPLC conditions, validation of analytical procedures, contents of total alkaloids in 69 specimens of Uncaria species, and quality specification of two reference materials, are discussed. Based on these studies, a method for the determination of total alkaloids in Japanese Pharmacopoeia "Uncaria Thorn" is proposed.

**Keywords:** Uncaria Thorn, Japanese Pharmacopoeia, total alkaloids

\*1 東京生薬協会

\*2 日本漢方生薬製剤協会

\*3 日本生薬連合会

\*4 千葉大薬学部

\*5 お茶の水女子大生活環境研究センター

Yamakoshi, Y., Umezawa, N.<sup>\*1</sup>, Ryu, A.<sup>\*2</sup>, Arakane, K.<sup>\*2</sup>, Miyata, N., Goda, Y., Masumizu, T.<sup>\*3</sup>, Nagano, T.<sup>\*1</sup> : **Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C60) as potential medicines - superoxide anion radical versus singlet oxygen -**

*J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 12803-12809 (2003).

In order to characterize fullerenes (C60 and C70) as photosensitizers in biological systems, the generation of active oxygen species, through energy transfer (singlet oxygen  $^1O_2$ ) and electron transfer (reduced active oxygen radicals such as superoxide anion radical  $O_2^{\cdot -}$  and hydroxyl radical  $OH$ ) was studied by a combination of methods, including biochemical (DNA-cleavage assay in the presence of various scavengers of active oxygen species), physicochemical (EPR radical trapping and near-infrared spectrometry) and chemical methods (nitro blue tetrazolium (NBT) method). Whereas  $^1O_2$  was generated effectively by photoexcited C60 in non-polar solvents such as benzene and benzonitrile, we found that  $O_2^{\cdot -}$  and  $OH$  were produced instead of  $^1O_2$  in polar solvents such as water, especially in the presence of a physiological concentration of a reductants including NADH. The above results, together with those of a DNA cleavage assay in the presence of various scavengers of specific active oxygen species, indicate that the active oxygen species primarily responsible for photoinduced DNA cleavage by C60 under physiological conditions are reduced species such as  $O_2^{\cdot -}$  and  $OH$ .

Keyword: photoexcited fullerene, superoxide anion radical, singlet oxygen

\* 東大院薬

\* コーセー研究所

\* 日本電子応用研究センター

T. Shoji\*, M. Mutsuga, T. Nakamura, T. Kanda\*, H. Akiyama, Y. Goda:

**Isolation and structural elucidation of some procyanidins from apple by low-temperature nuclear magnetic resonance**  
*J. Agric. Food Chemistry*, **51**, 3806-3813 (2003).

Procyanidin fractions from apple were separated according to the degree of polymerization using normal phase chromatography. Evaluation of physiological functionalities of procyanidins requires individual structural determination. However, it is difficult to elucidate the structure of procyanidins, in particular those with (+)-epicatechin (1) or (-)-catechin (2) units, and determine whether the interflavanoid bonds are  $4\beta \rightarrow 8$  or  $4\beta \rightarrow 6$  without cleavage and acetylation. Structural determination used LC-MS and low-temperature NMR. Nine procyanidins were separated by preparative HPLC consisting of three well-known procyanidins [procyanidin B1 (3), procyanidin B2 (4), and procyanidin C1 (5)] and six new procyanidins [epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-catechin (6); epicatechin-( $4\beta \rightarrow 6$ )-epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-catechin (7); epicatechin-( $4\beta \rightarrow 6$ )-epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-epicatechin (8); epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-epicatechin-( $4\beta \rightarrow 6$ )-catechin (9); epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-epicatechin-( $4\beta \rightarrow 6$ )-epicatechin (10); and epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-epicatechin-( $4\beta \rightarrow 8$ )-epicatechin (11)]. Compounds 6-11 were detected for the first time as apple constituents.

Keywords: procyanidin tetramer, low temperature NMR, apple polyphenol

\* アサヒビール基盤研究所

Shirota, O., Hakamata, W., Goda, Y.: **Concise Large-Scale Synthesis of Psilocin and Psilocybin, Principal Hallucinogenic**

**Constituents of "Magic Mushroom"**

*J. Nat. Prod.*, **66**, 885-887 (2003).

The concise large-scale syntheses of psilocin and psilocybin, the principal hallucinogenic constituents of "magic mushroom", were achieved without chromatographic purification. The key step in the synthesis of psilocybin was the isolation of the dibenzyl-protected intermediate as a zwitterionic derivative, which was completely identified by means of 2D-NMR analyses.

Keywords: @psilocin, psilocybin, concise large-scale synthesis

Shirota, O., Pathak, V., Sekita, S., Satake, M., Nagashima, Y.\*, Hirayama, Y.\*, Hakamata, Y.\*, Hayashi, T.\*: **Phenolic Constituents from *Dalbergia cochinchinensis***

*J. Nat. Prod.*, **66** 1128-1131 (2003).

Three new phenolic compounds (1-3), along with five known phenolics, 4'-hydroxy-2'-methoxychalcone (4), latinone (5), dalbergiphenol (6), 7-hydroxyflavanone, and dalbergin (7), have been isolated from the stems of *Dalbergia cochinchinensis*. The structures of 1-3 were established by spectroscopic techniques including 1D- and 2D-NMR methods. The inhibitory activity against testosterone 5 $\alpha$ -reductase, which causes androgen-dependent diseases, was also examined for selected compounds.

Keywords: *Dalbergia cochinchinensis*, phenolics, testosterone 5 $\alpha$ -reductase inhibition

\* ライオン (株)

Maruyama T., Yokoyama K. <sup>1</sup>, Makino Y. <sup>2</sup>, Goda Y.: **Phylogenetic relationship of psychoactive fungi based on the rRNA gene for a large subunit and their identification using the TaqMan assay**

*Chem. Pharm. Bull.*, **51** (6), 710-714 (2003).

"Magic mushrooms" (MMs) are psychoactive fungi containing the hallucinogenic compounds, psilocin (1) and psilocybin (2). Since June 6, 2002, these fungi have been regulated by the Narcotics and Psychotropics Control Law in Japan. Because there are many kinds of MMs and they are often sold even as dry powders in local markets, it is very difficult to identify the original species of the MMs by morphological observation. Therefore, we investigated the rRNA gene for a large subunit (LSU) of several MMs to classify them by a genetic approach. In this paper, we described the phylogeny of species of MMs based on the partial sequence (about 970 bp) of the LSU and the rapid identification of MMs using the TaqMan PCR assay.

Keywords; magic mushroom; rRNA large subunit; TaqMan PCR; genus *Psilocybe*;

genus *Panaeolus*

<sup>1</sup> Shiga university

<sup>2</sup> Kanto-Shin'etsu Regional Narcotic Control Office, Ministry of Health, Labor and Welfare

Kaddoumi A.\*, Kikura-Hanajiri R., Nakashima K.\*: **High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for the simultaneous determination of 3,4-methylenedioxymethamphetamine, methamphetamine and their metabolites in human hair using DIB-Cl as a label**

*Biomedical Chromatography*, 18 (3), 202-204 (2004)

This paper describes a highly sensitive HPLC method for the simultaneous determination of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), amphetamine (AP) and methamphetamine (MP) in human hair samples. The amphetamines investigated were derivatized with the fluorescent reagent, DIB-Cl to yield highly fluorescent DIB-derivatives, which were then analyzed by HPLC with fluorescence detection at excitation and emission wavelengths of 325 nm and 430 nm, respectively. The separation was achieved on an ODS column with an isocratic mobile phase composed of acetonitrile-methanol-water (30:40:30, v/v/v). The limits of detection for the four compounds obtained by the proposed method ranged from 11 to 200 pg/mg. The method was successfully applied to the determination of MDMA and MDA in hair samples obtained from MDMA abuser.

Keywords: MDMA, hair, HPLC-fluorescence

\* 長崎大学

Kawahara, N., Inoue, M., Kawai, K.<sup>\*1</sup>, Sekita, S., Satake, M.<sup>\*2</sup>  
Yukihiro Goda: **Diterpenoid from *Salvia greggii***  
*Phytochemistry*, 63 (8) 859-862 (2003).

The structure of a new diterpenoid designated as salvigresin (1), isolated from the aerial parts of *Salvia greggii*, has been confirmed by spectroscopic investigation and X-ray analysis.

Key words salvigresin; *Salvia greggii*; autumn sage

\*1 星薬科大学

\*2 お茶の水女子大

Kuroyanagi, M.<sup>\*1</sup>, Kawahara, N., Sekita, S., Satake, M., Hayashi, T.<sup>\*2</sup>, Takase, Y.<sup>\*2</sup>, Masuda, K.<sup>\*3</sup>: **Dammarane-Type Triterpenes from the Brazilian Medicinal Plant *Cordia multispicata***  
*J. Nat. Prod.*, 66 (10), 1307-1312, (2003).

From the Brazilian medicinal plant *Carucaa* (*Cordia multispicata*), oleanane- and ursane-type triterpenoids were previously reported as anti-androgenic constituents of the plant. In this study, purification of the polar elements of the EtOAc-soluble fraction of the plant revealed nine novel dammarane-type triterpenes, named cordianols A-I (1-9) along with the known compound cordialin A (10). The structures of these new compounds were elucidated by means of spectral methods including HRFABMS, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, and 2D NMR (HMQC, HMBC, NOESY). Absolute configuration at C-23 of compound 7 was determined by an excitone chirality method. Some of these new compounds revealed a hemiketal structure on the A ring and a hydroxylated or epoxidated 20(22)-(E)-ene side chain and showed weak anti-androgenic activity.

Key words dammarane-type triterpenoid; Brazilian medicinal plant; *Cordia multispicata*

\*1 広島県立大学生物資源学部

\*2 ライオン (株)

\*3 昭和薬科大学

Gao, H.<sup>\*1</sup>, Wu, L.<sup>\*1</sup>, Kuroyanagi, M.<sup>\*2</sup>, Harada, K.<sup>\*2</sup>, Kawahara, N., Nakane, T., Umehara, K.<sup>\*3</sup>, Hirasawa, A.<sup>\*3</sup>, Nakamura, Y.<sup>\*3</sup>:

**Antitumor-Promoting Constituents from *Chaenomeles sinensis* KOEHNE and Their Activities in JB6 Mouse Epidermal Cells** *Chem. Pharm. Bull.*, 51 (11), 1318-1321 (2003).

Primary screening of antitumor-promoting activity using soft agar colony assays with JB6 cells was employed to isolate 22 compounds from *Chaenomeles sinensis* KOEHNE. These compounds were lyoniresinol-2a-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (1), lyoniresinol-2a-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (2), aviculin (3), betulinic acid (4), betulin (5), 3-O-(E)-p-coumaroylbetulin (6), 3-O-(E)-caffeoylbetulin (7), 3-O-(Z)-p-coumaroylbetulin (8), 3-O-(E)-caffeoyllupeol (9), alphitolic acid (10), sorbikortal II (11), tormentic acid (12), euscaphic acid (13), corosolic acid (14), maslinic acid (15), erythrodiol (16), 1- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzene (17), avicularin (18), 7-O- $\beta$ -D-glucopyranosylkaempferol (19), 5-O- $\beta$ -D-glucopyranosylgenistein (20), 7-O- $\beta$ -D-glucopyranosylgenistein (21), epicatechin (22), and  $\beta$ -sitosterol (23) and were identified using spectral data such as MS, <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR. Compound 1, having a rhamnosyl group, showed greater activity than 2, having a glucosyl group, and 3, which was a bis-demethoxy derivative of 1. Betulinic acid (4), having a C-28 carboxyl group, 3-O-(E)-caffeoylbetulin (7), and tormentic acid (12) showed more potent activity than betulin (5), which has a C-28 hydroxymethyl group.

Key words antitumor-promoting constituent; JB6 mouse epidermal cell; (*Chaenomeles sinensis*);

\*1 瀋陽薬科大学

\*2 広島県立大学生物資源学部

\*3 静岡県立大学薬学部

Nahoko Uchiyama, Michiho Ito,<sup>\*3</sup> Fumiyuki Kiuchi, Gisho Honda,<sup>\*1</sup> Yoshio Takeda,<sup>\*2</sup> Olimjon K. Khodzimatov,<sup>\*3</sup> and Ozodbek A. Ashurmetov<sup>\*3</sup>: **A trypanocidal Diterpene with Novel Skeleton from *Dracocephalum komarovi***  
*Tetrahedron Letters* 45, 531-533 (2004)

A new diterpene, komarovispirone (1) with a spiro-octahydroindene skeleton, was isolated from *Dracocephalum komarovi*. The structure was elucidated by extensive analyses of spectral data. Komarovispirone (1) showed trypanocidal activity against epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of American trypanosomiasis, with a minimum lethal concentration of 23  $\mu$ M

Keywords: *Dracocephalum komarovi*; diterpene; spiro lactone; *Trypanosoma cruzi*; trypanocidal activity.

\*1: Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University,

\*2: Faculty of Integrated Arts and Sciences, The University of Tokushima, ,

\*3: Scientific Production Center "Botanika" of Uzbek Academy of Sciences,

Satoh, K.<sup>\*1</sup>, Iwata, A., Murata, M.<sup>\*2</sup>, Hikata, M.<sup>\*2</sup>, Hayakawa, T. and Yamaguchi, T.: **Virus Concentration Using Polyethyleneimine-conjugated magnetic beads for improvement of sensitivity in nucleic acid amplification tests**

*J. Virol. Methods*, **114**, 11-19 (2003)

To enhance the sensitivity of virus detection by polymerase chain reaction (PCR) and reverse-transcriptional (RT)-PCR, we developed a novel virus-concentration method using polyethyleneimine-conjugated (PEI-) magnetic beads. PEI-magnetic beads efficiently adsorbed the enveloped viruses, Sindbis virus, Herpes Simplex 1 virus, and the nonenveloped virus SV-40, but not the nonenveloped viruses porcine parvovirus (PPV) or poliovirus, based on PCR detection data. Furthermore, the infectivity in the supernatant of former viruses was markedly reduced with the incubation with PEI-magnetic beads. The real-time PCR or RT-PCR revealed that DNA viruses were concentrated to a maximum of about x100 times as the expected value, while RNA viruses were concentrated over a thousand times, which was more than expected. We conclude that the PEI-magnetic beads are a novel superior method for the concentration of viruses except for some non-enveloped viruses, resulting the enhancement of sensitivity on virus detection by PCR or RT-PCR.

**Keywords:** Virus, PCR, polyethyleneimine

<sup>\*1</sup> Institute of Saitama Red Cross

<sup>\*2</sup> JSR Corporation

Iwata, A., Satoh, K.<sup>\*1</sup>, Murata, M.<sup>\*2</sup>, Hikata, M.<sup>\*2</sup>, Hayakawa, T. and Yamaguchi, T.: **Virus concentration using sulfonated magnetic beads to improve sensitivity in nucleic acid amplification tests.**

*Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 1065-1069 (2003)

To enhance the sensitivity of virus detection by polymerase chain reaction (PCR) and reverse-transcriptional (RT)-PCR, we developed a novel virus-concentration method using sulfonated (SO-) magnetic beads in the presence of divalent cations. In the presence of either Zn<sup>2+</sup> or Cu<sup>2+</sup> ions, we showed that SO-magnetic beads were able to concentrate non-enveloped model viruses, such as porcine parvovirus (PPV) and poliovirus, which were not concentrated by polyethyleneimine (PEI)-magnetic beads [1]. Using the SO-magnetic beads, the sensitivity of virus genome detection by PCR or RT-PCR can be enhanced. Therefore, an efficient virus concentration method using either SO-magnetic beads or PEI-magnetic beads enhances the sensitivity of virus detection by PCR or RT-PCR.

**Key words:** PCR, virus, divalent cation,

<sup>\*1</sup> Institute of Saitama Red Cross

<sup>\*2</sup> JSR Corporation

Iwata, A., Yamaguchi, T., Satoh, K.<sup>\*1</sup>, Izumi, R.<sup>\*2</sup> and Tomoda, A.<sup>\*2</sup>: **Antiviral activity of 2-amino-4,4-dehydro-4-7-dimethyl-3H-phenoxazine-3-one on Poliovirus.**

*Tohoku J. Exp. Med.*, **200**, 161-165 (2003)

2-amino-4,4-dehydro-4-7-dimethyl-3H-phenoxazine-3-one (Phx), which was produced by the reaction of bovine hemoglobin with 2-amino-5-methylphenol, inhibited the proliferation of poliovirus in Vero cells between 0.25 g/ml and 2 g/ml with maximal antiviral activity at 1 g/ml. These results suggest that Phx may be useful to prevent the proliferation of poliovirus infection.

**Keywords:** poliovirus, antiviral effect,

<sup>\*1</sup> Institute of Saitama Red Cross

<sup>\*2</sup> Tokyo Medical School

Itoh, T.<sup>\*1,2</sup>, Kuwahara, T.<sup>\*1</sup>, Suzuki, T., Hayashi, M. and Ohnishi, Y.<sup>\*2</sup>: **Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the cII gene in lambda/lacZ transgenic mice.**

*Mutation Res.*, **539**, 99-108 (2003)

We assessed the mutagenicity of four orally administered HCAs; PhIP, IQ, MeIQ, and Trp-P-2 in the intestine of male MutaMice. Two weeks after the last administration, we isolated epithelium from the small intestine, cecum, and colon and analyzed lacZ and cII transgene mutations. PhIP increased the lacZ mutant frequency (MF) in all the samples, and in the small intestine, cII and lacZ MFs were comparable. In the cII gene, G:C to T:A and G:C to C:G transversions were characteristic PhIP-induced mutations (which has also been reported for the rat colon, where PhIP is carcinogenic). In the small intestine, PhIP increased the cII MF to four-fold that of the control, but IQ, MeIQ, and Trp-P-2 did not have a significant mutagenic effect. In the cecum, cII MFs induced by IQ and MeIQ were 1.9 and 2.7 times those in the control, respectively. The MF induced by MeIQ in the colon was 3.1 times the control value. Mutagenic potency was in the order PhIP>MeIQ>IQ; Trp-P-2 did not significantly increase the MF in any tissue. The cecum was the most susceptible organ to HCA mutagenicity.

**Keywords:** cII, heterocyclic amine, intestine

<sup>\*1</sup> 大塚製薬(株)徳島研究所

<sup>\*2</sup> 徳島大学医学部

Yamada, K.<sup>\*1</sup>, Suzuki, T., Hakura, A.<sup>\*2</sup>, Mizutani, T.<sup>\*1</sup> and Saeki, K.<sup>\*1</sup>: **Metabolic activation of 10-aza-substituted benzo[a]pyrene by cytochrome P450 1A2 in human liver microsomes**

*Mutation Res.*, **557**, 159-165 (2004)

To investigate the cytochrome P450 (CYP) isoform involved in the activation of 10-azaBaP, the mutagenicity of 10-azaBaP using nine individual donors' and pooled human liver microsome preparations was compared with each CYP activity. Induced revertants by 10-azaBaP with human liver microsomal protein showed a large inter-individual variation (42-fold) among the nine donors. The number of induced revertants highly correlated with the CYP1A2-selective catalytic activity from each microsome preparation, and no correlation was observed with other CYP isoforms. Moreover, recombinant human CYP1A2 contributed to the mutagenicity of 10-azaBaP more markedly than recombinant human CYP1A1. These results suggest that CYP1A2 may be the principal enzyme responsible for the metabolic activation of 10-azaBaP in human liver microsomes.

**Keywords:** cII, CYP1A2, aza-substitution

<sup>\*1</sup> 名古屋市立大学大学院薬学研究所

<sup>\*2</sup> エーザイ(株)

Yamada, K.<sup>\*</sup>, Suzuki, T., Kohara, A., Hayashi, M., Mizutani, T. and Saeki, K.<sup>\*</sup>: **In vivo mutagenicity of benzo[f]quinoline, benzo[h]quinoline, and 1,7-phenanthroline using the lacZ transgenic mice**

*Mutation Res.*, **559**, 83-95 (2004)

We investigated the *in vivo* mutagenicity of BfQ, BhQ and 1,7-Phe by an *in vivo* mutation assay system using the lacZ transgenic mouse (Muta Mouse). BfQ and BhQ only slightly induced mutation in the liver and lung, respectively. BfQ- and BhQ-induced cII mutant spectra showed no characteristics compared with that of the control. These results suggest that the *in vivo* mutagenicities of BfQ and BhQ were equivocal. On the other hand, 1,7-Phe showed potent and weak mutagenicity in the liver and the lung, respectively. Furthermore 1,7-Phe depressed the G:C to A:T transition and increased the G:C to C:G transversion in the liver like quinoline, a hepatocarcinogen possessing the partial structure of 1,7-Phe, compared with the spontaneous mutation spectrum. These results suggest that the *in vivo* mutagenicity of 1,7-Phe might be caused by the same mechanism as that of quinoline, which induced the same mutational spectrum change (G:C to C:G transversion).

**Keywords:** cII, aza-substitution, mutation spectrum

\* 名古屋市立大学大学院薬学研究科

Arlt, V.M.<sup>\*1</sup>, Zhan, L., Schmeiser, H.H.<sup>\*2</sup>, Honma, M., Hayashi, M., Phillips, D.H.<sup>\*1</sup> and Suzuki, T.: **DNA adducts and mutagenic specificity of the ubiquitous environmental pollutant 3-nitrobenzanthrone in Muta Mouse**

*Environ. Mol. Mutagen.*, **43**, 186-195 (2004)

3-Nitrobenzanthrone (3-NBA) is an extremely potent mutagen in the Salmonella reversion assay and a suspected human carcinogen identified in diesel exhaust and in ambient airborne particulate matter. To evaluate the *in vivo* mutagenicity of 3-NBA, we analyzed the mutant frequency (MF) in the cII gene of various organs (lung, liver, kidney, bladder, colon, spleen, and testis) in lambda/lacZ transgenic mice (Muta Mouse) after intraperitoneal treatment with 3-NBA (25 mg/kg body weight injected once a week for 4 weeks). Increases in MF were found in colon, liver, and bladder, whereas no increase in MF was found in lung, kidney, spleen, and testis. The proportion of G:C→T:A transversions in the mutants from 3-NBA-treated mice was higher (49% vs. 6%) and the proportion of G:C→A:T transitions was lower than those from untreated mice (10% vs. 66%). The increase in MF in the liver was associated with strong DNA binding by 3-NBA, whereas in lung, in which there was no increase in MF, a low level of DNA binding was observed. DNA adduct patterns with multiple adduct spots, qualitatively similar to those formed *in vitro* after activation of 3-NBA with nitroreductases and *in vivo* in rats, were observed in all tissues examined. Using HPLC analysis, we confirmed that all major 3-NBA-DNA adducts produced *in vivo* in mice are derived from reductive metabolites bound to purine bases (70-80% with deoxyguanosine and 20-30% with deoxyadenosine in liver). These results suggest that G:C→T:A transversions induced by 3-NBA are caused by misreplication of adducted guanine residues through incorporation of adenine opposite the adduct (A-rule).

**Keywords:** 3-nitrobenzanthrone, diesel exhaust, DNA adduct

<sup>\*1</sup> Institute of Cancer Research, Surrey, UK

<sup>\*2</sup> German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

Oshizawa, T., Yamaguchi, T., Suzuki, K., Yamamoto, Y.\* and Hayakawa, T.: **Possible Involvement of Optimally Phosphorylated L-plastin in Activation of Superoxide-Generating NADPH Oxidase.**

*J. Biochem.*, **134**, 827-834 (2003)

The involvement of protein phosphatases in the activation of superoxide (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) generating enzyme in human neutrophils was examined using calyculin A, an inhibitor of protein phosphatase type 1 and 2A. Calyculin A inhibited the phorbol myristate acetate (PMA)- and opsonized zymosan (OZ)-activated O<sub>2</sub><sup>-</sup> generation by human neutrophils. This inhibitory effect of calyculin A on PMA-activated O<sub>2</sub><sup>-</sup> generation was reversed by the addition of KT5926, a specific inhibitor of myosin light chain kinase and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II. These results suggest that the addition of calyculin A may cause hyperphosphorylation of some protein(s) that plays a crucial role in the PMA-dependent activation of O<sub>2</sub><sup>-</sup> generating enzyme, and that this protein hyperphosphorylation may be evoked by a KT5926-sensitive kinase or its downstream kinase. Whereas two-dimensional analysis involving <sup>32</sup>P revealed that calyculin A caused the hyperphosphorylation of many proteins, KT5926 mainly reduced the calyculin A-induced hyperphosphorylation of a 67kDa protein in activated neutrophils, suggesting that the hyperphosphorylation of the 67kDa protein might inhibit the PMA-dependent activation of NADPH oxidase. The 67kDa cytosolic protein was moderately phosphorylated on the addition of PMA. On the other hand, in the absence of calyculin A, KT5926 inhibited both PMA-induced O<sub>2</sub><sup>-</sup> generation and phosphorylation of the 67kDa protein. Amino acid sequence analysis of peptides derived from the 67kDa protein revealed that the 67kDa protein was identical to L-plastin, an actin-bundling protein. We conclude that optimally phosphorylated L-plastin may play some crucial role in the activation of NADPH oxidase.

**Keywords:** human neutrophils, L-plastin, NADPH oxidase

\* 東京都臨床医学総合研究所

Kaneyasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Uchida, E. and Hayakawa, T.: **The role of c-Myc on granulocyte colony-stimulating factor-dependent neutrophilic proliferation and differentiation of HL-60 cells.**

*Biochem. Pharm.*, **66**, 133-140 (2003)

We have previously suggested that phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/p70 S6 kinase (p70 S6K) plays an important role in the regulation of neutrophilic differentiation of HL-60 cells on the basis of analysis of transferrin receptor (Trf-R)-positive (Trf-R<sup>+</sup>) and -negative (Trf-R<sup>-</sup>) cells that appear after treatment with dimethyl sulfoxide (Me<sub>2</sub>SO). In the present study, we analyzed the downstream events of p70 S6K in differentiation and proliferation of both cell types, with a particular focus on c-Myc. Similar to p70 S6K, we found that the expression of c-Myc in Trf-R<sup>+</sup> cells is also higher than that in Trf-R<sup>-</sup> cells. Wortmannin, a specific inhibitor of PI3K, partially inhibited G-CSF-induced p70 S6K activity, c-Myc expression, and G-CSF-dependent proliferation, whereas rapamycin, an inhibitor of p70 S6K, completely inhibited p70 S6K activity, c-Myc expression, and G-CSF-dependent proliferation, indicating that the extent of c-Myc inhibition by these

inhibitors correlates with a reduction in proliferation, and that c-Myc is downstream from PI3K/p70 S6K. An anti-sense oligonucleotide for c-myc inhibited both G-CSF-dependent enhancement of c-Myc expression and proliferation in Trf-R<sup>+</sup> cells, but did not enhance the differentiation in these cells in terms of their O<sub>2</sub>-generating ability. We therefore conclude that the PI3K/p70 S6K/c-Myc cascade plays a primary role in neutrophilic proliferation in HL-60 cells. Unlike rapamycin, however, the anti-sense oligonucleotide for c-myc could not promote differentiation of Trf-R<sup>+</sup> cells cultured with G-CSF, indicating that another target downstream from p70 S6K may control the differentiation of HL-60 cells.

Key words: c-Myc, p70 S6 kinase, G-CSF

Haishima, Y., Hasegawa, C., Yagami, T., Tsuchiya, T., Matsuda, R., Hayashi, Y.: **Estimation of uncertainty in kinetic-colorimetric assay of bacterial endotoxins**

*J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**, 495-503 (2003)

The relative standard deviation (RSD) of measurements is estimated in the kinetic-colorimetric assay of bacterial endotoxins without recourse to the usual repeated experiments. The measurements are the slopes of kinetic curves and two major factors are considered to cause the uncertainty of the measurements: (1) the pipetting of the sample and color development reagent; and (2) noise in the detection unit. The measurement RSD is formulated as a function of endotoxin concentration. Two parameters (SD of the pipetted volumes and SD of the detector noise) are also required in the uncertainty equation, but no arbitrary coefficients are included. Since the SD values for pipettes and detector noise can be determined independently of the endotoxin assays, the measurement RSD can be estimated by the above equation without repeating the assays. However, the calibration curve is necessary. The theoretical estimation is shown to be in good agreement with the experimental RSD (n=12) over a wide concentration range.

Keywords: endotoxin, LAL test, method validation

Haishima, Y., Matsuda, R., Hayashi, Y., Hasegawa, C., Yagami, T., Tsuchiya, T.: **Risk assessment of di(2-ethylhexyl) phthalate released from PVC blood circuits during hemodialysis and pump-oxygenation therapy**

*Int. J. Pharm.*, **274**, 119-129 (2004)

This study deals with in vitro investigation of the release of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) during hemodialysis and pump-oxygenation therapy using medical grade PVC tubing. High resolution GC-MS analysis showed that the release of DEHP was time-dependently increased by circulation of bovine blood into a major system for the hemodialysis that is used in Japan, and the amount of DEHP released into the blood had reached 7.3 mg by 4 hr of circulation. No significant difference was observed in the release patterns of DEHP under the conditions with and without fluid removal treatment during hemodialysis, indicating that the treatment seems not to be effective for eliminating DEHP from the blood through the hemodialysis membrane. Mono(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) analysis revealed that a small amount of DEHP (3-4 %) was converted to MEHP by hydrolysis

during the circulation of blood. A considerable amount of DEHP was also released from the PVC circuit mimicking the pump-oxygenation system, and 7.5 - 12.1 mg of DEHP had migrated into bovine blood from the circuit by 6 hr. It was noticed, however, that the release was obviously suppressed by covalently coating the inner surface of the PVC tubing with heparin, though this effect was not observed with ionic bond type-heparin coating. Covalent bond type-heparin coating of PVC tubing seems to offer the advantage of decreasing the amount of DEHP exposure to patients during treatment using a PVC circuit.

Keywords: DEHP, PVC products, risk assessment

Futaki, S.<sup>1</sup>, Zhang, Y.<sup>1</sup>, Kiwada, T.<sup>1</sup>, Nakase, I.<sup>1</sup>, Yagami, T., Oiki, S.<sup>2</sup>, Sugiura, Y.<sup>1</sup>: **Gramicidin-based channel systems for the detection of protein-ligand interaction**

*Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 1343-1350 (2004)

To detect protein-ligand interaction a gramicidin-based sensor was developed. Biotin was tagged to the C-terminus of gramicidin (Gram-bio 1). The biotin-moiety, which faces the electrolyte, gave little effect on single-channel conductance. Streptavidin added to the electrolyte was detected by Gram-bio 1 through the monitoring channel current using the planar bilayer system. The suppression of macroscopic currents and the acceleration of their decaying time course were observed in a concentration dependent manner. In the single-channel level, however, no significant effect on the single-channel conductance and the open dwell time was observed upon addition of streptavidin. Therefore, streptavidin neither blocked the open channel nor changed the stability of the conducting dimer. Insertion of a linker between gramicidin and biotin did not change the streptavidin-sensitivity of the current reduction. We conclude that the binding of streptavidin to the Gram-bio 1 shifted the distribution of the complex from the membrane to the electrolyte and, thus, reduced the formation of conducting dimer of Gram-bio 1 in the membrane. Interaction of biotin with an anti-biotin antibody was also observed using this system, indicating that this system is applicable for the detection of protein-ligand interaction having a binding constant of approximately 10<sup>8-9</sup> M<sup>-1</sup> or more. Both the adamantane-tagged gramicidin for detection of beta-cyclodextrin and the Strep Tag-II-tagged gramicidin for detection of streptavidin (binding constant: approximately 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> or less) failed to respond. Thus, high-affinity ligands upon tagging to gramicidin render the gramicidin-based sensor able to execute as a real-time monitoring system for protein-ligand interaction.

Keywords: artificial ion-channel, protein-ligand interaction, synthetic peptide

<sup>1</sup> Institute for Chemical Research, Kyoto University

<sup>2</sup> Fukui Medical University

Kitagawa, K.<sup>1</sup>, Adachi, H.<sup>1</sup>, Sekigawa, Y.<sup>1</sup>, Yagami, T., Futaki, S.<sup>2</sup>, Jun Gu, Y.<sup>3</sup>, Inoue, K.<sup>3</sup>: **Total chemical synthesis of large CCK isoforms using a thioester segment condensation approach**

*Tetrahedron*, **60**, 907-918 (2004)

Silver-ion mediated thioester segment condensation was applied to the chemical synthesis of high molecular weight isoforms of

cholecystokinin (CCK). Three building blocks, a C-terminal Tyr(SO<sub>3</sub>H)-containing segment and two partially protected thioester segments having a C-terminal Pro residue, were prepared using Fmoc-based chemistry and 2-chlorotrityl chloride (Clt) resin as a solid support. The entire peptide chain was successfully synthesized by two consecutive silver-ion mediated condensation reactions using these building blocks. A brief TFA treatment of the final condensation product gave highly homogeneous CCK-58 in a satisfactory yield. This peptide exhibited glucose-dependent insulinotropic activity at levels comparable to CCK-33. These results demonstrate the usefulness of the silver-ion mediated segment condensation approach in the preparation of large sulfated peptides.

**Keywords:** sulfated peptide, cholecystokinin, peptide thioester

<sup>1</sup> Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences

<sup>2</sup> Institute for Chemical Research, Kyoto University

<sup>3</sup> Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

Akimoto, R.<sup>1</sup>, Mishima, E.<sup>1</sup>, Washizaki, K.<sup>1</sup>, Kanto, H.<sup>1</sup>, Itoh, M.<sup>1</sup>, Kaniwa, M.-A.: **A case of contact dermatitis due to a rubber knee belt**

*Environmental Dermatology*, **10** (1), 33-38 (2003)

膝用ベルトによりアレルギー性接触皮膚炎を生じた事例において、天然ゴム製ベルトに使用されていたメルカプトチアゾール系加硫促進剤の2-mercaptobenzothiazole (MBT)が原因化学物質であったことを明らかにした。

**Keywords:** rubber knee belt, allergic contact dermatitis, mercaptobenzothiazole-type accelerator

<sup>1</sup> 東邦大学医

Nakamura, A.<sup>1</sup>, Kanazawa, Y.<sup>2</sup>, Sato, H.<sup>3</sup>, Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., De Jong W.H.<sup>4</sup>, Andersein, K.E.<sup>5</sup>, Knudsen, B.B.<sup>6</sup>: **Evaluation of allergic potential of rubber products: comparison of sample preparation methods for the testing of polymeric medical devices**

*J. Toxicol. Cut. & Ocular Toxicol.*, **22**, 169-185 (2003)

A round-robin study was organized in the international standardization working group, ISO/TC194/WG8, with the purpose to compare the efficacy of different sample preparation procedures for determining the sensitization potency of polymeric medical devices. Three rubber samples were supplied: A, formulated with a high level of mercaptobenzothiazole (MBT); B, with a low level of MBT; and C, with zinc dibutylthiocarbamate. Extraction protocols included the ISO method that applies physiological saline and/or vegetable oil extraction media without concentration (simple extraction) and the Japanese method that applies chloroform-acetone extract after concentration to the test systems (exhaustive extraction). Patch testing in humans indicated that sample A and B were able to elicit delayed-type contact allergy in subjects previously sensitized to MBT, and that the order of eliciting potential was A=B>>C. According to the exhaustive extraction protocols, samples A and B were both identified as sensitizers, while sample C was identified as a weak or nonsensitizer by all animal test methodologies. In contrast, the simple extraction protocol gave sometimes weakly positive but sometimes negative or ambiguous results. The exhaustive method seems to be

more sensitive than the simple extraction method for identifying sensitizing hazard of lipophilic chemicals contained in polymeric materials.

**Keywords:** rubber, extraction medium, sensitization potency

<sup>1</sup> Consultant

<sup>2</sup> Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

<sup>3</sup> Chitose Institute, Japan Food Research Laboratories

<sup>4</sup> National Institute for Public Health and the Environment, The Netherlands

<sup>5</sup> Odense University Hospital, University of Southern Denmark

<sup>6</sup> University Hospital of Copenhagen

Matsuoka, A., Lundin, C.<sup>\*</sup>, Johansson, F.<sup>\*</sup>, Sahlin, M.<sup>\*</sup>, Fukuhara, K., Sjoberg, BM<sup>\*</sup>, Jenssen, D.<sup>\*</sup>, Onfelt, A.<sup>\*</sup>: **Correlation of sister chromatid exchange formation through homologous recombination with ribonucleotide reductase inhibition**

*Mutat. Res.*, **547**, 101-107 (2004)

We conducted the recombination and sister chromatid exchange (SCE) assays with hydroxyurea (HU), resveratrol, 4-hydroxy-trans-stilbene, 3-hydroxy-trans-stilbene, and mitomycin C in Chinese hamster cell line SPD8/V79 to confirm directly that SCE is a result of homologous recombination (HR). SPD8 has a partial duplication in exon 7 of the endogenous *hprt* gene and can revert to wild type by HR. All chemicals were positive in both assays except for 3-hydroxy-trans-stilbene. HU, resveratrol, and 4-hydroxy-trans-stilbene were scavengers of the tyrosyl free radical of the R2 subunit of mammalian ribonucleotide reductase. Tyrosyl free radical scavengers disturb normal DNA replication, causing replication fork arrest. The present study suggests that replication fork arrest, which is similar to the early phases of HR, leads to a high frequency of recombination, resulting in SCEs.

**Keywords:** sister chromatid exchange, homologous recombination, ribonucleotide reductase

<sup>\*</sup> Stockholm University

Matsuoka, A., Tsuchiya, T.: **Gene expression changes in BALB/3T3 transformants induced by poly(L-lactic acid) or polyurethane films**

*J. Biomed. Mater. Res.* **68A**, 376-382 (2004)

We performed DNA microarray analysis on two BALB/3T3 transformants (A5 and A6) induced by polyurethane (PU) film, two (L11 and L21) induced by biodegradable poly(L-lactic acid)(PLLA) film, and parental cells. The transforming ability of the cells was in the order A5<A6L21<L11. In all, 1176 cancer-related gene were up- or down-regulated in at least one transformant. Those that were markedly up-regulated were *c-fos* protooncogene, FBJ osteosarcoma oncogene B, and Jun oncogene; those markedly down-regulated were pleiotrophin, histidine triad nucleotide-binding protein, protein kinase C iota, and large multifunctional protease 7. A common function of proteins encoded by genes that underwent marked expression changes was bone formation. The genes were *c-fos*, FBJ osteosarcoma, Jun, pleiotrophin, a disintegrin-like and metalloprotease with TS-1 motif protein 1. This finding was consistent with the tumor formation in the 2-year PLLA or PU subcutaneous implantation into rats.

Keywords: BALB/3T3 transformation, PLLA, DNA micro array analysis

Fujiwara, Y.<sup>\*1</sup>, Yokoyama, M.<sup>\*1</sup>, Sawada, R., Seyama, Y.<sup>\*1</sup>, Ishii, M.<sup>\*2</sup>, Tsutsumi, S.<sup>\*2</sup>, Aburatani, H.<sup>\*2</sup>, Hanaka, S.<sup>\*3,4</sup>, Itakura, H.<sup>\*3,5</sup>, Matsumoto, A.<sup>\*3,6</sup>: **Analysis of the comprehensive effects of polyunsaturated fatty acid on mRNA expression using a gene chip**

*J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 125-132 (2003)

To investigate the comprehensive effects of polyunsaturated fatty acids (PUFA) on gene expression, we analyzed changes of mRNA expression in PUFA-treated HepG2 cells using a DNA micro array. We incubated HepG2 cells for 24h with or without 0.25 mM oleic acid (OA), arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA) or docosahexaenoic acid (DHA), and then compared the expression profiles of thousands of genes using a GeneChip. PUFA influenced the expression of various genes related to cell proliferation, growth and adhesion, as well as for many transcription factors including sterol regulatory element binding proteins (SREBP). Treatments with AA, EPA, and DHA repressed the expression of genes related to cholesterol and lipid metabolism. Moreover, data from gene chip analysis proved that PUFA reduced the expression of prostaticin, which is a serine protease. By measuring the mRNA levels of SREBPs, mevalonate pyrophosphatase and prostaticin using quantitative RT-PCR, we confirmed the effect of PUFA revealed by gene chip analysis. These data might provide useful clues with which to explore novel functions of PUFA. Keywords: DNA micro array, polyunsaturated fatty acid, HepG2 cells

\*1 お茶の水女子大学

\*2 東京大学

\*3 (独) 国立健康・栄養研究所

\*4 帝京大学

\*5 茨城キリスト教大学

\*6 城西大学

Mizukuchi, A.<sup>\*1</sup>, Umeda-Sawada, R., Igarashi, O.<sup>\*2</sup>: **Effect of dietary fat level and sesamin on polyunsaturated fatty acids metabolism in rats**

*J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 320-326 (2003)

In this study, we examined the effect of sesamin and vegetable oil on the concentrations of polyunsaturated fatty acid (PUFA) and lipids (triacylglycerol, free cholesterol, and phospholipid), and  $\beta$ -oxidation enzyme activities in the rat liver. Rats were fed diet containing 5% (low-fat diet) or 20% (high-fat diet) salad oil (rapeseed oil : soybean oil = 7:3) with or without sesamin (0.5% w/w) for 4 wk. As a result, the concentrations of linoleic acid (LA, n-6),  $\alpha$ -linolenic acid (ALA, n-3) and total PUFA in the liver increased significantly as the result of the high-fat diet. In the high-fat diet group, sesamin administration decreased the concentrations of LA, ALA, and total PUFA to almost the same level as the low-fat diet group, while it increased the concentrations of dihomog-linolenic acid (DGLA, n-6) and arachidonic acid (AA, n-6). The activities of carnitine acyltransferase and acyl-CoA dehydrogenase in liver mitochondria were enhanced by the intake of the high-fat diet, and were further enhanced by the administra-

tion of sesamin. Peroxisomal acyl-CoA oxidase activity was also enhanced by sesamin, while it was not affected by the dietary fat level. These results suggest that sesamin suppressed the increase of hepatic PUFA concentration caused by feeding the high-fat diet through enhancing the enzyme activities of fatty acid  $\beta$ -oxidation and PUFA metabolism from LA and ALA.

Keywords: sesamin, dietary fat, polyunsaturated fatty acid

\*1 お茶の水女子大学

\*2 茨城キリスト教大学

Umeda-Sawada, R., Fujiwara, Y.<sup>\*</sup>, Abe, H.<sup>\*</sup>, Seyama, Y.<sup>\*</sup>: **Effect of sesamin and capsaicin on the mRNA expressions of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturases in rat primary cultured hepatocytes**

*J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 442-446 (2003)

Sesamin, found in sesame seeds and sesame seed oil, and capsaicin, the pungent principle of hot red pepper, affect lipid metabolism. Sesamin specifically inhibits  $\Delta 5$  desaturase activity in the *Mortierella alpina* fungus and rat liver microsomes, however, the effects of sesamin and capsaicin on mRNA expressions of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturases are not still clear. In this study, we investigated about the effects of sesamin and capsaicin on the activities and mRNA expressions of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturases in rat primary cultured hepatocytes. Hepatocytes were cultured in the presence of sesamin or capsaicin for 24h. The fatty acid composition of the cells was measured by using GLC. The expression of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturase were detected by using real time quantitative RT-PCR. The expression level of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturases was normalized to GAPDH expressions. Sesamin and capsaicin had no effect on the mRNA expression of  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturase in rat hepatocytes. Capsaicin had no effect on both  $\Delta 6$  and  $\Delta 5$  desaturase activity. Sesamin significantly reduced  $\Delta 5$  desaturase activity but not  $\Delta 6$  desaturase. These results suggested that sesamin reduced  $\Delta 5$  desaturase activity by post-transcriptional mechanisms.

Keywords: sesamin, capsaicin,  $\Delta 5$  desaturase mRNA

\* お茶の水女子大学

Isama K, Tsuchiya T: **Enhancing effect of poly(L-lactide) on the differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells** *Biomaterials*, **24**, 3303-3309 (2003)

The purpose of this study was to clarify the effects of low molecular weight (Mw) PLLA on the proliferation and differentiation of mouse osteoblast-like MC3T3-E1 cells. MC3T3-E1 cells were cultured with the concentration of 5-50  $\mu$ g/ml of PLLA with weight average Mw of 5,000 (PLLA-5k) and 10,000 (PLLA-10k) for 2 weeks using the micromass culture. Both PLLAs did not affect the proliferation of the MC3T3-E1 cells. However, the calcifications of the MC3T3-E1 cells were stimulated with increasing the concentration of the PLLAs. Then PLLA-5k increased the calcification of the MC3T3-E1 cells more than PLLA-10k. Additionally, both PLLAs increased the alkaline phosphatase activity and calcium content of the MC3T3-E1 cells. These results indicated that low Mw PLLA enhanced the differentiation of the MC3T3-E1 cells with no effect on the proliferation.

Keywords: poly(L-lactide); MC3T3-E1 cells; osteoblast dif-



## fermentation

Kim, J.-G.<sup>1</sup>, Lee, Y.-W.<sup>2</sup>, Shintani, H.: **Reduction of aflatoxins by Korean soybean paste and its effect on cytotoxicity and reproductive toxicity Part 2. Antigenotoxic effects of the methanol extract of Korean soybean paste (Doen-jang) on aflatoxin B1-induced bacterial reverse mutation and chromosome aberration**

*J. Food Protection*, **66**, 431-435 (2003)

A bacterial reverse-mutation assay with *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100, and TA102 and an in vitro chromosome aberration assay with Chinese hamster lung (CHL) cells were used to investigate the genotoxicity of the methanol extract of Korean soybean paste (doen-jang [*dwen-jahng*]) and its antigenotoxic activity against aflatoxin B<sup>1</sup>. The methanol extract revealed nonmutagenic potential for all of the bacterial strains tested. The extract significantly reduced the numbers of revertants per plate when it was added to the assay system with *Salmonella typhimurium* TA100 ( $P < 0.05$ ). The extract also exhibited significant inhibitory effects on chromosome aberration in CHL cells ( $P < 0.05$ ). The findings of this work indicate that the methanol extract of Korean soybean paste could have strong potential as an antigenotoxic material.

Keywords: aflatoxins, soybean paste, genotoxicity

<sup>1</sup> Keimyung University

<sup>2</sup> Seoul National University

Kim, J.-G.<sup>1</sup>, Lee, Y.-W.<sup>2</sup>, Kim, P.-G.<sup>3</sup>, Roh, W.-S.<sup>4</sup>, Shintani, H.: **Reduction of aflatoxins by Korean soybean paste and its effect on cytotoxicity and reproductive toxicity Part 3. Inhibitory effects of Korean soybean paste (Doen-jang) on aflatoxin toxicity in laying hens and aflatoxin accumulation in their eggs**

*J. Food Protection*, **66**, 866-873 (2003)

This study was conducted to determine the effects of Korean soybean paste (doen-jang [*dwen-jahng*]) (at concentrations of 0.5, 1, and 5%) on the toxicity of 500 ppb of aflatoxin in the diets of 60 laying hens (Isa Brown) divided into five groups and treated from week 15 to week 67. The feeding of 1 % soybean paste to hens reduced the adverse effects of aflatoxin on body weight, relative organ weights, egg production, and aflatoxin accumulation in eggs and improved serum calcium and ALT levels and the histopathological lesions of the liver. The feeding of 5% soybean paste to hens resulted in higher levels of the same types of improvements, especially with regard to the histopathological findings for the liver. On the basis of these results, it was suggested that a diet including 5% (and in some cases only 1%) Korean soybean paste protected laying hens and their eggs from the major deleterious effects of 500  $\mu$ g of aflatoxin per kg of diet and from aflatoxin accumulation. These results indicate that dietary supplementation with Korean soybean paste reduces aflatoxin toxicity in laying hens that ultimately produce human foods such as eggs and poultry.

Keywords: aflatoxins, soybean paste, cytotoxicity

<sup>1</sup> Keimyung University

<sup>2</sup> Seoul National University

<sup>3</sup> Yongin University

<sup>4</sup> Korea Health Industry Development Institute

Shintani, H., Suzuki, E.<sup>1</sup>, Sakurai, M.<sup>2</sup>: **Determination of compounds inhibiting bacteria growth in sterilized medical devices**

*Chromatographia*, **58**, 193-199 (2003)

The medical device must be sterilized prior to the shipping. During the sterilization, the quality of the medical device must be maintained. Polysulfone (PS) and polycarbonate (PC) are often used for the materials of the medical device. When the autoclave or ozone gas sterilization is applied to PS or PC, the production of some compounds inhibiting bacteria growth was observed. This phenomenon is especially true in ozone gas sterilized PS. Thus, the study was conducted to clarify what compounds were the inhibitor(s) of bacteria growth. The ethanol extract of the sterilized PS or PC was applied to the liquid chromatography-mass spectrometry-UV photodiode array (210-350 nm) for the identification and determination of the inhibitors. Bisphenol A, 4,4'-dihydroxy diphenyl sulfone (bisphenol S) and 4-chloro-4'-hydroxy diphenyl sulfone in the ozone gas sterilized PS were identified. Bisphenol A in the ozone gas sterilized PC was also identified. Bisphenol A was not a major inhibitor of the bacteria growth because the inhibition degree did not coincide with the produced amount. The inhibition degree of the 4-chloro-4'-hydroxy diphenyl sulfone was more than that of bisphenol S and it was coincided with the produced amount, therefore the major inhibitor may be the 4-chloro-4'-hydroxydiphenyl sulfone. The combined effect of bisphenol S and the 4-chloro-4'-hydroxy diphenyl sulfone will be more realistic in the exact status.

Keywords: sterilization, bisphenol S, 4-chloro-4'-hydroxy diphenyl sulfone

<sup>1</sup> Japan Waters

<sup>2</sup> Ishikawajima Harima Heavy Industry

Shintani, H., Taniai, E.<sup>1</sup>, Miki, A.<sup>1</sup>, Kurosu, S.<sup>1</sup>, Hayashi, F.<sup>2</sup>: **Comparison of the trapping efficiency of the airborne microorganisms among air samplers**

*J. Hosp. Infect.*, **56**, 42-48 (2004)

It is an important task to evaluate the airborne microorganisms for the prevention of the nosocomial infection at the health care facility. For that purpose, the use of the air sampler is indispensable. The comparison of the trapping efficiency of the air samplers has not been studied so far with the identical trapping culture medium. The necessity to use the same culture medium is because of the variation of the cultivation efficiency among the culture media. As a result, the statistically significant difference of the trapping efficiency among air samplers was observed in case of SCDA (soybean casein digest agar) culture medium. On the contrary, any statistically significant difference of the trapping efficiency among air samplers was not observed when SCDALP (soybean casein digest agar lecithin polysorbate) culture medium was used. In addition, the statistically significant difference of the cultivation efficiency was observed between SCDA and SCDALP culture media ( $p < 0.05$ ). From these, any air samplers can be applicable to the trapping of the airborne micro-

organisms when SCDALP culture medium was used.

Keywords: air sampler, airborne microorganism, soybean casein digest agar

<sup>1</sup> Minofagen Pharmaceutical Co.

<sup>2</sup> Namiki Clinic

Sakurai, M.<sup>1</sup>, Takahashi, R.<sup>1</sup>, Fukunaga, S.<sup>1</sup>, Shiomi, S.<sup>1</sup>, Kazuma, K.<sup>2</sup>, Shintani, H.: **Several factors affecting ozone gas sterilization**

*Biocontrol Science*, **8**, 69-76 (2003)

Ozone gas sterilization was confirmed using commercially available as well as homemade biological indicators (BIs) utilizing *Genobacillus stearothermophilus* (formerly it was classified as *Bacillus stearothermophilus*) ATCC 12980 or ATCC 7953. The relationship between the ozone gas concentration, relative humidity or temperature and decimal reduction value (D) of BI was studied. We also investigated how the ozone gas sterilization performance was affected by the difference in the characteristics of the carrier materials of BIs. The carrier materials used were synthesized polymers with different characteristics and stainless steels (SUSs) with different levels of surface roughness and cleanness. Effect of the difference in the ATCC number of the BI on the D values was also studied. There existed a satisfactory relationship between temperature, humidity and ozone gas concentration and D value ( $r > 0.9$ ). Results indicated that D values from BIs with carrier materials of more hydrophilic materials were greater. In addition, the D value of the BI with a carrier material made of SUSs was greater than that made of polymers. The difference in the roughness of the surface of the SUS material did not cause any significant difference in D values. On the contrary, the difference in the cleanness caused a difference in D values. The difference in the SUS components, i.e. Fe, Ni, may cause some differences in D values. Resistance of *G. stearothermophilus* ATCC 12980 was around two times greater than that of ATCC 7953 when expressed as CT (concentration X time).

Keywords: ozone gas sterilization, decimal reduction value, carrier material

<sup>1</sup> Ishikawajima Harima Heavy Industry

<sup>2</sup> K2 International

Shintani, H.: **Biocompatibility and biostability of implanted polyurethane**

*Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, **14**, 17-29 (2001)

Polyurethane (PU) is biocompatible. No reports on cancer formation after PU implantation to humans have been reported so far. The larger the molecular weight of PU, the more the cancer produces. No statistical relationship was observed between degree of cancer formation and elution amount from implanted PU. In vitro cytotoxicity test result does not always significantly relate with in vivo implantation result of cancer formation. The in vitro cytotoxicity test result does not always satisfactorily correlate with in vivo implantation test for cancer formation, indicating in vivo test result may not always apply for human test. Cancer formation rate and thickness of capsule surrounded PU has no satisfactory relationship. Satisfactory relationship between cancer formation rate and hardness and pore density of PU was ob-

served.

Keyword: polyurethane, cancer formation, density

Yamashita, M.<sup>\*</sup>, Katakura, Y.<sup>\*</sup>, Shim, S.-Y.<sup>\*</sup>, Matsumoto, S.<sup>\*</sup>, Tamura, T.<sup>\*</sup>, Morihara, K.<sup>\*</sup>, Aiba, Y.<sup>\*</sup>, Teruya, K.<sup>\*</sup>, Tsuchiya, T., Shirahata, S.<sup>\*</sup>: **Different individual immune responses by in vitro immunization**

*Cytotechnology*, **40**, 161-165 (2002)

We have previously demonstrated that the addition of muramyl dipeptide (MDP), interleukin-2 (IL-2) and IL-4 effectively raises antibody production from L-Leucyl-L-leucine methyl ester (LLME)-treated human peripheral blood lymphocytes (PBLs) against specific soluble antigen when immunized *in vitro*. However, PBLs from individual donors were separate optimal conditions regarding concentrations for IL-2 and IL-4, which in turn required us to optimize each individual PBLs to effectively produce antigen specific human antibody by *in vitro* immunization. These individual differences in the requirement for IL-2 and IL-4 reflects the differences in individual immune responses against a specific soluble antigen, which can be elicited by *in vitro* immunization. In the present study, we investigated these individual differences in the requirement for IL-2 and IL-4 to induce antibody production in vitro in the PBLs of 12 volunteers (9 healthy donors and 3 allergic patient). IL-2 requirements for antibody production varied dependent upon each donor, while higher amounts of IL-4 inhibited IgM and IgG production in all of the healthy donors. However, some of the characteristic features for PBLs donated from allergenic included lowered IgM production compared to PBLs derived from healthy donors, and very high IgE production in the absence of cytokines and allergen. These results demonstrated that the sensitivity of PBLs against antigen sensitization differs between healthy donors and atopic patients, which suggests that the frequency of antigen sensitization might be reflected in differing activation states and/or differing subpopulations of lymphocytes *in vivo*.

Keywords: human antibody, interleukin-2, interleukin-4

<sup>\*</sup> Kyushu University

Katakura, Y.<sup>\*</sup>, Nakata, E.<sup>\*</sup>, Tabira, Y.<sup>\*</sup>, Miura, T.<sup>\*</sup>, Teruya, K.<sup>\*</sup>, Tsuchiya, T., Shirahata, S.<sup>\*</sup>: **Decreased tumorigenicity in vivo when transforming growth factor  $\beta$  treatment causes cancer cell senescence**

*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 815-821 (2003)

We have previously reported that transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) triggers two independent senescence programs, 1) replicative senescence dependent upon telomere shortening and 2) premature senescence independent of telomere shortening, in the cell line of A549 human lung adenocarcinoma. In this study, we examined the possibility that cancer cell tumor phenotypes could be suppressed by forced senescence. We used A549 cells treated with TGF- $\beta$  for a long time (over 50 days), where senescence was induced in a telomere-shortening-dependent or an independent way. Fully senescent A549 cells were elongated, acquired contact inhibition capabilities when reaching confluence, and secreted the senescence-associated cytokine IL-6. Furthermore, senescent A549 cells had no tumorigenicity in nude mice.

These results indicate that the forced induction of senescence in cancer cells may be a novel and potentially powerful method for advancing anti-cancer therapy.

**Keywords:** TGF- $\beta$ , senescence, telomere shortening

\* Kyushu University

Yang, J., Ichikawa, A.<sup>\*</sup>, Tsuchiya, T.: **A novel function of connexin 32: marked enhancement of liver function in a hepatoma cell line**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **307**, 80-85 (2003)

Connexin 32 (Cx32) is the main gap junction protein in hepatocytes and plays an important role in the regulation of signal transfer and growth control in the liver by constructing gap junction channels and gap junctional intercellular communication (GJIC). In this study, the human Cx32 gene was transfected into a hepatoma cell line (HepG2) that showed aberrant expression of Cx32 and was deficient in GJIC. Cx32-transfected HepG2 not only expressed a higher level of Cx32 mRNA, but also showed increased GJIC compared with HepG2 and vector-transfected HepG2. Furthermore, the liver functions of ammonia removal and albumin secretion of HepG2 were markedly enhanced with Cx32 gene transfection. It may be expected to improve the cellular functions of the hepatoma cell line by Cx32 gene transfection and serve to develop an efficacious bioartificial liver.

**Keywords:** Connexin 32, Hep G2, Bioartificial liver

\* Kyoto Institute of Technology

Nagahata, M.<sup>\*1</sup>, Tsuchiya, T., Ishiguro, T.<sup>\*1</sup>, Matsuda, N.<sup>\*2</sup>, Nakatsuchi, Y.<sup>\*3</sup>, Teramoto, A.<sup>\*1</sup>, Hachimori, A.<sup>\*4</sup>, Abe, K.<sup>\*1</sup>: **A novel function of N-cadherin and Connexin43: marked enhancement of alkaline phosphatase activity in rat calvarial osteoblast exposed to sulfated hyaluronan**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **315**, 603-611 (2004)

In this study, we examined the interaction of the osteoblast which forms bone and sulfated hyaluronan (SHya). For the purpose of the creation of a new functional polysaccharide, we introduced a sulfate group in hyaluronan (Hya) of high molecular weight, and SHya of high molecular weight could be obtained for the first time. When rat calvarial osteoblast (rOB) cells were cultured with a high concentration of SHya, they formed aggregated spheroids after 4h and the spheroids grew to about 200microm after 24h. We examined the expression of cell adhesion molecules in order to clarify the mechanism of aggregate formation. The N-cadherin (N-cad) and Connexin43 (Cx43) expression level of rOB cells cultured with SHya remarkably increased after 2h. A difference in the expression of Integrin beta1 (Intbeta1) could not be observed between the SHya addition and control group. The alkaline phosphatase (ALPase) activity of rOB cells cultured with SHya after 8h was significantly enhanced in comparison with control. Therefore, the sulfate group of SHya seems to enhance expression of cell adhesion protein such as N-cad and Cx43, resulting in aggregate formation and further remarkable induction of the ALPase activity of rOB cells.

**Keywords:** sulfated hyaluronan, Osteoblasts, Connexin43

<sup>\*1</sup> Department of Functional Polymer Science, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University

<sup>\*2</sup> Radioisotope Center, Nagasaki University

<sup>\*3</sup> Department of Orthopaedic Surgery, National Nagano Hospital

<sup>\*4</sup> Institute of High Polymer Research, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University

Uchiyama, S., Ando, M. and Aoyagi S.<sup>\*</sup>: **Isomerization of aldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazones derivatives and validation of high-performance liquid chromatographic analysis**

*J. Chromatogr. A*, **996**, 95-102 (2003)

The most widely used method for qualitative and quantitative analysis of carbonyl compounds is the 2,4-dinitrophenylhydrazine method through the formation of 2,4-dinitrophenylhydrazone derivatives. However, this method may cause an analytical error because 2,4-dinitrophenylhydrazones have both *E*- and *Z*-stereoisomers. Purified aldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone demonstrated only the *E*-isomer. However under UV irradiation and the addition of acid, both *E*- and *Z*-isomers were seen. The spectral patterns of *Z*-isomers were different from those of *E*-isomers and the absorption maximum wavelengths were shifted towards shorter wavelengths by 5-8 nm. An equilibrium *Z/E* isomer ratio was observed in 0.02-0.2 % v/v phosphoric acid solutions. In the case of acetaldehyde- and propanal-2,4-dinitrophenylhydrazone, the equilibrium *Z/E* isomer ratios were 0.32 and 0.14, respectively. However, when irradiated with ultraviolet light at 364 nm, the isomer ratios were increased beyond this constant ratio and reached 0.55 and 0.33, respectively. Zero-order rates for decreases of aldehyde derivatives were observed under UV irradiation (364 nm), however the decreases of concentration were not observed in phosphoric acid solutions. The best method for the determination of aldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazones by HPLC is to add phosphoric acid to both the sample and the standard solution, to form a 0.02 - 1 % acid solution.

**Keywords:** carbonyl compounds, 2,4-dinitrophenylhydrazone derivatives, stereoisomerism

\* Faculty of Engineering, Chiba University

Hanioka, N. Tanaka-Kagawa, T., Miyata, Y.<sup>\*</sup>, Matsushima, E., Makino, Y., Ohno, A., Yoda, R.<sup>\*</sup>, Jinno, H. and Ando, M.: **Functional characterization of three human cytochrome P450 2E1 variants with amino acid substitutions**

*Xenobiotica*, **33**, 575-586 (2003)

In order to investigate the effects of amino acid substitutions on the function of CYP2E1, the enzymes of all known CYP2E1 variants in the coding region (CYP2E1.2, CYP2E1.3 and CYP2E1.4) with Arg76His, Val389Ile and Val179Ile substitutions, respectively, as well as the wild-type CYP2E1 (CYP2E1.1) were expressed in COS-1 cells, and their chlorzoxazone 6-hydroxylation and 4-nitrophenol 2-hydroxylation activities were determined. The protein level of CYP2E1.2 was reduced to 29% compared with that of CYP2E1.1. The profiles of the level of activity relative to CYP2E1.1 for chlorzoxazone 6-hydroxylation (300  $\mu$  M substrate) and 4-nitrophenol 2-hydroxylation (150  $\mu$  M substrate) were very similar. Although the *K<sub>m</sub>* values were not significantly different among wild-type and variant CYP2E1s in any oxidation metabolism, the *V<sub>max</sub>* and *V<sub>max</sub>/K<sub>m</sub>* of CYP2E1.2 on the basis of the CYP2E1 protein level were 2.7-3.0-fold higher than those

of CYP2E1.1. In contrast, the levels of CYP2E1 protein and catalytic activity of CYP2E1.3 and CYP2E1.4 were not affected by the corresponding amino acid substitutions. The findings suggest that Arg76 is closely associated with the function of CYP2E1, and that the genetic polymorphism of CYP2E1 is one cause of interindividual differences in the toxicity of xenobiotics.

Keywords: cytochrome P450 2E1, single nucleotide polymorphism, kinetic analysis

\* Kyoritsu College of Pharmacy

Jinno, H., Saeki, M., Saito, Y., Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Sai, K., Kaniwa, N., Ando, M., Shirao, K.<sup>\*1</sup>, Minami, H.<sup>\*3</sup>, Ohtsu, A.<sup>\*3</sup>, Yoshida, T.<sup>\*2</sup>, Saijo, N.<sup>\*1</sup>, Ozawa, S. and Sawada, J.: **Functional characterization of human UDP-glucuronosyltransferase 1A9 variant, D256N, found in Japanese cancer patients**

*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **306**, 688-693 (2003)

SN-38 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin), an active metabolite of the antitumor prodrug irinotecan, is conjugated and detoxified to SN-38 10-*O*-beta-D-glucuronide by hepatic UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1. Recent studies have revealed that other UGT1A isoforms, UGT1A7 and UGT1A9, also participate in SN-38 glucuronidation. Although several genetic polymorphisms are reported for UGT1A1 and UGT1A7 that affect the SN-38 glucuronidation activities, no such polymorphisms have been identified for UGT1A9. In the present study, UGT1A9 exon 1 and its flanking regions were sequenced from 61 Japanese cancer patients who were all treated with irinotecan. A novel nonsynonymous single nucleotide polymorphism was identified in UGT1A9 exon 1, heterozygous 766G>A resulting in the amino acid substitution of D256N. The wild-type and D256N UGT1A9s were transiently expressed at similar protein levels in COS-1 cells, and their membrane fractions were characterized in vitro for the glucuronidation activities toward SN-38. The apparent  $K_m$  values were 19.3 and 44.4  $\mu$ M, and the  $V_{max}$  values were 2.94 and 0.24 pmol/min/mg of membrane protein for the wild-type and D256N variant, respectively. The SN-38 glucuronidation efficiency (normalized  $V_{max}/K_m$ ) of D256N was less than 5% that of wild-type UGT1A9. These results clearly indicate that the D256N variant is essentially nonfunctional with regard to SN-38 glucuronidation. These findings highlight the importance of further studies into the potential influence of UGT1A9 D256N variant to irinotecan metabolism in vivo.

Keywords: UDP-glucuronosyltransferase 1A9, SN-38 glucuronidation, single nucleotide polymorphism

<sup>\*1</sup> National Cancer Center Hospital

<sup>\*2</sup> National Cancer Center Research Institute

<sup>\*3</sup> National Cancer Center Hospital East

Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Yoshida, H., Jinno, H. and Ando, M.: **Arsenite and arsenate activate extracellular signal-regulated kinases 1/2 by an epidermal growth factor receptor-mediated pathway in normal human keratinocytes**  
*Br. J. Dermatol.*, **149**, 1116-1127 (2003)

To understand the molecular basis for the mode of action of arsenicals, we examined the effect of arsenite and arsenate on the

activation of mitogen-activated protein kinases and the upstream signaling cascade in normal human epidermal keratinocytes (NHEK). Both arsenicals activated ERK1/2, which are most highly activated in response to mitogenic stimulation, in addition to JNK and p38, which show greater activation in response to cellular stresses. The kinetics of ERK1/2 activation differed from those of JNK and p38 activation. Both arsenicals transiently activated ERK1/2 prior to JNK and p38 activation. MEK1/2, upstream kinases of ERK1/2, were also activated by arsenicals with similar time kinetics to that of ERK1/2 activation. To investigate a signalling pathway leading to activation of MEK1/2-ERK1/2, we examined the tyrosine phosphorylation of EGFR and Shc adapter protein. Both arsenicals stimulated tyrosine phosphorylation of EGFR and Shc. After arsenical treatment, Shc immunoprecipitates contained coprecipitated EGFR and Grb2, suggesting that both arsenicals induce the assembly of EGFR-Shc-Grb2 complexes. Both the EGFR inhibitor tyrphostin AG1478 and anti-EGFR blocking antibody markedly attenuated ERK1/2 activation induced by arsenicals, but did not affect JNK and p38 activation. Our data indicate that both arsenite and arsenate activate the EGFR-Shc-Grb2-MEK1/2-ERK1/2 signaling cascade in NHEK.

Keywords: arsenicals, normal human epidermal keratinocytes, signal transduction

Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Ishida, S., Saeki, M., Soyama, A., Itoda, M., Nishimura, T., Saito, Y., Ozawa, S., Ando, M. and Sawada, J.: **Identification of novel alternative splice variants of human constitutive androstane receptor and characterization of their expression in the liver**  
*Mol. Pharmacol.*, **65**, 496-502 (2004)

Human constitutive androstane receptor (hCAR), a member of the nuclear receptor superfamily NR1I3, regulates the expression of several genes that are mainly involved in the metabolism of endogenous and xenobiotic compounds (e.g., CYP2B6, CYP3A4, and UGT1A1). We found four novel splice variants in the ligand-binding domain (LBD) of hCAR (designated SV0 herein). The variants designated SV1 and SV2 contained in-frame 12- and 15-bp insertions, respectively. SV3 carried both of the insertions, and SV4 contained an in-frame 117-bp deletion. The insertion site of SV1 is located in the  $\alpha$  6 helix of hCAR LBD, which makes up the ligand-binding cavity, and that of SV2 is located in the highly conserved loop between helices  $\alpha$  8 and  $\alpha$  9. SYBR Green real-time reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of each splice variant revealed that the hepatic expression of SV2 was almost comparable with that of SV0 (approximately 40%), whereas other variants accounted for 6 to 10% of the total hCAR transcripts. In the reporter gene assays employing the phenobarbital-responsible enhancer module (PBREM) from CYP2B6 and UGT1A1 genes, the splice variants, except for SV1, were inactive, whereas SV1 transactivated the CYP2B6 PBREM but not the UGT1A1 PBREM reporter. A nuclear translocation assay in rat hepatocytes revealed that all the splice variants lack the responsiveness toward phenobarbital and CITCO in terms of the ligand-dependent nuclear translocation. Further characterization, such as the identification of specific ligands, will help elucidate physiological implication of these hCAR splice variants.

Keywords: constitutive androstane receptor, alternative splice variants, phenobarbital-responsible enhancer module

徳永裕司, 内野 正, 安藤正典: 動物実験代替法としての三次元培養皮膚モデルを用いた *In vitro* 経皮吸収試験に関する研究

日本化粧品科学会誌, 27, 71-78(2003)

透過指標物質として, 安息香酸ナトリウム (BA), レゾルシン (RN), サリチル酸 (SA), メチルパラベン (MP), エチルパラベン (EP) 及び 4-クロロ-*m*-クレゾール (CC) を用いた三次元培養皮膚モデルの *In vitro* 経皮吸収試験を行った. SA を除く BA, RN, MP, EP および CC の 5 種類の透過物質の透過速度をモルモットの腹部剥離皮膚から得られた透過速度と比較した場合, TESTSKIN LSE-High の透過速度はモルモットの腹部剥離皮膚から得られた透過速度の 2.6 ~ 11.4 倍と高い値を示し, Vitrolife-Dermis での透過速度は, モルモットの腹部剥離皮膚の透過速度の 1.5 ~ 7.7 倍と高い値を示した. 2 種類の三次元培養皮膚モデルを用いて得られた BA, RN, MP, EP および CC の透過速度間の比較を行ったとき, 良い相関関係 ( $P < 0.05$ ) が成立した. 2 種類の三次元培養皮膚モデルでは, 角質層より表皮部分並びに真皮スポンジ部分のバリアー機能により透過が制御されていることが示唆された.

Keywords: Three-dimensional skin, percutaneous absorption, flux

Chowdhury, T., Tokunaga, H., Ando, M.: **Survey of arsenic and other heavy metals in food composites and drinking water and estimation of dietary intake by the villagers from an arsenic-affected area of West Bengal, India**

*Sci. Total Environ.*, 308, 15-35(2003)

An investigation of arsenic in foodstuffs and drinking water, collected from 34 families and estimation of average daily dietary intake were carried out in the arsenic-affected areas of the Jalangi and Domkal blocks, Mushidabad district, West Bengal where arsenic-contaminated groundwater (mean: 0.11 mg/l, n=34) is the main source for drinking. The shallow large diameter tubewells for agricultural irrigation contain an amount of arsenic (mean: 0.094 mg/l, n=10). The mean arsenic levels in food categories are vegetables (20.9 and 21.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), cereals and bakery goods (130 and 179  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and species (133 and 202  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), respectively. The provisional tolerable daily intake value of inorganic arsenic ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{body wt.}/\text{day}$ ) is: for adult males (11.8 and 9.4); adult females (13.9 and 11); and children (15.3 and 12) in the Jalangi and Domkal blocks, respectively.

Keywords: arsenic, food composites, tubewell water

Tokunaga, H., Chowdhury, T., Uchino, T., Ando, M.: **Urinary arsenic species in arsenic-affected area of West Bengal, India (Part II)**

*J. Health Sci.*, 49, 464-474(2003)

We visited 19 arsenic-affected families and 4 non-arsenic -affected families in that area during February 20 - 22, 2001 and collected 10 tubewell waters used for drinking and cooking and 89 urines from those families in Mushidabad district of West Bengal, India. The arsenic concentrations in waters ranged from 0.64 to 75.5 ppb. The average of arsenite, arsenate, monomethylarsonic

acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA) in urine were 23.1, 59.0, 24.6 and 127.4 ng/ml urine, respectively. On comparison of the ratio of (MMA+DMA) to total arsenic, the average proportion of (MMA+DMA) was 75.7 %, but the proportions were from 4.2 to 57.2 % for 11 persons. This result suggests that they might be damaged due to the arsenic-methylating capacity. When selecting the members of A to L families, there were the good relationships ( $P < 0.01$ ) between As(III) and MMA, As(III) and DMA, MMA and DMA, and DMA and total arsenic.

Keywords: arsenic species, urine, tubewell water

Uchino, T., Kawahara, N., Sekita, S., Satake, M., Saito, Y., Tokunaga, H., Ando, M.: **Potent protecting effects of *Catuaba* (*Anemopaegma mirandum*) extracts against hydroperoxide-induced cytotoxicity**

*Toxicol. In Vitro*, 18, 255-263 (2004)

Ishigami et al. reported that squalene monohydroperoxide (SQOOH) induced skin damage in hairless mice. The EtOAc extract was separated by silica-gel LC into eight fractions. Fr 1, 3 and 5 significantly protected rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells from the release of  $\beta$ -hexosaminidase due to SQOOH. Additionally, Fr5-1 was most effective in a Vitrolife-skin against the cytotoxicity due to SQOOH and the release of interleukin (IL)-2 and IL-4. The mixture of cinchonains I a and I b and the mixture of cinchonains II a and II b were isolated from Fr3 and Fr5-1, respectively. The results suggest that the addition of SQOOH caused the reduction in cell viability and the release of  $\beta$ -hexosaminidase and cytokines as chemical mediators. The extract of *Catuaba* (*Anemopaegma mirandum*) prevented these toxic effects with the main active agents suggested to be cinchonains II a and II b.

Keywords: SQOOH, catuaba, cytotoxicity

Nishimura, T., Iizuka, S., Kibune N. and Ando, M.: **Study of 1,4-dioxane in the total diet using the market-basket method**

*J. Health Sci.*, 50, 100-107 (2004)

We studied the intake of 1,4-dioxane in food based on the average intake of food in the Kanto area of Japan. The food was cooked in the normal manner and then homogenized. The 1,4-dioxane was extracted using the steam distillation method from homogenate. This solution was applied to a pair of active carbon solid-phase cartridges and the analyte was eluted from each cartridge with dichloromethane. The eluted solution was prepared for gas chromatographic/mass spectrometric analysis. The detection limit of the analysis was 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . We found that the 1,4-dioxane content of 12 food groups ranged between 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . From these results, the total daily intake of 1,4-dioxane was calculated to be 0.440  $\mu\text{g}$ . An intake of this magnitude corresponds to 0.055% of the calculated TDI (16.  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight/day). This study indicates that the amount of 1,4-dioxane intake contributed by food is very low and that this value does not represent a potential problem as it does not raise the risk of carcinogenesis.

Key words: 1,4-dioxane, total diet, risk

\* Japan Food Research Laboratories

Sakamoto, C.\*<sup>1</sup> Okada, Y.\*<sup>1</sup> Kanazawa, H.\*<sup>1</sup> Ayano, E. Nishimura,

T. Ando, M. Kikuchi, A.<sup>\*2</sup> and Okano, T.<sup>\*2</sup>: **Temperature- and pH-responsive aminopropylsilica ion-exchange columns grafted with copolymers of N-isopropylacrylamide.**

*J. Chromatogr. A*, **1030**, 247-253 (2004)

We have designed copolymers of N-isopropylacrylamide introduced ion-exchange groups. This copolymer-grafted aminopropyl silica beads were used as HPLC packing materials. This stationary phase altered the properties from hydrophilic to hydrophobic and from charge to non-charge by temperature and pH changes. We studied the separations of organic acids and phenylthiohydantion-amino acids using environmentally-responsive chromatography, and confirmed the effects of the ion-exchange groups. The elution behaviors of these samples were controlled by the temperature changes without organic solvents in the mobile phase. It was confirmed that the interactions between the solute and stationary phase could be freely controlled by the temperature and the pH. Environmentally-responsive chromatography is expected to be applicable to the separation of pharmaceuticals and biomolecules.

<sup>\*1</sup> Kyoritsu College of Pharmacy

<sup>\*2</sup> Tokyo Women's Medical University

Ayano, E. Kanazawa, H.<sup>\*1</sup> Ando M. and Nishimura, T. : **Determination and quantitation of sulfonylurea and urea herbicides in water samples using liquid chromatography with an electrospray mass detector.**

*Anal. Chim. Acta*, **507**, 211-218 (2004)

A multianalyte method has been developed for the confirmation and quantitation of five sulfonylureas and three ureas in water. Samples were extracted from water by off-line solid-phase extraction (SPE). Extraction efficiency experiments demonstrated the ability of this method to extract sulfonylureas and ureas from water samples. Confirmatory analysis was carried out by LC-electrospray/mass spectrometry instrumentation equipped with a single-quadrupole mass filter. MS data acquisition was performed by a single or two-ion selected ion monitoring program. The eight herbicides were also measured in fortified pure water, tap water and river water. Average recoveries of the eight analytes from water samples were in the range of 70-120 % with relative standard deviations of < 20 %. The limit of quantitation for each of the eight herbicides was between 10 and 100 ng l<sup>-1</sup>.

Keywords: Sulfonylurea herbicides, Urea herbicides, LC/ESI-MS,

<sup>\*1</sup> Kyoritsu College of Pharmacy

Ohno, A., Saito, Y., Hanioka, N., Jinno, H., Saeki, M., Ando, M., Ozawa, S., Sawada, J.: **Involvement of human hepatic UGT1A1, UGT2B4, and UGT2B7 in the glucuronidation of carvedilol.**

*Drug Metab. Dispos.* **32**, 235-239 (2004)

Carvedilol ((+/-)-1-carbazol-4-yloxy)-3-[[2-(o-methoxyphenoxy)ethyl]amino]-2-propanol) is metabolized primarily into glucuronide conjugates. In the present study, we identified the human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) isoforms involved in the glucuronidation of carvedilol by thin-layer chromatography using microsomes from human liver or insect cells expressing recombinant UGT isoforms. We observed two forms

of carvedilol glucuronides, namely G1 and G2, in hepatic microsomes. The glucuronidation of carvedilol was catalyzed by at least three recombinant UGT isoforms: UGT1A1, UGT2B4, and UGT2B7. UGT2B4 formed both G1 and G2, whereas UGT1A1 and UGT2B7 were responsible for the formation of glucuronide G2 and G1, respectively. The enzyme kinetics for carvedilol glucuronidation by UGT1A1, UGT2B4, and UGT2B7 in addition to human liver microsomes were examined by Lineweaver-Burk analysis. The values of *K<sub>m</sub>* and *V<sub>max</sub>* for human liver microsomes were 26.6 microM and 106 pmol/min/mg protein for G1, and 46.0 microM and 44.5 pmol/min/mg protein for G2, respectively. The *K<sub>m</sub>* values for UGT1A1, UGT2B4, and UGT2B7 for G1 and G2 (22.1-55.1 microM) were comparable to those of the liver microsomes, whereas the *V<sub>max</sub>* values were in the range of 3.33 to 7.88 pmol/min/mg protein. The *K<sub>m</sub>* and *V<sub>max</sub>/K<sub>m</sub>* values for UGT2B4 and UGT2B7 for G1 were similar, whereas UGT2B4 had lower *K<sub>m</sub>* and higher *V<sub>max</sub>/K<sub>m</sub>* values for G2 compared with those of UGT1A1. These results suggest that G1 formation is catalyzed by UGT2B4 and UGT2B7, whereas G2 is formed by UGT2B4 and UGT1A1. These three hepatic UGT isoforms may have important roles in carvedilol metabolism.

Key words: UGT, carvedilol, metabolism

Takatsuki, S., Nemoto, S., Sasaki, K. and Maitani, T.: **Production of acrylamide in agricultural products by cooking**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, **45**, 44-48 (2004)

各種農産物及びその加工食材を用いて調理加熱によるアクリルアミド(AA)生成について検討した。小麦粉などの粉製品5種の成型チップ、乾燥種実類2種について加熱温度、加熱時間を変化させた際のAA生成量を比較した。加熱温度は180~200℃を頂点として、加熱時間はごまを除き10分を頂点としてAA生成量が増減した。また、細切した野菜・果実13種の220℃、5分間の加熱では、じゃがいも、アスパラガス、かぼちゃ、なす、もやしでAA生成量が多かった。じゃがいも、アスパラガス、もやしを220℃で加熱する前に、電子レンジ加熱又はゆでる処理を行ったとき、AA生成量は前処理を行わない場合に比べ、電子レンジ処理では増加し、ゆでる処理で1/10~1/4に減少した。遊離アスパラギン含量の多い農産物では加熱によるAA生成量が多い傾向を示した。

Keywords: acrylamide, asparagine, LC/MS

Amakura, Y., Tsutsumi, T., Sasaki, K., Maitani, T. : **Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in Japanese retail fresh and frozen vegetables**

*J. Food Hyg. Soc. Japan.*, **44**, 294-302 (2003)

To evaluate dioxin contamination in retail vegetables, congener analyses of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs) were performed on sixty varieties of fresh vegetables including cereals and mushrooms, obtained from Japanese supermarkets in 2002. The toxic equivalent quantity (TEQ) levels for dioxins in samples ranged from <0.001 to 0.089 pg-TEQ/g wet weight, when undetected and trace were taken as zero. Among the samples, dioxins were generally detected in green leafy vegetables. The highest TEQ value was for mulukhiya (0.089 pg-

TEQ/g), followed by spinach and komatsuna (Japanese mustard spinach) (0.077 and 0.074 pg-TEQ/g, respectively). Additionally, the dioxin levels in seventeen varieties of frozen vegetables were also determined, and showed TEQ values ranging from <0.001 to 0.080 pg-TEQ/g. The total TEQ in commercial vegetables mainly reflected the levels of 1,2,3,7,8-PeCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF and 3, 3', 4, 4', 5-PeCB (#126) (the sum of them represented 63% of the total TEQ).

Keywords: dioxin, fresh vegetable, frozen vegetable

Amakura, Y., Tsutsumi, T., Sasaki, K., Maitani, T. : **Contamination levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in several fast foods in Japan**

*J. Food Hyg. Soc. Japan.*, **44**, 316-320 (2003)

We determined the concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs) in three types of fast foods [(1) seventeen hamburgers and two hot dogs, (2) six portions of fried potatoes and (3) three chicken products] obtained from fast food shops or convenience stores in Japan. All samples tested showed low toxic equivalent quantity (TEQ) levels of dioxins in the range of 0.001-0.083 pg-TEQ/g wet weight (0.006-0.053 pg-TEQ/g for hamburgers and hot dogs, 0.001-0.083 pg-TEQ/g for fried potatoes and 0.053-0.065 pg-TEQ/g for chicken products). The congener profile in hamburgers and hot dogs suggested that the total TEQ was mainly determined by Co-PCBs, especially by 3,3',4,4',5-PeCB (#126), which accounted for 44% of the total TEQ value. Findings for animal foods such as beef and cheese were consistent with this result. For fried potatoes, PCDD/Fs accounted for 94% of the total TEQ value, and 2,3,4,7,8-PeCDF accounted for 32% of PCDD/Fs. Dioxins in the chicken products consisted of 3,3',4,4',5-PeCB (#126) and 1,2,3,7,8-PeCDD, which accounted for 23% and 21% of the total TEQ, respectively. If an adult (50 kg weight) eats 150 g of hamburger, 100 g of potatoes and 150 g of chicken, the daily intake is estimated to be 0.299 pg-TEQ/kg b.w./day using the average values (0.022, 0.028 and 0.059 pg-TEQ/g, respectively) obtained in this study. This value corresponds to 7.5% of the tolerable daily intake (TDI) for PCDD/Fs and Co-PCBs in Japan.

Keywords: dioxin, coplanar PCB, fast food

Amakura, Y., Tsutsumi, T., Sasaki, K., Maitani, T. : **Modification of cleanup methods for dioxin analysis in green leafy vegetables and comparison of packing methods for a multi-layer silica gel column**

*J. Food Hyg. Soc. Japan.*, **44**, 321-327 (2003)

To determine polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs) in green leafy vegetables, the cleanup method was modified, and packing methods for a multi-layer silica gel column were compared in food samples. First, the additional cleanup was examined for a mono-*ortho* PCBs fraction obtained by alumina column chromatography from spinach extract. Small solids such as rough crystals that remained after concentration of the mono-*ortho* PCBs fraction were identified as long-chain hydrocarbons from leaf epicuticular wax by GC/MS. Cleanup using

an activated carbon silica gel column with *n*-hexane as the washing solvent was effective. Next, multi-layer silica gel columns packed by wet packing and dry packing were compared using komatsuna, salmon and butter as samples. The columns prepared by both methods gave similar values at each isomeric concentration level and showed similar efficiency with favorable recoveries.

Keywords: dioxins, green leafy vegetable, multi-layer silica gel column

Amakura, Y., Tsutsumi, T., Sasaki, K., Yoshida, T., Maitani, T. : **Screening of the inhibitory effect of vegetable constituents on the aryl hydrocarbon receptor-mediated activity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin**

*Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 1754-1760 (2003)

The aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-activated nuclear transcription factor that mediates responses to environmental contaminants such as dioxins, which have many adverse health effects. We performed a preliminary screening of the inhibitory effects of vegetable constituents on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)-induced activation of AhR using the AhR-based bioassay for dioxins, the Ah-Immunoassay. Ninety vegetable constituents including flavonoids, tannins, saponins, terpenes, *etc.*, were assayed *in vitro*. Among them, flavones, flavonols, anthraquinones, piperine, coumestrol, brevifolincarboxylic acid, and resveratrol showed marked inhibitory effects on AhR-based bioassay activation by TCDD, and their effects were dose dependent. Curcumin, carnosol, and capsaicin also inhibited the activation of AhR in this assay, although to a lesser degree. These results suggest that several vegetable constituents might play a role in protection against dioxin toxicity.

Keywords: vegetable constituent, dioxin, Ah-immunoassay

\* Okayama University

Amakura, Y., Tsutsumi, T., Nakamura, M.<sup>1</sup>, Sasaki, K., Yoshida, T.<sup>2</sup>, Maitani, T. : **Interaction of some plant food extracts with aryl hydrocarbon receptor determined by *in vitro* reporter gene assay**

*Natural Medicines*, **58**, 31-33 (2004)

The aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-activated transcription factor that mediates the biological action of many aromatic environmental contaminants such as dioxins. In this study, we investigated the interaction of plant food extracts with the AhR using the AhR-dependent luciferase reporter gene assay. Thirty-nine plant food extracts, including vegetables, fruits, herbs and teas, were tested *in vitro*. Among them, green leafy vegetables such as spinach and shungiku, and some citrus such as lime, grapefruit and lemon, and herbs such as sage and rosemary showed luciferase induction at high concentrations.

Keywords: dioxins, vegetable, aryl hydrocarbon receptor

<sup>1</sup> Hiyoshi Corporation

<sup>2</sup> Okayama University

Makoto Miyahara, Akiko Saito<sup>1</sup>, Tomomi Kamimura<sup>1</sup>, Taeko Nagasawa<sup>1</sup>, Yasuo Kobayashi<sup>2</sup>, Hitoshi Ito<sup>2</sup>, and Tamio Maitani: **Detection of Hydrocarbons in Irradiated Foods**

*J. Health Sci.*, **49**,179-188 (2003)

Five fatty acid methyl esters in hexane were irradiated in order to obtain basic data regarding the detection of irradiation of fatty foods. Fifteen hydrocarbons which were formed by radiolysis of fatty acid methyl esters were detected using capillary gas chromatography accompanied by mass spectrometry. Dose response was observed at the range of 0.74 kGy to 10 kGy. The yields of the hydrocarbons increased as the dose increased. Clear dose rate effects were not observed at the range of 10 kGy/h to 500 Gy/h. Temperature effects on the formation of the hydrocarbons were observed at the range of -40 to 20 degrees Celsius. Their yields were increased as the temperature rose. The effects of oxygen level in the container were examined. The yields in the containers that contained oxygen absorbers were 5-41% of those under normal pressure. Eminent reduction of hydrocarbon yields were observed in the containers that contained oxygen absorbers. Remarkable solvent effects on the formation of the hydrocarbons were observed. The yields of hydrocarbons in benzene solution were reduced to 60-95% of those in hexane. Thus, radiolytic degradation of fatty acid methyl ethers were affected mainly by absorbed dose, irradiation temperature, oxygen pressure, and fatty acid components.

Key words: hydrocarbon detection method, irradiated food detection, capillary gas chromatography, mass spectrometric detection

\*1 Kitasato University;

\*2 Japan Atomic Energy Research Institute, Takasaki

Akiyama,H.,Isuzugawa,K.,Harikai,N., Watanabe,H.\*<sup>1</sup>, Iijima,K.\*<sup>2</sup>, Yamakawa,H.\*<sup>2</sup>, Mizuguchi,Y.\*<sup>3</sup>, Yoshikawa,R.\*<sup>3</sup>, Yamamoto,M.\*<sup>4</sup>, Sato,H.\*<sup>4</sup>, Watai,M.\*<sup>4</sup>, Arakawa,F.\*<sup>5</sup>, Ogasawara,T.\*<sup>5</sup>, Nishihara,R.\*<sup>6</sup>, Kato,H.\*<sup>6</sup>, Yamauchi,A.\*<sup>7</sup>, Takahata,Y.\*<sup>8</sup>, Morimatsu,F.\*<sup>8</sup>, Mamegoshi,S.\*<sup>9</sup>, Muraoka,S.\*<sup>9</sup>, Honjho,T.\*<sup>9</sup>, Watanabe,T., Wakui,C., Imamura,T.\*<sup>10</sup>, Toyoda,M.\*<sup>11</sup>, Maitani,T.: **Inter-laboratory Evaluation Studies of Notified ELISA Methods for Allergic Substances (Egg)** *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **44**,120-124 (2004)

特定原材料である卵の通知試験法 ELISA 法の評価のために 10 機関による検証評価試験を行った。卵白アルブミン、オボムコイドおよび卵タンパク質を測定する 3 種 ELISA 法とも同時再現性はおおむね CV 値 10% 以下と良好であった。10 機関で卵標準溶液を添加した 5 食品の各食品抽出液を分析した際の平均回収率は、3 種 ELISA 法とも 40% 以上であり、併行再現性の相対標準偏差は、それぞれ 18.7%~25.5%、18.6%~41.8%、21.3%~43.3% であり、室間再現性の相対標準偏差はそれぞれ 16.8%~35.1%、19.6%~35.8%、24.7%~51.1% であり、ELISA 測定としては実用上支障がないと考えられた。3 種 ELISA 法の検出限界は、測定溶液の濃度で 4 ng/mL ~ 5 ng/mL であった。

Keywords: egg, allergic substances, ELISA method, Ovalbumin, Inter-Laboratory Evaluation Studies

\*1 神奈川県衛生研究所

\*2 (株) 日清製粉グループ本社

\*3 (財) 食品環境検査協会

\*4 (財) 日本食品分析センター

\*5 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

\*6 昭和産業 (株)

\*7 (独) 国立健康栄養研究所

\*8 日本ハム (株)

\*9 (株) 森永生科学研究所

\*10 東京大学医学部付属病院

\*11 実践女子大学

Akiyama,H., Goda,Y., Aoyagi,Y., Watanabe,T., Wakui,C., Chiba,R.\*<sup>1</sup>, Toyoda,M.\*<sup>2</sup> and Maitani,T.: **A Comparative Study of Real-time PCR Method and ELISA Method for Detection of Recombinant DNA from Genetically Modified Soybean as Soybean Grain and De-fatted Soybeans** *Japanese J. Food. Chem.*, **10**, 73-77 (2003)

GMS含有量の定量において、定量PCR法とELISA法の比較を大豆穀粒及び脱脂大豆で行った。大豆穀粒試料、IRMM標準品、ELISA標準品、分別流通大豆試料を定量PCR法とELISA法により行った結果、両測定法に高い相関性があった。一方、脱脂大豆試料で同様の測定を行ったところ、定量PCR法とELISA法の結果に相関性がなかった。これらの結果により、大豆穀粒試料の定量の際は、両法とも適応可能であるが、脱脂大豆試料の定量の際は、定量PCR法の方がELISA法より高い値を得る傾向があることが明らかとなった。Key words:genetically modified soybeans, real-time PCR method, ELISA method, de-fatted soybeans

\*1 昭和薬科大学

\*2 実践女子大学

Wakui,C., Akiyama,H., Watanabe,T., Fitch M. M.\*<sup>1</sup>, Uchikawa,S.\*<sup>2</sup>, KI,M.\*<sup>3</sup>, Takahashi,K.\*<sup>4</sup>, Chiba.R.\*<sup>5</sup>, Fujii,A.\*<sup>6</sup>, Hino,A.\*<sup>7</sup> and Maitani,T.: **A Histochemical Method using a Substrate of  $\beta$ -Glucuronidase for Detection of Genetically Modified Papaya**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, **45**, 19-24 (2004)

A histochemical assay for detecting genetically modified (GM) papaya (derived from Line 55-1) is described. GM papaya, currently undergoing a safety assessment in Japan, was developed using a construct that included a  $\beta$ -glucuronidase (GUS) reporter gene linked to a virus coat protein (CP) gene. Histochemical assay was used to visualize the blue GUS reaction product from transgenic seed embryos. Twelve embryos per fruit were extracted from the papaya seeds using a surgical knife. The embryos were incubated with the substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (X-Gluc) in a 96-well microtiter plate for 10-15 hours at 37°C. Seventy-five percent of GM papaya embryos should turn blue theoretically. The histochemical assay results were completely consistent with those from a qualitative polymerase chain reaction (PCR) method developed by this laboratory. Furthermore, the method was validated in a five-laboratory study. The method for detection of GM papaya is rapid and simple, and does not require use of specialized equipment.

Key words: genetically modified papaya, recombinant DNA, GUS assay, PCR; detection method, embryo

\*1 USDA-ARS, Pacific Basin Agricultural Research Center,

\*2 Center for Inspection of Imported Foods and Infectious Diseases, Kobe Quarantine Station,

\*3 Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences,



<sup>74</sup> Saitama Institute of Public Health,

<sup>75</sup> Showa Pharmaceutical University

<sup>76</sup> Yokohama Quarantine Station, Center for Inspection of Imported Foods,

<sup>77</sup> National Food Research Institute,

Takeshi Ogasawara<sup>1,2</sup> Fumihiro Arakawa<sup>1</sup>, Hiroshi Akiyama, Yukihiro Goda, Yoshihiro Ozeki<sup>2</sup>: **Fragmentation of DNAs of processed foods made from genetically modified soybeans** *Japanese J. Food. Chem.*, **10**, 155-160 (2003)

We studied the degradation of DNA molecules of soybean during various processes of food production. The validity of quantification of a recombinant DNA in "tofu" was confirmed in the processing using a mixture of non-genetically modified (GM) and pesticide-resistant (PR) soybeans. The TaqMan method is useful for determining the amount of non-GM and PR soybeans in foods processed by treatments at about 100°C. On the other hand, severe degradation of the DNA to the length of nearly or shorter than 100 bp in processed foods occurred by the processes such as deep roast and fermentation. Therefore, in order to estimate GM soybean content in these processed foods, new probes and primers for PCR amplifying shorter than 100 bp of the DNA fragment for the target DNA will be designed.

Key words: genetically modified soybean, processed food, fragmentation, DNA quantitative PCR, Tofu

<sup>1</sup> San-Ei Gen F.F.I., Inc.

<sup>2</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

Watanabe, T., Kasama, K., Wakui, C.; Shibuya<sup>1</sup>, M., Matsuki<sup>2</sup>, A., Akiyama, H., Maitani, T.: **Laboratory-performance study of the notified methods to detect genetically modified maize (CBH351) and potato (NewLeaf Plus and NewLeaf Y)** *J. Food Hyg. Soc. Japan.*, **44**, 281-288 (2003)

遺伝子組換え(GM)食品定性検査方法を用いて得られる測定結果の信頼性確保には、精度管理が不可欠である。そこで当該検査方法を対象とした外部精度管理方法を検討する事を目的とし試験を実施した。共通未知試料を同一時期に分析するよう14検査機関に依頼し、回収した報告を基に詳細な解析を行った。その結果、検査環境の保全が不十分であることが原因と考えられる擬陽性判定が認められた。また、NewLeaf Plus および NewLeaf Y を対象とした検査方法においては、増幅効率の差違や検出に関わる諸条件が要因となり、擬陰性判定が下される可能性があることが示唆された。全体としては概ね解析結果が予想された結果に一致したこと、また対象検査法において結果に影響を与える要因について示唆することができたことから、本研究で用いられた試験方法が外部精度管理方法として適当であると考えられた。

Key words: genetically modified maize, genetically modified potato, detection method, PCR, laboratory-performance study

<sup>1</sup> 東京大学大学院薬学系研究科

<sup>2</sup> 財団法人 食品薬品安全センター秦野研究所

Nagaoka M.H., Akiyama H, and Maitani T.: **Binding patterns of vanadium to transferrin in healthy human serum studied with HPLC/high resolution ICP-MS**

*The Analyst*, **129**, 51-54 (2004).

Vanadium (V) is an essential metal for mammals. It has different valence states. In blood, V is bound to transferrin (Tf), a glycoprotein that has two metal-binding sites (C-lobe site and N-lobe site). In the present study, the binding patterns of V to serum Tf were analyzed by combined on-line HPLC and high-resolution ICP-MS (HPLC/HR-ICP-MS). The levels of <sup>51</sup>V, <sup>56</sup>Fe and <sup>32</sup>S, which are interfered with polyatomic ions such as <sup>35</sup>Cl<sup>16</sup>O<sup>+</sup>, <sup>38</sup>Ar<sup>13</sup>C<sup>+</sup> and <sup>37</sup>Cl<sup>14</sup>N<sup>+</sup>, <sup>40</sup>Ar<sup>16</sup>O<sup>+</sup> and <sup>40</sup>Ca<sup>16</sup>O<sup>+</sup>, and <sup>16</sup>O<sup>2+</sup>, respectively, when using quadrupole ICP-MS, were monitored simultaneously by HR-ICP-MS at a resolution of m/(m = 4000). Sample (a 1 ml portion of serum from a healthy person (or 2 mg of human serum Tf (hTf)) was directly subjected to HPLC equipped with an anion-exchange column. V in human serum without any in vitro V spike was detected as VC-hTf. Since V(III) was most favorable in terms of the binding to hTf in the presence of bicarbonate and V bound to the C-lobe site of hTf was detected only in the case of V(III) among the three valence states of V, it was suggested that a part, at least, of V in the VC-Tf in healthy human serum may be present as V(III), in addition to the generally accepted V(IV).

Key words: Transferrin, Vanadium, High-resolution ICP-MS, serum

松田りえ子, 豊田正武<sup>1</sup>, 林譲: **クロマトグラムの積分方法が測定値の真度・精度に与える影響** *分析化学*, **52**, 589-595 (2003)

クロマトグラムのピーク測定によく用いられる方法(インテグレート法)と最近提案された方法(TOCO法)から得られる測定値の真度と精度を比較検討した。これらの方法の最も大きな違いは、インテグレート法ではピーク領域がベースラインノイズの変動に依存して変わるが、TOCO法では、ピーク領域(幅)は常に一定であることにある。

クロマトグラフィでよく観測されるベースラインノイズをコンピュータで合成し、ガウス型シグナルを重ね合わせた疑似クロマトグラムを作成し、インテグレート法とTOCO法で、面積・高さを測定した。インテグレート法は、面積・高さ共に正のバイアスを与える。このため、検量線は正の切片を持つ。一方、TOCO法は、インテグレート法に比べて、バイアスはかなり小さく、検量線も原点を通る。精度においては、パラメータの設定によっては、インテグレート法の精度は優れていることもあるが、全体的には、これらの方法の精度には、大きな差はない。

どちらの方法でも、検量線は直線であり、定量分析の観点からすれば、インテグレート法もTOCO法も、問題はないと結論できる。インテグレート法を用いて測定値から標準偏差を計算するときの理論的問題点を指摘する。

Keywords: HPLC, Integration method, bias, precision

<sup>1</sup> 実践女子大学

Yoshioka, Y., Suzuki, R., Oka, H., Okada, N.<sup>1</sup>, Okamoto, T., Yoshioka, T., Mukai, Y., Shibata, H., Tsutsumi, Y., Nakagawa, S., Miyazaki, J.<sup>2</sup>, Mayumi, T.: **A novel cytomedical vehicle capable of protecting cells against complement.**

*Biochem Biophys Res Commun.*, **305**, 353-8 (2003)

We have developed "Cytomedicine," which consists of functional cells entrapped in semipermeable polymer, and previously

reported that APA microcapsules could protect the entrapped cells from injury by cellular immune system. However, microencapsulated cells were not protected from humoral immune system. Here, we developed a novel APA microcapsule, in which APA microbeads (APA(Ba) microbeads) were modified to contain a barium alginate hydrogel within their centers in an attempt to make it more difficult for antibody and complement to permeate the microcapsules. The permeability of APA(Ba) microbeads was clearly less than that of APA microcapsules, presumably due to the presence of barium alginate hydrogel. Cells encapsulated within APA(Ba) microbeads were protected against treatment with xenogeneic anti-serum. Furthermore, murine pancreatic beta-cells encapsulated in APA(Ba) microbeads remained viable and continued to secrete insulin in response to glucose. Therefore, APA(Ba) microbeads may be a useful carrier for developing anti-complement device for cytomedical therapy.

**Keywords:** Cytomedicine, APA microcapsule, APA(Ba) microbeads, Complement, Permeability

\*1 京都薬科大学

\*2 大阪大学医学部

Yoshioka, Y., Suzuki, R., Okamoto, T., Okada, N.<sup>\*1</sup>, Mukai, Y.<sup>\*1</sup>, Shibata, S., Tsutsumi, Y., Nakagawa, S., Dohi, N.<sup>\*2</sup>, Okada, N.<sup>\*2</sup>, Mayumi, T.: **Combination effects of complement regulatory proteins and anti-complement polymer.**

*Biochim Biophys Acta.*, **1624**, 54-59 (2003)

We previously reported the development of a "cytomedicine" that consists of cells trapped in alginate-poly-L-lysine-alginate (APA) microcapsules and agarose microbeads. The functional cells that are entrapped in semipermeable polymer are completely isolated from cellular immune system. However, the ability of cytomedicine to isolate cells from the humoral immune system, which plays an essential role in xenograft rejection, is low. Therefore, the goal of the present study was to develop a novel cytomedicine that could protect the entrapped cells from injury of the complement system. We investigated the applicability of the complement regulatory protein (CRP), Crry, to cytomedicine. Crry-transfected cells entrapped within agarose microbeads resisted injury by complement to a degree, while entrapment of Crry transfected cells within agarose microbeads containing polyvinyl sulfate (PVS), a novel cytomedical device with anti-complement activity, clearly protected against complement attack. These data indicate that the combination of a CRP and a cytomedical device with anti-complement activity is a superior device for cytomedical therapy.

**Keywords:** Complement, Regulatory protein, Polymer

\*1 京都薬科大学

\*2 名古屋市立大学

Yoshioka, Y., Tsutsumi, Y., Ikemizu, S.<sup>\*2</sup>, Yamamoto, Y.<sup>\*1</sup>, Shibata, H.<sup>\*1</sup>, Nishibata, T.<sup>\*1</sup>, Mukai, Y.<sup>\*1</sup>, Okamoto, T.<sup>\*1</sup>, Taniai, M.<sup>\*1</sup>, Kawamura, M.<sup>\*1</sup>, Abe, Y.<sup>\*1</sup>, Nakagawa, S.<sup>\*1</sup>, Nagata, S.<sup>\*3</sup>, Yamagata, Y.<sup>\*2</sup>, Mayumi, T.<sup>\*1</sup>: **Optimal site-specific PEGylation of mutant TNF-alpha improves its antitumor potency.**

*Biochem Biophys Res Commun.*, **315**, 808-14 (2004)

Recently, we created a lysine-deficient mutant tumor necrosis factor-alpha [mTNF-alpha-Lys(-)] with full bioactivity in vitro compared with wild-type TNF-alpha (wTNF-alpha), and site-specific PEGylation of mTNF-alpha-Lys(-) was found to selectively enhance its in vivo antitumor activity. In this study, we attempted to optimize this PEGylation of mTNF-alpha-Lys(-) to further improve its therapeutic potency. mTNF-alpha-Lys(-) was site-specifically modified at its N-terminus with linear polyethylene glycol (LPEG) or branched PEG (BPEG). While randomly mono-PEGylated wTNF-alpha (ran-LPEG5K-wTNF-alpha) with 5 kDa of LPEG (LPEG5K) had about only 4% in vitro bioactivity of wTNF-alpha, mono-PEGylated mTNF-alpha-Lys(-) [sp-PEG-mTNF-alpha-Lys(-)] with LPEG5K, LPEG20K, BPEG10K, and BPEG40K had 82%, 58%, 93%, and 65% bioactivities of mTNF-alpha-Lys(-), respectively. sp-LPEG-mTNF-alpha-Lys(-) and sp-BPEG10K-mTNF-alpha-Lys(-) had much superior antitumor activity to those of both unmodified TNF-alphas and ran-LPEG5K-wTNF-alpha, though sp-BPEG40K-mTNF-alpha-Lys(-) did not show in vivo antitumor activity. Thus, the molecular shape and weight of PEG may strongly influence the in vivo antitumor activity of sp-PEG-mTNF-alpha-Lys(-).

**Keywords:** tumor necrosis factor-alpha, PEGylation, phage display system

\*1 大阪大学薬学部

\*2 熊本大学薬学部

\*3 National Institutes of Health

Yoshioka, Y., Tsutsumi, Y., Kamada, H.<sup>\*</sup>, Kihira, T.<sup>\*</sup>, Tsunoda, S.<sup>\*</sup>, Yamamoto, Y.<sup>\*</sup>, Okamoto, T.<sup>\*</sup>, Shibata, H.<sup>\*</sup>, Mukai, Y.<sup>\*</sup>, Taniai, M.<sup>\*</sup>, Shimizu, T.<sup>\*</sup>, Kawamura, M.<sup>\*</sup>, Abe, Y.<sup>\*</sup>, Nakagawa, S.<sup>\*</sup>, Mayumi, T.<sup>\*</sup>: **Selective enhancer of tumor vascular permeability for optimization of cancer chemotherapy.**

*Biol Pharm Bull.*, **27**, 437-9 (2004)

Clinical approach using tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) as selective destruction against tumor endothelial cells and selective enhancer of tumor vascular permeability for effective accumulation of antitumor chemotherapeutic agents has attracted attention. However, the clinical application of TNF-alpha as a systemic antitumor agent has been limited because of toxic side-effects. To systemically use TNF-alpha as an antitumor agent and the selective enhancer of tumor vascular permeability, we assessed the usefulness of PEGylated TNF-alpha (PEG-TNF-alpha). PEG-TNF-alpha at a dose of 1000 JRU showed marked hemorrhagic necrosis in S-180 tumors without side-effects due to selective destruction of tumor vasculature, whereas wild-type TNF-alpha at a dose of 10,000 JRU showed a little hemorrhagic necrosis with severe side-effects. PEG-TNF-alpha induced the enhancement of tumor vascular permeability. The permeability was increased at 1 h, after an *i.v.* injection of PEG-TNF-alpha and returned to the basal level at 2 h. In addition, high molecular weight of PEG (molecular weight; 500K) accumulated in tumor tissue as well as low molecular weight of PEG (molecular weight; 12K). On the other hand, PEG-TNF-alpha didn't affect the permeability of normal tissue and inflammation site. This data suggested that PEG-TNF-alpha was useful agent as selective enhancer of tumor vascular permeability with safe.

Keywords: tumor necrosis factor-alpha, permeability, tumor endothelial cell, chemotherapeutic drug

\* 大阪大学薬学部

佐々木次雄\*, 棚元憲一: 製薬用水の製造及び品質管理に関する調査研究

医薬品研究, 34, 703-716 (2003)

第十四改正日本薬局方医薬品各条に規定されている水の規格試験法は古く, 大きな見直しがされないまま現在に引き継がれてきた. 一方, USP では化学的試験法を簡便な導電率測定法や有機体炭素 (TOC) 測定法に置き換えていることもあり, 製薬業界からも日局製薬用水の規格試験法の見直しが求められている. さらに, 「薬局方検討会議 (PDG)」で, 製薬用水の国際調和が取り上げられた. このように製薬用水の国際調和と共に, 日局製薬用水の見直しが必要であり, 本研究ではそのための参考資料として国内製薬企業における「製薬用水の製造管理と品質管理」の現状について調査研究を行った.

Keywords: Japanese Pharmacopoeia, Water for pharmaceutical use, PDG

\* 国立感染症研究所

Abe-Onishi, Y., Yomota, C., Sugimoto, N., Kubota, H., Tanamoto, K.: Determination of benzoyl peroxide and benzoic acid in wheat flour by high-performance liquid chromatography and its identification by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry

*J. Chromatogr. A*, 1040, 209-214 (2004)

An HPLC method on C<sub>18</sub> column using a gradient mobile phase is proposed for the separate determination of residual benzoyl peroxide (BP) and benzoic acid (BA) in flour and wheat products. The recoveries obtained were quite excellent, from 96.0% to 99.3% for BP added to the flour, and 91.3% for BA added to the flour. Analysis of 10 samples of commercial foods such as flour and wheat products, detected 0.7  $\mu$ g/g of BP in imported noodles. Furthermore, we successfully verified the existence of BP by LC/MS. These methods are simple and reliable for determination and verifying the amount of BP and BA in foods since now the use of BP as a food additive is permitted in many countries.

Keywords: benzoyl peroxide, food additives, flour

阿部有希子, 杉田たき子, 和久井千世子, 新野竜大\*, 四方田千佳子, 石綿肇, 棚元憲一, 米谷民雄: 軟質玩具の表示およびポリ塩化ビニル製品中の可塑剤の調査

食品衛生学雑誌, 44, 168-174 (2003).

軟質玩具の表示および可塑剤について調査を行った. 2000年度および2001年度に購入した96製品の素材表示について調査を行ったところ, 2000年度購入分の43%, 2001年度購入分の68%に表示が施されていた. 軟質ポリ塩化ビニル (PVC) 製73製品については, 可塑剤の種類および含有量の調査を行った. 検出された可塑剤は, フタル酸エステル3種類とその他6種類であり, これらのうちフタル酸ジイソノニル, フタル酸ジ(2-エチルヘキシル), アジピン酸ジイソノニルおよびクエン酸 *O*-アセチルトリブチルは検出率が高く, 含有量も多かった. 可塑剤総含有量の平均値は2000年度280 mg/g, 2001年度227 mg/gであった. また, 2001年度は酸化防止

剤, 4-ノニルフェノールおよびビスフェノールAについても調査を行った.

Keywords: polyvinyl chloride, toy, plasticizer

\* 東京顕微鏡院食品環境科学センター

久保田浩樹, 大西有希子, 四方田千佳子, 棚元憲一: 食塩中のフェロシアン化物の分析

日本食品化学学会誌, 11, 32-35 (2004)

食塩中のフェロシアン化物分析法としてプルシアンブルー反応を用いた比色定量法の検討を行った. 本試験の添加回収率は, 91.1-105.5%であり, 変動係数は4%以下であった. また, 食塩に一部の重金属が残存していた場合, 呈色反応を阻害することが明らかとなったが, 一般の食塩に阻害濃度以上の重金属は含まれていなかった.

Keywords: ferrocyanide, salt, prussian blue reaction

大高怜子<sup>\*1</sup>, 前田昌子<sup>\*1</sup>, 岩上猛<sup>\*2</sup>, 植田泰輔<sup>\*2</sup>, 木村良夫<sup>\*2</sup>, 今井一洋<sup>\*3</sup>, 四方田千佳子, 松田りえ子, 林譲: HPLC分析における内標準法の有効性について

薬学雑誌, 123, 349-355 (2003)

内標準法は, 機器分析におけるサンプル調製誤差や注入誤差を補償する方法として知られている. しかし, 最近のHPLC装置は優れた再現性を持つインジェクターを装備しており, 分析精度の向上に役立つかどうかは疑わしい.

そこで, プチルスコポラミンのHPLC分析を例として, 内標準法と絶対検量線法の測定値のRSDを比較し, これらの方法の有効性について議論した. 内標準法の測定値のRSDは, 繰り返し実験無しに, FUMI理論により良く見積もることが出来た. また, 内標準物質のピークが小さすぎると, 内標準法のRSDが絶対検量線法のRSDより大きくなる可能性があることが示され, FUMI理論を用いることにより, 繰り返し実験無しに, 内標準法と絶対検量線法の精度の高い方を選択することが可能であった.

Keywords: HPLC, internal standard, FUMI theory

\*1 昭和大学薬学部

\*2 林純薬工業

\*3 東京大学大学院薬学研究科

Sato, K., Sugimoto, N., Ohta, M., Yamazaki, T., Maitani, T., Tanamoto, K.: Structure Determination of Minor Red Pigment in Carthamus Red Colorant Isolated by Preparative LC/MS

*Food Add. Contam.*, 20, 1015-1022 (2003).

Carthamin is a well-known major pigment in carthamus red colourant. When analysed by HPLC on an ODS column, the colorant separated into two distinct reddish pigments, with both components having almost identical photodiode array spectra. LC/MS analysis suggested one of the compounds was carthamin, whilst the other was an unknown minor pigment. The minor pigment was purified and isolated from the colorant by preparative LC/MS collecting the fraction based on monitoring the deprotonated molecule [M-H]<sup>-</sup> *m/z* 953 in electrospray negative-ion mode. The structure was elucidated as a hydroxyethyl ether of carthamin, a novel compound, by means of NMR and HR-FAB-MS analyses.

Keywords: *Carthamus tinctorius*, carthamin, preparative LC/MS

杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一: 天然苦味料  
ジャマイカカussia抽出物の成分分析

食品衛生学雑誌, 44, 328-331 (2003).

天然苦味料ジャマイカカussia抽出物製品の主構成成分についてLC/MS, HPLCを用いて検討した。また, 主有効成分クアシンを単離・精製し, その構造をMS, NMRにより確認した。更に, 得られたクアシンを標品として絶対検量線法により製品中のクアシンおよびネオクアシンの含有量を検討した結果, それぞれ21.4%および55.5%であることを明らかとした。また同時に, ジャマイカカussiaと同科植物であるニガキよりニガキ抽出物を調製し, ジャマイカカussia抽出物製品と比較したところ, その成分組成が異なることを明らかとした。

Keywords: *Quassia excelsa* SW, quassin, neoquassin

Mohri, K.<sup>1</sup>, Watanabe, Y.<sup>1</sup>, Yoshida, Y.<sup>1</sup>, Sato, M.<sup>1</sup>, Isobe, K.<sup>1</sup>, Sugimoto, N., Tsuda, Y.<sup>2</sup>: **Synthesis of Glycosylcurcuminoids**  
*Chem. Pharm. Bull.*, 51, 1268-1272 (2003).

Condensation of glycosylated arylaldehyde with acetylacetone-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> complex gave a corresponding diglycosylcurcuminoid, and a similar reaction using a mixture of arylaldehyde and glycosylarylaldehyde gave an unsymmetrical monoglycosylcurcuminoid, both as boron-complexes. The boron was removed from the complexes by heating in methanol, thus achieving the synthesis of di- and mono-glycosylcurcuminoids.  
Keywords: glycosylcurcuminoid, diglycosylcurcumin, digalactosylcurcumin

<sup>1</sup> Showa Pharmaceutical University

<sup>2</sup> Karachi University

Kaminaga, Y.<sup>\*</sup>, Nagatsu, A.<sup>\*</sup>, Akiyama, T., Sugimoto, N., Yamazaki, T., Maitani, T., Mizukami, H.: **Production of unnatural glucosides of curcumin with drastically enhanced water solubility by cell suspension cultures of *Catharanthus roseus***

*FEBS Lett.*, 555, 311-316 (2003).

*Catharanthus roseus* cell suspension cultures converted exogenously supplied curcumin to a series of glucosides, none of which has been found in nature so far. The efficiency of glycosylation was dependent on culture stage of the cells and medium sucrose concentration. Methyl jasmonate and salicylic acid enhanced the glucoside formation only when they were added to the cultures prior to the addition of curcumin. The glucoside yield was 2.5 μmol/g fresh weight of the cells at an optimal culture condition. The water solubility of curcumin-4',4''-O-β-D-digentiobioside was 0.65 mmol/ml, which was 20 million-fold higher than that of curcumin.

Keywords: Glycosylation, Curcumin, *Catharanthus roseus*

<sup>\*</sup> Nagoya City University

Kawamura, Y., Ogawa, Y., Nishimura, T., Kikuchi, Y., Nishikawa, J.<sup>\*</sup>, Nishihara, T.<sup>\*</sup>, Tanamoto, K.: **Estrogenic activities of UV stabilizers used in food contact plastics and benzophenone derivatives tested by the yeast two-hybrid assay**

*J. Health Sciences*, 49, 205-212 (2003)

UV stabilizers used in food contact plastics and benzophenone derivatives were tested for their estrogenic activity by the yeast two-hybrid assay. Of these, 15 chemicals showed estrogenic activity. The strongest activity was by 2,4-dihydroxybenzophenone and 4-hydroxy-4'-chlorobenzophenone, which activities were stronger than that of bisphenol A. The structure-activity relationships of benzophenones were obtained. The activity of the benzophenones with a hydroxyl group at the 4-position was positive and rather strong, though that of other benzophenones with a hydroxyl group at only the 2-position was negative or weakly positive.

Keywords: estrogenic activity, benzophenone derivatives, Yeast two-hybrid assay

<sup>\*</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

河村葉子, 高橋智美, 山田隆: 酸化防止剤含有ポリエチレン, ポリプロピレン及びポリスチレンに対するガンマ線照射の影響

食品照射, 38, 11-22 (2003)

酸化防止剤であるBHT, Irganox 1076, Irgafos 168及びIrganox 1010を添加したポリエチレン, ポリプロピレン及びポリスチレン製のフィルムまたはシートを用い, γ線照射による添加剤, ポリマー及び添加剤分解物, モノマー等の変動, 引っ張り強度, 色調や臭気の変化等を調べた。その結果, 3種類のポリマーの中ではポリスチレンが照射に対して最も安定であり, 一方ポリプロピレンは分解物の生成も多く, また引っ張り強度の低下も著しかった。また, ポリエチレンはポリプロピレンよりも安定であったが, BHT添加時の照射による黄変は最も著しかった。ポリマー分解物のうち, 酢酸, プロピオン酸等の生成は酸化防止剤の添加により抑制され, ポリプロピレンの引っ張り強度の低下も, Irgafos 168等の添加により改善された。一方, 添加された酸化防止剤は照射により減少したが, 特にIrgafos 168の減少が著しく, 照射により生成したラジカル等との反応性が高いことが示唆された。

Keywords: antioxidant, polymer, irradiation

六鹿元雄, 河村葉子, 棚元憲一: ポリエチレンテレフタレート製品中のホルムアルデヒド, アセトアルデヒド及びオリゴマー分析法

日本食品化学学会誌, 10, 138-144 (2003)

ポリエチレンテレフタレート容器中のホルムアルデヒド, アセトアルデヒド及びオリゴマー分析法を改良した。PET試料はTFAに溶解し, 同時に2,4-ジニトロフェニルヒドラジンによりホルムアルデヒドとアセトアルデヒドをヒドラゾン誘導体とした。K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液で中和後, 吸引ろ過により析出したPETポリマーを除き, ジクロロメタンでホルムアルデヒド及びアセトアルデヒド誘導体とともにオリゴマーも抽出した。これら化合物の測定はHPLCを用いUV検出(254 nm及び360 nm)で行った。この方法を用いて食品用に使用されていたPET製品について含有量を測定したところ, ホルムアルデヒドND~1.38 μg/g, アセトアルデヒド11.57~44.43 μg/g, 環状オリゴマー(3量体)3.6~10.9 mg/gであった。

Keywords: polyethylene terephthalate (PET), formaldehyde, ac-

etaldehyde

Xin, K. Q.<sup>1</sup>, Hashino, Y.<sup>1</sup>, Toda, Y.<sup>1</sup>, Igimi, S., Kojima, Y.<sup>1</sup>, Jounai, N.<sup>1</sup>, Ohba, K.<sup>1</sup>, Kushiro, A.<sup>2</sup>, Kiwaki, M.<sup>2</sup>, Hamajima, K.<sup>1</sup>, Klinman, D.<sup>3</sup> Okuda, K.<sup>1</sup> : **Immunogenicity and protective efficacy of orally administered recombinant *Lactococcus lactis* expressing surface-bound HIV Env.**

*Blood*, **102**, 223-228 (2003)

This study investigates whether genetically modified orally administered *Lactococcus lactis* (*L. lactis*) could be used as an HIV vaccine. *L. lactis* is immunogenic and extremely safe when delivered orally. We created a recombinant *L. lactis* vector expressing the envelope protein of HIV on its cell surface. Oral immunization with this vector induced high levels of HIV-specific serum IgG and fecal IgA antibodies. Cell mediated immune responses were also generated in both the regional lymph nodes and the spleen. Dendritic cells are readily infected by *L. lactis* and appear to play a potential role in mediating the development of these immune responses. The protective efficacy of this vaccine strategy was demonstrated by challenging intraperitoneally with an HIV Env-expressing vaccinia virus. Their viral loads were 350-fold lower than those of control mice. These findings support the further development of *L. lactis*-based HIV vaccines.

**Keyword:** HIV, Vaccine, *Lactococcus lactis*

<sup>1</sup>Yokohama City University School of Medicine

<sup>2</sup>Yacult Central Institute for Microbiological Research

<sup>3</sup>US Food and Drug Administration

Matuoka, H.<sup>\*</sup>, Oishi, K.<sup>\*</sup>, Watanabe, M.<sup>\*</sup>, Kozono, I.<sup>\*</sup>, Saito, M.<sup>\*</sup> Igimi, S. : **Viable cell detection by the combined use of fluorescent glucose and fluorescent glycine.**

*Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **67**, 2459-2462(2003)

The combined use of a fluorescent glucose (2NBDG) and a fluorescent glycine (NBD-Gly) was tried for the detection of viable cells of significant foodborne pathogenic strains in addition to several *Escherichia coli* strains and coliforms. Thirty-five out of 41 strains showed marked uptake of 2NBDG but 6 strains were not able to take in 2NBDG. Five out of these 6 strains showed NBD-Gly uptake.

**Keywords:** fluorescent glucose, fluorescent glycine, detection

\*東京農工大学

Igimi, S., Kajikawa, A., Okutani, A.: **Development of oral vaccines based on lactic acid bacteria.**

*Milk Science*, **52**, 185-187 (2003)

Based on the previous studies of vaccination, it is recognized that the administration of a vaccine through the infection route of a pathogen is highly effective for vaccination. According to the concept, oral vaccination is the best strategy to induce immune responses against enteric infections. Lactic acid bacteria such as *Lactobacillus* spp. and *Lactococcus lactis* have been used for food fermentation and are generally regarded as safe for consumption. Moreover, several strains of *Lactobacillus* have a high adjuvant effect to enhance the antigen specific immune responses. It is also reported that different strains of lactobacilli are capable of induc-

ing different cytokine production. In addition, lactic acid bacteria are more cost-effective than the other candidates of oral vaccine. These findings have attracted interest in the use of these bacteria for vaccination purposes, and lactobacilli are currently under investigation for use in oral vaccination. In this review, we introduce our challenge to develop effective oral vaccines based on recombinant lactic acid bacteria as antigens delivery vehicles

**Keywords:** oral vaccine, Lactic acid bacteria, recombinant DNA

Okutani, A., Okada, Y., Yamamoto, S., Igimi, S.: **Overview of *Listeria monocytogenes* contamination in Japan.**

*International Journal of Food Microbiology*, **93**, 131-140 (2004)

Listeriosis is a relatively rare foodborne illness but can be life threatening with high fatality rates. In Japan, the incidence of listeriosis has been very low for the past 40 years compared with that of Western Europe and North America. We hypothesized that less *Listeria monocytogenes* contamination in Japanese foods would be related to the lower incidence in Japan. For this purpose, we collected data of Japanese foods contaminated with *L. monocytogenes*, mainly from Japanese-written reports, and reviewed them. From this review, we found that the proportion of *L. monocytogenes*, *Listeria* spp. isolation from foods in Japan is similar to those reported from other countries and that other factors might be responsible for the lower occurrence of listeriosis.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, Food contamination, foodborne pathogen

Cheun, H. I.<sup>\*</sup>, Kawamoto, K.<sup>\*</sup>, Hiramatsu, M.<sup>\*</sup>, Tamaoki, H.<sup>\*</sup>, Shirahata, T.<sup>\*</sup>, Igimi, S., Makino, S-I.<sup>\*</sup>: **Protective immunity of SpaA-antigen producing *Lactococcus lactis* against *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection.**

*J Appl Microbiol*, **96**, 1347-1353 (2004)

To develop an economical, safe and simple vaccination system against swine erysipelas using SpaA-antigen producing *Lactococcus lactis*. Methods and Results: The spaA gene of *Erysipelothrix rhusiopathiae* was inserted into a shuttle plasmid pSECE1 to construct pSECE1.3. The SpaA produced in *L. lactis* maintained a stable antigenicity without degrading in growth. After mice were inoculated intranasally and orally with pSECE1.3-carrying *L. lactis* cells, IgG and IgA specific to SpaA were detected, and all the mice survived a challenge with 100 LD(50) of *E. rhusiopathiae* Tama-96 in the inner thigh. Conclusions: SpaA-producing *L. lactis* appears useful as an effective subunit vaccine against swine erysipelas. Significance and Impact of the Study: In this vaccination system, purification of the antigen and injection are unnecessary, leading to a reduced production cost, reduced labour and less stress to the animals. This vaccination system of the lactic acid bacteria should be a safe and suitable vehicle for a polyvalent vaccine.

**Keyword:** *Lactococcus lactis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, vaccine

\*帯広畜産大学

Yamasaki, M., Igimi, S., Katayama, Y.<sup>1</sup>, Yamamoto, S. Amano, F.<sup>2</sup>: **Identification and characterization of an oxidative stress-responsive protein from *Campylobacter jejuni*, ho-**

**homologous to Rubredoxin oxidoreductase/Rubrerhythrin.***FEMS Microbiol Lett*, **235**, 57-63 (2004)

An oxidative stress-sensitive protein was found in the microaerophile *Campylobacter jejuni*. A novel 27-kDa protein was found to decrease concomitantly with a decrease in viability from either exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stress or endogenous oxidative stresses in aerobic conditions. Sequence analyses revealed that the 27-kDa protein was identical to Cj0012c in *C. jejuni* NCTC11168 and its deduced 215 amino acid sequence has similarity to two non-heme iron proteins found in other bacteria, rubredoxin oxidoreductase (Rbo) and rubrerhythrin (Rbr). Thus, we designated the protein as Rrc (Rbo/Rbr-like protein of *C. jejuni*). In H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated cells, Western blot analysis showed some bands smaller than Rrc, and RT-PCR showed similar expression of Rrc mRNA to the control without treatment, suggesting that the sensitive response of Rrc to oxidative stress is due to degradation of the protein.

Keyword: *Campylobacter jejuni*, oxidative stress, foodborne pathogen

\*<sup>1</sup> 東京農工大学\*<sup>2</sup> 大阪薬科大学

Poapolathep, A.<sup>\*</sup>, Nagata, T.<sup>\*</sup>, Suzuki, H., Kumagai, S.<sup>\*</sup>, Doi, K.<sup>\*</sup>: **Development of early apoptosis and changes in lymphocyte subsets in lymphoid organs of mice orally inoculated with nivalenol.**

*Exp Mol Pathol.*, **75**, 74-79 (2003).

Development of early apoptosis and changes in lymphocyte subsets were examined in lymphoid organs of female BALB/c mice after oral administration of 15 mg/kg b.w. of nivalenol (NIV), the major type B trichothecene mycotoxin, by FACS analysis. Judging from the results of viable cell count and apoptotic cell index, NIV attacked Peyer's patches first and thymus most severely. In thymus, selective damage in CD4(+)CD8(+) cells was observed at 12 and 24 h after inoculation (HAI), following the peak of apoptosis at 9 HAI. CD4(+) cells were clearly suppressed at 3 HAI in Peyer's patches, at and after 9 HAI in mesenteric lymph nodes, and 3 to 12 HAI in spleen, respectively. CD8(+) cells were also suppressed at 24 HAI in mesenteric lymph nodes and at 12 HAI in spleen, respectively. As to changes in B cell subsets, IgG(+) cells significantly decreased from 3 to 12 HAI and all B cell subsets at 24 HAI in mesenteric lymph nodes. In spleen, IgM(+) cells were suppressed at 9 HAI. On the other hand, in Peyer's patches, following clear decrease in the numbers of pan-T and pan-B cells and viable cells at 3 HAI, all B cell subsets, especially IgA(+) cells, showed a significant increase in their numbers at 9 HAI, and the numbers of IgA(+) and IgM(+) cells remained higher values than controls thereafter. Taken together, in the course of recovery from NIV-induced prominent damage in Peyer's patches at 3 HAI, interaction of NIV with Peyer's patches might result in in vivo stimulation of interleukin production at this site and result in increased proliferation and differentiation of IgA-secreting B cells at and after 9 HAI.

Keywords: nivalenol, apoptosis, lymphocytes

\* The University of Tokyo

Asakura, H., Kawamoto, K.<sup>\*1</sup>, Watarai, M.<sup>\*2</sup>, Makino S-I.<sup>\*1</sup>,**: Changes in *Salmonella enterica* serovar Oranienburg viability caused by NaCl-induced osmotic stress is related to DNA relaxation by the H-NS protein during host infection.***Microbial Pathog.*, **36**, 147-151 (2004)

The NaCl sensitivity of *Salmonella enterica* serovar Oranienburg strains depends on their origin. We found previously that food- and patient-origin isolates in an outbreak were, respectively, NaCl-resistant and NaCl-sensitive, and the NaCl-resistant strain of food-origin isolates became NaCl-sensitive after passage of the strain through mice. Here, we report that this phenotypic difference is mainly dependent on topological changes regulated by H-NS, a bacterial histone-like nucleoid protein that binds non-specifically to DNA. That is, this phenotypic difference was caused by changes in DNA topology during infection of the host. Based on these findings, we propose this mechanism has a key role in promoting the survival of *Salmonella* under osmotic stress.

Keywords: *Salmonella* Oranienburg, H-NS, NaCl-resistance.

\*<sup>1</sup> 帯広畜産大学原虫病研究センター\*<sup>2</sup> 帯広畜産大学畜産学部

Makino, S-I.<sup>\*1</sup>, Tobe, T.<sup>\*2</sup>, Asakura, H., Watarai, M.<sup>\*3</sup>, Ikeda, T.<sup>\*4</sup>, Takeshi, K.<sup>\*4</sup>, Sasakawa, C.<sup>\*5</sup>: **Distribution of the secondary type III secretion system locus found in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 isolates among Shiga toxin-producing *E. coli* strains.**

*J. Clin. Microbiol.* **41**, 2341-2347 (2003)

The ability of the complete genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 led to the identification of a 17-kb chromosomal region which contained a type III secretion system gene cluster at min 64.5. This locus contains open reading frames whose amino acid sequences show high degrees of similarity with those of proteins that make up the type III secretion apparatus, which is encoded by the *inv-spa-prg* locus on a *Salmonella* SPI-1 pathogenicity island. This locus was designated ETT2 (*E. coli* type III secretion 2) and consisted of the *epr*, *epa*, and *eiv* genes. ETT2 was found in enteropathogenic *E. coli* strains and also in some non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) strains, but most of them contained a truncated portion of ETT2. Most O157 isolates had a complete collection of toxin-encoding genes *eae* and *hlyA* and the ETT2 locus, while most O26 strains had toxin-encoding genes *eae* and *hlyA* genes but an incomplete ETT2 locus. Thus, an intact copy of ETT2 might mark a pathogenic distinction for particular STEC strains. Therefore, the presence of the ETT2 locus can be used for identification of truly pathogenic STEC strains and for molecular fingerprinting of the epidemic strains in humans and animals.

Keywords: EHEC O157, ETT2 (*E. coli* type III secretion 2)

\*<sup>1</sup> 帯広畜産大学原虫病研究センター\*<sup>2</sup> 大阪大学大学院医学研究科\*<sup>3</sup> 帯広畜産大学畜産学部\*<sup>4</sup> 北海道立衛生研究所\*<sup>5</sup> 東京大学医科学研究所

Jong-Chul Park<sup>\*1</sup>, Min Sub Lee<sup>\*1</sup>, Dong-Wook Han<sup>\*1</sup>, Dong Hee Lee<sup>\*1</sup>, Bong Joo Park<sup>\*1</sup>, Masakazu Uzawa<sup>\*2</sup> and Kosuke Takatori

**: Inactivation of Bacteria in Seawater by Low-Amperage**

**Electric Current**

*Applied and Environmental Microbiology*, 69(4), 2405-2408 (2003)

Seawater used in mariculture has been suspected of being a potential source of infection. In this study, the lethal effects of low-amperage electric treatment on microorganisms were examined in natural seawater and in seawater inoculated with *Vibrio parahaemolyticus*. In conclusion, the results indicate that low-amperage electric treatment is effective for rapid inactivation of microorganisms in seawater.

Keywords: bacteria, low amperage electric current, seawater

\*<sup>1</sup> Yonsei University

\*<sup>2</sup> Applied Science Co., Ltd.

齋藤禎子\*<sup>1</sup>, 前田直之\*<sup>1</sup>, 和田正夫\*<sup>2</sup>, 井上幸次\*<sup>3</sup>, 光永サチ子\*<sup>4</sup>, 濱野光\*<sup>4</sup>, 高鳥浩介: ソフトコンタクトレンズに増殖する真菌の低真空走査電子顕微鏡による観察  
日コレ誌, 45, 28-32 (2003)

ソフトコンタクトレンズの真菌汚染の実態を把握するために基礎研究を行った。供試真菌 3 種でのソフトコンタクトレンズへの侵入性を *in vitro* 試験で行った。いずれも早期に侵入を認めることからレンズ滅菌のための工夫が必要と思われた。

Keywords: ソフトコンタクトレンズ, 真菌, 低真空走査電子顕微鏡

\*<sup>1</sup> 大阪大学眼科

\*<sup>2</sup> 日立サイエンスシステムズ

\*<sup>3</sup> 鳥取大学眼科

\*<sup>4</sup> ハマノ眼科

土肥友恵\*<sup>1</sup>, 田中辰明\*<sup>1</sup>, 李憲俊\*<sup>2</sup>, 相原真紀, 高鳥浩介: 住環境由来真菌の建築資材等基質への付着および初期発育  
防菌防黴, 31(6), 319-322 (2003)

We investigated the adhesion of fungi, isolated from the indoor environment, to polyvinyl chloride plates and the influence of relative humidity (RH) on the early growth stages of these fungi adhering to the plates. The average number of fungal conidia adhering to the plates was 29.5/mm<sup>2</sup> for *Aspergillus niger*, and 16.8/mm<sup>2</sup> for *Cladosporium sphaerospermum*. The average number adhering to the polyvinyl chloride plate was greater than that to the slide glass used as control. When the plates to which fungal conidia adhered were incubated at 25°C, 84%RH, *A. niger* showed no germination, but *C. sphaerospermum* could germinate at a low relative humidity compared with *A. niger*. This is one of the reasons that *C. sphaerospermum* is the fungi most prevalently found in indoor environments. Reading the growth on the plates, though some conidia showed germination and hyphal growth, growth ceased at the length of about 30mm at 84%RH. Primary branches of hyphae were seen at above 98%RH.

Keywords: indoor environment, adhesion, early stage of fungal growth

\*<sup>1</sup> お茶の水女子大学

\*<sup>2</sup> 衛生微生物研究センター

Jong-Chul Park\*<sup>1</sup>, Min Sub Lee\*<sup>1</sup>, Dong-Wook Han\*<sup>1</sup>, Dong Hee

Lee\*<sup>1</sup>, Bong Joo Park\*<sup>1</sup>, In-Seop Lee\*<sup>1</sup>, Masakazu Uzawa\*<sup>2</sup>, Maki Aihara, and Kosuke Takatori: **Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in Effluent Seawater by Alternating-Current Treatment**

*Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1833-1835 (2004)

*Vibrio parahaemolyticus*, the cause of gastroenteritis in humans, was inactivated by alternating low-amperage electricity. In this study, the application of alternating low-amperage electric treatment to effluent seawater was investigated for the large-scale disinfection of seawater. This method was able to overcome the problem of chlorine generation that results from treatment with continuous direct current. In conclusion, our results showed that alternating-current treatment inactivates *V. parahaemolyticus* in effluent seawater while minimizing the generation of chlorine and that this alternating-current treatment is therefore suitable for practical industrial applications.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, alternating-current treatment, effluent seawater

\*<sup>1</sup> Yonsei University

\*<sup>2</sup> Applied Science Co., Ltd.

Jong-Chul Park\*<sup>1</sup>, Bong Joo Park\*<sup>1</sup>, Dong-Wook Han\*<sup>1</sup>, Dong Hee Lee\*<sup>1</sup>, In-Seop Lee\*<sup>1</sup>, Soon O Hyun\*<sup>2</sup>, Moon-Sung Chun\*<sup>3</sup>, Kie-Hyung Chung\*<sup>3</sup>, Maki Aihara, and Kosuke Takatori: **Fungal Sterilization Using Microwave-Induced Argon Plasma at Atmospheric Pressure**

*Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(1), 188-192 (2004)

The main aim of this study was to investigate the sterilization effects of microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure on paper materials contaminated with fungi. Plasma treated filter papers showed no evidence to an unaided eye of burning or paper discoloration due to the plasma treatment. All fungi were perfectly sterilized in less than 1 sec, regardless of strains. These results indicate that this sterilization method for paper materials is easy to use, requires significantly less time than other traditional methods and different plasma sterilization methods, and is also nontoxic.

Keywords: fungal, sterilization, microwave-induced argon plasma, atmospheric pressure

\*<sup>1</sup> Yonsei University

\*<sup>2</sup> Korea Institute of Industrial Technology

\*<sup>3</sup> Seoul National University

Ohnishi, T., Muroi, M., Tanamoto, K.: **MD-2 is necessary for the Toll-like receptor 4 protein to undergo glycosylation essential for its translocation to the cell surface.**

*Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 10, 405-410 (2003)

MD-2 has been reported to be required for the translocation of the Toll-like receptor 4 (TLR4) to the cell surface. However, the mechanism by which MD-2 promotes TLR4 translocation is unknown. We identified the presence of two forms of TLR4 with different molecular masses (approximately 110 and 130 kDa) when TLR4 was expressed together with MD-2. Expressing TLR4 alone produced only the 110-kDa form. Using a membrane-imperme-

able biotinylation reagent, we found that only the 130-kDa form of TLR4 was expressed on the cell surface. When a cellular extract prepared from cells expressing TLR4 and MD-2 was treated with N-glycosidase, the two forms of TLR4 converged into a single band whose size was smaller than the 110-kDa form of TLR4. Mutation of TLR4 at Asn<sup>526</sup> or Asn<sup>575</sup> resulted in the disappearance of the 130-kDa form and prevented TLR4 from being expressed on the cell surface without affecting the ability of TLR4 to associate with MD-2. These results indicate that TLR4 is able to undergo multiple glycosylations without MD-2 but that the specific glycosylation essential for cell surface expression requires the presence of MD-2. **Keywords:** MD-2, Toll-like receptor 4, lipopolysaccharide

Muroi, M., Ohnishi, T., Azumi-Mayuzumi S., and Tanamoto, K.: **Lipopolysaccharide-mimetic activities of a Toll-Like receptor 2-stimulatory substance(s) in enterobacterial lipopolysaccharide preparations.**

*Infect. Immun.*, **71**, 3221-3226 (2003).

Lipopolysaccharide (LPS) preparations are known to often contain substances which activate cells through Toll-like receptor 2 (TLR2), and it is suspected that bacterial lipoproteins are responsible for this activation. We compared the mode of action of the TLR2-stimulatory substances with that of a synthetic bacterial lipopeptide (tripalmitoyl-Cys-Ser-Ser-Asn-Ala [Pam<sub>3</sub>CSSNA]), as well as with that of peptidoglycan. Six out of eight LPS preparations tested induced NF- $\kappa$ B-dependent reporter activity in 293 cells expressing CD14 and TLR2. Phenol extract (PEX) prepared from *E. coli* LPS by modified phenol extraction induced reporter activity in 293 cells expressing TLR2, and this activity was enhanced by coexpression of CD14, whereas the activity of Pam<sub>3</sub>CSSNA was not dependent on CD14. The activity of PEX, but not that of Pam<sub>3</sub>CSSNA or peptidoglycan, was also enhanced by LPS binding protein or serum and blocked by polymyxin B. In addition, the activity of PEX was inhibited by a lipid A precursor in 293 cells expressing CD14 and TLR2. These results indicate that *E. coli* LPS preparations contain LPS-mimetic TLR2-stimulatory substances which differ from bacterial lipopeptides or peptidoglycan.

**Keywords:** lipopolysaccharide, Toll-like receptor 2, peptidoglycan

Sugiyama, K., Niki, P. T.<sup>1</sup>, Inokuchi, K.<sup>2</sup>, Teranishi, Y.<sup>1</sup>, Ueda, M.<sup>3</sup>, and Tanaka, A.<sup>3</sup>: **Heterologous expression of metabotropic glutamate receptor subtype 1 in *Saccharomyces cerevisiae*.**

*Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **64**, 531-536 (2004).

The upstream region of the isocitrate lyase gene (UPR-ICL) from the *n*-alkane-utilizing yeast *Candida tropicalis* serves as a useful promoter of gene expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The production of rat metabotropic glutamate receptor 1  $\alpha$  (mGluR1  $\alpha$ ), which belongs to the G-protein-coupled receptor (GPCR) family, was tested under the control of UPR-ICL. Expression of mGluR1  $\alpha$  was found in recombinant clones and enhanced by replacing the signal sequence of mGluR1  $\alpha$  with the corresponding region of the  $\alpha$ -factor receptor (Ste2), which is a

GPCR found in *S. cerevisiae*. Moreover, the membrane fraction from a recombinant clone associated with Vesl-1S/Homer-1a protein binds the mGluR1  $\alpha$  in rat cerebellum. These results suggest that the UPR-ICL-controlled gene expression system is useful for heterologous GPCRs in *S. cerevisiae*.

**Keywords:** mGluR1  $\alpha$ , expression, *Saccharomyces cerevisiae*

<sup>1</sup> GenCom Co.

<sup>2</sup> Mitsubishi Kagaku Institute of Life Sciences

<sup>3</sup> Kyoto University

Michiko Miyahara, Shigeru Matsushita<sup>1</sup>, Akemi Kai<sup>1</sup>, Kazumichi Tamura<sup>2</sup>, Jun Terajima<sup>2</sup>, Kazuhiro Kobayashi<sup>3</sup>, Minoru Murase<sup>4</sup>, Keiko Yanagawa<sup>5</sup>, Tokuhiko Nishina<sup>6</sup>, Makoto Miyahara, Hirota Konuma : **Collaborative evaluation of detection methods for *Shigella sonnei* in oyster and young corn**

*Biocontrol Science*, **8**, 177-182 (2003)

A new two-step enrichment method for the detection of *Shigella sonnei* in oysters and young corn was compared to the Bacteriological Analytical Manual (BAM)/Association of Analytical Communities (AOAC) method in a collaborative study. Twenty-one laboratories participated in the evaluation. Each laboratory used both methods for the detection of *S. sonnei* which had been inoculated into chilled or frozen oysters and young corn. The new method showed superior detection rates for *S. sonnei* that had been inoculated into chilled and frozen oysters compared to the BAM/AOAC method with regard to the five detection items mentioned above. Both methods showed similar high detection rates for *S. sonnei* in chilled and frozen young corn. Based on these results, the new two-step enrichment method is recommended for the detection of *S. sonnei* in food.

**Keywords:** *Shigella sonnei*, collaborative evaluation, storage temperature

<sup>1</sup> Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

<sup>2</sup> National Institute of Infectious Diseases

<sup>3</sup> Osaka Prefectural Institute of Public Health

<sup>4</sup> Kobe Institute of Health

<sup>5</sup> Saitama Prefectural Institute of Public Health

<sup>6</sup> Tokai University Junior College

Jun Terajima<sup>1</sup>, Kazumichi Tamura<sup>1</sup>, Kenji Hirose<sup>1</sup>, Hidemasa Izumiya<sup>1</sup>, Michiko Miyahara, Hirota Konuma<sup>2</sup>, and Haruo Watanabe<sup>1</sup>: **A Multi-Prefectural Outbreak of *Shigella sonnei* Infections Associated with Eating Oysters in Japan**

*Microbiol. Immunol.*, **48**, 49-52 (2004)

Among roughly one thousand incidents of shigellosis annually in Japan, approximately 70 % of the cases are estimated to be associated with overseas travel. However, at the end of 2001, reports of domestically acquired *Shigella sonnei* infections suddenly increased. We report here the first multi-prefectural outbreak of *Shigella sonnei* infections linked to the consumption of imported oysters in Japan at the end of 2001. Isolates of *S. sonnei* from patients epidemiologically linked to eating contaminated oysters and from the imported oysters themselves showed an indistinguishable pulsed-field gel electrophoresis pattern and drug



resistance pattern.

Keywords: *Shigella sonnei*, PFGE, Oyster

<sup>\*1</sup> National Institute of Infectious Diseases

<sup>\*2</sup> Tokai University

宮原美知子・後藤公吉<sup>\*1</sup>・斉藤章暢<sup>\*2</sup>・金子誠二<sup>\*3</sup>・増田高志<sup>\*4</sup>・長谷川順子<sup>\*5</sup>・仁科徳啓<sup>\*5</sup>・小沼博隆: 野菜滲出液とゆで汁における腸管出血性大腸菌とサルモネラの増殖挙動

日食微誌, 21, 23-29 (2004)

最近野菜に関わる二次汚染による食中毒事件発生が多い。この発生防止策を考えるための知見を得る目的で、腸管出血性大腸菌0157(0157)と二種サルモネラ [*Salmonella Infantis* (SI)と*Salmonella Enteritidis*(SE)]の増殖挙動について接種実験による検討を行った。1. 滅菌精製水(DW)、生理食塩液(PS)とトリプトソイ培養液(TSB)中における25, 30と35℃の各保存温度と保存時間2, 4, 6と8時間での接種後保存実験: 三種菌ともDWやPS中に保存しても、急激な菌数減少は起こさず、25-35℃、8時間保存でもほぼ接種菌数を維持していた。TSB培養液中30℃以上8時間の保存では約10<sup>1</sup>~10<sup>4</sup>倍の菌数増殖があった。2. 野菜滲出液中での0157とSIの接種後保存実験: 8種類の野菜-ホウレン草、レタス、キュウリ、大根、キャベツ、セロリ、カブおよびネギの滲出液での増殖性を検討した結果、0157はネギで減少し、キャベツで増殖抑制傾向を示した。それ以外の野菜では盛んに増殖し、TSBでの保存と同等の増殖性を示した。SIでは、セロリ、カブ、ネギで減少し、キャベツで増殖抑制傾向を示し、他の野菜4種は盛んな増殖を示した。3. 野菜ゆで汁での2種サルモネラの接種後保存実験: SEとSIでは菌の増殖挙動に差異がみられた。ホウレン草、チンゲン菜とキャベツのゆで汁への接種実験では、SEですべての野菜で増殖し、SIはホウレン草では増殖したが、チンゲン菜とキャベツでは増殖抑制傾向がみられた。

Keywords: vegetables, pathogenic bacteria, proliferation

<sup>\*1</sup> 新潟県食肉衛生検査センター

<sup>\*2</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*3</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*4</sup> 静岡県環境衛生科学研究所

<sup>\*5</sup> 東海大学短期大学部静岡校

Hara-Kudo, Y., Sugiyama, K.<sup>\*1</sup>, Nishibuchi, M.<sup>\*2</sup>, Chowdhury, A.<sup>\*2</sup>, Yatsuyanagi, J.<sup>\*3</sup>, Ohtomo, Y.<sup>\*4</sup>, Saito, A.<sup>\*5</sup>, Nagano, H.<sup>\*6</sup>, Nishina, T.<sup>\*7</sup>, Nakagawa, H.<sup>\*8</sup>, Konuma, H.<sup>\*9</sup>, Miyahara, M., and Kumagai<sup>\*10</sup>, S.: Prevalence of Pandemic TDH-producing *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 in Seafood and the Coastal Environment in Japan

*Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 3883-3891 (2003)

Although thermostable direct hemolysin (TDH)-producing *Vibrio parahaemolyticus* has caused many infections in Asian countries, the USA, and other countries, it has been difficult to detect the same pathogen in seafoods and other environmental samples. In this study, we detected and enumerated *tdh* gene-positive *V. parahaemolyticus* in Japanese seafoods using a *tdh*-specific PCR method, a chromogenic agar medium, and a most probable number (MPN) method. The *tdh* gene was detected in 33 of 329 seafood samples (10.0 %). The number of *tdh*-positive *V.*

*parahaemolyticus* ranged from <3 to 93 MPN/10 g. The incidence of *tdh*-positive *V. parahaemolyticus* tended to be high in samples contaminated with relatively high levels of total *V. parahaemolyticus*. TDH-producing strains of *V. parahaemolyticus* were isolated from 11 of 33 *tdh*-positive samples (short-necked clam, hen-clam and rock oyster). TDH-producing strains of *V. parahaemolyticus* were also isolated from the sediments of rivers near the coast in Japan. Representative strains of the seafood and sediment isolates were examined for the O:K serovar and by the PCR method specific to the pandemic clone and arbitrarily primed PCR and pulsed-field gel electrophoresis techniques. The results indicated that most O3:K6 *tdh*-positive strains belonged to the pandemic O3:K6 clone and suggested that serovariation took place in the Japanese environment.

Keywords: vibrio, TDH, seafood

<sup>\*1</sup> 静岡県環境衛生科学研究所

<sup>\*2</sup> 京都大学

<sup>\*3</sup> 秋田県衛生科学研究所

<sup>\*4</sup> 青森県環境保健センター

<sup>\*5</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*6</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>\*7</sup> 東海大学短期大学部静岡校

<sup>\*8</sup> 財団法人東京顕微鏡院

<sup>\*9</sup> 東海大学

<sup>\*10</sup> 東京大学院

Hara-Kudo, Y., Kasuga, Y.<sup>\*1</sup>, Kiuchi, A.<sup>\*1</sup>, Horisaka, T.<sup>\*2</sup>, Kawasumi, T.<sup>\*2</sup>, and Kumagai, S.<sup>\*3</sup>: Increased sensitivity in PCR detection of TDH-producing *Vibrio parahaemolyticus* in seafood using purified template DNA.

*J. Food Protection*, 66, 1675-1680 (2003)

PCR is an important method used to detect thermostable direct hemolysin gene (*tdh*)-positive *Vibrio parahaemolyticus* (pathogenic hemolysin-producing strains) in seafood because *V. parahaemolyticus* *tdh*-negative strains (non-pathogenic) often contaminate seafood and interferes with the direct isolation of the *tdh*-positive *V. parahaemolyticus*. We studied the detection of the *tdh* gene of *V. parahaemolyticus* using the PCR in various seafoods artificially contaminated with *tdh*-positive *V. parahaemolyticus*. PCR was inhibited by substances in oyster, squid, mackerel and yellowtail but not in cod, sea bream, scallop, short-necked clam and shrimp. To improve detection, DNA was purified using either the silica membrane method, glass fiber method or the magnetic separation method and this DNA was used as the PCR primer template. The detection sensitivity increased using the silica membrane method and glass fiber method in all samples. This study demonstrates that PCR using properly purified template DNA markedly increases the effective detection of pathogenic *tdh*-positive *V. parahaemolyticus* in contaminated seafood.

Keywords: vibrio, PCR, TDH

<sup>\*1</sup> 麻布大学

<sup>\*2</sup> 日本女子大学

<sup>\*3</sup> 東京大学院

Hara-Kudo, Y., Watai, M.<sup>\*1</sup>, Tanno, K.<sup>\*1</sup>, Sunada, A.<sup>\*2</sup>, Saito, N.<sup>\*2</sup>, Kumagai, S.<sup>\*3</sup>, and Konuma, H.<sup>\*4</sup>: Survival of *Escheri-*

**chia coli O157 and Salmonella Enteritidis in Seeds during Storage and Contamination of Sprouts from the Seeds**  
*Jpn. J. Food Microbiol.*, **21**, 14-22 (2004)

Radish, cress and alfalfa seeds contaminated with *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* Enteritidis were stored at 4°C for 8 months. At contamination levels of 10<sup>4</sup> colony forming units (cfu)/10 g, populations of *S. Enteritidis* in all seeds and that of *E. coli* O157 in cress seeds were maintained until 8 months. When the seeds were grown, the edible parts of sprouts were heavily contaminated with the microorganisms. Although the population of *E. coli* O157 in radish and alfalfa seeds greatly decreased, the microorganism was detected in edible parts of sprouts from the seeds. At contamination levels of 10<sup>2</sup> cfu/10 g, *S. Enteritidis* survived in alfalfa seeds at low population levels until 8 months and were detected at high population levels in sprouts from the seeds. These results suggested that *E. coli* O157 and *S. Enteritidis* could survive in seeds for a long time and contaminate the sprouts from the seeds. Furthermore *E. coli* O157 and *S. Enteritidis* were able to grow in soaking water of seeds. Under a scanning electron microscope, it was observed that the surface substrates of seeds were removed after soaking for a short time. The composition of the substrates was mainly saccharides as a result of analysis by infrared spectroscopy. These results suggested that growth of bacterial pathogens during sprouting of seeds depended on the surface saccharides of seeds.

Keywords : seed, sprout, contamination

\*1 日本食品分析センター

\*2 国立感染症研究所

\*3 東京大学院

\*4 東海大学

Nishina, T.<sup>\*1</sup>, Wada, M.<sup>\*2</sup>, Ozawa, H.<sup>\*3</sup>, Hara-Kudo, Y., Konuma, H.<sup>\*4</sup>, Hasegawa, J.<sup>\*1</sup>, and Kumagai, S.<sup>\*5</sup> : **Growth Kinetics of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 under Varying Conditions of pH, NaCl Concentration and Temperature.**

*J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **45**, 35-37 (2004)

The growth responses of *Vibrio parahaemolyticus* to pH, NaCl concentration and temperature changes were studied using serotype O3:K6 and other strains. Growth curves were obtained for 27 different sets of conditions, comprised of three levels of NaCl concentration, pH and temperature. The temperature, pH and NaCl concentrations favorable for growth were in the order of 25°C, 20°C and 15°C, pH8, 7 and 5.8, and 1%, 3% and 7%, respectively. The bacteria grew most rapidly at 25°C, at a pH of 7 or 8 in the presence of 1% or 3% NaCl, with the population (ca. 2.5 log CFU/ml) reaching a level log 7 CFU/ml at 12 h. A growth predictive model using the Gompertz equation was generated from the experimental data for any combination of NaCl concentration, pH and temperature within the range used in this study.

Keywords : vibrio, growth, pH

\*1 東海大学短期大学部静岡校

\*2 長野県衛生公害研究所

\*3 中部衛生検査センター

\*4 東海大学

\*5 東京大学院

Sugiura, Y.<sup>\*1</sup>, Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S.<sup>\*2</sup>, Reiss, E.<sup>\*3</sup>. : **Experimental murine hyalohyphomycosis with soil-derived isolates of *Fusarium solani***

*Medical Mycology*, in press (2003)

Two strains of soil-borne *Fusarium solani*, which possess an ability to produce cyclosporin A and C, were examined for their pathogenicity in severe combined immunodeficiency (SCID) and BALB/c male mice. Intravenous (i.v.) infections with *F. solani* conidia were performed. No mortality was observed after infection with 0.3-1.6 x 10<sup>7</sup> CFU/mouse in SCID and BALB/c mice. When mice were infected with 0.8-1.5 x 10<sup>6</sup> CFU/mouse and 2 days later with 1.2-1.9 x 10<sup>6</sup> CFU/mouse, 14.3 to 71.4% mortality occurred over a 25-day period, according to the strain of *F. solani* and the inbred strain of mice used. Death was preceded by renal insufficiency in both kidneys. In addition, i.v. injection with heat-killed conidia followed 2 days later by injected organs possessed greater virulence than the original isolate, and 3/8 (37.5%) of BALB/c and 4/7 (57.1%) of SCID mice died after a single infecting dose. Dissemination to the brain was found only in SCID mice, but torticollis was observed in both breeds of infected mice. Soil-borne *F. solani* possess a low pathogenic potential for mice, but either two successive infective doses or a primary injection with heat-killed conidia followed by a single infective dose breaks through host defenses in normal and immunoincompetent mice. Mouse passage increased the pathogenicity of 2 soil-derived *F. solani* strains.

Key words: *F. solani*, SCID, infection

\*1 神戸市環境保健研究所

\*2 東京大学大学院

\*3 アメリカ CDC

Poapolathep, A.<sup>\*</sup>, Sugita-Konishi, Y., Doi, K.<sup>\*</sup> and Kumagai, S.<sup>\*</sup> : **The fates of trichothecens mycotoxins, nivalenol and fusarenon-X, in mice**

*Toxicon*, **41**, 1047-1054 (2003)

ニバレノールとフザレノンXのマウスでの体内運命を比較するために放射能ラベルしたコンパウンドを用いて経口投与し、薬物動態を検討した。フザレノンXはニバレノールに比べて腸管からの吸収が早く、肝臓や腎臓で素早くニバレノールに代謝する。このことより、フザレノンXがニバレノールより経口毒性が高いのは腸管からの吸収と体内でのニバレノールへの転換が関与していることを明らかにした。

Keywords: Nivalenol, Fusarenon-X, mice, fate

\* 東京大学大学院農学生命科学研究科

Sugita-Konishi, Y., Yamashita, S.<sup>\*1</sup>, Amano, F.<sup>\*2</sup> and Shimizu, M.<sup>\*1</sup> : **Effects of carrageenans on the Binding, Phagocytotic, and Killing Abilities of Macrophages to Salmonella**

*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 1425-1428 (2003)

カラギーナンのサルモネラに対するマクロファージ生体防御におよぼす影響を、J774-1細胞を用いた実験で検討した。イオタカラギーナンはマクロファージの結合および食能を低下させた。カッパーカラギーナンはマクロファージの結合能を亢進させたが殺菌能は低下させた。カラギーナンはマクロファージの生体防御機能をモジュレートする

作用を持つことが明らかになった。

Keywords : carrageenan, Salmonella infection, host defense, macrophage, J774.1 cells

\*1 東京大学大学院農学生命科学研究科

\*2 大阪薬科大学

Sugita-Konishi, Y. : **Effect of trichothecenes on host resistance to bacterial infection**

Mycotoxins, **53**, 141-147, (2003)

トリコテセンマイコトキシンの自然免疫および獲得免疫に対する影響を検討した。デオキシニバレノールは比較的低容量でサルモネラ感染に対して抵抗性を低下させるが自然免疫には影響を与えない。ヒトマクロファージの継代細胞である U-937 ではデオキシニバレノールと類自体である 8-ケトトリコテセンに対して前炎症性サイトカインを産生しないが、リポポリサッカライド共存下においては TNF- $\alpha$  IL-8 および IL-6 とも過剰産生した。このことから細胞壁にリポポリサッカライドを有する細菌が感染した場合には、トリコテセンマイコトキシンはサイトカインを異常亢進し、感染防御反応を乱すことが示唆された。

Keywords: DON, LPS, U-937 cell line, host resistance, 8-ketotrichothecens

Tsukazaki, M., Satsu, H., Mori, A., Sugita-Konishi, Y. and Shimizu, M.: **Effects of tributyltin on barrier functions in human intestinal Caco-2 cells**

Biochemical and Biophysical Research Communications, **315**, 991-997 (2004)

ヒト腸管上皮細胞 Caco-2 細胞を用いてトリブチル錫の腸管細胞への影響を検討した。腸管細胞のバリア機能への影響とマルチドラグレセプターである P 糖タンパクの発現の 2 つを指標に影響を評価した。トリブチル錫によって腸管の透過性は上昇したが、1-100M の濃度で長期間暴露させると P 糖タンパクの発現は亢進した。このことからトリブチル錫の暴露は腸管の薬物動力を変化させ、腸管機能を乱すことが明らかになった。

Keywords : tributyltin, Xenobiotic, P-glycoprotein, MDR1, Caco-2

\* 東京大学大学院農学生命科学研究科

Nakanishi, I.<sup>\*1</sup>, Ohkubo, K.<sup>\*2</sup>, Miyazaki, K.<sup>\*3</sup>, Hakamata, W., Urano, S.<sup>\*3</sup>, Ozawa, T.<sup>\*1</sup>, Okuda, H., Fukuzumi, S.<sup>\*2</sup>, Ikota, N.<sup>\*1</sup>, K. Fukuhara, K.: **A Planar Catechin Analogue Having a More Negative Oxidation Potential than (+)-Catechin as an Electron-Transfer Antioxidant against a Peroxyl Radical**

Chem. Res. Toxicol., **17**, 26-31(2004)

The hydrogen-transfer reaction of antioxidative polyphenol with reactive oxygen species has proved to be main mechanism for radical scavenging. The planar catechin (PIH<sub>2</sub>), in which the catechol and chroman structure in (+)-catechin (1H<sub>2</sub>) are constrained to be planar, undergoes efficient hydrogen atom transfer toward galvinoxyl radical, showing an enhanced protective effect against the oxidative DNA damage induced by the Fenton reaction. The present studies were undertaken to further characterize the radical scavenging ability of PIH<sub>2</sub> in the reaction with cumylperoxyl radical, which is a model radical of lipid peroxyl radical for lipid peroxidation. The kinetics of hydrogen transfer from catechins to

cumylperoxyl radical has been examined in propionitrile (EtCN) at low temperature with use of ESR, showing that the rate of hydrogen transfer from PIH<sub>2</sub> is significantly faster than that from 1H<sub>2</sub>. The rate was also accelerated by the presence of Sc(OSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. Such an acceleration effect of metal ion indicates that the hydrogen-transfer reaction proceeds via metal ion-promoted electron transfer from PIH<sub>2</sub> to oxyl radical followed by proton transfer rather than via a one-step hydrogen atom transfer. The electrochemical ease of PIH<sub>2</sub> for the one-electron oxidation investigated by second-harmonic alternating current voltammetry (SHACV) strongly supports the two-step mechanism for hydrogen atom transfer, resulting in the enhanced radical scavenging ability.

Keywords: Catechin, Planar Catechin, Antioxidant, Peroxyl Radical, Electron Transfer

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 大阪大学大学院工学研究科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

Nakanishi, I.<sup>\*1</sup>, Miyazaki, K.<sup>\*2</sup>, Shimada, T.<sup>\*2</sup>, Inami, K.<sup>\*3</sup>, Mochizuki, M.<sup>\*3</sup>, Urano, S.<sup>\*2</sup>, Okuda, H., Ozawa, T.<sup>\*1</sup>, Fukuzumi, S.<sup>\*4</sup>, Ikota, N.<sup>\*1</sup>, Fukuhara, K.: **Kinetic Study on the Electron-Transfer Oxidation of the Phenolate Anion of a Vitamin E Model by Molecular Oxygen Generating Superoxide Anion in an Aprotic Medium**

Org. Biomol. Chem., **1**, 4085-4088 (2003)

Electron-transfer reduction of molecular oxygen (O<sub>2</sub>) by the phenolate anion (1<sup>-</sup>) of a vitamin E model, 2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-ol (1H), occurred to produce superoxide anion, which could be directly detected by a low-temperature EPR measurement. The rate of electron transfer from 1<sup>-</sup> to O<sub>2</sub> was relatively slow, since this process is energetically unfavourable. The one-electron oxidation potential of 1<sup>-</sup> determined by cyclic voltammetric measurements is sufficiently negative to reduce 2,2-bis(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl radical (DOPPH<sup>•</sup>) to the corresponding one-electron reduced anion, DOPPH<sup>-</sup>, suggesting that 1<sup>-</sup> can also act as an efficient radical scavenger.

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*3 共立薬科大学

\*4 大阪大学大学院工学研究科

Tokiwa, H.<sup>\*1</sup>, Sera, N.<sup>\*2</sup>, Fukuhara, K., Utsumi, H.<sup>\*3</sup>, Sasaki, S.<sup>\*3</sup>, Miyata, N.<sup>\*4</sup>: **Structural activity relationship between Salmonella-mutagenicity and nitro-orientation of nitroazaphenanthrenes**

Chem. Biochem. Interactions **146**, 19-25 (2003).

Nitroazaphenanthrenes (NAphs) and their N-oxides (NAphOs) were synthesized as derivatives with nitrogen atoms in the 1, 4, and 9 positions of phenanthrene rings, and as nitrated derivatives substituted at the 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8 positions of phenanthrene rings. To determine the structure activity relationship of these derivatives, all 19 isomers were bioassayed with Salmonella tester strains. NAphs substituted at the 4, 6, 7 and 8 positions were mutagenic for TA98, and 1-, 2-, and 3-N-9-AphOs, 6-N-1-AphO and 6-N-4-AphO were mutagenic for TA98 and TA100

without the S9 mix, while 5-N-1-AphO and 5-N-9-AphO were non- or weakly mutagenic. Nitrate derivatives, 6-N-4-Aph, 6-N-9-Aph, 6-N-1-AphO, and 6-N-4-AphO, were powerful mutagens for TA98 and TA100. Mutagenicity was enhanced by mutant strains producing nitroreductase, such as YG1021 and 1026, and by those producing O-acetyltransferase, such as YG1024 and 1029. Nitro derivatives substituted at positions 4 and 5 in the phenanthrene rings were perpendicular, while those at positions 2, 3, 6 and 7 were coplanar to the phenanthrene rings. Naphs substituted at the 1 and 8 positions were noncoplanar due to steric hindrance of the aromatic proton at the peri position. On the other hand, 1,5- and 1,8-dinitro-4-azaphenanthrenes showed high mutagenicity for strains TA98 and TA100 in the absence of the S9 mix, and were strongly enhanced by nitroreductase and O-acetyltransferase, over-producing mutants. Therefore, it was found that the mutagenic potency of Naphs and NaphOs was closely associated with the chemical properties and orientation of nitro substitution of aromatic rings.

Keywords: Nitroazaphenanthrenes; *Salmonella* mutagenicity; Nitro-orientation

\*<sup>1</sup>九州女子大学

\*<sup>2</sup>福岡県保健環境研究所

\*<sup>3</sup>九州大学大学院薬学研究院

\*<sup>4</sup>名古屋市立大学大学院薬学研究科

Tanaka, M.\*; Nishimura, S.\*; Oba, M.\*; Demizu, Y.\*; Kurihara, M.; Suemune, H.\*: **An Extended Planar C5 Conformation and a 310-Helical Structure of Peptide-Foldamer Constituted of Diverse  $\alpha$ -Ethylated  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Disubstituted  $\alpha$ -Amino Acids**

*Chemistry Eur. J.*, **9**, 3082-3090 (2003)

Optically active peptide foldamers Tfa-[(S)-(alphaEt)Leu]-[(S)-(alphaEt)Nva]-Deg-[(S)-(alphaEt)Nle]-OEt (10) and Tfa-[(S)-(alphaEt)Val]-[(S)-(alphaEt)Leu]-[(S)-(alphaEt)Nva]-Deg-[(S)-(alphaEt)Nle]-OEt (11) composed of diverse alpha-ethylated alpha,alpha-disubstituted alpha-amino acids were synthesized. The dominant conformation of these peptides in solution was an unusual, fully extended planar conformation, and that in the crystal state was both right-handed (P) and left-handed (M) 3(10)-helical structures in 10 and a P 3(10)-helical structure in 11, respectively. The preferred planar C(5) conformation of the peptides prepared from chiral alpha-ethylated alpha,alpha-disubstituted alpha-amino acids was drastically different from the 3(10)-helical structure of the peptides prepared from chiral alpha-methylated alpha,alpha-disubstituted alpha-amino acids.

Keyword: peptide  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -Amino Acids, 310-helical

\* Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Honzawa, S.\*; Suhara, Y.\*; Nihei, K.\*; Saito, N.\*; Kishimoto, S.\*; Fujishima, T.\*; Kurihara, M.; Sugiura, T.\*; Waku, K.\*; Takayama, H.\*; Kittaka, A.\*: **Concise Synthesis and Biological Activities of 2  $\alpha$ -Alkyl- and 2  $\alpha$ -( $\omega$ -Hydroxyalkyl)-20-epi-1  $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>**

*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 3503-3506 (2003)

We found a concise route to the Trost A-ring precursor enyne for synthesizing 2alpha-alkylated 1alpha,25-dihydroxyvitamin

D(3) (1) from D-glucose. The enynes were coupled with the 20-epi-CD ring part to study the effect of the double modification of 2alpha-substitution and 20-epimerization upon biological activities of 1. The novel three analogues of 2alpha-alkyl- and four analogues of 2alpha-(omega-hydroxyalkyl)-20-epi-1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) (5b-d and 6a-d) showed higher binding affinity for vitamin D receptor (VDR) and more potent activity in induction of HL-60 cell differentiation than those of the natural hormone 1.

Keywords: vitamin D, D-glucose, cell differentiation

\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

Honzawa, S.\*; Suhara, Y.\*; Saito, N.\*; Kishimoto, S.\*; Fujishima, T.\*; Kurihara, M.; Sugiura, T.\*; Waku, K.\*; Takayama, H.\*; Kittaka, A.\*: **Synthesis and Biological Activities of 2-Substituted 20-epi-vitamin D<sub>3</sub> Derivatives**

*J. Bone Miner. Res. (Suppl. 2)*, **18**, S295 (2003).

We planed to demonstrate the syntheses and biological evaluation of 2  $\alpha$ -alkyl and 2  $\alpha$ -( $\omega$ -hydroxy)alkyl substituted 20-epi-1,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> derivatives to examine the effect of 2  $\alpha$ -substituent on 20-epi-1,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>. In the course of our synthetic study, an efficient scheme for introducing the 2  $\alpha$ -alkyl group was developed. Syntheses of analogues were conducted by a convergent method, the CD ring moiety was derived from vitamin D<sub>2</sub> and the A ring part from D-glucose. 2  $\alpha$ -Alkyl groups were introduced by Grignard reaction of the known epoxide intermediate, which was easily obtained in 3 steps from methyl D-glucoside. We found that 2  $\alpha$ -methyl substituted analogue had the highest affinity (12-fold over 1,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>, 3-fold over 20-epi-1,25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub>).

\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

Okada, E.; Komazawa, Y.; Kurihara, M.; Inoue, H.\*; Miyata, N.; Okuda, H.; Tsuchiya, T.; Yamakoshi, Y.: **Synthesis of C<sub>60</sub> derivative for photoaffinity labeling**

*Tetrahedron Lett.*, **45**, 527-529 (2004)

In order to study the interaction of fullerenes with biological molecules, a novel photoaffinity labeling agent derived from C<sub>60</sub> was designed and synthesized. As photosensitive functional groups, azide group, and aziridine group are utilized. A convenient synthetic route via fulleropyrrolidine 2 was employed to obtain compounds labeling agents 5 and 9.

Keyword: C<sub>60</sub>, photoaffinity labeling

Oba, M.\*; Tanaka, M.\*; Suemune, H.\*; Sato, Y.; Kurihara, M.: **Controlling the secondary structure of Aib peptides by N-terminal proline.**

*Peptide Science 2003*, 397-388 (2004)

We prepared three Pro-Aib peptides, Z-L-Pro-Aib<sub>4</sub>-OMe (1), Z-L-Pro-L-Pro-Aib<sub>4</sub>-OMe (2), and Z-D-Pro-L-Pro-Aib<sub>4</sub>-OMe (3) by solution-phase methods, and studied the preferred conformations of the peptides using X-ray crystallographic analysis, FT-IR, <sup>1</sup>H NMR, CD spectra, and computational simulation.

Tanaka, M.\*; Demizu, Y.\*; Doi, M.\*; Kurihara, M.; Suemune, H.\*: **Controlling the helical screw sense of oligopeptides by**

**chiral cyclic  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid.***Peptide Science* 2003, 109-110 (2004)

Chiral cyclic  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid [(S,S)-Ac<sub>3</sub>cdiOMe], in which the  $\alpha$ -carbon is not an asymmetric center but two side-chain  $\gamma$ -carbons are asymmetric centers, was efficiently synthesized starting from dimethyl L-(+)-tartrate and dimethyl malonate. Homooligopeptides containing (S,S)-Ac<sub>3</sub>c<sup>diOMe</sup> were prepared using EDC as a coupling reagent by solution-phase methods. The preferred conformations of homopeptides have been studied by using IR, CD, <sup>1</sup>H NMR spectra, and X-ray crystallographic analysis.

\* Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Kurihara, M.; Sato, Y.; Nomoto, S.; Okuda, H.; Oba, M.\*; Demizu, Y.\*; Tanaka, M.\*; Suemune, H.\*: **Prediction of helical screw sense of oligopeptides containing chiral amino acids: computational study**

*Peptide Science* 2003, 411-412 (2004)

We have shown conformational search calculations of oligopeptides prepared from  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted amino acids were in agreement with their conformational properties in the solid state determined by X-ray crystallographic analysis of oligopeptides. In this paper we show it can be predicted the helical screw sense of oligopeptides containing a chiral  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted amino acid by computational study.

Keyword: helical screw sense,  $\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid, conformational search, Monte Carlo method, 310-helix

\* Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Nishio T\*, Kanai C\*, Hakamata W, Ogawa M\*, Nakajima K\*, Hoshino S\*, Matsuishi A\*, Kawachi R\*, Oku T\*: **Glycosidase-catalyzed deoxy oligosaccharide synthesis. Practical synthesis of monodeoxy analogs of ethyl beta-thioisomaltoside using *Aspergillus niger* alpha-glucosidase.**

*Biosci Biotechnol Biochem.* 67, 1024-1029 (2003).

Enzymatic transglycosylation using four possible monodeoxy analogs of *p*-nitrophenyl alpha-D-glucopyranoside (Glc alpha-*O*-pNP), modified at the C-2, C-3, C-4, and C-6 positions (2D-, 3D-, 4D-, and 6D-Glc alpha-*O*-pNP, respectively), as glycosyl donors and six equivalents of ethyl beta-D-thioglucopyranoside (Glc beta-*S*-Et) as a glycosyl acceptor, to yield the monodeoxy derivatives of glucooligosaccharides were done. The reaction was catalyzed using purified *Aspergillus niger* alpha-glucosidase in a mixture of 50 mM sodium acetate buffer (pH 4.0)/CH<sub>3</sub>CN (1:1 v/v) at 37 degrees C. High activity of the enzyme was observed in the reaction between 2D-Glc alpha-*O*-pNP and Glc beta-*S*-Et to afford the monodeoxy analogs of ethyl beta-thiomaltoside and ethyl beta-thioisomaltoside that contain a 2-deoxy alpha-D-glucopyranose moiety at their glycon portions, namely ethyl 2-deoxy-alpha-D-arabino-hexopyranosyl-(1,4)-beta-D-thioglucopyranoside and ethyl 2-deoxy-alpha-D-arabino-hexopyranosyl-(1,6)-beta-D-thioglucopyranoside, in 6.72% and 46.6% isolated yields (based on 2D-Glc alpha-*O*-pNP), respectively. Moreover, from 3D-Glc alpha-*O*-pNP and Glc beta-*S*-Et, the enzyme also catalyzed the

synthesis of the 3-deoxy analog of ethyl beta-thioisomaltoside that was modified at the glycon alpha-D-glucopyranose moiety, namely ethyl 3-deoxy-alpha-D-ribo-hexopyranosyl-(1,6)-beta-D-thioglucopyranoside, in 23.0% isolated yield (based on 3D-Glc alpha-*O*-pNP). Products were not obtained from the enzymatic reactions between 4D- or 6D-Glc alpha-*O*-pNP and Glc beta-*S*-Et.

\* 日本大学生物資源科学部

Saeki, M., Saito, Y., Nakamura, T., Murayama, N., Kim, S.R., Ozawa, S., Komamura, K.\*<sup>1</sup>, Ueno, K.\*<sup>1</sup>, Kamakura, S.\*<sup>1</sup>, Nakajima, T.\*<sup>2</sup>, Saito, H.\*<sup>2</sup>, Kitamura, Y.\*<sup>3</sup>, Kamatani, N.\*<sup>3</sup>, Sawada, J.: **Single nucleotide polymorphisms and haplotype frequencies of *CYP3A5* in a Japanese population.**

*Hum. Mutat.* 21, 653 Mutation in Brief#618 (2003)

In order to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) and haplotype frequencies of *CYP3A5* in a Japanese population, we sequenced the proximal promoter region, all exons, and the surrounding intronic regions using genomic DNA from 187 Japanese subjects. Thirteen SNPs, including seven novel ones: 13108T>C, 16025A>G, 16903A>G, 16993C>G, 27448C>A, 29782A>G, and 31551T>C, were identified. The most common SNP was 6986A>G (key SNP for *CYP3A5*\*3), with a 0.759 frequency. Two novel SNPs, 29782A>G (I456V) and 31551T>C (I488T), as well as 12952T>C (\*5 marker) were found, but these alterations were always associated with the \*3A marker SNPs, 6986A>G and 31611C>T. Using these 13 SNPs, haplotype analysis was performed and five novel \*1 haplotypes (subtypes) and six novel \*3 haplotypes (subtypes) were identified. Our findings suggest that *CYP3A5*\*3 is the major defective allele and that other functional exonic SNPs are rare in the Japanese.

Key words: *CYP3A5*, single nucleotide polymorphism, haplotype

\*<sup>1</sup> 国立循環器病センター

\*<sup>2</sup> 国立成育医療センター

\*<sup>3</sup> 東京女子医科大学

Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., Sai, K., Komamura, K.\*<sup>1</sup>, Ueno, K.\*<sup>1</sup>, Kamakura, S.\*<sup>1</sup>, Kitakaze, M.\*<sup>1</sup>, Shirao, K.\*<sup>2</sup>, Minami, H.\*<sup>2</sup>, Ohtsu, A.\*<sup>2</sup>, Yoshida, T.\*<sup>2</sup>, Saijo, N.\*<sup>2</sup>, Ozawa, S., Sawada, J.: **Three novel single nucleotide polymorphisms in *UGT1A9*.**

*Drug Metab. Pharmacokinet.* 18, 146-149 (2003)

Three novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found in the UDP-glucuronosyltransferase (UGT) *1A9* gene from 97 Japanese subjects (47 cancer patients and 50 cardiovascular disease patients). SNP MPJ6\_U1A007 (726T>G) results in formation of a termination codon TAG (Y242X). The other two SNPs, MPJ6\_U1A006 (588G>T) and MPJ6\_U1A031 (153G>A), result in synonymous changes (G196G and R51R, respectively).

Key words: *UGT1A9*, single nucleotide polymorphism, Japanese

\*<sup>1</sup> 国立循環器病センター

\*<sup>2</sup> 国立がんセンター

Shiseki, K., Itoda, M., Saito, Y., Nakajima, Y., Maekawa, K., Kimura, H.\*<sup>1</sup>, Goto, Y.\*<sup>1</sup>, Saitoh, O.\*<sup>1</sup>, Katoh, M.\*<sup>1</sup>, Ohnuma, T.\*<sup>1</sup>, Kawai, M.\*<sup>1</sup>, Sugai, K.\*<sup>1</sup>, Ohtsuki, T.\*<sup>1</sup>, Suzuki, C.\*<sup>1</sup>, Minami, N.\*<sup>1</sup>, Ozawa, S., Sawada, J.: **Five novel single nucleotide polymorphisms in the *EPHX1* gene encoding microsomal epoxide**

**hydrolase.**

*Drug Metab. Pharmacokinet.* **18**, 150-153 (2003)

Five novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found in the *EPHX1* gene from 96 Japanese epileptic patients. The frequencies were 0.016 for MPJ6\_EX1028 (IVS8+54G>A) and 0.005 for the other SNPs. The SNP MPJ6\_EX1013 (130G>C) results in an amino acid alteration (E44Q). The other three SNPs in the coding region, MPJ6\_EX1009 (30G>A), MPJ6\_EX1026 (1056C>T), and MPJ6\_EX1030 (1239G>A) result in synonymous changes (V10V, D352D, and V413V, respectively).

**Key words:** *EPHX1*, single nucleotide polymorphism, Japanese

\* 国立精神・神経センター

Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., Tohkin, M., Kurose, K., Kaniwa, N., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Ozawa, S., Sawada, J.: **Comprehensive *UGT1A1* genotyping in a Japanese population by pyrosequencing.**

*Clin. Chem.* **49**, 1182-1185 (2003)

We developed a method for genotyping the common *UGT1A1* polymorphisms (-3279T>G, TA repeat, 211G>A (G71R), 247T>C (F83L), 686C>A (P229Q), and 1456T>G (Y486D)) by pyrosequencing, and the genotypes of 48 Japanese subjects were determined. This gene is responsible for the glucuronidation of a variety of endogenous (e.g. bilirubin) and exogenous substrates, and these nucleotide changes are associated with reduced bilirubin glucuronidation activity and cause hyperbilirubinemia (Gilbert's and Crigler-Najjar syndromes). All the data obtained by pyrosequencing were completely identical to the data by direct sequencing. This genotyping method is very useful for diagnosis, and studies on the association between *UGT1A1* polymorphisms and pharmacokinetic or clinical data.

**Key words:** *UGT1A1*, genotyping, pyrosequencing

\* 国立循環器病センター

Saito, Y., Saeki, M., Maekawa, K., Hachisuka, A., Teshima, R., Ozawa, S., Sawada, J.: **CYP2D6-mediated mexiletine-protein adduct formation.**

*J. Health Sci.* **50**, 82-85 (2004)

An antiarrhythmic drug mexiletine, which is metabolized by CYP2D6 and, to a lesser extent, by CYP1A2, is known to sometimes induce allergic reactions. Since mexiletine itself is chemically inert, metabolic activation of the drug, required for the formation of protein adduct, is thought to be a first step in the induction of the allergic reactions. In the present study, we screened several cytochrome P450 (CYP) enzymes for their ability to form protein adducts with mexiletine. Of the 10 CYPs examined (CYP1A1, 1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 and 3A5), CYP2D6 was most efficient in adduct formation with microsomal proteins. On autoradiographs of SDS-PAGE-separated proteins, a 52 kDa band was detected in the CYP2D6-expressing microsomes. These results suggest that the mexiletine-protein adduct is formed mainly by CYP2D6-dependent metabolic activation.

**Key words:** CYP2D6, mexiletine, metabolic activation

Koyano, S., Saito, Y., Nagano, M., Maekawa, K., Kikuchi, Y.,

Murayama, N., Fujino, T., Ozawa, S., Nakajima, T., Matsumoto, K., Saito, H., Sawada, J.: **Functional analysis of three genetic polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene.**

*J. Pharmacol. Exp. Ther.* **307**, 110-116 (2003)

Glucocorticoids are widely used as potent anti-inflammatory drugs. Glucocorticoids exert their pharmacological effects by binding to a glucocorticoid receptor (GR), which promotes expression of its target genes or suppresses transcription mediated by other transcriptional factors, such as nuclear factor-kappaB (NF-kappaB). To identify genetic polymorphisms affecting glucocorticoid responses, the GR gene was sequenced, and two novel single nucleotide alterations, 1510A>T (T504S) and 1952C>T (S651F), were identified in addition to an adenine base insertion at nucleotide 2314 (2314insA). mRNA expression levels of T504S and S651F were comparable with that of the wild type (WT), whereas the mRNA level of 2314insA was reduced to approximately 36% of the WT level. Protein expression was reduced to approximately 66% of WT levels in S651F and to approximately 6% in 2314insA. No significant change was seen in the T504S variant levels. The instability of the 2314insA mRNA, S651F protein, and 2314insA protein was confirmed by time course experiments. The transcriptional activity of S651F and 2314insA was also reduced to approximately 63 and 2% of the WT levels, respectively, in the luciferase reporter assay. Moreover, the inhibitory effect of GR on NF-kappaB transactivation was reduced to approximately 81 and 12% of the WT levels for S651F and 2314insA, respectively. These results indicated that the overall transcriptional activity and inhibitory effect on NF-kappaB transactivation of S651F and 2314insA have partially reduced and almost abrogated, respectively, almost paralleling their reduced protein expression levels caused by mRNA and/or protein instabilities.

**Keywords:** glucocorticoid receptor, variants, function

\* 国立成育医療センター

Fukushima-Uesaka, H., Saito, Y., Watanabe, H., Shiseki, K., Saeki, M., Nakamura, T., Kurose, K., Sai, K., Komamura, K.<sup>\*1</sup>, Ueno, K.<sup>\*1</sup>, Kamakura, S.<sup>\*1</sup>, Kitakaze, M.<sup>\*1</sup>, Hanai, S.<sup>\*1</sup>, Nakajima, T.<sup>\*2</sup>, Matsumoto, K.<sup>\*2</sup>, Saito, H.<sup>\*2</sup>, Goto, Y.<sup>\*3</sup>, Kimura, H.<sup>\*3</sup>, Katoh, M.<sup>\*3</sup>, Sugai, K.<sup>\*3</sup>, Minami, N.<sup>\*3</sup>, Shirao, K.<sup>\*4</sup>, Tamura, T.<sup>\*4</sup>, Yamamoto, N.<sup>\*4</sup>, Minami, H.<sup>\*4</sup>, Ohtsu, A.<sup>\*4</sup>, Yoshida, T.<sup>\*4</sup>, Saijo, N.<sup>\*4</sup>, Kitamura, Y.<sup>\*5</sup>, Kamatani, N.<sup>\*5</sup>, Ozawa, S., Sawada, J.: **Haplotypes of *CYP3A4* and their close linkage with *CYP3A5* haplotypes in a Japanese population.**

*Hum. Mutat.* **23**, 100 Mutation in Brief#681 (2004)

In order to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) and haplotype frequencies of *CYP3A4* in a Japanese population, the distal enhancer and proximal promoter regions, all exons, and the surrounding introns were sequenced from genomic DNA of 416 Japanese subjects. We found 24 SNPs, including 17 novel ones. The most common SNP was c.1026+12G>A, with a 0.249 frequency. Four non-synonymous SNPs, c.554C>G (p.T185S, *CYP3A4*\*16), c.830\_831insA (p.E277fsX8, \*6), c.878T>C (p.L293P, \*18), and c.1088 C>T (p.T363M, \*11) were found with frequencies of 0.014, 0.001, 0.028, and 0.002, respectively. No SNP was found in the known nuclear transcriptional factor-binding sites in the enhancer and promoter regions. Using these 24

SNPs, 16 haplotypes were unambiguously identified, and nine haplotypes were inferred by aid of an expectation-maximization-based program. In addition, using data from 186 subjects enabled a close linkage to be found between *CYP3A4* and *CYP3A5* SNPs, especially among the SNPs at c.1026+12 in *CYP3A4* and c.219-237 (a key SNP site for *CYP3A5*\*3), c.865+77 and c.1523 in *CYP3A5*. This result suggested that *CYP3A4* and *CYP3A5* are within the same gene block. Haplotype analysis between *CYP3A4* and *CYP3A5* revealed several major haplotype combinations in the *CYP3A4-CYP3A5* block. Our findings provide fundamental and useful information for genotyping *CYP3A4* (and *CYP3A5*) in the Japanese, and probably Asian populations.

**Key words:** *CYP3A4*, haplotype, linkage disequilibrium

- \*1 国立循環器病センター
- \*2 国立成育医療センター
- \*3 国立精神・神経センター
- \*4 国立がんセンター
- \*5 東京女子医科大学

Nakamura, R., Sato, Y. <sup>\*1</sup>, Takagi, K., Sasaki, N. <sup>\*1</sup>, Sawada, J., Kitani, S. <sup>\*2</sup>, Teshima, R.: **Presence and primary sequence of a high-affinity IgG receptor on canine mastocytoma (CM-MC) cells.**

*Immunogenetics*. **55**, 271-274 (2003)

Mast cells play a central role in IgE-dependent allergic responses. Although they have been reported to express only low-affinity IgG receptors and no high-affinity receptors (FcγRI), our recent study showed that canine mastocytoma CM-MC cells are activated by monomeric canine IgG, suggesting the presence of FcγRI on CM-MC cells. In the present study, we measured the affinity of canine IgG with CM-MC cells, determined the presence of the FcγRI protein and mRNA, and identified the cDNA sequence of it. The results showed that  $(7.5 \pm 3.1) \times 10^4$  receptor molecules are expressed on a CM-MC cell with a  $K_a$  of  $(9.1 \pm 1.6) \times 10^7 \text{ M}^{-1}$  for binding to monomeric canine IgG. Canine IgG-conjugated beads precipitated an approximately 72-kDa surface protein, whose size is consistent with that of the FcγRI alpha subunit of humans and mouse. The expression of FcγRI mRNA was detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), and the cDNA encoding the FcγRI alpha subunit was found to be 84% and 78% similar to that of humans and the mouse, respectively. The predicted amino acid sequence was 72% and 63% identical, respectively. Canine mastocytoma CM-MC cells are therefore very useful for studying FcγRI-mediated signal transduction in mast cells.

**Key words:** Binding affinity, IgG, Mast cells

- \*1 東京大学
- \*2 東京水産大学

Nakajima, O., Hachisuka, A., Okunuki, H., Takagi, K., Teshima, R., Sawada, J.: **Method for delivering radiolabeled single-chain Fv antibody to the brain.**

*J. Health Sci.* **50**, 159-163 (2004)

Radiolabeled antibody has attractive features as a therapeutic agent or diagnostic reagent. However, it is difficult for radiolabeled antibody to enter the central nervous system (CNS). The

purpose of this study was to develop a method of delivering radiolabeled single-chain Fv (scFv) antibody into the CNS with the transactivator of transcription (TAT), one of the protein transduction domains. Oligonucleotide encoding TAT was linked to the 5'-terminal of the scFv gene. The construct was subcloned into the pET-23b vector, and the recombinant protein was expressed as an inclusion body in *Escherichia coli*. After solubilization and purification, the recombinant protein was oxidatively labeled with <sup>125</sup>I, and the radiolabeled recombinant protein was injected intraperitoneally into mice. Six hours later the brains were collected and homogenized, and the protein fractions were prepared by acetone precipitation. The radioactivity in the cerebrum was about 1.6-fold higher in mice administered TAT-scFv than in those administered scFv alone. The radiolabeled TAT-scFv antibody was delivered into the cerebrum more efficiently than radiolabeled scFv antibody without TAT, suggesting that TAT peptide could be a candidate tool for delivering radiolabeled scFv antibody into the CNS.

**Key words:** drug delivery, blood-brain barrier, transactivator of transcription

Takagi, K., Teshima, R., Okunuki, H., Sawada, J.: **Comparative study of in vitro digestibility of food proteins and effect of preheating on the digestion.**

*Biol. Pharm. Bull.* **26**, 969-973 (2003)

Information on the comparative digestibility of food allergens and non-allergenic proteins is crucial when stability to digestion is to be used as a criterion to assess the allergenic potential of novel proteins. Preheating effect on in vitro digestibility has not been fully examined. In this study we investigated the preheating effect of in vitro digestibility of several proteins and their proteolytic fragments in simulated gastric fluid (SGF) and simulated intestinal fluid (SIF). Five major food allergens, ovalbumin (OVA), ovomucoid (OVM), β-lactoglobulin (BLG), bovine serum albumin (BSA), soybean trypsin inhibitor (STI), four proteins of unproven allergenicity, horseradish peroxidase (HRP), ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxidase (RBC), phosphinothricin acetyltransferase (PAT) and zein from corn, and plant lectin, concanavalin A (Con A) were preheated (at 100°C for 5 min) or not preheated, and then digested in SGF or SIF. Food allergens were relatively stable in both SGF and SIF. Among the allergens, digestibility of OVA in both SGF and SIF was markedly decreased, and BLG and STI were relatively stable after preheating. Digestibility of ConA in SGF and SIF was markedly decreased by preheating. Digestibility of non-allergenic proteins in SGF was higher than the allergenic proteins. From these results, because of the marked increase of the digestibility in several proteins by preheating, systematic information concerning the effect of food treatment on protein digestion is necessary to assess the relationship between allergenic potential and the digestibility of food protein.

**Key Words:** food allergen, digestion, simulated gastric fluid

Okunuki, H., Teshima, R., Harikai, N., Sakai, S., Akiyama, H., Maitani, T., Sawada, J.: **Oral sensitization of W/W<sup>v</sup> mice with ovalbumin and possible involvement of the decrease in γ**

**$\delta$ -T cells.***Biol Pharm Bull.* **26**, 1260-1265 (2003)

Mast-cell-deficient WBB6F1-W/W<sup>v</sup> mice (W/W<sup>v</sup>) and congenic wild-type (+/+) mice were sensitized by oral administration of 0.1 or 1.0 mg ovalbumin (OVA) in the form of gavage every day for 9 weeks, and active systemic anaphylaxis (ASA) was induced by intraperitoneal injection of OVA. Production of OVA-specific IgG1 in response to oral sensitization of the W/W<sup>v</sup> mice was very high, and the production of IL-4, IL-5 and IL-10 by splenocytes re-stimulated with OVA *in vitro* was increased, but the production of INF- $\gamma$  was decreased. These findings suggest that Th2-dominant helper T-cell activation had occurred. By contrast, production of OVA-specific IgG1 was low in +/+ mice, and no significant increase in production of Th2-type cytokines by the splenocytes of +/+ mice was observed. Population analysis in Peyer's patches by flow cytometry revealed that the proportion of the CD11c<sup>+</sup> cell in the W/W<sup>v</sup> mice was slightly increased after antigen stimulation. Analysis of the cell surface markers of intraepithelial lymphocytes (IELs) by flow cytometry showed that the proportion of TCR  $\gamma$   $\delta$ -T cells was extremely lower in the W/W<sup>v</sup> mice, especially in the antigen sensitized group. The proportion of TCR  $\gamma$   $\delta$ -T cells in the splenocytes of W/W<sup>v</sup> mice was also lower than in +/+ mice. Taken together, the above findings indicate that W/W<sup>v</sup> mice seems to be a good model not only for studying the induction mechanism of food allergy but for examining the role of TCR  $\gamma$   $\delta$ -T cells in food-induced hypersensitivity.

Key Words: oral sensitization, rodent, allergy

Teshima, R., Nakamura, R., Nakajima, O., Hachisuka, A., Sawada, J.: **Effect of two nitrogenous diphenyl ether pesticides on mast cell activation.**

*Toxicol. Letter*, **150**, 277-283 (2004)

We examined the effect of two nitrogenous diphenyl ether pesticides, nitrofen (NIP) and chlornitrofen (CNP), on mast cell activation. RBL-2H3 (rat basophilic leukemia) cells were exposed to NIP or CNP for 30min to investigate their effect on degranulation, and for 3h to investigate their effect on cytokine production and gene expression. NIP and CNP increased IgE receptor-mediated beta-hexosaminidase release, MCP-1 release, and TNF-alpha release in a dose-dependent manner. The increasing effect of CNP on their release was greater than that of NIP. In the gene expression experiment, 30microg/ml CNP significantly upregulated Egr-1, MCP-1 and GADD45a gene expression. These results suggest that at higher concentrations (more than 30microg/ml) the nitrogenous diphenyl ether pesticides had both a degranulation-enhancing effect and proinflammatory cytokine-production enhancing effect through the expression of some transcription factors in RBL-2H3 cells.

Key words: chlornitrofen, mast cells, gene expression

Onose, J., Teshima, R., Nakamura, R., Sawada J.: **Inhibition of degranulation of RBL-2H3 cells by casein kinase II substrate peptide.**

*J. Health Sci.* **49**, 243-247 (2004)

In a previous study, we demonstrated the existence of casein

kinase II-like ectokinase activity on RBL-2H3 cells (*Immunol. Let.* **68**, 369, 1999), and to determine the role of ectokinase in the degranulation of RBL-2H3 cells, in this study we investigated the effect of casein kinase II substrate peptide on the degranulation by the cells. Casein kinase II peptide (RRRDDDSDDD) dose-dependently (IC<sub>50</sub>=50  $\mu$  M) inhibited  $\beta$ -hexosaminidase release by IgE-sensitized antigen-stimulated RBL-2H3 cells, whereas casein kinase II peptide analogue (RRRDDDADDD) only partially inhibited  $\beta$ -hexosaminidase release by antigen-stimulated RBL-2H3 cells. Preincubation of RBL-2H3 cells with 200  $\mu$  M of casein kinase II peptide significantly inhibited external 130kDa protein phosphorylation, and casein kinase II peptide inhibited the sustained increase in cytosolic calcium ion concentration in response to antigen stimulation. Our findings suggest that casein kinase II acts as an ectokinase in RBL-2H3 cells and that casein kinase II peptide acts as a competitor for phosphorylation of ectoprotein, which involves degranulation and a transmembrane influx of Ca<sup>2+</sup> by IgE receptor cross-linking. Another casein kinase II inhibitor, GT copolymer, also inhibited the degranulation of antigen-stimulated RBL-2H3 cells. Thus, the modulator of casein kinase II activity seems to be a good tool for the inhibitor of signal transduction in RBL-2H3 cells.

Keywords: ectokinase, casein kinase II peptide, RBL-2H3 cells

Thomas, K.<sup>\*1</sup>, Aalbers, M.<sup>\*2</sup>, Bannon, G.A.<sup>\*3</sup>, Bartels, M.<sup>\*4</sup>, Dearman, R.J.<sup>\*5</sup>, Esdaile, D.J.<sup>\*6</sup>, Fu, T.J.<sup>\*7</sup>, Glatt, C.M.<sup>\*8</sup>, Hadfield, N.<sup>\*5</sup>, Hatzos, C.<sup>\*7</sup>, Hefle, S.L.<sup>\*9</sup>, Heylings, J.R.<sup>\*5</sup>, Goodman, R.E.<sup>\*3</sup>, Henry, B.<sup>\*10</sup>, Herouet, C.<sup>\*6</sup>, Holsapple, M.<sup>\*1</sup>, Ladics, G.S.<sup>\*8</sup>, Landry, T.D.<sup>\*4</sup>, MacIntosh, S.C.<sup>\*10</sup>, Rice, E.A.<sup>\*3</sup>, Privalle, L.S.<sup>\*11</sup>, Steiner, H.Y.<sup>\*11</sup>, Teshima R., Van Ree, R.<sup>\*2</sup>, Woolhiser, M.<sup>\*4</sup>, Zawodny, J.<sup>\*11</sup>: **A multi-laboratory evaluation of a common *in vitro* pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins.**

*Regul. Toxicol. Pharmacol.* **39**, 87-98 (2004)

Evaluation of the potential allergenicity of proteins derived from genetically modified foods has involved a weight of evidence approach that incorporates an evaluation of protein digestibility in pepsin. Currently, there is no standardized protocol to assess the digestibility of proteins using simulated gastric fluid. Potential variations in assay parameters include: pH, pepsin purity, pepsin to target protein ratio, target protein purity, and method of detection. The objective was to assess the digestibility of a common set of proteins in nine independent laboratories to determine the reproducibility of the assay when performed using a common protocol. A single lot of each test protein and pepsin was obtained and distributed to each laboratory. The test proteins consisted of Ara h 2 (a peanut conglutin-like protein), beta-lactoglobulin, bovine serum albumin, concanavalin A, horseradish peroxidase, ovalbumin, ovomucoid, phosphinothricin acetyltransferase, ribulose diphosphate carboxylase, and soybean trypsin inhibitor. A ratio of 10U of pepsin activity/microg test protein was selected for all tests (3:1 pepsin to protein, w:w). Digestions were performed at pH 1.2 and 2.0, with sampling at 0.5, 2, 5, 10, 20, 30, and 60min. Protein digestibility was assessed from stained gels following SDS-PAGE of digestion samples and controls. Results were relatively consistent across laboratories for the full-length



proteins. The identification of proteolytic fragments was less consistent, being affected by different fixation and staining methods. Overall, assay pH did not influence the time to disappearance of the full-length protein or protein fragments, however, results across laboratories were more consistent at pH 1.2 (91% agreement) than pH 2.0 (77%). These data demonstrate that this common protocol for evaluating the in vitro digestibility of proteins is reproducible and yields consistent results when performed using the same proteins at different laboratories.

**Keywords:** digestive stability, protein allergenicity, genetically modified foods

\*<sup>1</sup> ILSI-HESI, USA

\*<sup>2</sup> Sanquin Research, Netherlands

\*<sup>3</sup> Monsanto Co., USA

\*<sup>4</sup> The Dow Chemical Co., USA

\*<sup>5</sup> Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK

\*<sup>6</sup> Bayer CropScience, France

\*<sup>7</sup> FDA, NCFST, USA

\*<sup>8</sup> DuPont Co., USA

\*<sup>9</sup> University of Nebraska, USA

\*<sup>10</sup> Bayer CropScience, USA

\*<sup>11</sup> Syngenta Biotechnology Inc., USA

Sasaki, Y.<sup>\*</sup>, Hoshi, M.<sup>\*</sup>, Akazawa, C.<sup>\*</sup>, Nakamura, Y.<sup>\*</sup>, Tsuzuki, H.<sup>\*</sup>, Inoue, K. and Kohsaka, S.<sup>\*</sup>: **Selective expression of Gi/o-coupled ATP receptor P2Y12 in microglia in rat brain.**

*Glia*, **44**, 242-250 (2003)

Extracellular nucleotides, including ATP, have been demonstrated to transmit important physiological signals in the brain through either G-protein-coupled P2Y receptors or P2X receptors, which are ligand-gated ion channels. In this study, we performed a detailed analysis of the expression of the Gi/o-coupled receptor P2Y12 in the brain. Northern blot analysis demonstrated that P2Y12 is expressed predominantly in the brain, and to a lesser extent in the spleen. The cellular localization of P2Y12 was investigated by in situ hybridization, and P2Y12 mRNA was detected in small cells distributed throughout the brain, including the hippocampus. Expression of P2Y12 was also observed in naive and axotomized facial nuclei, and the number of P2Y12-expressing cells increased following facial nerve axotomy. Selective expression of P2Y12 mRNA in microglia was confirmed by double-label in situ hybridization and immunohistochemistry with antibodies against NeuN and Iba1 as an immunohistochemical marker for neurons and microglia, respectively. Hardly any P2Y12 mRNA was detected in macrophages obtained from the spleen and abdominal cavity, which share many surface molecules with microglia.

**Keywords:** P2Y12, microglia, immunohistochemistry

\* 国立精神神経センター神経研究所

Moriyama, T.<sup>\*</sup>, Iida, T.<sup>\*</sup>, Kobayashi, K.<sup>\*</sup>, Higashi, T.<sup>\*</sup>, Fukuoka, T.<sup>\*</sup>, Tsumura, H.<sup>\*</sup>, Leon, C.<sup>\*</sup>, Suzuki, N.<sup>\*</sup>, Inoue, K., Gachet, C.<sup>\*</sup>, Noguchi, K.<sup>\*</sup> and Tominaga, M.<sup>\*</sup>: **Possible involvement of P2Y2 metabotropic receptors in ATP-induced transient receptor potential vanilloid receptor 1-mediated thermal hypersensitivity.**

*J. Neurosci.*, **23**, 6058-6062 (2003)

The capsaicin receptor transient receptor potential V1 (TRPV1) is a sensory neuron-specific ion channel that serves as a polymodal detector of pain-producing chemical and physical stimuli. It has been reported that extracellular ATP potentiates the TRPV1 currents evoked by capsaicin or protons and reduces the temperature threshold for its activation through metabotropic P2Y receptors in a PKC-dependent pathway, suggesting that TRPV1 activation could trigger the sensation of pain at normal body temperature in the presence of ATP. Here, we show that ATP-induced thermal hyperalgesia was abolished in mice lacking TRPV1, suggesting the functional interaction between ATP and TRPV1 at a behavioral level. However, thermal hyperalgesia was preserved in P2Y1 receptor-deficient mice. Patch-clamp analyses using mouse dorsal root ganglion neurons indicated the involvement of P2Y2 rather than P2Y1 receptors. Coexpression of TRPV1 mRNA with P2Y2 mRNA, but not P2Y1 mRNA, was determined in the rat lumbar DRG using in situ hybridization histochemistry. These data indicate the importance of metabotropic P2Y2 receptors in nociception through TRPV1.

**Keywords:** P2Y1, pain, transient receptor potential V1

\* 三重大学医学部

Tsuda, M., Shigemoto-Mogami, Y., Koizumi, S., Mizokoshi, A., Kohsaka, S.<sup>1</sup>, Salter, M.W.<sup>2</sup> and Inoue, K.: **P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury.**

*Nature*, **424**, 778-783 (2003)

Pain after nerve damage is an expression of pathological operation of the nervous system, one hallmark of which is tactile allodynia. Effective therapy for this pain is lacking, and the underlying mechanisms are poorly understood. Here we report that pharmacological blockade of spinal P2X4 receptors (P2X4Rs), a subtype of ionotropic ATP receptor, reversed tactile allodynia caused by peripheral nerve injury without affecting acute pain behaviours in naive animals. After nerve injury, P2X4R expression increased strikingly in the ipsilateral spinal cord, and P2X4Rs were induced in hyperactive microglia but not in neurons or astrocytes. Intraspinal administration of P2X4R antisense oligodeoxynucleotide decreased the induction of P2X4Rs and suppressed tactile allodynia after nerve injury. Conversely, intraspinal administration of microglia in which P2X4Rs had been induced and stimulated, produced tactile allodynia in naive rats. Taken together, our results demonstrate that activation of P2X4Rs in hyperactive microglia is necessary for tactile allodynia after nerve injury and is sufficient to produce tactile allodynia in normal animals. Thus, blocking P2X4Rs in microglia might be a new therapeutic strategy for pain induced by nerve injury.

**Keywords:** P2X4, neuropathic pain, microglia

\*<sup>1</sup> 国立精神神経センター神経研究所

\*<sup>2</sup> University of Tront

Inoue, K., Koizumi, S., Tsuda M. and Shigemoto-Mogami, Y.: **Signaling of ATP receptors in glia-neuron interaction and pain.**

*Life Sci.*, **74**, 189-197 (2003)

We examined the effect of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF) on Interleukin-6 (IL-6)-induced protection from PC12 cell death driven by serum deprivation. When PC12 cells were incubated with serum-free medium for 32 hr, their viability decreased to 30%. IL-6 alone slightly protected the death of PC12 cells, whereas TNF alone did not show any protective effect. In the meanwhile, when PC12 cells were pretreated with TNF for 6 hr and then incubated with IL-6 under the condition of serum-free, the viability of PC12 cells dramatically increased. TNF induced an increase of IL-6 receptor (IL-6R) expression in PC12 cells at 4-6 hr. These data suggested that 6 hr pretreatment with TNF increased IL-6R expression in PC12 cells, leading to an enhancement of IL-6-induced neuroprotective action.

Keywords: tumor necrosis factor- $\alpha$ , IL-6, PC12

Inoue, K., Tsuda, M. and Koizumi, S.: **ATP induced three types of pain behaviors including allodynia.**

*Drug Devel. Res.*, **59**, 56-63 (2003)

ATP excites dorsal root ganglion (DRG) neurons in the nociceptive signaling pathway via ATP-gated cation channels. ATP and its analogue  $\alpha$ , $\beta$ -methylene ATP ( $\alpha\beta$ meATP) activated two types of inward currents; one is a rapidly desensitizing current which is observed in capsaicin (CAP)-sensitive DRG neurons and in C6BU-1 cells expressing homomeric P2X3 receptors. The other is a slowly desensitizing current which is seen in CAP-insensitive medium-sized DRG neurons and in C6BU-1 expressing heteromeric P2X2/3 receptors. Activation by the injection of ATP or  $\alpha\beta$ meATP into the hindpaw produced three distinct types of pain-related behaviors (nocifensive behavior, thermal hyperalgesia, and mechanical allodynia). Nocifensive behavior and thermal hyperalgesia were blocked by pretreatment with PPADS and were not observed in rats without capsaicin-sensitive neurons. The  $\alpha\beta$ meATP-induced allodynia was sensitive to PPADS, remained in neonatal capsaicin-treated adult rats. Furthermore, while pretreatment by P2X3 antisense oligodeoxynucleotide (ODN) diminished all three pain responses, P2X2 antisense ODN inhibited only the mechanical allodynia. These findings suggest that activation of homomeric P2X3 receptors in capsaicin-sensitive primary afferent plays a role in the induction of nocifensive behavior and thermal hyperalgesia, and that activation of heteromeric P2X2/3 receptors in capsaicin-insensitive fibers leads to the induction of mechanical allodynia.

Keywords: P2X3, P2X2+3, mechanical allodynia

Moriguchi, S.\*, Mizoguchi, Y.\*, Tomimatsu, Y.\*, Hayashi, Y.\*, Kadowaki, T.\*, Kagamiishi, Y.\*, Katsube, N.\*, Yamamoto, K.\*, Inoue, K., Watanabe, S.\*, Nabekura, J.\* and Nakanishi, H.\*: **Potentiation of NMDA receptor-mediated synaptic responses by microglia.**

*Brain Res. Mol. Brain Res.*, **119**, 160-169 (2003)

To study the influence of microglia on glutamatergic synaptic transmission in the acute phase of neuronal injury, we first examined the effects of primary cultured microglia transferred onto the organotypic cortical slice cultures. In these microglia-transferred cortical slice cultures, stimulation of the subcortical white matter induced fast excitatory postsynaptic potentials followed by N-

methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-mediated plateau-like potentials that were never observed in control slice cultures. A similar potentiation of NMDA receptor-mediated postsynaptic responses was also observed by an application of a microglial-conditioned medium (MCM, 10% v/v) in acute cortical slices. These effects of MCM disappeared after boiling or incubation with proteinase K. After fractionation of MCM by anion-exchange chromatography, the enhancing activity of each fraction was quantitated electrophysiologically. When each fraction was analyzed by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, the fraction 24 which showed the most potent enhancing activity on NMDA receptor-mediated responses contained a relatively strong protein band with a molecular mass of approximately 70 kDa. MCM also enhanced both glutamate- and NMDA-induced inward currents recorded from acutely isolated cortical neurons. It was also noted that glutamate and NMDA induced transient large inward currents during an application of MCM, which were never observed in the control condition. These observations strongly suggest that NMDA receptor-mediated responses can be potentiated by both heat- and protease-labile (presumably 70-kDa proteins) molecules released from microglia.

Keywords: NMDA, neuroprotection, microglia

\* 九州大学歯学部

Tsuda, M., Mizokoshi, A., Shigemoto-Mogami, Y., Koizumi, S. and Inoue, K.: **Activation of p38MAPK in spinal hyperactive microglia contributes to neuropathic pain hypersensitivity following peripheral nerve injury.**

*Glia*, **45**, 89-95 (2004)

Neuropathic pain is an expression of pathological operation of the nervous system, which commonly results from nerve injury and which is characterized by pain hypersensitivity to normally innocuous stimuli, a phenomenon known as tactile allodynia. The mechanisms by which nerve injury creates tactile allodynia have remained largely unknown. Here we report that development of tactile allodynia following nerve injury requires activation of p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK), a subgroup of MAPK family, in spinal microglia. We found that immunofluorescence and protein levels of the dually-phosphorylated active form of p38MAPK (phospho-p38MAPK) were increased in the dorsal horn ipsilateral to spinal nerve injury. Interestingly, the phospho-p38MAPK immunofluorescence in the dorsal horn was found exclusively in microglia but not in neurons or astrocytes. Intrathecal administration of p38MAPK inhibitor, SB203580, suppresses development of the nerve injury-induced tactile allodynia. Taken together our results demonstrate that nerve injury-induced pain hypersensitivity depends upon activation of p38MAPK signaling pathway in hyperactive microglia in the dorsal horn following peripheral nerve injury.

Keywords: mitogen-activated protein kinases, dorsal horn, neuropathic pain

Suzuki, T.<sup>1</sup>, Hide, I.<sup>1</sup>, Ido, K.<sup>1</sup>, Inoue, A.<sup>1</sup>, Kohsaka, S.<sup>2</sup>, Inoue, K. and Nakata, Y.<sup>1</sup>: **Production and release of neuroprotective TNF by P2X7 receptor-activated microglia.** *J. Neurosci.*, **24**, 1-7 (2004)

In this study we further examined a mechanism of regulation of TNF production involving P2X7 receptors and MAPK. The inhibitors U0126, SP600125 and SB203580, which target MEK, JNK and p38 MAP kinase, respectively, all potently suppressed the production of TNF in ATP-stimulated microglia. TNF mRNA expression was significantly inhibited by either U0126 or SP600125, but not by SB203580. SB203580 caused a marked accumulation of TNF mRNA in the nucleus, while abolishing its increase in the cytoplasm after ATP stimulation. Moreover, Brilliant Blue G, a P2X7 receptor blocker, and genistein, a protein tyrosine kinase (PTK) inhibitor, suppressed the activation of JNK and p38, but not ERK. PP2, a src-family tyrosine kinase inhibitor, also inhibited ATP-induced TNF release and the activation of JNK and p38. These results indicate that ERK and JNK regulate TNF mRNA expression, whereas p38 is involved in the nucleocytoplasmic transport of TNF mRNA, and that a PTK, possibly a src-family member, acts downstream of the P2X7 receptor leading to JNK and p38 activation, leading neuroprotective role.

Keywords: TNF, neuroprotection, microglia

\*1 広島大学大学院医歯薬学総合研究科

\*2 国立精神神経センター神経研究所

Watanabe, H.<sup>\*</sup>, Adachi, R., Hirayama, A.<sup>\*</sup>, Kasahara, T.<sup>\*</sup> and Suzuki, K.: **Triphenyltin enhances the neutrophilic differentiation of promyelocytic HL-60 Cells**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **306**, 26-31 (2003)

Triphenyltin (TPT) is an environmental endocrine disruptor and toxic substance, but little information is available on its immunological effects. To assess the effect of TPT on leukocyte differentiation, we investigated its effect on the neutrophilic differentiation of HL-60 cells induced by dimethylsulfoxide and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for 6 days. At a low concentration,  $10^{-7}$  M, TPT increased superoxide production by differentiated HL-60 cells stimulated with opsonized zymosan (OZ) by about 45% and increased expression of CD18, a component of the OZ-receptor by about 90%. Real-time PCR analysis revealed that TPT augmented the expression not only of CD18 but of components of superoxide-generating NADPH-oxidase, p47phox, 2.7 fold, and p67phox, 2.0 fold, and of granulocyte colony-stimulating factor receptor (G-CSFR), 3.0 fold, whereas various other endocrine disruptors, including parathione, vincrozone, and bisphenol A, had no such enhancing effects. The results of a DNA microarray analysis showed that TPT enhanced the expression of G-CSFR and certain other neutrophil functional proteins, including CD14 and myeloid leukemia cell differentiation protein (MCL-1), and that TPT induced a decrease in expression of LC-PTP, leukocyte protein-tyrosine phosphatase, to about half the control level. The TPT-dependent suppression of LC-PTP was confirmed by real-time PCR analysis, and the results of immunoblotting indicated that TPT enhances the expression of myeloid specific tyrosine kinase hck by about 30% at the protein level, and this together with the reduction of LC-PTP may enhance tyrosine phosphorylation, in turn resulting in enhancement of superoxide production. These findings suggest that TPT may have an enhancing effect on the neutrophilic maturation of leukocytes.

Keywords: Triphenyltin, HL-60, differentiation, superoxide

\* 共立薬科大学

Watanabe, H.<sup>\*</sup>, Adachi, R., Kusui, K., Hirayama, A.<sup>\*</sup>, Kasahara, T.<sup>\*</sup> and Suzuki, K.: **Bisphenol A significantly enhances the neutrophilic differentiation of promyelocytic HL-60 cells**

*Int. Immunopharmacol.* **3**, 1601-1608 (2003)

Bisphenol A (BPA) is a well-known endocrine disruptor, however, little information is available on its immunological effects. To investigate the effect of BPA on the leukocyte differentiation, we investigated its effect on the neutrophilic differentiation of HL-60 cells induced by dimethylsulfoxide and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for 6 days. At low concentrations,  $10^{-10}$ - $10^{-8}$  M, BPA significantly increased the superoxide production by differentiated HL-60 cells stimulated with opsonized zymosan (OZ) by about 20%, and expression of CD18, a component of the OZ-receptor, was increased to a similar extent (about 20%) by  $10^{-9}$  M BPA. To investigate the effect of BPA on the activity of PU.1, a transcription factor specific for granulocytic differentiation, we established a stable clone that expressed luciferase as a reporter of PU.1 activity. PU.1 activity increased during the neutrophilic differentiation of HL-60 cells peaked on day 3, and decreased thereafter. Nanomolar BPA augmented the PU.1 activity on day 3 by about 60%. On the other hand, tamoxifen, a competitive inhibitor of estrogen receptors, did not suppress the effect of BPA on the differentiation of HL-60 cells. These results suggest that BPA exerts an enhancing effect on the neutrophilic maturation of leukocytes, through an estrogen receptor-independent pathway. Long-term exposure to BPA might significantly affect the innate immunity of mammals, even at low doses.

Keywords: Bisphenol A, HL-60, PU.1, differentiation, Neutrophil

\* 共立薬科大学

Chen, S.H.<sup>\*1</sup>, Stins, M.F.<sup>\*2</sup>, Huang, S.H.<sup>\*1</sup>, Chen, Y.H.<sup>\*1</sup>, Kwon-Chung, K.J.<sup>\*3</sup>, Chang, Y.<sup>\*3</sup>, Kim, K.S.<sup>\*2</sup>, Suzuki, K. and Jong, A.Y.<sup>\*1</sup>: **Cryptococcus neoformans induces alterations in the cytoskeleton of human brain microvascular endothelial cells**

*J. Med. Microbiol.*, **52**, 961-970 (2003)

The fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* has a predilection for the central nervous system (CNS), resulting in devastating meningoencephalitis. At present, it is unclear how *C. neoformans* traverses the blood-brain barrier (BBB) and causes CNS infection. The present study has examined and characterized the interaction of *C. neoformans* with human brain microvascular endothelial cells (HBMEC), which constitute the BBB. Adhesion of and transcytosis of HBMEC by *C. neoformans* was inoculum- and time-dependent and occurred with both encapsulated and acapsulated strains. *C. neoformans* induced marked morphological changes in HBMEC, for example membrane ruffling, irregular nuclear morphology and swelling of the mitochondria and the ER. These findings suggest that *C. neoformans* induced actin cytoskeletal reorganization of the host cells. In addition, it was observed that the dephosphorylated form of cofilin was increased during cryptococcal adherence to HBMEC, concomitant with the actin rearrangement. Cryptococcal binding to HBMEC was increased in the presence of Y27632, a Rho kinase (ROCK)-spe-

cific inhibitor. Since ROCK activates LIM kinase (LIMK), which phosphorylates cofilin (inactive form), this suggests the involvement of the ROCK-->LIMK-->cofilin pathway. In contrast, the phosphatase inhibitor sodium orthovanadate decreased adherence of *Cryptococcus* to HBMEC, concomitant with the increase of phosphorylation of cofilin. Furthermore, the tight junction marker protein occludin became Triton-extractable, indicating alteration of tight junctions in brain endothelial cells. This is the first demonstration that *C. neoformans* is able to adhere to and transcytose across the HBMEC monolayer and alter the cytoskeleton morphology in HBMEC. Further characterization of the interactions between *C. neoformans* and HBMEC should help the development of novel strategies to prevent cryptococcal meningitis and its associated morbidity.

**Keywords:** Cofilin, *Cryptococcus neoformans*, Cytoskeleton

<sup>1</sup> Children's Hospital Los Angeles, USA

<sup>2</sup> Johns Hopkins University, USA

<sup>3</sup> National Institute of Allergy and Infectious Diseases, USA

Wada, H.<sup>1</sup>, Matsumoto, N.<sup>1</sup>, Maenaka, K.<sup>2</sup>, Suzuki, K. and Yamamoto, K.<sup>1</sup>: **Two HLA-E Mutants Segregate the Inhibitory NK Receptor CD94/NKG2A and the Activating Receptor CD94/NKG2C, Both of Which Bind the Top of HLA-E.**

*Euro. J. Immunol.*, **34**, 81-90 (2004)

The human non-classical MHC class I molecule HLA-E is a ligand for both an inhibitory NK cell receptor (CD94/NKG2A) and an activating receptor (CD94/NKG2C). To identify HLA-E surface recognized by both receptors, especially to determine if both receptors recognize the same epitope, we made a series of individually Ala-substituted HLA-E proteins and analyzed their binding to CD94/NKG2A or CD94/NKG2C. Eight HLA-E mutations that significantly impaired HLA-E binding to CD94/NKG2A are all found in the top of alpha1/alpha2 domain of HLA-E. These results suggest that CD94/NKG2A binds a HLA-E surface equivalent to a NKG2D binding site on MICA. Of the eight mutations that impaired HLA-E binding to CD94/NKG2A, six significantly impaired HLA-E binding to CD94/NKG2C suggesting that CD94/NKG2C also binds a similar surface of HLA-E. Unexpectedly, the two HLA-E mutations (D69A and H155A) selectively abrogated HLA-E binding to CD94/NKG2A, not largely affected CD94/NKG2C. These results indicate that a mostly shared, but partly distinct set of HLA-E residues is discriminated by the two receptors.

**Keywords:** NK cell, CD94/NKG2A, HLA-E

<sup>1</sup> 東京大学大学院新領域創成科学研究科

<sup>2</sup> 九州大学生体防御医学研究所

Tajima, K.<sup>\*</sup>, Matsumoto, N.<sup>\*</sup>, Ohmori, K.<sup>\*</sup>, Wada, H.<sup>\*</sup>, Ito, M.<sup>\*</sup>, Suzuki, K. and Yamamoto, K.<sup>\*</sup>: **Augmentation of NK cell-mediated cytotoxicity to tumor cells by inhibitory NK cell receptor blockers.**

*Int Immunol.*, **16**, 385-393 (2004)

NK cells monitor expression of MHC class I by inhibitory receptors and preferentially kill cells that lose or down-regulate MHC class I expression. One possible mechanism by which tumor cells

evade NK cell killing is continued expression of appropriate MHC class I ligands to engage inhibitory receptors on NK cells. We show here that small-mol.-wt blockers against the mouse inhibitory NK cell receptor Ly49A enhance NK cell killing of such tumor cells. We identified Ly49A-binding peptides by selecting phages with the capacity to bind recombinant Ly49A expressed in *Escherichia coli* from a phage display random peptide library. The Ly49A-binding peptides could also bind Ly49A expressed on mammalian cells. Importantly, the Ly49A-binding peptides blocked Ly49A recognition of its MHC class I ligands H-2Dd and H-2Dk. Moreover, blockade of Ly49A by the peptides enhanced cytotoxicity of Ly49A+ NK cells towards H-2Dd-expressing tumor cells. These results clearly indicate effectiveness of small-mol.-wt blockers of inhibitory NK cell receptors in enhancing NK cell-mediated killing of tumor cells that are otherwise resistant because of MHC class I expression.

**Keywords:** NK cell, inhibitory receptor, tumor killing, MHC class I

\* 東京大学大学院新領域創成科学研究科

Fujino, T., Sato, Y., Une, M.<sup>\*</sup>, Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., Shudo, K., Inoue, K. and Nishimaki-Mogami, T.: **In vitro farnesoid X receptor ligand sensor assay using surface plasmon resonance and based on ligand-induced coactivator association.**

*J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **87**, 247-252(2003)

Ligand binding to nuclear receptors leads to a conformational change that increases the affinity of the receptors to coactivator proteins. We have developed a ligand sensor assay for farnesoid X receptor (FXR) in which the receptor-coactivator interaction can be directly monitored using surface plasmon resonance biosensor technology. A 25-mer peptide from coactivator SRC1 containing the LXXLL nuclear receptor interaction motif was immobilized on the surface of a BIAcore sensor chip. Injection of the FXR ligand binding domain (FXRLBD) with or without the most potent natural ligand, chenodeoxycholic acid (CDCA), over the surface of the chip resulted in a ligand- and LXXLL motif-dependent interaction. Kinetic analysis revealed that CDCA and its conjugates decreased the equilibrium dissociation constant (K(d)) by 8-11-fold, indicating an increased affinity. Using this technique, we found that a synthetic bile acid sulfonate, 3alpha,7alpha-dihydroxy-5beta-cholane-24-sulfonate, which was inactive in a FXR response element-driven luciferase assay using CV-1 cells, caused the most potent interaction, comparable to the reaction produced by CDCA. This method provides a rapid and reliable in vitro ligand assay for FXR. This kinetic analysis-featured technique may be applicable to mechanistic studies.

**Keywords:** FXR, Surface plasmon resonance, ligand sensor assay

\* 広島大学大学院医歯薬総合研究科

Fujino, T., Une, M.<sup>1</sup>, Imanaka, T.<sup>2</sup>, Inoue, K. and Nishimaki-Mogami, T.: **Structure-activity relationship of bile acids and bile acid analogs in regard to FXR activation.**

*J. Lipid Res.*, **45**, 132-138(2004)

The farnesoid X receptor (FXR) is a bile acid-activated nuclear receptor that plays a major role in bile acid and cholesterol

metabolism. To obtain an insight into the structure-activity relationships of FXR ligands, we investigated the functional roles of structural elements in the physiological ligands chenodeoxycholic acid [CDCA; (3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ )], cholic acid [CA; (3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ )], deoxycholic acid [DCA; (3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ )], and lithocholic acid (3 $\alpha$ ) in regard to FXR activation in a cell-based FXR response element-driven luciferase assay and an in vitro coactivator association assay. Conversion of the carboxyl group of CDCA or CA to an alcohol did not greatly diminish their ability to activate FXR. In contrast, the 7 $\beta$ -epimers of the alcohols were inactive, indicating that the bile alcohols retained the ligand properties of the original bile acids and that the 7 $\beta$ -hydroxyl group diminished their FXR-activating effect. Similarly, hydroxyl epimers of DCA exhibited decreased activity compared with DCA, indicating a negative effect of 3 $\beta$ - or 12 $\beta$ -hydroxyl groups. Introduction of an alkyl group at the 7 $\beta$ - or 3 $\beta$ -position of CDCA resulted in diminished FXR activation in the following order of alkyl groups: 7-ethyl>7-propyl>3-methyl>7-methyl. These results indicate that bulky substituents, whether hydroxyl groups or alkyl residues, at the beta-position of cholanooids decrease their ability to activate FXR.

**Keywords:** FXR, bile acids, ligand

\*1 広島大学大学院医歯薬総合研究科

\*2 富山医科薬科大学薬学部

Suzuki, S.<sup>1, 3</sup>, Nishimaki-Mogami, T.<sup>3</sup>, Tamehiro, N., Inoue, K., Arakawa, R.<sup>1</sup>, Abe-Dohmae, S.<sup>1</sup>, Tanaka, R.T.<sup>2</sup>, Ueda, K.<sup>2</sup> and Yokoyama, S.<sup>1</sup>: **Verapamil increases the apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol by induction of ABCA1 expression via an LXR-independent mechanism.** *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 519-525 (2004)

Release of cellular cholesterol and phospholipid mediated by helical apolipoprotein and ATP-binding cassette transporter (ABC) A1 is a major source of plasma HDL. We investigated the effect of calcium channel blockers on this reaction. Expression of ABCA1, apoA-I-mediated cellular lipid release, and HDL production were enhanced in cAMP analogue-treated RAW264 cells by verapamil, and similar effects were also observed with other calcium channel blockers. The verapamil treatment resulted in rapid increase in ABCA1 protein and its mRNA, but not the ABCG1 mRNA, another target gene product of the nuclear receptor liver X receptor (LXR). By using the cells transfected with a mouse ABCA1 promoter-luciferase construct (-1238 to +57bp), verapamil was shown to enhance the transcriptional activity. However, it did not increase transcription of LXR response element-driven luciferase vector. The data demonstrated that verapamil increases ABCA1 expression through LXR-independent mechanism and thereby increases apoA-I-mediated cellular lipid release and production of HDL.

**Keywords:** ABCA1, HDL, verapamil

\*1 名古屋市立大学大学院医学研究科

\*2 京都大学大学院農学研究科

\*3 These authors contributed equally to this work

Sai, K., Kaniwa, N., Itoda, M., Saito, Y., Hasegawa, R., Komamura, K.<sup>1</sup>, Ueno, K.<sup>1</sup>, Kamakura, S.<sup>1</sup>, Kitakaze, M.<sup>1</sup>,

Shirao, K.<sup>2</sup>, Minami, H.<sup>2</sup>, Ohtsu, A.<sup>2</sup>, Yoshida, T.<sup>2</sup>, Saijo, N.<sup>2</sup>, Kitamura, Y.<sup>3</sup>, Kamatani, N.<sup>4</sup>, Ozawa, S. and Sawada, S.: **Haplotype analysis of ABCB1/MDR1 blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan** *Pharmacogenetics*, **13**, 741-757 (2003)

We performed comprehensive haplotyping of ABCB1/MDR1 gene blocks using 49 genetic polymorphisms, including seven novel ones, obtained from 145 Japanese subjects. The ABCB1/MDR1 gene was divided into four blocks (Blocks -1, 1, 2, and 3) based on linkage disequilibrium analysis of polymorphisms. By aid of expectation-maximization based program, 1, 2, 8, and 3 haplotype groups (3, 12, 32 and 18 haplotypes) were identified in Blocks -1, 1, 2, and 3, respectively. Within Block 2, haplotype groups \*1, \*2, \*4, \*6, and \*8 reported by Kim and colleagues (*Clin. Pharmacol. Ther.*, **70**, 189-199, 2001) were found, and additional three groups (\*9 to \*11) were newly defined. We analyzed the association of haplotypes with the renal clearance of irinotecan and its metabolites in 49 Japanese cancer patients given irinotecan intravenously. There was a significant association of the \*2 haplotype in Block 2, which includes 1236C>T, 2677G>T and 3435C>T, with a reduced renal clearance of those compounds. Moreover, tendencies of reduced and increased renal clearance were also observed with \*1f in Block 2 and \*1b in Block 3, respectively. These findings suggest that the P-glycoprotein encoded by ABCB1/MDR1 in the proximal tubules plays a substantial role in renal exclusion of drugs and, moreover, that block-haplotyping is valuable for pharmacogenetic studies.

**Keywords:** ABCB1, haplotype, irinotecan

\*1 国立循環器病センター

\*2 国立がんセンター

\*3 三菱総合研究所

\*4 東京女子医科大学

Kubota, K., Ohsako, S.<sup>1,3,5</sup>, Kurosawa, S.<sup>3</sup>, Takeda, K.<sup>3</sup>, Qing, W.<sup>1,5</sup>, Sakaue, M.<sup>4</sup>, Kawakami, T.<sup>3</sup>, Ishimura, R.<sup>1,5</sup> and Tohyama, C.<sup>2,5</sup>: **Effects of Vinclozolin Administration on Sperm Production and Testosterone Biosynthetic Pathway in Adult Male Rat**

*J. Reprod. Dev.*, **49**, 403-412 (2003)

Abstract: The effect of vinclozolin (VCZ), used as a fungicide and known to have anti-androgenic effects on spermatogenesis and gene expression in the male rat testis was investigated. In Experiment 1, VCZ (100 mg/kg/day) or flutamide (FM, 25 mg/kg/day) was orally administered to male Holzman rats for six days. 8 days after the last administration (D8), a drastic increase in intratesticular testosterone was detected in FM (4.2-fold over control) but not in VCZ treated animals, whereas on D36 post-administration, both groups showed similar levels. Significant decreases in daily sperm production were seen in both VCZ and FM-treated rats on D36. Semiquantitative RT-PCR analysis with testicular and pituitary mRNAs on D8 revealed that LH  $\beta$  and FSH  $\beta$  mRNAs were increased in the pituitary by VCZ, as well as by FM. Among the four testicular steroidogenic enzyme genes, cytochrome P450 side chain cleavage (P450scc) and cytochrome P450 17  $\alpha$  /C17-20 lyase (P450c17) mRNAs were significantly increased, whereas 17  $\beta$  -hydroxysteroid dehydrogenase type III

(17  $\beta$  HSD) mRNA was not changed. A significant increase in 3  $\beta$  -hydroxysteroid dehydrogenase type I (3  $\beta$  HSD) and a decrease in androgen receptor (AR) mRNA were observed only in FM treated rats. Immunohistochemistry demonstrated intense staining of P450scc in the interstitial cells of VCZ-treated testis on D8. In Experiment 2, hormone levels were measured at 1, 3, 6, 12 and 24 hours after VCZ (100 mg/kg) administration to Sprague-Dawley rats. Serum LH level remained constant for the first 3 hours and started to increase at 6 hrs. In contrast, serum and intratesticular testosterone levels increased 2-fold at 1 hr and maintained the level until 24 hrs. P450c17 mRNA level was 2-fold increased at all periods, whereas no obvious changes were detected in the other steroidogenic enzyme genes. Although not statistically significant, AR mRNA level increased 2-fold, 3 hrs after VCZ administration. These results indicate that VCZ affects the pituitary in a similar manner as FM, but functions differently on testicular gene expression.

\*<sup>1</sup> Molecular and Cellular Toxicology Section, National Institute for Environmental Studies

\*<sup>2</sup> Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies

\*<sup>3</sup> Laboratory of Hygienic Chemistry, Science University of Tokyo

\*<sup>4</sup> Department of Public Health, School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University

\*<sup>5</sup> CREST, JST

Ohsako, S.<sup>\*1,4</sup>, Kubota, K., Kurosawa, S.<sup>\*3</sup>, Takeda, K.<sup>\*3</sup>, Qing, W.<sup>\*1,4</sup>, Ishimura, R.<sup>\*1,4</sup> and Tohyama, C.<sup>\*2,4</sup>: **Alterations of Gene Expression in Adult Male Rat Testis and Pituitary Shortly After Subacute Administration of the Antiandrogen Flutamide** *J. Reprod. Dev.*, **49**, 275-290 (2003)

**Abstract:** In the course of profiling alterations of gene expression in the male reproductive system induced by anti-androgenic agents, 28 genes expressed in the testis or pituitary of adult rats were examined shortly after subacute administration of the well-known anti-androgen, flutamide (FM). FM (25 mg/kg/day) was orally administered to male rats for six days. On day 8 (D8) after the first dose of FM, intratesticular testosterone (T) levels had dramatically increased, but daily sperm production on D36 was significantly decreased. The mRNA levels of testicular and pituitary genes on D8 were measured by semiquantitative RT-PCR. Among the six testicular steroidogenic enzyme genes, the mRNAs of the P450 side chain cleavage, P450 17  $\alpha$  /C17-20 lyase, and 3  $\beta$  -hydroxysteroid dehydrogenase type I (3  $\beta$  HSD) genes significantly increased, whereas 17  $\beta$  -hydroxysteroid dehydrogenase type III slightly decreased. Among the three steroid receptors examined, androgen receptor (AR) and glucocorticoid receptor (GR) mRNAs were significantly down-regulated (29% and 35%, respectively) in the testis, but there was no change in estrogen receptor  $\alpha$ . There were no clear changes in expression of the gonadotropin receptors and Sertoli cell specific genes, but a slight increase was observed in expression of the lactose dehydrogenase-c mRNA, a germ cell specific gene. Among the three immediate early genes, c-myc mRNA was increased approximately 1.4-fold. In the pituitary, on the other hand, mRNAs for LH  $\beta$  and FSH  $\beta$  subunits and gonadotropin releasing hormone receptor

had increased significantly. These results show that subacute FM administration first affected hypothalamus/pituitary hormone gene expression, then altered gonadotropin secretion, and subsequently induced over-expression of testicular steroidogenic enzyme genes. However, the significant up-regulation of 3  $\beta$  HSD and down-regulation of AR mRNAs, despite the higher level of intratesticular T, might be explained by an antagonistic action of hydroxyflutamide retained in the testis. The profiles of alterations in gene expression observed will provide important information for the screening of adult male animals for anti-androgenic chemicals.

\*<sup>1</sup> Molecular and Cellular Toxicology Section, National Institute for Environmental Studies

\*<sup>2</sup> Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies

\*<sup>3</sup> Laboratory of Hygienic Chemistry, Science University of Tokyo

\*<sup>4</sup> CREST, JST

#### Morita, T.: **Development of high throughput genotoxicity screening assays using bacteria**

*Environ. Mutagen Res.*, **25**: 23-31 (2003)

The fluctuation Ames test (FAT) using 384-well plates and *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100, and the SOS/umu assay (SOS) using 96-well plates with *S. typhimurium* TA1535/pSK1002 and NM2009 were developed. Seventeen Ames positive mutagens were tested with both assays in the presence and absence of S9 mix. The percentage of correctly predicted compounds was 88% (15/17), 88% (15/17), and 94% (16/17) in the FAT, SOS and FAT,SOS, respectively. The amount of compound required for the Ames test (pre-incubation method with TA98 and TA100), FAT, and SOS is 100 mg, 5 mg, and 1 mg, respectively. Practical numbers of compounds tested and cost of testing one compound is 12, 20, and 54 compounds per week, and ¥20000, ¥6400, and ¥2400, respectively.

**Keywords:** high throughput genotoxicity screening, fluctuation Ames test, SOS/umu assay

浅野間 光治\*<sup>1</sup>、荒木 春美\*<sup>1</sup>、大澤 浩一\*<sup>1</sup>、中井 康晴\*<sup>1</sup>、林 宏行\*<sup>1</sup>、若田 明裕\*<sup>1</sup>、森田 健: **UK COM 遺伝毒性ガイドランス (翻訳)**

*環境変異原研究*, **25**, 45-59 (2003)

英国の遺伝毒性諮問委員会(UK COM, Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment) が2000年12月に発表した遺伝毒性に関するガイドランス (Guidance on a Strategy for Testing of Chemicals for Mutagenicity) を翻訳した。

**Keywords:** UK COM, mutagenicity, guidance

\*<sup>1</sup> 日本製薬工業協会

Kirsch-Volders, M.<sup>\*1</sup>, Sofuni, T.<sup>\*2</sup>, Aardema, M.<sup>\*3</sup>, Albertini, S.<sup>\*4</sup>, Eastmond, D.<sup>\*5</sup>, Fenech, M.<sup>\*6</sup>, Ishidate, M. Jr.<sup>\*7</sup>, Kirchner, S.<sup>\*4</sup>, Lorge, E.<sup>\*8</sup>, Morita, T., Norppa, H.<sup>\*9</sup>, Surralles, J.<sup>\*10</sup>, Vanhauwaert, A.<sup>\*1</sup> and Wakata, A.<sup>\*11</sup>: **Report from the in vitro micronucleus assay working group**

*Mutat. Res.*, **540**, 153-163 (2003)

Because there were a number of important in vitro micronucleus

validation studies in progress, it was not possible to design a definitive, internationally harmonized protocol at that time. These studies have now been completed and the data were reviewed at the Plymouth "3rd International Workshop on Genotoxicity Testing" (28-29 June 2002). Data from studies coordinated by the French Society of Genetic Toxicology, Japanese collaborative studies, European pharmaceutical industry validation studies, along with data from Lilly Research Laboratories were used to prepare conclusions on the main aspects of the in vitro micronucleus protocol. In this paper, the consensus agreements on the protocol for performing the in vitro micronucleus assay are presented.

**Keywords:** in vitro micronucleus, protocol, IWGT workshop

\*<sup>1</sup> Vrije Universiteit Brussel

\*<sup>2</sup> NovusGene Inc.

\*<sup>3</sup> The Procter & Gamble Co.

\*<sup>4</sup> F. Hoffmann-La Roche Ltd.

\*<sup>5</sup> University of California

\*<sup>6</sup> CSIRO Health Sciences and Nutrition

\*<sup>7</sup> Independent Consultant

\*<sup>8</sup> Biologie Servier, Toxicology Center

\*<sup>9</sup> Finnish Institute of Occupational Health

\*<sup>10</sup> Universitat Autònoma de Barcelona

\*<sup>11</sup> Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

Kaminuma, T.<sup>\*</sup>, Nakata, K.

**Global information Network on chemicals (GINC) and its Asian component**

*Toxicology*, **190**, 93-103. (2003)

The Global Information Network on Chemicals (GINC) is an effort to build a global information network that links international, national, and other organizations working for the safe management of chemicals in order to exchange information and improve communications. The project was originally proposed in 1993 by one of the authors then at the National Institute of Health Sciences (NIHS) of Japan to the International Program on Chemical Safety (IPCS), which is a joint project of World Health Organization (WHO), International Labor Organization (ILO), and United Nations Environment Program (UNEP). The base support system was first implemented at NIHS using the Internet/World Wide Web (WWW) technology in 1995. The project was then endorsed by the Intergovernmental Forum on Chemical Safety (IFCS) and was adopted by the Inter-Organization Program for the Sound Management of Chemicals (IOMC). However, the base system (<http://www.nihs.go.jp/GINC/index.html>) has been developed and maintained solely by the NIHS group under the support of the Ministry of Health and Welfare (MHW), Japan. Asia, particularly East Asia and the Pacific region, was chosen as the feasibility study region for this project. During the period from December 1994 to July 2002, NIHS hosted eight meetings on this project held in Tokyo.

**Keywords:** GINC (Global Information Network on Chemicals), IPCS (International Program on Chemical Safety), Information exchange

\* (現所属) 広島大学

Kotani, A.<sup>\*</sup>, Hayashi, Y., Matsuda, R. and Kusu, F.<sup>\*</sup>: **Prediction**

**of measurement precision of apparatus using a chemometric tool in electrochemical detection of high-performance liquid chromatography**

*J. Chromatogr. A*, **986**, 239-246 (2003)

電気化学HPLCにおける測定精度の予測を、ケモメトリックスを利用して行った。

\* 東京薬科大学

**Kotani, A.<sup>\*</sup>, Hayashi, Y., Matsuda, R. and Kusu, F.<sup>\*</sup>: Optimization of HPLC-ECD conditions for determination of catechins with precision and efficiency based on the FUMI theory**

*Anal. Sci.* **19**, 865-869 (2003)

FUMI理論に基づいたカテキン測定のためのHPLC-ECDの条件の最適化を行った。

\* 東京薬科大学

**Kotani, A.<sup>\*1</sup>, Iwagami, T.<sup>\*2</sup>, Ueda, T.<sup>\*2</sup>, Kimura, Y.<sup>\*2</sup>, Hayashi, Y., Matsuda, R. and Kusu, F.<sup>\*2</sup>: Prediction of precision based on FUMI theory and a single test- Effect of thickness of radial flow cell on electrochemical detection using micro HPLC**

*ITE Letters* **4**, 56-60 (2003)

FUMI理論に基づいた精度予測—フローセルの厚さが電気化学検出に及ぼす影響を調べた。

\*<sup>1</sup> 東京薬科大学

\*<sup>2</sup> 林純薬工業

**Hayashi, Y., Matsuda, R., Imai, K.<sup>\*1</sup>, Nishimura, W.<sup>\*2</sup>, Ito, K.<sup>\*2</sup> and Maeda, M.<sup>\*2</sup>: Precision, limit of detection and range of quantitation in competitive ELISA**

*Anal. Chem.*, **76**, 1295-1301 (2004)

競合ELISA法における精度、検出下限、定量範囲を計算する方法を提案した。

\*<sup>1</sup> 武蔵野大学薬学研究所

\*<sup>2</sup> 昭和大学薬学部

**Fukuzawa, K.<sup>\*1</sup>, Kitaura, K.<sup>\*2</sup>, Nakata, K., Kaminuma, T.<sup>\*3</sup>, Nakano, T.: Fragment molecular orbital study of the binding energy of ligands to the estrogen receptor**

*Pure Appl. Chem.* **75**, 2405-2410 (2003)

We examined the published data for the binding affinity of typical ligands to the  $\alpha$ -subtype of the human estrogen receptor with use of an approximate molecular orbital method applicable to interacting molecular clusters. An ab initio procedure for "molecular fragments" proposed recently to deal with such macromolecules as proteins was applied to the molecular orbital calculations. The receptor protein was primarily modeled using 50 amino acid residues surrounding the ligand. For a few ligand-receptor complexes, the binding energy was also calculated with use of 241 amino acid residues contained in the entire domain. No significant difference was found in the calculated binding energy between the complex modeled with ligand-surrounding 50 amino acids and that with residues of the entire domain. The calculated binding energy was correlated very well with the published relative binding affinity for typical ligands.

**Keywords:** fragment molecular orbital method, estrogen recep-

## tor, ligand binding

<sup>\*1</sup> (株) 富士総合研究所<sup>\*2</sup> 産業技術総合研究所<sup>\*3</sup> バイオダイナミクス (株)

Komeiji, Y.<sup>\*1</sup>, Nakano, T., Fukuzawa, K.<sup>\*2</sup>, Ueno, Y.<sup>\*1</sup>, Inadomi, Y.<sup>\*1</sup>, Nemoto, T.<sup>\*1</sup>, Uebayasi, M.<sup>\*1</sup>, Fedorov, D. G.<sup>\*1</sup>, Kitaura, K.<sup>\*1</sup>: **Fragment molecular orbital method: application to molecular dynamics simulation, 'ab initio FMO-MD'**

*Chem. Phys. Lett.*, **372**, 342-347 (2003)

A quantum molecular simulation method applicable to biological molecules is proposed. Ab initio fragment molecular orbital method-based molecular dynamics (FMO-MD) combines molecular dynamics simulation with the ab initio fragment molecular orbital method. Here, FMO computes the force acting on each atom's nucleus while MD computes the nuclei's time-dependent evolutions. FMO-MD successfully simulated a small polypeptide, demonstrating the method's applicability to biological molecules. Keywords: fragment molecular orbital method, molecular dynamics, FMO-MD

<sup>\*1</sup> 産業技術総合研究所<sup>\*2</sup> (株) 富士総合研究所

Oka, T.<sup>\*1</sup>, Adati, N.<sup>\*2</sup>, Shinkai, T.<sup>\*3</sup>, Sakuma, K.<sup>\*1</sup>, Nishimura, T., Kurose, K.: **Bisphenol A induces apoptosis in central neural cells during early development of *Xenopus laevis*.**

*Biochem Biophys Res Commun.*, **312**(4), 877-882 (2003)

Bisphenol A (BPA), known to be a xenoestrogen, is widely used in industry and dentistry. In the present study, we investigated the effects of BPA on the early development of *Xenopus laevis* embryos. Stage 6 embryos were exposed to 10-100 microM BPA. Developmental abnormalities were observed when the embryos were exposed to at least 20 microM BPA, with marked developmental abnormalities, such as crooked vertebrae and developmental defects of the head and abdomen, detected in all embryos up to stage 40. Interestingly, apoptosis occurred specifically in central nervous tissue cells of the brain and spinal cord, as assessed by histological analysis. BPA-induced malformations and apoptosis were not observed in embryos exposed to BPA after stage 10. When embryos were exposed to 10 microM 17beta-estradiol (E2), abnormalities were also observed until stage 40. However, the abnormalities induced by BPA and E2 were different and E2 exposure did not induce apoptosis in the central nervous system. Our results indicated that the developmental abnormalities and apoptosis induced by BPA exposure were not inhibited by the addition of E2. In conclusion, we demonstrated that BPA induced marked malformations and specific apoptosis of central nervous system cells during early development of *X. laevis* embryos, and that these BPA effects appeared to be due to non-estrogenic activities on developmental processes.

Key words: bisphenol A, central nervous system, apoptosis

<sup>\*1</sup> Kagawa Nutrition University<sup>\*2</sup> Kitasato University<sup>\*3</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

Ikeda, S., Kurose, K., Ozawa, S., Sai, K., Hasegawa, R.

Komamura, K.<sup>\*1</sup>, Ueno, K.<sup>\*1</sup>, Kamakura, S.<sup>\*1</sup>, Kitakaze, M.<sup>\*1</sup>, Tomoike, H.<sup>\*1</sup>, Nakajima, T.<sup>\*2</sup>, Matsumoto, K.<sup>\*2</sup>, Saito, H.<sup>\*2</sup>, Goto, Y.<sup>\*3</sup>, Kimura, H.<sup>\*3</sup>, Katoh, M.<sup>\*3</sup>, Sugai, K.<sup>\*3</sup>, Minami, N.<sup>\*3</sup>, Shirao, K.<sup>\*4</sup>, Tamura, T.<sup>\*4</sup>, Yamamoto, N.<sup>\*4</sup>, Minami, H.<sup>\*4</sup>, Ohtsu, A.<sup>\*4</sup>, Yoshida, T.<sup>\*4</sup>, Saijo, N.<sup>\*4</sup>, Saito, Y. and Sawada, J.: **Twenty-six novel single nucleotide polymorphisms and their frequencies of the NR1I3 (CAR) gene in a Japanese population.**

*Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18**(6), 413-418 (2003).

Twenty-six novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found in the NR1I3 (CAR/MB67) gene from 252 Japanese subjects. The detected SNPs were as follows: 1) SNP, MPJ6\_1I3001; 2) SNP, MPJ6\_1I3002; 3) SNP, MPJ6\_1I3003; 4) SNP, MPJ6\_1I3004; 5) SNP, MPJ6\_1I3005; 6) SNP, MPJ6\_1I3006; 7) SNP, MPJ6\_1I3007; 8) SNP, MPJ6\_1I3008; 9) SNP, MPJ6\_1I3009; 10) SNP, MPJ6\_1I3010; GENE NAME, NR1I3; 11) SNP, MPJ6\_1I3011; 12) SNP, MPJ6\_1I3012; 13) SNP, MPJ6\_1I3013; GENE NAME, NR1I3; 14) SNP, MPJ6\_1I3014; 15) SNP, MPJ6\_1I3015; 16) SNP, MPJ6\_1I3016; 17) SNP, MPJ6\_1I3017; 18) SNP, MPJ6\_1I3018; 19) SNP, MPJ6\_1I3019; 20) SNP, MPJ6\_1I3020; 21) SNP, MPJ6\_1I3021; 22) SNP, MPJ6\_1I3022; 23) SNP, MPJ6\_1I3023; 24) SNP, MPJ6\_1I3024; 25) SNP, MPJ6\_1I3025; 26) SNP, MPJ6\_1I3026. The frequencies were 0.7182 for MPJ6\_1I3018, 0.3889 for MPJ6\_1I3017, 0.3829 for MPJ6\_1I3021, 0.2897 for MPJ6\_1I3014, 0.2857 for MPJ6\_1I2024, 0.2798 for MPJ6\_1I3013 and MPJ6\_019, 0.2758 for MPJ6\_015, 0.2678 for MPJ6\_005, 0.1468 for MPJ6\_011, 0.0278 for MPJ6\_022, 0.0119 for MPJ6\_008, 0.0079 for MPJ6\_016, 0.0040 for MPJ6\_009, MPJ6\_012, MPJ6\_023, MPJ6\_026 and 0.0020 for the other nine SNPs. All SNPs were found as heterozygous. Among these SNPs, MPJ6\_1I3006 induce non-synonymous amino acid alterations (V133G).

Key words: NR1I3 (CAR), novel SNP, amino acid alteration

<sup>\*1</sup> National Cardiovascular Center<sup>\*2</sup> National Center for Child Health and Development<sup>\*3</sup> National Center for Neurology and Psychiatry<sup>\*4</sup> National Cancer Center

Koyano, S., Kurose, K., Saito, Y., Ozawa, S., Hasegawa, R., Komamura, K.<sup>\*1</sup>, Ueno, K.<sup>\*1</sup>, Kamakura, S.<sup>\*1</sup>, Kitakaze, M.<sup>\*1</sup>, Nakajima, T.<sup>\*2</sup>, Matsumoto, K.<sup>\*2</sup>, Akasawa, A.<sup>\*2</sup>, Saito, H.<sup>\*2</sup>, Sawada, J.: **Functional characterization of four naturally occurring variants of human pregnane X receptor (PXR): one variant causes dramatic loss of both DNA binding activity and the transactivation of the CYP3A4 promoter/enhancer region.**

*Drug Metab Dispos.*, **32**, 149-154 (2004)

Metabolism of administered drugs is determined by expression and activity of many drug-metabolizing enzymes, such as the cytochrome P450 (P450s) family members. Pregnane X receptor (PXR) is a master transcriptional regulator of many drug/xenobiotic-metabolizing enzymes, including P450s and drug transporters. In this study, we describe the functional analysis of four naturally occurring human PXR (hPXR) variants (R98C, R148Q, R381W, and I403V) that we have recently identified. By a reporter gene assay using the CYP3A4 promoter/enhancer reporter in COS-7 or HepG2 cells, it was found that the R98C variant failed



to transactivate the CYP3A4 reporter. The R381W and I403V variants also showed varying degrees of reduction in transactivation, depending on the dose of PXR activators, rifampicin, clotrimazole, and paclitaxel. The transcriptional activities of the R148Q variant were not significantly different from that of the wild-type hPXR. The electrophoretic mobility shift assay revealed that only the R98C variant lacked DNA binding. Furthermore, the cellular localization of the hPXR proteins was analyzed. All four variants as well as the wild-type hPXR localized exclusively to the nucleus, regardless of the presence or absence of rifampicin. These data suggest that the R98C, R381W, and I403V hPXR variants, especially R98C, may influence the expression of drug-metabolizing enzymes and transporters, which are transactivated by PXR.

Keywords: NR1I2 (PXR/SXR), SNP, amino acid alteration

<sup>\*1</sup> National Cardiovascular Center

<sup>\*2</sup> National Center for Child Health and Development

Fukuda N<sup>\*1</sup>, Ito Y<sup>\*1</sup>, Yamaguchi M<sup>\*1</sup>, Mitsumori K<sup>\*2</sup>, Koizumi M, Hasegawa R, Kamata E, Ema M: **Unexpected nephrotoxicity induced by tetrabromobisphenol A in newborn rats** *Toxicol. Lett.*, **150**, 145-155 (2004)

The repeated dose toxicity of tetrabromobisphenol A (TBBPA), a flame retardant, was examined in male and female newborn rats given TBBPA orally at 0, 40, 200, or 600 mg/kg/day for 18 days from 4 days of age until weaning at 21 days of age. Half the rats in each dose group were sacrificed for a full gross necropsy and a histopathology on the organs and the tissues at 22 days of age and the remaining rats were reared without any treatment from post-weaning until 84 days of age to examine the recovery and the delayed occurrence of toxic effects. Treatment with 200 or 600 mg/kg TBBPA induced nephrotoxicity characterized by the formation of polycystic lesions, and some deaths occurred in the 600 mg/kg group. There was no gender difference of nephrotoxicity and there were no other critical toxicities. At 85 days of age, nephrotoxic lesions were still present in the 200 and 600 mg/kg groups, but no abnormalities indicating delayed occurrence of toxic effects were found in the treated groups. In order to investigate the specificity of the nephrotoxicity induced by TBBPA in newborn rats, TBBPA was given to male and female young rats (5 weeks old) by oral administration at 0, 2,000, or 6,000 mg/kg/day for 18 days. The kidneys showed no histopathological changes even at the high dose. These results clearly indicate that the nephrotoxicity of TBBPA is specific for newborn rats although the toxic dose level was relatively high. To gain insight into the possible effects on human infants, the mechanism of this unexpected nephrotoxicity of TBBPA in newborn rats should be examined.

Keywords: tetrabromobisphenol A, unexpected nephrotoxicity, newborn rats

<sup>\*1</sup> Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology

<sup>\*2</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

MacDonald, J.<sup>\*1</sup>, French, J.E.<sup>\*2</sup>, Gerson, R.J.<sup>\*3</sup>, Goodman, J.<sup>\*4</sup>, Inoue, T., Jacobs, A.<sup>\*5</sup>, Kasper, P.<sup>\*6</sup>, Keller, D.<sup>\*7</sup>, Lavin, A.<sup>\*8</sup>, Long, G.<sup>\*9</sup>, McCullough, B.<sup>\*10</sup>, Sistare, F.D.<sup>\*5</sup>, Storer, R.<sup>\*11</sup>, van

der Laan, J.W.<sup>\*12</sup>: **The utility of genetically modified mouse assays for identifying human carcinogens: a basic understanding and path forward.**

*Toxicol Sci*, **77**(2), 188-94, 2004.

The Alternatives to Carcinogenicity Testing Committee of the International Life Sciences Institute (ILSI) Health and Environmental Sciences Institute (HESI) conducted a large-scale, multinational collaborative research program to evaluate several genetically modified mouse assays for assessing the human carcinogenic potential of compounds. The data from this testing program have made an important contribution to the general understanding of how these models can be best applied in hazard identification; however, questions still exist regarding methodology and data interpretation. To address these issues, ILSI HESI hosted a February 2003 workshop on the Utility of Transgenic Assays for Risk Assessment. The purpose of this workshop was to reach an understanding of how data from genetically modified mouse models are viewed by different regulatory bodies in the pharmaceutical sector and, based on this understanding, to identify areas in which more experimental work may be needed to increase the utility of data derived from these assays. In the course of discussions, various data gaps related to model selection and protocol issues were identified. Based on the outcome of the workshop, various studies are proposed to provide data to improve the utility of currently available assays for cancer hazard identification and risk assessment purposes.

Keywords: carcinogenicity bioassay, p53 KO mice, genotoxic chemicals

<sup>\*1</sup> Schering-Plough Research Institute,

<sup>\*2</sup> National Institute of Environmental Health Sciences

<sup>\*3</sup> Endo Pharmaceuticals

<sup>\*4</sup> Michigan State University

<sup>\*5</sup> U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research

<sup>\*6</sup> Federal Institute for Drugs and Medical Devices (BfArM)

<sup>\*7</sup> Sanofi-Synthelabo Research, Malvern

<sup>\*8</sup> ILSI Health and Environmental Sciences Institute

<sup>\*9</sup> Eli Lilly & Company

<sup>\*10</sup> Aventis Pharmaceuticals, Inc.

<sup>\*11</sup> Merck Research Laboratories

National Institute of Public Health and the Environment (RIVM)

Kanno, J., Onyon, L.<sup>\*1</sup>, Peddada, S.<sup>\*2</sup>, Ashby, J.<sup>\*3</sup>, Jacob, E.<sup>\*4</sup> and Owens, W.<sup>\*5</sup>: **The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: coded single-dose studies.** *Environ Health Perspect*, **111**, 1550-1558(2003)

OECD has completed phase 2 of an international validation program for the rodent uterotrophic bioassay. This portion of phase 2 assessed the reproducibility of the assay with a battery of positive and negative test substances. The results were reproducible and in agreement both within individual laboratories and across the participating laboratories for the same test substance and protocol. In conclusion, both versions of the uterotrophic bioassay and all protocols appear robust, reproducible, and transferable across laboratories and able to detect weak estrogen agonists. These results will be submitted along with other data for independent peer

review to provide support for the validation of the uterotrophic bioassay.

**Key words:** endocrine disruption, estrogen, rat uterus, uterotrophic

<sup>1</sup> Environment, Health and Safety Division, OECD, Paris, France

<sup>2</sup> National Institute of Environmental Health Sciences, USA

<sup>3</sup> Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK

<sup>4</sup> BASF, Germany

<sup>5</sup> Procter & Gamble, USA

Kanno, J., Onyon, L.<sup>1</sup>, Peddada, S.<sup>2</sup>, Ashby, J.<sup>3</sup>, Jacob, E.<sup>4</sup> and Owens, W.<sup>5</sup> : **The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: dose-response studies.**

*Environ Health Perspect*, 111, 1530-1549(2003)

OECD has completed phase 2 of an international validation program for the rodent uterotrophic bioassay. The purpose of the validation program was to demonstrate the performance of two versions of the uterotrophic bioassay, the immature female rat and the adult ovariectomized rat, in four standardized protocols. This article reports the dose-response studies of the validation program; the coded single-dose studies are reported in an accompanying paper. In conclusion, both the intact, immature, and adult OVX versions, and all protocols appear to be reproducible and transferable across laboratories and are able to detect weak estrogen agonists.

**Key words:** endocrine disruption, estrogen, rat uterus

<sup>1</sup> Environment, Health and Safety Division, OECD, France

<sup>2</sup> National Institute of Environmental Health Sciences, USA

<sup>3</sup> Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK

<sup>4</sup> BASF, Germany

<sup>5</sup> Procter & Gamble, USA

Nagao, T.<sup>1</sup>, Wada, K.<sup>2</sup>, Kuwagata, M.<sup>2</sup>, Nakagomi, M.<sup>1</sup>, Watanabe, C.<sup>2</sup>, Yoshimura, S.<sup>2</sup>, Saito, Y.<sup>2</sup>, Usumi, K.<sup>2</sup> and Kanno, J. : **Intrauterine position and postnatal growth in Sprague-Dawley rats and ICR mice.**

*Reproductive Toxicology*, 18, 109-120(2004)

In rodents, steroid hormones are thought to be transported between adjacent fetuses, and male or female fetuses that develop in utero between female fetuses may have higher serum levels of estradiol, and lower serum levels of testosterone, relative to siblings of the same sex that develop between two male fetuses. The consequence in the variation of postnatal growth, development, and function in the intrauterine position, using various parameters such as anogenital distance, preputial separation and vaginal opening, estrous cycle, locomotor activity, and growth of reproductive organs, were examined in Sprague-Dawley rats. The results of this study suggested that the intrauterine position of the embryos/fetuses did not affect the postnatal growth of the reproductive organs, sexual maturation, or behavior in rats and mice.

**Key words:** Intrauterine position, Postnatal growth, Sexual maturation

<sup>1</sup> Faculty of Science and Technology, Kinki University

<sup>2</sup> Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

Fujiwara, M.<sup>1</sup>, Kaneko, T.<sup>2</sup>, Iwana, H.<sup>2</sup>, Takemoto, N.<sup>2</sup>, Tsunoo, H.<sup>2</sup>, Kanno, J., Ohkusa, T.<sup>3</sup> and Okayasu, I.<sup>4</sup> : **In-**

**hibitory effects of Bifidobacterium longum on experimental ulcerative colitis induced in mice by synthetic dextran sulfate sodium**

*Digestion*, 67,90-95 (2003)

The relationship between alterations in intestinal microflora and ulcerative colitis is still not clear. Whether improvement in bacterial populations might be a new strategy for prevention or treatment needs to be tested. Administration of *B. longum* significantly inhibited both shortening of total colon length and the severity of ulcerative colitis compared to controls. It was confirmed that the administered *B. longum* resided in the gut and blocked the decrease of lactobacilli in fecal samples in mice with dextran sulfate sodium-induced colitis. **CONCLUSIONS:** Oral administration of *B. longum* exerts marked inhibitory effects on ulcerative colitis in mice

**Key words:** Ulcerative colitis, Bifidobacterium longum, Intestinal flora

<sup>1</sup> 日本赤十字医療センター

<sup>2</sup> 明治乳業株式会社

<sup>3</sup> 順天堂大学医学部

<sup>4</sup> 北里大学医学部

小川幸男, 関田清司, 梅村隆, 斎藤実, 小野敦, 川崎靖, 内田雄幸, 松島裕子, 井上達, 菅野純 : **Wistar ラットによるギムネマ・シルベスタ葉抽出物の 52 週間混餌投与毒性試験**

*食衛誌*, 45, 8-18(2004)

雌雄の Wistar ラットに, 0.00, 0.01, 0.10 及び 1.00% の割合でギムネマ・シルベスタ葉の抽出粉末 (GS) を基礎飼料に添加した餌を 52 週間与えた. 試験期間中, GS 投与に関連する動物の死亡はなく, 体重, 摂餌量, 血液学, 血液生化学及び病理組織学的検査における変化は認められなかった. 52 週間の GS 1.00% 添加飼料 (1 日平均摂取量, 雄 504mg/kg/day, 雌 563mg/kg/day) の摂取量は, ラットにおいて毒性変化の認められない用量 (NOAEL) であると推論した.

**Keywords:** Gymnema Sylvestre leaf extract, 52-week toxicity study, health food

Aizawa, S.<sup>1</sup>, Kohdera, U.<sup>2</sup>, Hiramoto, M.<sup>1</sup>, Kawakami, Y.<sup>1</sup>, Aisaki, K., Kobayashi, Y.<sup>2</sup>, Miwa, S.<sup>3</sup>, Fujii, H.<sup>4</sup> and Kanno, H.<sup>4</sup> : **Ineffective erythropoiesis in the spleen of a patient with pyruvate kinase deficiency**

*Am. J. Hematol.*, 74, 68-72 (2003)

In this study, possible adverse effects of pyruvate kinase (PK) deficiency on the maturation of erythroid progenitors were investigated. A 4-year-old Japanese girl with severe PK deficiency underwent splenectomy to reduce her need for blood transfusions. The spleen was examined histologically, and the hematopoietic progenitors in the spleen were assayed to evaluate the extramedullary hematopoiesis of this PK-deficient subject. The number of hematopoietic progenitors including CFU-GM, BFU-E and CFU-GEMM in the spleen of the PK-deficient patient was much higher than those found in control spleens, indicating enhanced extramedullary hematopoiesis. TUNEL assay demonstrated apoptotic cells in the splenic red pulp of the PK-deficient patient. The expression of 7A6 antigen was detected in cells isolated from spleen and in

cells cultured in vitro, but only in those cells that were positive for glycophorin A. These results provide evidence that the metabolic disturbances in PK deficiency affect not only the survival of red cells but also the maturation of erythroid progenitors, which results in premature cell death, i.e., apoptosis.

**Keywords :** glycolysis, apoptosis, erythropoiesis

<sup>1</sup> Department of Anatomy, Nihon University School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Pediatrics, Kansai Medical University

<sup>3</sup> Okinaka Memorial Institute for Medical Research

<sup>4</sup> Department of Transfusion Medicine and Cell Processing, Tokyo Women's Medical University

Yoon, B.I., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Tsuboi, I., Ott, T.<sup>1</sup>, Kodama, Y., Kanno, J., Kim, D.Y.<sup>2</sup>, Willecke, K.<sup>1</sup>, Inoue, T. : **Exacerbation of benzene pneumotoxicity in connexin 32 knockout mice: enhanced proliferation of CYP2E1-immunoreactive alveolar epithelial cells.**

*Toxicology*, **195**, 19-29(2004)

The pulmonary pathogenesis triggered by benzene exposure was studied. Since the role of the connexin 32 (Cx32) gap junction protein in mouse pulmonary pathogenesis has been suggested, in the present study, we explored a possible role of Cx32 in benzene-induced pulmonary pathogenesis using the wild-type (WT) and Cx32 knockout (KO) mice. The mice were exposed to 300ppm benzene by inhalation for 6h per day, 5 days per week for a total of 26 weeks, and then sacrificed to evaluate the pneumotoxicity or allowed to live out their life span to evaluate the reversibility of the lesions and tumor incidence. Our results clearly revealed exacerbated pneumotoxicity in the benzene-exposed Cx32 KO mice, characterized by diffuse granulomatous interstitial pneumonia, markedly increased mucin secretion of bronchial/bronchiolar and alveolar epithelial cells, and hyperplastic alveolar epithelial cells positive for CYP2E1. But the results did not indicate any enhancement of pulmonary tumorigenesis in the Cx32 KO mice though the number of animals was small.

**Keywords:** benzene, Cx32 knockout mice, pneumotoxicity

<sup>1</sup> Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität

<sup>2</sup> Seoul National University

Tanaka, M. <sup>1</sup>, Hirabayashi, Y., Sekiguchi, T. <sup>1</sup>, Inoue, T., Katsuki, M. <sup>2</sup>, Miyajima, A.<sup>1</sup>: **Targeted disruption of oncostatin M receptor results in altered hematopoiesis.**

*Blood*, **102**, 3154-62(2003)

Oncostatin M (OSM) is a multifunctional cytokine that belongs to the interleukin 6 (IL-6) family. As OSM is expressed in adult as well as embryonic hematopoietic tissues, OSM has been considered to play a role in hematopoiesis. To uncover roles of OSM, we have generated mutant mice deficient in the OSM-specific receptor beta subunit (OSMR). While OSMR<sup>-/-</sup> mice were healthy and fertile, hematologic analysis of OSMR<sup>-/-</sup> mice demonstrated that the numbers of peripheral erythrocytes and platelets were reduced compared with wild-type mice. Consistent with this, progenitors of erythroid and megakaryocyte lineages were reduced in OSMR<sup>-/-</sup> bone marrow (BM), suggesting that OSM is required for the maintenance of erythroid and megakaryocyte progenitor pools in BM. To investigate whether OSM acts on the hematopoi-

etic progenitors directly or indirectly, we performed BM transplantation experiments. The OSMR<sup>-/-</sup> mice, engrafted with wild-type BM cells, failed to produce erythrocytic and megakaryocytic progenitors to the levels in wild-type mice, indicating that OSM affects hematopoietic microenvironments. On the other hand, erythrocytic and megakaryocytic progenitors were reduced in the wild-type mice reconstituted with OSMR<sup>-/-</sup> BM cells. Thus, OSM regulates hematopoiesis in vivo by stimulating stromal cells as well as hematopoietic progenitors, in particular megakaryocytic and erythrocytic progenitors.

**Keywords:** oncostatin M (OSM), hemopoiesis, OSM receptor knockout mouse

<sup>1</sup> Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo

<sup>2</sup> National Institute for Basic Biology, Okazaki National Research Institute

Yoon, B.I., Li, G.X., Kitada, K. <sup>1</sup>, Kawasaki, Y., Igarashi, K., Kodama, Y., Inoue, T. <sup>1</sup>, Kobayashi, K., Kanno, J., Kim, D.Y. <sup>2</sup>, Inoue, T., Hirabayashi, Y. : **Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue.**

*Environ Health Perspect*, **111**, 1411-20, 2003.

Although the mechanisms underlying benzene-induced toxicity and leukemogenicity are not yet fully understood, they are likely to be complicated by various pathways, including those of metabolism, growth factor regulation, oxidative stress, DNA damage, cell cycle regulation, and programmed cell death. With this as a background, we performed cDNA microarray analyses on mouse bone marrow tissue during and after a 2-week benzene exposure by inhalation. Our goal was to clarify the mechanisms underlying the hematotoxicity and leukemogenicity induced by benzene at the level of altered multigene expression. Because a few researchers have postulated that the cell cycle regulation mediated by p53 is a critical event for benzene-induced hematotoxicity, the present study was carried out using p53-knockout (KO) mice and C57BL/6 mice. On the basis of the results of large-scale gene expression studies, we conclude the following: (a) Benzene induces DNA damage in cells at any phase of the cell cycle through myeloperoxidase and in the redox cycle, resulting in p53 expression through Raf-1 and cyclin D-interacting myb-like protein 1. (b) For G1/S cell cycle arrest, the p53-mediated pathway through p21 is involved, as well as the pRb gene-mediated pathway. (c) Alteration of cyclin G1 and Wee-1 kinase genes may be related to the G2/M arrest induced by benzene exposure. (d) DNA repair genes such as Rad50 and Rad51 are markedly downregulated in p53-KO mice. (e) p53-mediated caspase 11 activation, aside from p53-mediated Bax gene induction, may be an important pathway for cellular apoptosis after benzene exposure. Our results strongly suggest that the dysfunction of the p53 gene, possibly caused by strong and repeated genetic and epigenetic effects of benzene on candidate leukemia cells, may induce fatal problems such as those of cell cycle checkpoint, apoptosis, and the DNA repair system, finally resulting in hemopoietic malignancies. Our cDNA microarray data provide valuable information for future investigations of the mechanisms underlying the

toxicity and leukemogenicity of benzene.

**Key words:** apoptosis, benzene, cDNA microarray, hematotoxicity.

<sup>\*1</sup> Chugai Pharmaceutical, Co., Ltd.,

<sup>\*2</sup> Seoul National University

Y. Hirabayashi, K. Yoshida<sup>\*1</sup>, S. Aizawa<sup>\*2</sup>, Y. Kodama, J. Kanno, Y. Kurokawa, I. Yoshimura<sup>\*3</sup> and T. Inoue: **Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice.**

*Toxicol Appl Pharmacol*, **190**, 251-61, 2003.

The classic controversy of whether genotoxic chemicals induce cancers with or without a certain low-dose limit, i.e., the threshold, is revisited because of a number of current publications available addressing the plausibility of "practical" thresholds even for genotoxic carcinogens, the mechanism of which may be hypothesized to be due, in part, to a repair system composed of ordinarily available various defense mechanisms under the steady-state DNA damage. The question of whether an absolute nonthreshold or a relative nonthreshold, i.e., a "practical" threshold specifically in the low-dose level, is present may not be answered even with the use of a prohibitively large number of wild-type mice. Could the excessive incidence of tumorigenesis in p53-deficient mice contribute to our understanding of the threshold vs nonthreshold issue in genotoxic carcinogenesis? This is considered because an exaggeration of tumorigenesis in p53-deficient mice is hypothesized to reduce or eliminate the range of threshold due to the p53-deficiency-mediated reduction of DNA repair and apoptosis. The present study of chemical leukemogenesis in p53-deficient mice by transplantation assay was designed to answer this question. Briefly, 218 C3H/He mice were lethally irradiated and repopulated with bone marrow cells from wild-type, heterozygous p53-deficient, and homozygous p53-deficient C3H/He mice. This was followed by treatment with a single and graded dose of methyl nitrosourea at 6.6, 14.8, 33.3, 50.0, and 75.0 mg/kg body wt, with the vehicle-treated control groups treated with zero dose for each genotype. Whereas mice repopulated with p53-deficient bone marrow cells showed a marked reduction of the threshold for leukemogenicity, mice repopulated with wild-type bone marrow cells did not exhibit leukemia at a dose of 33.3 mg/kg body wt and showed a curve with a high probability for the linear regression model with a positive dose intercept, predicting a threshold by the likelihood ratio test. Thus, the failure of wild-type mice to show an increase in incidence of leukemogenesis at low doses of genotoxic carcinogens may be due not to a statistical rarity, but to various p53-related pharmacophysiological functions, possibly including DNA repair and apoptosis that may account for a threshold.

**Keywords:** threshold and nonthreshold, genotoxic carcinogenesis, p53 knockout mice

<sup>\*1</sup> National Institute of Radiological Science

<sup>\*2</sup> RIKEN Center for Developmental Biology

<sup>\*3</sup> Tokyo University of Science, Tokyo

Takahashi, Y., Inoue, T., Gossler, A.<sup>\*1</sup> and Saga, Y. <sup>\*2</sup>: **Feedback loops comprising Dll1, Dll3 and Mesp2, and differential involvement of Psen1 are essential for rostrocaudal pat-**

**terning of somites.**

*Development*, **130**, 4259-4268 (2003)

We have analyzed genetic interactions among Dll1, Dll3, Mesp2 and Psen1, and elucidated the roles of Dll1- and Dll3-Notch pathways, with or without Psen1, in rostro-caudal patterning. We find that the positive and negative feedback loops composed of Dll1 and Mesp2 appear to be critical for the patterning, and Dll3 may be required for the coordination of the Dll1-Mesp2 loop. Our epistatic analysis revealed that Mesp2 affects the rostro-caudal property more directly than Dll1 or Dll3. Finally we find that Psen1 is differently involved in regulation of rostral and caudal genes. Psen1 is required for Dll1-Notch signaling for activation of Dll1, while the Psen1-independent Dll3-Notch pathway may counteract the Psen1-dependent Dll1-Notch pathway. These observations suggest that Dll1 and Dll3 have non-redundant, even counteracting functions.

**Keywords:** Mesp2, Notch signaling, somitogenesis

<sup>\*1</sup> Institut für Molekularbiologie, Hannover, Germany

<sup>\*2</sup> 国立遺伝学研究所

Asano, K.<sup>\*</sup>, Ono, A., Hashimoto, S.<sup>\*</sup>, Inoue, T., Kanno, J. : **Screening of endocrine disrupting chemicals using a surface plasmon resonance sensor**

*Anal Sci.*, **20**, 611-6 (2004)

Because concern over endocrine disrupting reactions caused by chemicals to humans and animals is growing, a rapid and reliable screening assay for endocrine disrupting chemicals is required. We have developed an in vitro screening assay based on a hormone receptor mechanism using a surface plasmon resonance (SPR) sensor. The interaction between an estrogen receptor alpha (ER) and an estrogen response element (ERE) is monitored in real time, when ER is injected over the SPR sensor chip on which a DNA fragment containing ERE is immobilized. In the presence of a chemical with estrogenic activity, the ER-ERE interaction is enhanced and the kinetic parameters are altered. We have validated the assay in terms of its specificity, dose dependency, optimal reaction conditions and reproducibility. It has been shown that the assay is very reliable as a rapid and quantitative screening method to judge the estrogenic activities of chemicals.

**Keywords:** bio-sensor, surface plasmon resonance, endocrine disruptor

<sup>\*</sup> New Business Development, Biacore K.K.

Tashiro, K.<sup>\*1</sup>, Nagao, T., Kurose, H.<sup>\*2</sup>, Ichijo, H.<sup>\*1</sup> and Urushidani, T. : **Role of Rho in rabbit parietal cell**

*Journal of Cellular Physiology*, **197**, 409-417 (2003)

Rho is known as an important regulator of actin microfilament formation. We were led to study it because a dynamic rearrangement of actin filaments occurs during activation of gastric acid secretion. In order to use specific probes, the rabbit gastric gland culture system was employed and the various genes were expressed using adenovirus vector. When the constitutive active mutant of Rho (RhoAV14) was expressed, histamine- or carbachol-stimulated acid secretion monitored by <sup>14</sup>Caminopyrine accumulation was inhibited. Conversely, expression of C3 toxin, the specific inhibitor of Rho, and expression of G12/13-specific regulator of

G-protein signaling domain, the specific inhibitor of G12/13 which is considered to be an upstream mediator of Rho, both potentiated acid secretion stimulated by the agonists. F-actin staining of parietal cell expressing RhoAV14 revealed that the microfilament supporting the intracellular canaliculi (not on the basolateral membrane) almost disappeared. No clear changes in the intracellular localization of Rho were observed during stimulation of parietal cell. In resting glands, the endogenous active form of Rho was relatively high, and it decreased during histamine stimulation. The finding that any treatment which inhibit Rho augment acid secretion whereas those that activate Rho inhibit secretion strongly suggests that the Rho-pathway conducts a negatively regulating signal in parietal cell activation, possibly via site-specific regulation of actin microfilaments.

Keywords: Rho, actin, cytoskeleton

<sup>1</sup> Graduate School of Pharmaceutical Science, The University of Tokyo,

<sup>2</sup> Graduate School of Pharmaceutical Science, Kyushu University.

Matsukawa, J.<sup>1</sup>, Nakayama, K.<sup>2</sup>, Nagao, T., Ichijo, H.<sup>1</sup> and Urushidani, T. : **Role of ADP-ribosylation factor 6 in gastric acid secretion**

*Journal of Biological Chemistry*, 278, 36470-36475 (2003)

ADP-ribosylation factor (ARF) proteins are monomeric GTPases that are essential for membrane transport and exocytosis in a number of secretory cells. We investigated ARF6, the activation of which is insensitive to brefeldin A, to determine whether it regulates membrane traffic in gastric parietal cells. ARF6 translocated from cytosol to tubulovesicle in the presence of GTP  $\gamma$  S, a potential inhibitor of acid secretion in permeabilized cells, whereas under the Mg<sup>2+</sup>-chelated condition where activity of ARF-GTPase activating protein is inhibited, ARF6 translocated to the apical secretory membrane. Immunohistochemical examination revealed that ARF6 mainly located in parietal cell within the gastric glands, and it translocated from the cytosol to the intracellular canaliculi when the glands were stimulated. These results indicated that the distribution of ARF6 between cytosol and the two different membranes was regulated by its GTPase activity. In cultured gastric glands infected with adenovirus expressing ARF6 Q67L, a mutant lacking GTP hydrolysis activity, gastric acid secretion was inhibited. These results suggest that ARF6 regulates gastric acid secretion in parietal cell and that the GTP hydrolysis cycle of ARF6 is essential for the activation pathway.

Keywords: ADP-ribosylation factor 6, acid secretion, parietal cell, adenovirus,

<sup>1</sup> Graduate School of Pharmaceutical Science, The University of Tokyo

<sup>2</sup> Graduate School of Pharmaceutical Science, Kanazawa University

大野泰雄：化粧品安全性とその試験法 - 代替法を含めてその現状と将来 -

皮膚と美容 35, 2-8 (2003)

規制緩和の一環として2000年の厚生省医薬安全局長通知により多くの化粧品の安全性評価における責任が企業にゆだねられた。一方、動物を用いた安全性試験については、動物愛護の立場からの配慮が強く求められている。ECVAM,

ICCVAM, OECD では Russel and Burtch (1959)の提唱した3Rを推進するために急性毒性試験法の改善や皮膚腐食性試験、光毒性試験、皮膚吸収性試験代替法の導入が進んでいる。一方、EUでは化粧品の安全性評価のための安全性試験について反復投与毒性試験、生殖毒性試験、及び薬物動態試験を除き、2009年までに全面禁止することが決まった。  
Keywords: 化粧品、安全性試験法、動物実験代替法

Baba T.<sup>1</sup>, Touchi A.<sup>1</sup>, Ito K.<sup>2</sup>, Yamaguchi Y.<sup>1</sup>, Yamazoe Y.<sup>3</sup>, Ohno Y, Sugiyama Y.<sup>4</sup>: **Effects of serum albumin and liver cytosol on CYP2C9- and CYP3A4-mediated drug metabolism.** *Drug Metabol. Pharmacokin.* 17, 522-531 (2003)

After addition of rat liver cytosol, the unbound Km values (Km,u) for terfenadine metabolism by CYP3A4, and the unbound Ki value of miconazole (Ki,u) for CYP2C9 were smaller than for the controls. Addition of HSA resulted in smaller Km,u values for diclofenac and terfenadine metabolism by CYP2C9 and CYP3A4, respectively, and the Ki,u value for ketoconazole inhibition of CYP3A4 was also reduced. These results suggest protein-facilitated effects on drug metabolism and enzyme inhibition for both CYP2C9 and CYP3A4. However, no protein-facilitated drug metabolism was observed for tolbutamide in the presence of HSA or cytosol, or for diclofenac in the presence of cytosol. Protein-facilitated enzyme inhibition did not occur with miconazole in the presence of HSA or with ketoconazole in the presence of rat liver cytosol.

Protein-facilitated metabolism and enzyme inhibition were observed for CYP2C9 and CYP3A4 in five cases but there was no obvious pattern of enzyme, substrate, or binding protein specificity. Further investigations are necessary to clarify the relevance of these results to in vivo observations.

Keywords: Cytochrome P450, enzymology, serum, Protein binding

<sup>1</sup> 塩野義製薬

<sup>2</sup> 北里大学

<sup>3</sup> 東北大学

<sup>4</sup> 東京大学

Niwa, T.\*, Shiraga, T.\*, Yamasaki S.\*, Ishibashi K.\*, Ohno Y., Kagayama A.\*: **In vitro activation of 7-benzoyloxyresorufin O-debenzylation and nifedipine oxidation in human liver microsomes.**

*Xenobiotica* 33, 717-729 (2003)

7-Benzoyloxyresorufin O-debenzylase activity in human liver microsomes was inhibited by a monoclonal antibody against CYP2B6 and a polyclonal antibody against CYP3A2 by 53-69 and 19-44%, respectively, suggesting that CYP2B6 and CYP3A4 mainly catalyze 7-benzoyloxyresorufin O-debenzylation in human liver microsomes. 7-Benzoyloxyresorufin O-debenzylase activity at 0.2-5  $\mu$  M substrate concentrations in human liver microsomes was increased by the addition of alpha-naphthoflavone, quinidine, testosterone and progesterone, and the Vmax of 7-benzoyloxyresorufin O-debenzylation increased with increasing alpha-naphthoflavone concentrations, whereas the Km remained constant. Additionally 7-benzoyloxyresorufin O-debenzylation by recombinant CYP3A4 was increased by the addition of a-naphthoflavone, testosterone

and progesterone but not by quinidine, whereas no chemicals tested could activate the o-debenzylation of 7-benzyloxyresorufin by CYP2B6. The  $K_m$  for nifedipine oxidation activity by CYP3A4 decreased by the addition of progesterone, whereas the  $V_{max}$  remained constant. Quinidine and testosterone increased 7-benzyloxyresorufin O-debenzylase and nifedipine oxidase activities, respectively, in human liver microsomes, whereas activation was not observed in CYP3A4. The results suggest that in vitro activation patterns are substrate dependent and that selection of the enzyme source can influence the activation phenomenon.

Keywords: human liver microsome, CYP2B6, CYP3A4

\* 藤沢薬品

Koizumi, K., Fujishita, K., Tsuda, M., Shigemoto-Mogami, Y., and Inoue, K. : **Dynamic inhibition of excitatory synaptic transmission by astrocyte-derived ATP in hippocampal cultures.**

*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, **100**, 11023-11028 (2003)

Originally ascribed passive roles in the CNS, astrocytes are now known to have an active role in the regulation of synaptic transmission. Neuronal activity can evoke  $Ca^{2+}$  transients in astrocytes and  $Ca^{2+}$  transients in astrocytes can evoke changes in neuronal activity. The excitatory neurotransmitter glutamate has been shown to mediate such bi-directional communication between astrocytes and neurons. We demonstrate here that ATP, a primary mediator of intercellular  $Ca^{2+}$  signaling among astrocytes, also mediates intercellular signaling between astrocytes and neurons in hippocampal cultures. Mechanical stimulation of astrocytes evoked  $Ca^{2+}$  waves mediated by the release of ATP and activation of P2 receptors. Mechanically evoked  $Ca^{2+}$  waves led to decreased excitatory glutamatergic synaptic transmission in an ATP-dependent manner. Exogenous application of ATP does not affect post-synaptic glutamatergic responses but decreased pre-synaptic exocytotic events. Finally, we show that astrocytes exhibit spontaneous  $Ca^{2+}$  oscillations mediated by extracellular ATP and that inhibition of these  $Ca^{2+}$  responses enhanced excitatory glutamatergic transmission. We therefore conclude that ATP released from astrocytes exerts tonic and activity-dependent down-regulation of synaptic transmission via pre-synaptic mechanisms.

Keywords: ATP, hippocampus, neuron-to-astrocyte communication

Koizumi, S., Fujishita, K., Inoue, K.\* Shigemoto-Mogami, Y., Tsuda, M., and Inoue, K. :  **$Ca^{2+}$  waves in keratinocytes are transmitted to sensory neurons; involvement of extracellular ATP and activation of P2Y2 receptors.**

*Biochem. J.* **380**, 329-338 (2004)

ATP acts as an intercellular messenger in a variety of cells. Here we characterized the  $Ca^{2+}$  wave propagation mediated by extracellular ATP in cultured normal human epidermal keratinocytes (NHEKs) also co-cultured with mouse dorsal root ganglion (DRG) neurons. Pharmacological characterization showed that NHEKs express functional metabotropic P2Y2 receptors. When a cell was gently stimulated with a glass pipette, an increase in the intracellular  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) was observed, followed by propagating  $Ca^{2+}$  waves in neighboring cells in an extracellular ATP-dependent fashion. Using an ATP-imaging technique, the release

and diffusion of ATP in NHEKs were confirmed. DRG neurons are known to terminate in the basal layer of keratinocytes. In the co-culture of NHEKs and DRG neurons, mechanical stimulation-evoked  $Ca^{2+}$  waves in NHEKs evoked a  $[Ca^{2+}]_i$  elevation in adjacent DRG neurons, which was also dependent on extracellular ATP and the activation of P2Y2 receptors. Taken together, extracellular ATP is a dominant messenger that forms intercellular  $Ca^{2+}$  waves in NHEKs. In addition,  $Ca^{2+}$  waves in NHEKs could produce a  $[Ca^{2+}]_i$  elevation in DRG neurons, suggesting dynamic cross talk between skin and sensory neurons mediated by extracellular ATP.

Keywords: ATP, P2Y2 receptors, skin-sensory interaction

\* 資生堂リサーチセンター

小泉修一、井上和秀: グリア細胞によるシナプス伝達制御  
日本薬理学雑誌, **123**, 389-396 (2004)

ニューロンの物理的支持細胞と考えられていたこの糊 (glue) 様細胞であるグリア細胞が、実はニューロンの活動をダイナミックに制御しているとして最近注目を集めている。特に、グリア細胞で最大数を占めるアストロサイトは、ニューロンに寄り添い、シナプスを覆うように存在していること、ほとんどすべての神経伝達物質受容体を発現していること、ニューロン活動にตอบสนองして液性因子放出能を有すること、などから第三のシナプスとして注目されており、ニューロン-アストロサイトの協力によって所謂シナプス伝達が成り立っている可能性が示唆されている。本稿は、特にアストロサイト間の情報伝達 "gliotransmission" が、アストロサイトが放出する液性因子 "ATP" によって行われていること、また刺激依存的に放出されたアストロサイト由来 ATP が、海馬ニューロンの興奮伝達を抑制的に制御していることを示す。さらに、アストロサイトは自発的 ATP 放出能を有し、これにより自発的 gliotransmission、さらに恒常的に海馬ニューロンを抑制している。このように、脳のダイナミックな情報伝達・発信機能は、従来考えられていたようなニューロンの活動だけに起因するものではなく、アストロサイトの積極的な制御及び加工を受けている可能性が高い。脳機能は、グリア-ニューロン連関の総合的な機能としてとらえる必要がある。

Keywords: ATP, astrocytes, グリア - ニューロン連関

小泉 修一 : アストロサイトによるダイナミックなシナプス伝達制御 - 細胞外 ATP の関与 -  
神経化学, **42**, 428-442 (2003)

これまで脳研究は "ニューロン" を中心に展開されてきた。もちろん脳のダイナミックな情報処理・発信機能を直接的に担っているのはニューロンであり、その複雑なニューロン回路網が多様な脳機能と直接的にリンクしていることは疑いようが無いが、脳には他に多くの非ニューロン細胞、例えば神経膠細胞 (グリア細胞)、上皮細胞、結合組織細胞などが存在している。これらニューロン以外の細胞が脳内に豊富に存在するという事実は、19世紀末にニューロン説を唱えた Cajal の時代からすでによく知られた事実でもある。このうちグリア細胞は、分化、再生及び修復などのキーワードと共に最近特に注目されている細胞であるが、ごく最近までニューロンの物理的支持、栄養因子放出や老廃物除去など、ニューロン活動を支える裏方とし

て働いていると考えられるに過ぎなかった。ましてや脳機能のダイナミズムにグリア細胞が積極的に関与するとは想像すらできなかった。しかし、ごく最近、このグリア細胞がなんとシナプス伝達そのものを制御し得るとして注目を集めているのである<sup>1)</sup>。ヒト脳には、ニューロンの約10倍にもおよぶ多数のグリア細胞が存在する。中でも数的優位を呈するアストロサイトは、ニューロンに寄り添い、ほとんどのシナプスを取り巻くように存在し、各種神経伝達物質に即時的に反応し、しかも活動依存的にグルタミン酸及びATPなどの液性伝達物質を放出する“信号発信機能”を有する。これらの事実は、グリア細胞-ニューロン間の積極的なコミュニケーションが脳機能のダイナミズムに重要である可能性を強く示唆するものである。

一方、ATPは“エネルギーの通貨”としてあまねく細胞内に存在するが、多くの組織で細胞外情報伝達物質として働く。1993年に最初の形質膜上のATP受容体(P2受容体)cDNAがクローニングされ、現在ではチャンネル型P2X受容体7種類(P2X1-7)、代謝型P2Y受容体8種類(P2Y1, 2, 4, 6, 11-14)が知られ、脳をはじめほとんどの組織でその発現が確認されている。著者らは、神経系における神経伝達物質ATPの機能を研究してきたが、ごく最近になって、ATPがニューロンからグリア細胞へも情報を伝達すること、各種グリア細胞の多彩な機能を制御すること、さらにグリア細胞間情報伝達をも担っていることに気づき、“神経伝達物質ATP”はグリア細胞間及びニューロン-グリア細胞間の連絡を司る重要な分子である、との考えに至った。特にアストロサイトは極めて低濃度のATPに反応し、刺激依存的にATPを放出する。これらの知見は、ATPがアストロサイトからシナプスへ即時的に情報を伝えている可能性、つまり『アストロサイトがATPを介してシナプス伝達を制御している』との作業仮説を提起させるものである。本稿では、ATPを切り口として、アストロサイト-ニューロン間コミュニケーションの生理学的及び薬理的性質を示し、“静なる巨人”グリア細胞のシナプス伝達における動的な側面及びその重要性を報告した。

Keywords: ATP, gliotransmission, tripartite synapse

小泉 修一：神経系におけるグリア細胞の新しい役割  
ファルマシア、39、1053-1056(2003)

19世紀末、Cajalは「ニューロンは互いに融合して網状構造を作り情報の交換を行う」というそれまでの網状説を覆し、「ニューロンは脳の情報伝達を担う独立した単位である」というニューロン説を提唱した。現在の神経科学はこの作業仮説を礎に発展してきたと言っても過言ではない。ニューロン間の情報連絡は、軸索がニューロン内に起こるインパルスとその終末部に送り、Sherringtonが“シナプス”と命名したニューロンの継ぎ目で化学伝達物質の情報に変換され、次の樹状突起・細胞体に情報を伝えることにより完結する。個々のニューロンのシナプス伝達は複雑な脳機能の素過程と考えられることから、以後100年余の脳研究の歴史はニューロン研究の歴史であったと言える。一方Cajalの時代から、脳には種々の神経膠細胞(グリア細胞)、上衣細胞、結合組織細胞など、ニューロン以外の細胞が存在することが知られていた。グリア細胞はニューロンの物理的支持、栄養因子放出や老廃物除去など、脳のダイナミックな機能を支える裏方として働いていると考えられていたが、

最近このグリア細胞がシナプス伝達そのものに積極的に関与しているとして注目を集めている。本稿では、この新しいグリア細胞の役割“シナプス-グリア細胞連関”について、特にアストロサイト及び両細胞間を繋ぐ液性因子“アデノシン三リン酸(ATP)”に注目して述べた。

Keywords: ATP, astrocytes, glia-to-synapse

Sato, K., Matsuki, N., Ohno, Y., Nakazawa, K.: Estrogens inhibit L-glutamate uptake activity of astrocytes via membrane estrogen receptor  $\alpha$

*J. Neurochem.*, **86**, 1498-1505 (2003)

We investigated the effects of estrogen-related compounds including xenoestrogens (17( $\alpha$ )-estradiol (E2), 17( $\alpha$ )-ethynylestradiol (EE), diethylstilbestrol (DES), *p*-nonylphenol (PNP), bisphenol A (BPA) and 17( $\alpha$ )-estradiol (17 $\alpha$ )) on L-glu uptake by cultured astrocytes via glutamate-aspartate transporter (GLAST). After 24 hr treatment, E2 inhibited the L-glu uptake at 1  $\mu$ M and higher concentrations. EE and DES also inhibited the L-glu uptake at 1 nM and higher concentrations. The other four compounds had no effect. The effects of E2, EE and DES were completely blocked by 10 nM of ICI182,780 (ICI).  $\beta$ -Estradiol 17-hemisuccinate: bovine serum albumin (E2-BSA), a membrane-impermeable conjugate of E2, also elicited the inhibition of L-glu uptake at 1 nM and higher concentrations, and the effect was blocked by ICI. 16 $\alpha$ -Iodo-17 $\beta$ -estradiol (16 $\alpha$ IE2), an estrogen receptor  $\alpha$  (ER  $\alpha$ ) selective ligand, revealed an inhibitory effect at 10 nM, while genistein, an ER  $\beta$  selective ligand, failed to reveal such an effect at this concentration. Western blot analysis showed that the predominant ER of cultured astrocytes was ER  $\alpha$ . The co-localization of ER  $\alpha$  with GLAST on plasma membranes was immunohistochemically detected in these cells. From these results, we concluded that estrogens down-regulate L-glu uptake activity of astrocytes via membrane ER  $\alpha$ .

Keywords: astrocyte, L-glutamate transporter, estrogen

\* 東京大学薬学部

Nakazawa, K., Ojima, H., Ishii-Nozawa, R., Takeuchi, K., Ohno, Y.: Intracellular disulfide bond that affects ATP responsiveness of P2X2 receptor/channel

*Eur. J. Pharmacol.*, **474**, 205-208 (2003)

The role of intracellular cysteine residues in P2X2 receptor/channel was investigated. When dithiothreitol was intracellularly applied, both the maximal response and the sensitivity of the wild type channel to ATP were decreased. On the other hand, Cu phenanthroline did not affect the responsiveness. When two intracellular cysteine residues (Cys9 and Cys430) were replaced with alanine, both the maximal response and the sensitivity was decreased with the replacement at Cys9 whereas no such decrease was observed with the replacement at Cys430. These results suggest that an intracellular disulfide bond involving Cys9 regulates the responsiveness of P2X2 receptor/channel to ATP.

Keywords: P2X receptor, site-directed mutagenesis, cysteine

\* 明治薬科大学薬学部

Nakazawa, K., Ohno, Y.: Block by phytoestrogens of recombinant human neuronal nicotinic receptors.

*J. Pharmacol. Sci.*, **93**, 118-121 (2003)

The effects of phytoestrogens on neuronal nicotinic acetylcholine receptor/channels were examined by expressing recombinant channels in *Xenopus* oocytes. When functional channels were expressed with human  $\alpha 4$  and  $\beta 2$  subunits, daidzein (10 and 100  $\mu$  M) partially inhibited an ionic current activated by acetylcholine. The current inhibition was also observed when functional channels were expressed with human  $\alpha 3$  and  $\beta 4$  subunits or rat homologues. Genistin (100  $\mu$  M) also inhibited the acetylcholine-activated current. Tamoxifen (100  $\mu$  M), an antiestrogen did not antagonize the inhibition by daidzein. The results suggest that phytoestrogens, like estrogens and xenoestrogens, block human neuronal acetylcholine receptors through non-genomic mechanisms.

Keywords: human nicotinic receptor, phytoestrogen, non-genomic actions

Murayama, N., Soyama, A., Saito, Y., Nakajima, Y., Komamura, K.<sup>1</sup>, Ueno, K.<sup>1</sup>, Kamakura, S.<sup>1</sup>, Kitakaze, M.<sup>1</sup>, Kimura, H.<sup>2</sup>, Goto, Y.<sup>2</sup>, Saitoh, O.<sup>2</sup>, Katoh, M.<sup>2</sup>, Ohnuma, T.<sup>2</sup>, Kawai, M.<sup>2</sup>, Sugai, K.<sup>2</sup>, Ohtsuki, T.<sup>2</sup>, Suzuki, C.<sup>2</sup>, Minami, N.<sup>2</sup>, Ozawa S., Sawada, J.: Six novel non-synonymous *CYP1A2* gene polymorphisms: **catalytic activities of the naturally occurring variant enzymes.**

*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **308**, 300-306 (2004)

Six novel non-synonymous nucleotide alterations were found in the cytochrome *P450 (CYP) 1A2* gene in a Japanese population, which resulted in the following amino acid substitutions: T83M, E168Q, F186L, S212C, G299S, and T438I. These individuals were heterozygous for the amino acid substitutions. The potential functional alterations caused by the amino acid substitutions were characterized by a cDNA-mediated expression system utilizing Chinese hamster V79 cells. Among the six *CYP1A2* variants, F186L showed the most profound and statistically significant reduction in *O*-deethylation of phenacetin and 7-ethoxyresorufin and melatonin 6-hydroxylation. Kinetic analyses performed for the ethoxyresorufin *O*-deethylation revealed that the  $V_{max}$  of the F186L variant was approximately 5% of that of the *CYP1A2* wild-type, in spite of a 5-fold lower  $K_m$  value of the variant, the consequence of which was reduced enzymatic activity toward the substrate. Thus, for the first time, phenylalanine at residue 186 is suggested to be a critical amino acid for catalytic activity.

Keywords: *CYP1A2* gene, nonsynonymous single nucleotide polymorphism, Japanese

\*1 国立循環器病センター

\*2 国立精神神経センター

Toda, K., Ishida, S., Nakata, K., Matsuda, R., Shigemoto-Mogami, Y., Ozawa, S., Sawada, J., Ohno, Y., Inoue, K., Shudo, K., Hayashi, Y.: **Improvement in reliability of probabilistic test of significant differences in GeneChip experiments**  
*Anal. Sci.*, **20**, 731-733 (2004)

A probabilistic test (FUMI theory) for GeneChip experiments has been proposed for selecting the genes which show significant differences in the gene expression levels between a single pair of treatment and control. This paper describes that the reliability of

the judgment by the FUMI theory can be enhanced, when the selected genes are referred to biomolecular-functional networks of a commercial database. The genes judged as being differently expressed are grouped into a cluster in the biomolecular networks. It is also demonstrated that false positive genes have a trend in the networks to be isolated from each other, and also away from the clustered genes, since the false positive genes are randomly selected.

Keywords: FUMI theory, GeneChip experiment, biomolecular-functional network

Toda, K., Ishida, S., Nakata, K., Matsuda, R., Shigemoto-Mogami, Y., Fujishita, K., Ozawa, S., Sawada, J., Inoue, K., Shudo, K., Hayashi, Y.: **Test of significant differences with a priori probability in microarray experiments**  
*Anal. Sci.*, **19**, 1529-1535 (2003)

A traditional method for comparing two expression levels of genes in microarray experiments is the two-sample t-test. Because of the difficulty in using a large number of microarrays, an alternative method is required which can provide a reliable judgment of the comparison from a small number of replicates, even from a single pair of control and treatment. We present a method for detecting the changes in the gene expression levels under two different conditions in microarray experiments. Our method targets a single experiment for each condition, while retaining the statistical advantages of the t-test. The new proposals are: 1) standard deviation (SD) estimates of the expression levels which are an indicator for significant differences are given a priori as a function of the expression levels; 2) the limit of detection (LOD) for the expression levels is used to eliminate the majority of genes expressed at extremely low levels. The *a priori* SD estimates are obtained from six replicates under a fixed condition and are shown to be the approximate, but proper description of the expression uncertainty covering diverse conditions (e.g., different samples (human and rat) and different DNA chips). The LOD is defined as three times blank SD according to the IUPAC recommendation. A cell line (HL60) which will undergo macrophage differentiation on treatment with 12-*O*-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA) is taken as an example. Our method is compared with the t-test for the data on duplicate TPA experiments and the former alone is evaluated with the data on a single TPA experiment. The errors from sample preparation and instrumental analysis are discussed.

Keywords: *a priori* probability test, microarray experiment

Kim, S.-R., Nakamura, T., Saito, Y., Sai, K., Nakajima, T.<sup>1</sup>, Saito, H.<sup>1</sup>, Shirao, K.<sup>2</sup>, Minami, H.<sup>2</sup>, Ohtsu, A.<sup>2</sup>, Yoshida, T.<sup>2</sup>, Saijo, N.<sup>2</sup>, Ozawa, S., Sawada, J.: **Twelve novel single nucleotide polymorphisms in the *CES2* gene encoding human carboxylesterase 2 (hCE-2)**

*Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18**, 327-332 (2003)

Twelve novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found in the *CES2* gene from 153 Japanese individuals, who were administered irinotecan or steroidal drugs. Among the detected SNPs, a SNP (100C>T) resulted in an amino acid alteration (R34W). Furthermore, another SNP (IVS8-2A>G) resulted in



variation at the 3'-splice acceptor site.

Keywords: CES2, amino acid alteration, novel SNP

\*1 国立成育医療センター

\*2 国立がんセンター

Itoda, M., Saito, Y., Shirao, K.<sup>\*1</sup>, Minami, H.<sup>\*1</sup>, Ohtsu, A.<sup>\*1</sup>, Yoshida, T.<sup>\*1</sup>, Saijo, N.<sup>\*1</sup>, Suzuki, H.<sup>\*2</sup>, Sugiyama, Y.<sup>\*2</sup>, Ozawa S., Sawada, J.: **Eight novel single nucleotide polymorphisms in ABCG2/BCRP in Japanese cancer patients administered irinotecan.**

*Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18**, 212-217 (2003)

Eight novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found in the gene encoding the ATP-binding cassette transporter, *ABCG2/BCRP*, from 60 Japanese individuals who were administered the anti-cancer drug irinotecan. Among the detected SNPs, two SNPs (1291T>C and 1465T>C) resulted in amino acid alterations (F431L and F489L, respectively).

Keywords: breast cancer resistance protein, amino acid alteration, novel SNP

\*1 国立がんセンター

\*2 東京大学

Black, E.P.<sup>\*</sup>, Huang, E.<sup>\*</sup>, Dressman, H.<sup>\*</sup>, Rempel, R.<sup>\*</sup>, Laakso, N.<sup>\*</sup>, Asa, S.L.<sup>\*</sup>, Ishida, S., West, M.<sup>\*</sup>, Nevins, J.R.<sup>\*</sup>: **Distinct gene expression phenotypes of cells lacking Rb and Rb family members.**

*Cancer Res.*, **63**, 3716-3723 (2003)

The study of tumor suppressor gene function has been aided by the creation of discrete gene alterations in the mouse. One such example can be seen in the study of tumor suppressor gene function in general and the retinoblastoma (Rb) tumor suppressor in particular. Because the phenotype of a cell is a direct reflection of the gene activity within that cell, a comprehensive analysis of changes in gene activity resulting from the loss of Rb function has the potential to greatly enhance our understanding of Rb biology. We have used DNA microarray analysis to identify gene expression profiles in wild-type and Rb-null mouse embryo fibroblasts, as well as cells lacking other Rb family members, as an approach to developing a more complete understanding of Rb function. In so doing, we have identified gene expression phenotypes that characterize the loss of Rb function, that distinguish a Rb-null cell from a wild-type cell as well as a p107/p130-null cell, and that identify gene regulatory pathways unique to these events. Importantly, the Rb gene expression patterns can identify murine tumors that result from Rb loss of function. We suggest that this is an approach to the eventual understanding of gene regulatory pathways that define a phenotypic state, including those events that lead to tumor development.

Keywords: DNA microarray analysis, Rb-null mouse embryo fibroblast, gene regulatory pathway

\* Department of Molecular Genetics and Microbiology, Duke University

Huang, E.<sup>\*</sup>, Ishida, S., Pittman, J.<sup>\*</sup>, Dressman, H.<sup>\*</sup>, Bild, A.<sup>\*</sup>, Kloos, M.<sup>\*</sup>, D'Amico, M.<sup>\*</sup>, Pestell, R.G.<sup>\*</sup>, West, M.<sup>\*</sup>, Nevins, J.R.<sup>\*</sup>: **Gene expression phenotypic models that predict the activ-**

**ity of oncogenic pathways.**

*Nat Genet.* 2003 Jun;**34**(2):226-30.

High-density DNA microarrays measure expression of large numbers of genes in one assay. The ability to find underlying structure in complex gene expression data sets and rigorously test association of that structure with biological conditions is essential to developing multi-faceted views of the gene activity that defines cellular phenotype. We sought to connect features of gene expression data with biological hypotheses by integrating 'metagene' patterns from DNA microarray experiments in the characterization and prediction of oncogenic phenotypes. We applied these techniques to the analysis of regulatory pathways controlled by the genes *HRAS* (Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog), *MYC* (myelocytomatosis viral oncogene homolog) and *E2F1*, *E2F2* and *E2F3* (encoding E2F transcription factors 1, 2 and 3, respectively). The phenotypic models accurately predict the activity of these pathways in the context of normal cell proliferation. Moreover, the metagene models trained with gene expression patterns evoked by ectopic production of Myc or Ras proteins in primary tissue culture cells properly predict the activity of *in vivo* tumor models that result from deregulation of the *MYC* or *HRAS* pathways. We conclude that these gene expression phenotypes have the potential to characterize the complex genetic alterations that typify the neoplastic state, whether *in vitro* or *in vivo*, in a way that truly reflects the complexity of the regulatory pathways that are affected.

Keywords: DNA microarrays, metagene models, regulatory pathway

\* Department of Molecular Genetics and Microbiology, Duke University

Akagi, K.<sup>\*</sup>, Sano, M.<sup>\*</sup>, Ogawa, K.<sup>\*</sup>, Hirose, M., Goshima, H.<sup>\*</sup> and Shirai, T.<sup>\*</sup>: **Involvement of toxicity as an early event in urinary bladder carcinogenesis induced by phenethyl isothiocyanate, benzyl isothiocyanate and analogues in F344 rats.**

*Toxicol. Pathol.*, **31**, 388-396 (2003)

Phenethyl isothiocyanate (PEITC) and benzyl isothiocyanate (BITC), naturally occurring constituents of cruciferous vegetables, have been reported to exert inhibitory effects against development of tobacco-specific carcinogen-induced lung tumors and are regarded as promising chemopreventive agents for lung cancer. However, their tumor promoting and carcinogenic activities in the rat urinary bladder have been detected in several animal models. The purpose of the present study was to investigate early changes in rat urinary bladder epithelium induced by PEITC and BITC and to explore their promotion/carcinogenic mechanisms. In the first experiment, in order to assess acute toxic effects, PEITC or BITC at 0.1% each in the diet was administered to 6-week-old F344 rats for 1, 2, 3, and 7 days and sequential histopathological assessment and urinalysis were performed. In the second and third experiments, structure-activity relationships of PEITC, BITC and other 8 analogues, benzyl isocyanate and benzyl thiocyanate, and phenyl-, a-naphthyl-, tert-butyl-, butyl-, methyl- and ethyl isothiocyanates were explored in a 14-day experiment. In the first experiment, the urinary pH was significantly lowered on Day 1

by PEITC and BITC treatment. Striking features of toxicity, such as marked inflammatory changes characterized by cellular infiltration, apoptosis/single cell necrosis, cytoplasmic vacuolation, erosion and hemorrhage in the urinary bladder were caused by PEITC and BITC, with peaks apparent on Days 2 or 3. Sequential change in 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) labeling indices was in line with the inflammatory response, but the thickness of the urinary bladder epithelium continued to gradually increase up to Day 7. In the second and third experiments, simple and papillary or nodular (PN) hyperplasias were observed after 14-days treatment with PEITC, BITC, and phenyl- and butyl ITCs. These results suggest that continuous urinary epithelial cell proliferation due to cytotoxicity may play an important role in the early stage of rat urinary bladder carcinogenesis induced by oral administration of isothiocyanates (ITCs). In addition, hydrophobic activity of ITCs, dependent on the alkyl carbon chain length, might strongly influence the induction of bladder lesions in rats.

**Key words:** rat, urinary bladder, isothiocyanates

\* Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduated School of Medical Sciences

Orita, S.<sup>1</sup>, Hirose, M., Takahashi, S.<sup>1</sup>, Imaida, K., Ito, N.<sup>1</sup>, Shudo, K., Ohigashi, H.<sup>2</sup>, Murakami, A.<sup>3</sup> and Shirai, T.<sup>1</sup>: **Modifying Effects of 1'-Acetoxychavicol Acetate (ACA) and the Novel Synthetic Retinoids, Re-80, Am-580 and Am-55P, in a Two-stage Carcinogenesis Model in Female Rats.**

*Toxicol. Pathol.*, **32**, 250-257 (2004)

Effects of dietary administration of 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) and the novel synthetic retinoids, 4-[1-hydroxy-3-oxo-3-(5,6,7,8-tetrahydro-3-hydroxy-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)-1-propenyl]benzoic acid (Re-80), 4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)carboxamido]benzoic acid (Am-580) and 6-[(3,5-di-tert-butylphenyl)carbamoyl]nicotinic acid (Am-55P), were examined using a rat two-stage carcinogenesis model. A total of 190 female SD rats was treated sequentially with 1,2-dimethylhydrazine (DMH, s.c.), 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA, i.g.) and 2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine (DHPN, in the drinking water) during the first 3 weeks (DDD-initiation), and a further 60 rats received the vehicle alone (non-initiation). One week after the completion of the initiation period, they were divided into 9 groups and administered Re-80 (at dose levels of 1.0 or 0.4 ppm), Am-580 (20 or 4 ppm), Am-55P (20 ppm), ACA (100 ppm) all-trans-retinoic acid (10 or 2 ppm) or no supplement in the diet for 33 weeks, until survivors were killed at week 37. After DDD-initiation, all-trans-retinoic acid at the high dose delayed the development of mammary tumors. The multiplicity of colon tumors in the group fed Am-55P and the incidences of nephroblastomas with ACA or Am-580 were decreased as compared with the control values, but the other chemicals had no modifying effects on tumor development in any organs. Thus among ACA and the novel synthetic retinoids tested, only Am-55P showed a weak inhibitory effect on a neoplasm of general interest under the present experimental conditions.

**Keywords:** synthetic retinoid, 1'-acetoxychavicol acetate, chemoprevention

<sup>1</sup> First Department of Pathology, Nagoya City University Medical School

<sup>2</sup> Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kyoto University

<sup>3</sup> Department of Biotechnological Science, Faculty of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University

Okazaki, K., Umemura, T., Imazawa, T., Nishikawa, A., Masegi, T., Hirose, M.: **Enhancement of urinary bladder carcinogenesis by combined treatment with benzyl isothiocyanate and N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine in rats after initiation**

*Cancer Sci.*, **94**, 948-952 (2003)

Previously we reported that benzyl isothiocyanate (BITC) strongly enhanced rat urinary bladder carcinogenesis after initiation with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN), while potently inhibiting BBN-induction of lesions when given simultaneously with the carcinogen. In the present experiment, the effects of simultaneous treatment with BITC and low-dose BBN on the post-initiation period of rat urinary bladder carcinogenesis were examined. After treatment with 500 ppm BBN for 4 weeks for initiation, groups of 20, 6-week-old, F344 male rats were given 25 ppm BBN alone, basal diet alone, or 100 or 1000 ppm BITC in the diet together with or without 25 ppm BBN in their drinking water for 36 weeks and then killed for autopsy. Further groups consisting of 10 rats each were similarly given BITC or the basal diet together with or without 25 ppm BBN, without initiation treatment. In the initiated groups receiving subsequent BBN exposure, papillary and nodular hyperplasia, dysplasia and carcinoma incidences were significantly increased, and they were further increased by the combined treatment with 100 and 1000 ppm BITC in a dose-dependent manner. In the non-initiation groups, carcinomas were only observed in a single rat in each of the BBN-treated control and BBN/BITC 100 ppm treatment groups. The results indicate that simultaneous treatment with BITC and a low dose of BBN does not inhibit, but rather enhances rat urinary bladder carcinogenesis after appropriate initiation, and further suggest that BITC may be a human risk factor, at least in high-risk populations.

**Keywords:** benzyl isothiocyanate, bladder carcinogenesis, rat

\* 岐阜大学農学部

Imazawa, T., Nishikawa, A., Toyoda, K., Furukawa, F., Mitsui, M., Hirose, M.: **Sequential alteration of apoptosis, p53 expression, and cell proliferation in the rat pancreas treated with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide**

*Toxicol. Pathol.*, **31**, 625-631 (2003)

Changes in p53 expression, apoptosis and cell proliferation after treatment with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO) were investigated in the rat pancreas and liver, target and nontarget organs for tumorigenesis, respectively. Male rats were given a single intravenous injection of 4HAQO at a dose of 20 mg/kg body weight and control rats received vehicle alone and were euthanized after 2-72 hours. Pancreata and livers were removed for histopathological examination, immunohistochemistry for p53 protein, PCNA and Ki-67, and TUNEL labeling and electron mi-

croscopic observation for detecting apoptosis. In the pancreas, p53 expression and apoptosis were significantly increased first at 4 and 6 hours, respectively, while no change was evident in the liver. The rates peaked at 24 hours, consistent with the peak for PCNA-labeling, while Ki-67-labeling rates peaked at 72 hours. Electron microscopically, apoptotic changes in pancreatic acinar cells were observed after 2 hours. No significant apoptosis, p53 expression or cell proliferation were noted in the pancreatic tissues of the control rats nor in liver cells regardless of 4HAQO treatment. Taken together with our previous data, the results suggest that apoptosis, p53 expression, and enhanced cell replication are closely related phenomena involved in the carcinogenesis of 4HAQO following DNA adduct formation.

Keywords: 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide, rat, pancreas

Kitamura, Y., Yamagishi, M., Okazaki, K., Son, H-Y., Imazawa, T., Nishikawa, A., Iwata, T., Yamauchi, Y., Kasai, M., Tsutsumi, K., Hirose, M.: **Lack of significant inhibitory effects of a plant lignan tracheloside on 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats**

*Cancer Lett.*, **200**, 133-139 (2003)

Tracheloside, one of the plant lignans which can be extracted from the debris after safflower oil is produced from the seeds of *Carthamus tinctorius*, is an analogue of another plant lignan, arctiin, the side-chain C-2 of the five-membered ring being changed from a hydrogen to a hydroxyl group. We have already demonstrated that arctiin has chemopreventive effect on mammary carcinogenesis. Therefore, chemopreventive effects of tracheloside on the initiation or post-initiation period of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced mammary carcinogenesis in female rats were examined. For initiation, female Sprague-Dawley (SD) rats at the 6 weeks of age were given intragastric administrations of 100 mg/kg body weight of PhIP once a week for 8 weeks. The animals were treated with 0.2 or 0.02% tracheloside during or after this carcinogen exposure. Control rats were fed basal diet with PhIP initiation or 0.2% tracheloside or basal diet alone without initiation throughout the experimental period. All surviving animals were necropsied at the week 52 of administration. There were no clear treatment-related changes with statistical significance in all parameters for mammary carcinomas measured in this experiment. These results indicate that tracheloside may not exert significant effects on PhIP-induced mammary carcinogenesis at least under the present experiment condition.

Keywords: tracheloside, mammary carcinogenesis, rat

\* リノール油脂

Son, H-Y., Nishikawa, A., Okazaki, K., Lee, K-Y., Imazawa, T., Hirose, M.: **Lack of modifying effects of atrazine and/or tamoxifen on thyroid carcinogenesis in rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)**

*Food Chem. Toxicol.*, **41**, 1811-1816 (2003).

The modifying effects of atrazine, and/or tamoxifen, on thyroid carcinogenesis were investigated in a rat two-stage carcinogenesis model following N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)

initiation. Five-week-old male F344 rats were given a single subcutaneous injection of DHPN (2800 mg/kg, body weight) or vehicle alone. Starting 1 week later, the animals were fed a diet supplemented with 0, 5, 50 or 500 ppm of atrazine, 500 ppm atrazine plus 5 ppm tamoxifen, or 5 ppm tamoxifen in the DHPN-treated groups, and 0 or 500 ppm of atrazine in the DHPN-untreated groups for 24 weeks. At autopsy major organs, including the thyroid, pituitary, liver, kidney, testis, epididymis, and brain, were collected and histopathologically examined. Body weights were significantly ( $P < 0.05$ ) decreased by the high doses of atrazine or tamoxifen, the effect being enhanced in combination. Relative thyroid weights were significantly increased ( $P < 0.05$ ) only in the tamoxifen-treated group and pituitary weights were elevated with 500 ppm atrazine plus tamoxifen ( $P < 0.05$ ). Relative liver weights were increased by the high dose of atrazine. However, the atrazine and/or tamoxifen treatments did not induce significant histopathological changes in the major organs, including the thyroid, nor cause significant changes in serum TSH levels. These results suggest that neither atrazine nor tamoxifen may promote thyroid carcinogenesis, alone as well as in combination.

Keywords: atrazine, thyroid carcinogenesis, rat

\* 忠南大学校

Lee, I-S., Nishikawa, A.: **Polyozellus multiplex, a Korean wild mushroom, as a potent chemopreventive agent against stomach cancer**

*Life Sci.*, **73**, 3225-3234 (2003).

*Polyozellus multiplex*, a Korean wild mushroom, was extracted using methanol, and the extract was further fractionated with water and ethylacetate. Assay of each fraction with MTT revealed significant tumorigenic effects of the water fraction of *Polyozellus multiplex* against human gastric and other cancer cells but not normal human lymphocytes. Modifying effects of the water fraction on glandular stomach mucosa were investigated in male Wistar rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). The dietary 0.5% or 1% water fraction of *Polyozellus multiplex* significantly increased glutathione S-transferase (GST) and superoxide dismutase (SOD) activities, and showed a tendency for increase in glutathione (GSH) levels, compared to the MNNG alone group. It also caused a significant reduction in proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-labeling index of the glandular stomach epithelium, along with increase in p53 tumor suppressor gene expression. These results suggest that *Polyozellus multiplex* is a candidate for chemoprevention against gastric cancer.

Keywords: *Polyozellus multiplex*, mushroom, chemoprevention, stomach cancer

\* 韓国啓明大学

Kitamura, Y., Nishikawa, A., Furukawa, F., Nakamura, H., Okazaki, K., Umemura, T., Imazawa, T., Hirose, M.: **A subchronic toxicity study of shea nut color in Wistar rats**

*Food Chem. Toxicol.*, **41**, 1537-1542 (2003).

Shea nut color, obtained from nuts of the shea tree (*Butyrospermum parkii*), is used as a food-coloring agent. Flavonoid pigments are considered to be the responsible constituents. As there have been no reports of toxicological evaluation, a

13-week subchronic toxicity study was performed in Wistar Hannover rats at dose levels of 0 (control), 0.07, 0.31, 1.25 and 5% in powdered basal diet. The average of daily shea nut color intake was 51.3, 226.1, 986.8 and 3775.5 mg/kg/day for males and 56.4, 272.9, 1166.7 and 4387.7 mg/kg/day for females, respectively. During the administration period, daily observation of clinical signs and weekly measurement of body weights and food consumption were performed. After the end of the treatment, hematology, serum biochemistry, organ weight and histopathological examinations were conducted. No significant toxicological changes were observed in any parameters in this study. Hence, the no adverse effect dose of shea nut color was estimated to be greater than 5.0% for both sexes (3775.5 mg/kg/day for males and 4387.7 mg/kg/day for females).

Keywords: shea nut color, subchronic toxicity, rat

Kanki, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kitamura, Y., Imazawa, T., Umemura, T., Hirose, M.: **A 13-week subchronic toxicity study of paprika color in F344 rats**

*Food Chem. Toxicol.*, **41**: 1337-1343 (2003).

The fruit of the paprika (*Capsicum annum*) has been widely used in various countries as a spice and food-coloring additive. As a part of the safety assessment of paprika color (Paprika oleoresin), a 13-week subchronic toxicity study was performed in F344 rats. To establish a no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for application in subsequent long-term studies, rats were fed powder diet containing paprika color at dose levels of 0 (basal diet), 0.62, 1.25, 2.5 and 5% (maximum) for 13 weeks. During the experiment, there were no remarkable changes in general appearance and no deaths occurred in any experimental group. Although serum total cholesterol was dose-dependently increased in both sexes, no related histopathological changes were observed in the liver. Slight inflammatory cell infiltration in the myocardium and vacuolation of hepatocytes were noted in both control and paprika color-treated animals, but there were no clear differences between groups. In conclusion, paprika color even at 5% in the diet (0.67 g/rat/day or 2948.4 mg/kg bw/day for male rats and 0.43 g/rat/day or 3197.4 mg/kg bw/day for female rats) did not cause remarkable adverse effects in F344 rats. Thus, the NOAEL and the maximum dose level for carcinogenicity testing of paprika color were concluded to be 5% in the diet.

Keywords: paprika color, subchronic toxicity, rat

Son, H-Y., Nishikawa, A., Kanki, K., Okazaki, K., Kitamura, Y., Lee, K-Y., Umemura, T., Hirose, M.: **Synergistic interaction between excess caffeine and deficient iodine on the promotion of thyroid carcinogenesis in rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine**

*Cancer Sci.*, **94**, 334-337 (2003).

The combined effects of caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) with iodine deficiency (ID) were examined in a rat two-stage thyroid carcinogenesis model using N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN). Male F344 rats were divided into 6 groups each consisting of 10 animals, and received a single s.c. injection of 2800 mg/kg DHPN. From 1 week after the DHPN initiation, the rats were respectively fed a basal diet in which the protein was exchanged

for 20% gluten, containing 1500 ppm caffeine + ID, 300 ppm caffeine + ID, 60 ppm caffeine + ID, 1500 ppm caffeine or ID or a basal diet alone for 12 weeks. Relative thyroid weights were significantly ( $P < 0.05$ ) increased due to the development of proliferative lesions induced by the ID diet as compared to the DHPN-alone group value, which was enhanced by caffeine, albeit without statistical significance. Relative pituitary weights were significantly ( $P < 0.05$ ) increased with 300 or 1500 ppm caffeine + ID as compared to the DHPN-alone group value. Serum thyroid stimulating hormone (TSH) levels were slightly increased by ID, an effect which was further enhanced by 300 or 1500 ppm caffeine. Serum thyroxine (T4) levels were slightly increased by caffeine or ID alone, but decreased by caffeine with ID. Histopathologically, thyroid follicular carcinomas were found only in the 1500 ppm caffeine + ID group, although thyroid follicular adenomas were detected in all the ID-treated groups. The multiplicity of focal thyroid follicular hyperplasias was significantly ( $P < 0.05$ ) increased by 1500 ppm caffeine. These results indicate that caffeine may synergistically promote thyroid carcinogenesis with ID partially through a pituitary-dependent pathway in rats, implying the possible implication of routine caffeine intake in the promotion of thyroid carcinogenesis.

Keywords: caffeine, thyroid carcinogenesis, rat

\* 忠南大学校

Umemura, T., Kai, S., Hasegawa, R., Kanki, K., Kitamura, Y., Nishikawa, A., Hirose, M.: **Prevention of dual promoting effects of pentachlorophenol, an environmental pollutant, on diethylnitrosamine-induced hepato- and cholangiocarcinogenesis in mice by green tea infusion**

*Carcinogenesis*, **24**, 1105-1109 (2003).

In order to explore a possibility that the custom of drinking green tea infusion is efficacious for reducing the carcinogenic risk of environmental exposure to pentachlorophenol (PCP), we examined the effects in a hepato- and cholangiocarcinogenesis model in mice exposed to diethylnitrosamine (DEN). In the first experiment, groups of 15 male mice were initially treated with DEN at a dose of 20 ppm in the drinking water for the first 8 weeks followed by a 4 week recovery interval by PCP at concentrations of 0 (basal diet), 300 or 600 ppm in the diet for 23 weeks. Further groups of animals were treated with DEN and PCP in the same manner and received 2% green tea infusion (GT) instead of the drinking water from week 10 until death. PCP exposure at the high dose promoted DEN-induced hepatocarcinogenesis, and also caused progression of cystic hyperplasias of the intrahepatic bile ducts to cholangiocellular tumors. Co-administration of GT was able to prevent the increases of incidences and multiplicities of DEN-induced hepatocellular tumors and also arrest the progression of cholangiocellular tumors. In the second experiment, co-treatment with GT in the drinking water from 1 week before 300 or 600 ppm PCP treatment in the diet to the end of the experiment at week 3 in B6C3F1 male mice suppressed increases of serum ALT activities, 8-oxodeoxyguanosine levels in liver DNA and bromodeoxyuridine labeling indices of hepatocytes and intrahepatic biliary epithelial cells induced by PCP. These findings suggest that regular intake of green tea may reduce the carcinogenic

risk posed by an environmental pollutant, PCP, presumably due to effects on oxidative stress.

Keywords: green tea, hepatocarcinogenesis, mouse

\* 昭和女子大学

Nishikawa, A., Morse, M.A., Chung, F.-L.: **Inhibitory effects of 2-mercaptoethane sulfonate and 6-phenylhexyl isothiocyanate on urinary bladder tumorigenesis in rats induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine**  
*Cancer Lett.*, **193**, 11-16 (2003)

The effects of 2-mercaptoethane sulfonate (MESNA) and phenethyl and 6-phenylhexyl isothiocyanates (PEITC and PHITC) on urinary bladder tumorigenesis were investigated in Wistar rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BHBN). A total of 190 male rats were divided into eight groups. Animals in groups 1, 3 and 4 were administered BHBN in drinking water (0.025%) and group 2 rats were given 0.025% BHBN plus 0.05% MESNA solution for 15 weeks. Rats in groups 3 and 4 were fed a diet supplemented with PEITC or PHITC at a dose level of 0.5 micromol/g for 16 weeks starting 1 week prior to the BHBN treatment. Rats in groups 5-7 served as MESNA, PEITC or PHITC alone controls. Group 8 served as a non-treatment control. The chromatographic profile of drinking water for group 2 animals indicated no chemical interaction between BHBN and MESNA. The incidences of papillomas in the bladder and total bladder tumors including transitional cell carcinomas were significantly ( $P < 0.01$ ) reduced in group 2 as compared to that in group 1. The multiplicities of papillomas or total bladder tumors were significantly ( $P < 0.01$ ) lower in group 2 and 4 rats treated with MESNA and PHITC, respectively, than in group 1 rats. The PEITC treatment, however, did not affect the BHBN-induced bladder tumorigenesis. No bladder tumors were found in animals of groups 5-8. The results in the present study clearly indicate that both MESNA and PHITC are potent chemopreventive agents against bladder tumor development in rats induced by BHBN.

Keywords: 2-mercaptoethane sulfonate, 6-phenylhexyl isothiocyanate, bladder tumorigenesis

\* American Health Foundation

Yamagishi, M., Natsume, M., Osakabe, N., Okazaki, K., Furukawa, F., Imazawa, T., Nishikawa, A., Hirose, M.: **Chemoprevention of lung carcinogenesis by cacao liquor proanthocyanidins in a male rat multi-organ carcinogenesis model**

*Cancer Lett.*, **191**, 49-57 (2003)

The effects of cacao liquor proanthocyanidins (CLPr) on tumorigenesis were investigated using a multi-organ carcinogenesis model in male F344 rats receiving combined treatment with a single i.p. injection of diethylnitrosamine (100 mg/kg body wt), four i.p. injections of N-methylnitrosourea (20 mg/kg body wt), four s.c. injections of dimethylhydrazine (40 mg/kg body wt), along with 0.05% N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine and then 0.1% 2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamine, both in the drinking water, for 2 weeks each, during the initial 4-week period (DMBDD treatment). Starting 1 week thereafter, rats were administered CLPr at a dose of 0.025% or 0.25% and the experi-

ment was terminated at week 36. The final survival rate for the DMBDD+0.25% CLPr group was significantly greater than for the DMBDD alone group. In the lung, significant reduction in the incidence and multiplicity of carcinomas was also observed, and in the thyroid, quantitative values for adenomas also tended to decrease in a CLPr dose-dependent manner. No significant modification in the small intestine, colon or kidney was evident. These results indicate that CLPr exerts chemopreventive effects in the lung without any promoting influence in other major organs.

Keywords: cacao liquor, proanthocyanidin, lung carcinogenesis

\* 明治製菓

Umemura, T., Kodama, Y., Kanki, K., Iatropoulos, M.J., Nishikawa, A., Hirose, M., Williams, G.M.: **Pentachlorophenol (but not phenobarbital) promotes intrahepatic biliary cysts induced by diethylnitrosamine to cholangio cystic neoplasms in B6C3F1 mice possibly due to oxidative stress**  
*Toxicol. Pathol.*, **31**, 10-13 (2003).

Administration of diethylnitrosamine (DEN) to B6C3F1 mice at low dose (20 ppm) in drinking water for long duration resulted in formation of multifocal cystic biliary lesions in the liver. To investigate the potential of the lesions to be promoted to neoplasias by chemicals, we examined the effects of 2 different types of hepatocarcinogenesis promoters, pentachlorophenol (PCP) and phenobarbital (PB) in B6C3F1 mice. Two weeks' exposure to PCP at a concentration of 600 ppm in the diet increased 8-oxodeoxyguanosine (8-oxodG) levels in liver nuclear DNA, and cell proliferation quantified by bromodeoxyuridine (BrdU) incorporation in epithelial cells of intrahepatic bile ducts as well as hepatocytes. In mice initiated with DEN at 20 ppm in the drinking water for the first 13 weeks followed, after a 4-week recovery interval, by PCP at a concentration of 600 ppm in the diet for 25 weeks, cystic atypical hyperplasias, cholangiomas, and cholangiocarcinomas were present at statistically significant higher incidences. In contrast, neoplasia did not occur in animals treated with 500 ppm PB, and there were no elevations in 8-oxodG levels or increases in the proliferation of biliary epithelium, although proliferation was increased in hepatocytes. These findings suggest that oxidative stress due to PCP might exert a promoting action on the biliary cystic lesions produced by DEN.

Keywords: pentachlorophenol, cholangiocellular tumor, oxidative stress

\* New York Medical College

Furukawa, F., Nishikawa, A., Lee, I.-S., Kanki, K., Umemura, T., Okazaki, K., Kawamori, T., Wakabayashi, K., Hirose, M.: **A cyclooxygenase-2 inhibitor, nimesulide, inhibits postinitiation phase of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters**  
*Int. J. Cancer.*, **104**, 269-273 (2003).

The modification effects of nimesulide, a cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor, administration during the postinitiation phase of pancreatic carcinogenesis were investigated in hamsters treated with N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP). Male Syrian hamsters were given 4 weekly s.c. injections of BOP at a dose of 10 mg/kg and thereafter administered 0, 100 or 400 ppm nimesulide

in the diet for 36 weeks. Additional groups of hamsters were fed 400 ppm nimesulide without prior BOP initiation or nontreated. At week 40, all surviving animals were killed and development of neoplastic and preneoplastic lesions was assessed histopathologically. The incidence of pancreatic adenocarcinomas was significantly ( $P < 0.05$ ) decreased in the BOP/400 ppm nimesulide group compared to the BOP alone group. The multiplicity of total lesions of pancreatic adenocarcinoma plus atypical hyperplasia was also significantly ( $P < 0.05$ ) lowered. Immunohistochemically, COX-2 was clearly expressed in pancreatic and lung tumor cells, whereas expression was not remarkably affected by the 400 ppm nimesulide treatment. Proliferating cell nuclear antigen labeling indices of pancreatic ducts were significantly ( $P < 0.01$ ) reduced by nimesulide. The incidence and multiplicity of neoplastic lesions in other organs did not significantly differ among the BOP-treated groups, though only the multiplicity of lung tumors showed a tendency to decrease. No neoplastic lesions were detected in animals receiving nimesulide alone. Our results clearly indicate that nimesulide protects against BOP-induced pancreatic tumors in hamsters.

Keywords: cyclooxygenase-2 inhibitor, pancreatic carcinogenesis, hamster

\* 国立がんセンター研究所

Son, H.-Y., Nishikawa, A., Okazaki, K., Kanki, K., Yamagishi, M., Imazawa, T., Umemura, T., Hirose, M. : **Prolonged effects of beta-estradiol 3-benzoate on thyroid tumorigenesis in gonadectomized rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine** *Cancer Lett.*, **190**, 21-29 (2003).

The prolonged modulatory effects of beta-estradiol 3-benzoate (EB), a synthetic estrogenic compound, were investigated in a rat two-stage thyroid tumorigenesis model. One week after a single s.c. injection of N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine, gonadectomized F344 rats of both sexes were s.c. implanted with fused pellets containing EB for 32 weeks. Doses of EB at 0, 0.004, 0.02 and 0.1mg were achieved by varying the ratio of EB to cholesterol in the pellet. Major organs including the thyroid, pituitary, liver, kidneys, uterus and brain were weighed and histopathological observation was performed. Serum was assayed for triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and thyroid-stimulating hormone (TSH). Thyroid weights were increased by the EB pellet implantation in a dose-dependent manner and significantly ( $P < 0.05$ ) elevated in the 0.1mg EB male group and in the 0.02 and 0.1mg EB female groups. The EB treatments dose-dependently suppressed serum T4 levels and inversely elevated serum TSH levels in both sexes but without statistical significance in females. Histopathologically, EB increased the occurrence of thyroid proliferative lesions in males and showed a tendency for increase in females. Interestingly, the effect of EB was more intensive in males than in females, even the lowest dose inducing a follicular carcinoma in a male. These results thus indicate the possible contribution of prolonged EB stimulation at lower doses to thyroid tumorigenesis without additional promotive condition.

Keywords: estradiol, thyroid tumorigenesis, rat

Mori, Y.\* , Koide, A.\* , Kobayashi, Y.\* , Furukawa, F., Hirose, M., Nishikawa, A.: **Effects of cigarette smoke and a heterocyclic amine, MeIQx on cytochrome P-450, mutagenic activation of various carcinogens and glucuronidation in rat liver** *Mutagenesis*, **18**, 87-93 (2003).

In order to elucidate the mechanism underlying enhancement by cigarette smoke (CS) of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)-induced rat hepatocarcinogenesis, hepatic levels of cytochrome P-450 (CYP) enzymes, mutagenic activation of various carcinogens and UDP-glucuronyltransferase (UDPGT) activities were assayed in male F344 rats. Immunoblot analyses for microsomal CYP proteins revealed induction of CYP1A1 and constitutive CYP1A2 (2.3- to 2.7-fold), but not CYP2B1/2, 2E1 or 3A2, by CS exposure for 1, 12 or 16 weeks using a Hamburg type II smoking machine; the enhancement of CYP1A2 was 4.7-5.7 times that of CYP1A1. CS exposure also elevated the mutagenic activities of MeIQx and five other heterocyclic amines (HCAs) 1.4- to 3.7-fold, but not those of benzo[a]pyrene (BP) and aflatoxin B1 in strain TA98 and N-nitrosodimethylamine, N-nitrosopyrrolidine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in strain TA100. In contrast, feeding 300 ppm MeIQx in the diet for 1 or 16 weeks produced no significant alterations in the levels of these CYP species and mutagenic activities. However, i.g. administration of 50 or 100 mg/kg MeIQx in a single dose selectively increased CYP1A1 and 1A2 (2.6-fold) levels and mutagenic activities of five HCAs (1.7- to 3.3-fold), but not BP. On the other hand, feeding of MeIQx for 16 weeks enhanced UDPGT activities towards 4-nitrophenol and testosterone (2.9- and 1.5-fold, respectively), but not bilirubin, while CS exposure induced that towards 4-nitrophenol (1.6-fold); combined treatment with CS and MeIQx showed a summation effect on induction of UDPGT1A6 activity (3.5-fold). Consequently, these results demonstrate that CS and MeIQx have a bifunctional action, with similar induction patterns of specific CYP proteins, mutagenic activity and UDPGT activity. In conjunction with the finding of N-hydroxy-MeIQx being a poor substrate for rat liver UDPGT, our results clearly indicate that enhancement by CS of MeIQx-induced hepatocarcinogenesis in F344 rats can be attributed to an increase in metabolic activation of MeIQx by hepatic CYP1A2 during the initiation phase.

Keywords: cigarette smoke, cytochrome P-450, rat liver

\* 岐阜薬科大学

Narama, I.\*<sup>1</sup>, Imaida, K.\*<sup>2</sup>, Iwata, H.\*<sup>3</sup>, Nakae, D.\*<sup>4</sup>, Nishikawa, A., Harada, T.\*<sup>5</sup>: **A review of nomenclature and diagnostic criteria for proliferative lesions in the liver of rats by a working group of the Japanese Society of Toxicologic Pathology** *J. Toxicol. Pathol.*, **16**, 1-17 (2003)

The final version of the international harmonized nomenclature for proliferative lesions in rats was issued on June 21, 2000. The recommended nomenclature for proliferative lesions in the liver includes focus of cellular alteration, regenerative hepatocellular hyperplasia, cholangiofibrosis, cholangiofibroma, oval cell hyperplasia, hepatocellular adenoma, hepatocellular carcinoma, bile duct hyperplasia, cholangioma, cholangiocarcinoma, hepatocholangiocellular adenoma, and hepatocholangiocellular

carcinoma. Foci of cellular alteration are further classified into the following phenotypes: amphophilic, diffusely basophilic, tigroid basophilic, clear cell, eosinophilic, and mixed (basophilic/eosinophilic). Hepatocellular carcinomas are divided into 3 types based on their growth patterns: acinar, solid, and trabecular. In consideration of this international harmonized nomenclature, the current classification, terminology, and diagnostic criteria for proliferative lesions in the liver of rats recommended by the Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) were reviewed by a Working Group of the JSTP. The hepatic proliferative lesions reviewed by the present Working Group included lesions of hepatocellular, cholangiocellular, mixed hepatocholangiocellular, sinusoidal, and hemangioendothelial origins. Any comments and questions on these lesions were discussed among pathologists in the Working Group and the results of discussions were presented at the 1st seminar on the continuing education program of the JSTP in November 2000.

Keywords: liver, nomenclature, rat

\*1 摂南大学

\*2 香川大学

\*3 食品農薬品安全性評価センター

\*4 佐々木研究所

\*5 残留農薬研究所

Masutomi, N., Shibutani, M., Takagi, H., Uneyama, C., Takahashi, N., Hirose, M.: **Impact of dietary exposure to methoxychlor, genistein, or diisononyl phthalate during the perinatal period on the development of the rat endocrine/reproductive systems in later life.**

*Toxicology*, **192**, 149-170 (2003)

To evaluate the impact of dietary exposure to endocrine disrupting chemicals (EDCs) during the sensitive period of brain sexual differentiation, maternal Sprague-Dawley rats were fed three representative chemicals, methoxychlor (MXC; 24, 240, and 1200 ppm), genistein (GEN; 20, 200, and 1000 ppm), or diisononyl phthalate (DINP; 400, 4000, and 20,000 ppm), from gestational day 15 to postnatal day 10. Soy-free diet was used as a basal diet to eliminate possible estrogenic effects from the standard diet. Offspring were examined in terms of anogenital distances, prepubertal organ weights, onset of puberty, estrous cyclicity, and organ weights and histopathology of endocrine organs at adult stage (week 11) as well as the volumes of sexually dimorphic nucleus of preoptic area (SDN-POA). All chemicals caused signs of maternal toxicity at high doses. MXC, at 1200 ppm, facilitated and delayed the onset of puberty in females and males, respectively, females also showing endocrine disrupting effects thereafter, such as irregular estrous cyclicity and histopathological alterations in the reproductive tract and anterior pituitary. GEN, at all doses, reduced body weight (BW) at week 11, but did not affect endocrine parameters. Treatment with DINP at 20,000 ppm resulted in degeneration of meiotic spermatocytes and Sertoli cells in the testis and decrease of corpora lutea in the ovary at week 11, although changes remained minimal or slight. The SDN-POA volume remained unchanged with all three chemicals. The results demonstrated that perinatal dietary exposure to EDCs for a limited period causes endocrine disruption in offspring only at high doses.

Keywords : Methoxychlor, diisononyl phthalate, genistein, brain sexual differentiation, reproductive system, endocrine disruption.

Arai, K.,\* Nakano, H.,\* Shibutani, M., Naoi, M.,\* Matsuda, H.\*: **Expression of class II  $\beta$ -tubulin by proliferative myoepithelial cells in canine mammary mixed tumors.**

*Vet. Pathol.*, **40**, 670-676 (2003)

Benign mammary mixed tumors in dogs resemble human salivary pleomorphic adenomas with regard to their histogenesis, including the occurrence of cartilaginous or bony metaplasia as well as the expression pattern of cytoskeletal proteins in proliferative myoepithelial cells. Recently, a monoclonal antibody specific for class II  $\beta$ -tubulin has been developed. The epitope it recognizes was determined to be the heptapeptide Glu-Glu-Glu-Glu-Gly-Glu-Asp, which is the common sequence found among the canine, rat, mouse, and human class II  $\beta$ -tubulin-specific regions. We carried out immunohistochemical studies on mammary mixed tumors obtained from three female dogs using this the monoclonal antibody. The antibody to class II  $\beta$ -tubulin reacted intensely with proliferative myoepithelial cells in canine mammary mixed tumors, whereas staining was barely detectable in normal myoepithelial cells surrounding alveoli and alveolar ducts within the tumor and adjacent normal tissue. Proliferative myoepithelial cells also expressed vimentin, but  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) staining was barely detectable. Immunoblot analysis showed that class II  $\beta$ -tubulin and vimentin were expressed in myoepithelial cell lines prepared from the three mammary mixed tumors. On the other hand, only one cell line, which was negative for  $\alpha$ SMA, produced cartilage-specific type II collagen. These results suggest that class II  $\beta$ -tubulin could be a new molecular marker of proliferating myoepithelial cells in canine mammary mixed tumors and that differential expression of cytoskeletal components is associated with cartilaginous metaplasia of proliferative myoepithelial cells in mixed mammary tumors.

Keywords: Cartilage, collagen type II, dogs, mammary tumor

\* Tokyo University of Agriculture and Technology

Takizawa, T., Mitsumori, K.<sup>1</sup>, Tamura, T., Nasu, M.<sup>2</sup>, Ueda, M., Imai, T., Hirose, M.: **Hepatocellular tumor induction in heterozygous p53-deficient CBA mice by a 26-week dietary administration of kojic acid**

*Toxicol. Sci.*, **73**, 287-293 (2003)

In order to evaluate the tumorigenic potential of kojic acid (KA), used as a food additive for preventing enzymatic browning of crustaceans and a cosmetic agent for the purpose of skin whitening, heterozygous p53-deficient CBA [p53(+/-)] mice, which are recognized as useful for detecting genotoxic carcinogens, and wild-type littermates [p53(+/+) mice] were fed diet containing 0, 1.5, and 3% KA for 26 weeks. KA induced diffuse hypertrophy and hyperplasia of thyroid follicular epithelial cells with decreased serum thyroxine levels in both p53 (+/-) and p53 (+/+) mice, but caused no thyroid tumors. In the liver, the incidence of altered hepatocellular foci was significantly increased at 1.5 and 3% in p53 (+/-) and 1.5% in p53 (+/+) mice, and that of hepatocellular adenomas was increased at 1.5 and 3% in p53 (+/-) and 3% in p53 (+/+) mice.

(+/-) mice. p53 (+/-) mice thus appeared to be more susceptible in terms of the tumorigenic dose of KA with a greater prevalence of hepatic proliferative lesions. The results of the present study indicate tumorigenic potential of KA in the liver, but not thyroid follicular epithelial cells in CBA mice and a contribution of genotoxicity on hepatocellular tumor development cannot be ruled out.

Keywords: kojic acid, liver tumor, mouse

\*1 東京農工大学農学部

\*2 (株)パナファーム・ラボラトリーズ

Onose, J., Imai, T., Hasumura, M., Ueda, M., Hirose, M.: **Rapid induction of colorectal tumors in rats initiated with 1,2-dimethylhydrazine followed by dextran sodium sulfate treatment** *Cancer Lett.*, **198**, 145-152 (2003)

To establish a rapid bioassay system with neoplastic end-points for detection of colorectal carcinogenesis modifiers, we evaluated the effects of dextran sodium sulfate (DSS) treatment on the different stages of carcinogenesis in rats initiated with 1,2-dimethylhydrazine (DMH). F344 male rats were given three subcutaneous injections of DMH (40 mg/kg body weight) in a week, and were administered drinking water containing 1.0% DSS ad libitum either during or after the initiation period for a week, or both during and after initiation periods for 2 weeks. At the 10th week of the experiment, although the numbers of aberrant crypt foci were significantly decreased in all groups treated with DSS and given DMH-initiation as compared with DMH alone, dysplastic foci/adenomas/adenocarcinomas were increased. The incidences and multiplicities of these lesions were highest in rats treated with DSS after DMH-initiation period. At the 26th week, the incidences of adenocarcinomas (100 vs. 20% in DMH alone) and their multiplicities (6.6 +/- 0.8/rat vs. 0.2 +/- 0.4/rat in DMH alone) were also highest in this group. These results indicate that short-term DSS-treatment in the post-initiation period significantly accelerates DMH-induced colorectal tumor development in rats, so that this protocol may be effective for establishment of a rapid bioassay system with neoplastic end-points.

Keywords: dextran sodium sulfate, colon tumor, rat

Toyosawa, K.\*1, Tanaka, K.\*1, Imai, T., Yasuhara, K., Koujitani, T., Hirose, M., Mitsumori, K.\*2: **Mutation and overexpression of the transgene in ethylnitrosourea-induced tumors in mice carrying a human prototype c-Ha-ras gene**

*Toxicol. Pathol.*, **31**, 491-495 (2003)

To investigate mechanisms underlying accelerated carcinogenesis in mice carrying a human prototype c-Ha-ras gene (rasH2 mouse), mutations and the expression profile of the transgene were evaluated in 14 tumors induced by a single injection of ethylnitrosourea (ENU), with or without additional beta-estradiol 3-benzoate (EB) treatment. Although no codon 12 mutations were detected, changes in codon 61 were evident in all lung adenocarcinomas, skin squamous cell carcinomas and forestomach squamous cell carcinomas examined. The mRNA levels of the transgene in these lesions were also elevated 1.71- to 4.77-fold, 3.04- to 5.18-fold, and 3.00- to 5.67-fold, respectively, in comparison with those in the normal livers of rasH2 mice. The results obtained in this study suggest that mutations in codon 61 and amplification of the

transgene play key roles in the carcinogenesis induced by ENU in rasH2 mice.

Keywords: ethylnitrosourea, transgene mutation, rasH2 mouse

\*1 大日本製薬(株)

\*2 東京農工大学農学部

Ueda, M., Niho, N., Imai, T., Shibutani, M., Mitsumori, K.\*, Matsui, T.\*, Hirose, M.: **Lack of significant effects of genistein on the progression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in ovariectomized Sprague-Dawley rats** *Nutr. Cancer*, **47**, 141-147 (2003)

Genistein is thought to be one of the possible factors for decreasing the incidence of breast cancer in Asian peoples who take soy-rich diets. However, some experimental data suggest that genistein can stimulate breast cancer development via its estrogenic activities. To clarify the influence of genistein on the promotion/progression stage of mammary carcinogenesis, female Sprague-Dawley rats received a single intragastric administration of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA). When the incidence of palpable mammary tumors reached about 50%, all animals were then subjected to ovariectomy and divided into tumor-bearing [DMBA-tumor (+)] and no-tumor-bearing [DMBA-tumor (-)] groups, with subgroups of each treated with genistein at concentrations of 0, 25, or 250 ppm in soybean-free diet for 36 wk. At terminal sacrifice, the 25-ppm subgroup of DMBA-tumor(+) had a higher tumor incidence and volume, whereas the 250-ppm subgroup showed lower incidence, number, and volume than the 0-ppm subgroup, although differences were not statistically significant. In the DMBA-tumor(-) groups, eventual tumor volumes in the genistein-treated groups were dose dependently smaller than in the 0-ppm subgroup, although again without statistical significance. The present study indicates that genistein does not exert clear inhibitory effects on mammary carcinogenesis in the promotion/progression stage in female rats under ovarian hormone-free conditions.

Keywords: genistein, mammary tumor, rat

\* 岐阜大学大学院連合獣医学研究科

Hamada, S.\*1, Nakajima, K.\*2, Namiki, C.\*2, Serikawa, T.\*2 and Hayashi, M.: **Sex differences in the chemical induction of micronuclei in the rat**

*Environ. Mutagen Res.*, **25**, 33-37 (2003)

We conducted the micronucleus assay using 7 chemicals, 5 rat carcinogens (2-Acetylaminofluorene, Cyclophosphamide, Methyl methanesulfonate, Potassium bromate, Urethane) and 2 rat non-carcinogens (1-beta-D-Arabinofuranosylcytosine, Colchicine) in both male and female rats to determine whether the results varied with sex. We administered each chemical orally at 3 doses, twice, 24 h apart, to 5 rats per dosage group and collected bone marrow and peripheral blood 24 h after the second treatment. We observed a sex-related difference in micronucleus-inducing activity in both polychromatic erythrocytes (bone marrow) and reticulocytes (peripheral blood), which we attributed to a sex-related difference in hematopoiesis. In spite of the sex-related difference in sensitivity against the model chemicals studied here, both sex groups tested showed positive responses. We concluded that the rat is suitable



for the micronucleus assay regardless of sex.

**Keywords:** micronucleus, rat, sex, hematopoiesis, CSGMT

\*1 エスエス製薬株式会社

\*2 京都大学

Moore, M.M.<sup>\*1</sup>, Honma, M., Clements, J.<sup>\*2</sup>, Bolcsfoldi, G.<sup>\*3</sup>, Cifone, M.<sup>\*4</sup>, Delongchamp, R.<sup>\*1</sup>, Fellows, M.<sup>\*5</sup>, Gollapudi, B.<sup>\*6</sup>, Jenkinson, P.<sup>\*7</sup>, Kirby, P.<sup>\*8</sup>, Kirchner, S.<sup>\*9</sup>, Muster, W.<sup>\*9</sup>, Myhr, B.<sup>\*4</sup>, O'Donovan, M.<sup>\*5</sup>, Oliver, J.<sup>\*10</sup>, Ouldeldhkim, M.-C.<sup>\*11</sup>, Pant, K.<sup>\*8</sup>, Preston, R.<sup>\*12</sup>, Riach, C.<sup>\*13</sup>, San, R.<sup>\*14</sup>, Stankowski, Jr., L.<sup>\*4</sup>, Thakur, A.<sup>\*4</sup>, Wakuri, S.<sup>\*15</sup> and Yoshimura, I.<sup>\*16</sup>: **Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: International Workshop on Genotoxicity ests Workgroup Report-Plymouth, UK 2002.**

*Mutat. Res.*, **540**, 127-140 (2003)

This meeting of the MLA group was devoted to discussing the criteria for assay acceptability assay acceptance and appropriate approaches to data evaluation. For the establishment of criteria for assay acceptance, 10 laboratories provided data on their background mutant frequencies, plating efficiencies of the negative/vehicle (vehicle) control, cell suspension growth, and positive control mutant frequencies. In order to establish appropriate approaches for data evaluation, the group used a number of statistical methods to evaluate approximately 400 experimental data sets from 10 laboratories entered into a database. While the Workgroup could not, during this meeting, make a final recommendation for the evaluation of data, a general strategy was developed and the Workgroup members agreed to evaluate this new proposed approach using their own laboratory data. This evaluation should lead to a consensus global approach for data evaluation in the near future.

**Keywords:** mouse lymphoma assay (MLA), guideline, workshop

\*1 National Center for Toxicological Research, FDA, USA

\*2 Covance Laboratories, Ltd., UK

\*3 Genetic Toxicology, Safety Assessment, AstraZeneca R&D, Sweden

\*4 Covance Laboratories Inc., USA

\*5 Safety Assessment, AstraZeneca R&D, UK,

\*6 The Dow Chemical Company, USA

\*7 Safeparm Laboratories Ltd., UK

\*8 Sitek Research Laboratories, USA

\*9 Hoffmann-La Roche Ltd., Switzerland

\*10 GlaxoSmithKline, UK

\*11 Aventis Pharma, France

\*12 Johnson & Johnson, USA

\*13 Inveresk Research, Scotland

\*14 BioReliance Corporation, USA

\*15 Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

\*16 Faculty of Engineering, Tokyo University of Science

Zhan, L.<sup>\*</sup>, Sakamoto, H., Sakuraba, M., Wu, D.-S.<sup>\*</sup>, Zhang, L.-S.<sup>\*</sup>, Suzuki, T., Hayashi, M., and Honma, M.: **Genotoxicity of microcystin-LR in human lymphoblastoid TK6 cells.**

*Mutat. Res.*, **557**, 1-6 (2004)

Toxic cyanobacteria (blue-green algae) water blooms have become a serious problem in several industrialized areas of the world.

Microcystin-LR (MCLR) is a cyclic heptapeptidic toxin produced by the cyanobacteria. In the present study, we used human lymphoblastoid cell line TK6 to investigate the in vitro genotoxicity of MCLR. In a 24 h treatment, MCLR induced cytotoxic as well as mutagenic responses concentration-dependently starting at 20 fĒg/ml. At the maximum concentration (80 fĒg/ml), the micronucleus frequency and the mutation frequency at the heterozygous thymidine kinase (TK) locus were approximately 5-times the control values. Molecular analysis of the TK mutants revealed that MCLR specifically mainly induced loss of heterozygosity at the TK locus. These results indicate that MCLR had a clastogenic effect. We discuss the mechanisms of MCLR genotoxicity and the possibility of its being a hepatocarcinogen. **Keywords:** microcystin-LR (MCLR), thymidine kinase (TK) gene mutation, loss of heterozygosity (LOH)

\* West China School of Public Health, China

Honma, M., Izumi, M.<sup>\*</sup>, Sakuraba, M., Tadokoro, S., Sakamoto, H., Wang, W., Yatagai, F.<sup>\*</sup>, and Hayashi, M.: **Deletion, rearrangement, and gene conversion; the genetic consequences of chromosomal double-strand breaks in human cells.**

*Environ. Mol. Mutagen.*, **42**, 288-298 (2003)

To clarify the relative contribution of each pathway and the ensuing genetic changes, we developed a system to trace the fate of DSBs occurring in a single copy gene of the human genome. Lymphoblastoid cell lines TSCE5 and TSCER2 are heterozygous (+/-) or compound heterozygous (-/-), respectively, for the thymidine kinase gene (TK), and we introduced an I-SceI endonuclease site into the gene. EJ for a DSB at the I-SceI site results in TK-deficient mutants in TSCE5 cells, while HR between the alleles produces TK-proficient revertants in TSCER2 cells. We found that almost all DSBs were repaired by EJ and HR rarely contributes to the repair in the system. HR is important to the maintenance of genomic stability in DNA containing DSBs, but, almost all chromosomal DSBs in human cells are repaired by EJ.

**Keywords:** double-strand breaks (DSB), end-joining(EJ), interallelic recombination

\* 理化学研究所

Wang, W., Seki, M.<sup>\*</sup>, Otsuki, M.<sup>\*</sup>, Tada, S.<sup>\*</sup>, Takao, N.<sup>\*</sup>, Yamamoto, K.<sup>\*</sup>, Hayashi, M., Honma, M., and Enomoto, T.<sup>\*</sup>: **The absence of a functional relationship between ATM and BLM, the components of BASC, in DT40 cell.**

*Biochem. Biophys. Acta*, **1688**, 137-144 (2004)

Bloom syndrome (BS) and Ataxia telangiectasia (A-T) are rare autosomal recessive diseases associated with chromosomal instability. The genes responsible for BS and A-T have been identified as BLM and ATM, respectively. To examine whether ATM is involved in the recognition and/or repair of DSBs generated in BLM-/- DT40 cells and to address the functional relationship between the two BASC components, we generated BLM<sup>-/-</sup>/ATM<sup>-/-</sup> DT40 cells and characterized their properties as well as those of ATM<sup>-/-</sup> and BLM<sup>-/-</sup> DT40 cells. BLM<sup>-/-</sup>/ATM<sup>-/-</sup> cells proliferated slightly more slowly than either BLM<sup>-/-</sup> or ATM<sup>-/-</sup> cells. BLM<sup>-/-</sup> cells showed sensitivity to methylmethanesulfonate (MMS) and UV irradiation while ATM<sup>-/-</sup> cells did not show sensitivity to either agent. Dis-

rupting the function of ATM reduced the targeted integration frequency in BLM<sup>-/-</sup> DT40 cells. However, a defect in ATM only slightly reduced the increased sister chromatid exchanges in BLM<sup>-/-</sup> DT40 cells.

Keywords: BLM, ATM, double-strand breaks (DSB)

\* 東北大学薬学部

Shibata, A.<sup>\*1,2</sup>, Masutani, M.<sup>\*1</sup>, Nozaki, T.<sup>\*1</sup>, Kamada, N.<sup>\*3</sup>, Fujihara, H.<sup>\*1</sup>, Masumura, K., Nakagama, H.<sup>\*1</sup>, Sugimura, T.<sup>\*1</sup>, Kobayashi, S.<sup>\*2</sup>, Suzuki, H.<sup>\*3</sup> and Nohmi, T.: **Improvement of the Spi<sup>-</sup> assay for mutations in gpt delta mice by including magnesium ions during plaque formation**

*Env. Mol. Mutagen.*, **41**, 370-372 (2003)

There are several *in vivo* mutation detection systems that utilize transgenic mice, including the Big Blue<sup>®</sup>, Muta<sup>™</sup> mouse, and HITEC strains. *gpt-delta* transgenic mouse is one of them. In *gpt-delta* system, the *red* and *gam* genes are used for Spi<sup>-</sup> selection to detect small to kilobase-sized deletions and the *gpt* gene for analyzing point mutations. We examined the effects of MgSO<sub>4</sub> on the plaque-forming process of Spi<sup>-</sup> mutants with XL-1Blue MRA(P2) as the host, as well as the effects of additional MgSO<sub>4</sub> on the Spi<sup>-</sup> assay.

Keywords: large deletion, Spi<sup>-</sup> mutant assay, Southern blot hybridization

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター

\*<sup>2</sup> 共立薬科大学

\*<sup>3</sup> 中外製薬探索研究所

Yamamura, E.<sup>\*1,2</sup>, Nunoshiba, T.<sup>\*1</sup>, Nohmi, T. and Yamamoto, K.<sup>\*1</sup>: **Hydrogen peroxide-induced microsatellite instability in the *Escherichia coli***

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **306**, 570-576 (2003)

Damage to DNA by reactive oxygen species may be a significant source of endogenous mutagenesis in aerobic organisms. Using an endogenous *tonB* gene as a mutation selective marker in *Escherichia coli*, we have examined whether endogenous oxidative mutagenesis can contribute to genetic instability. We have also used *oxyR*<sup>+</sup> and *oxyR*<sup>-</sup> strains to evaluate how hydrogen peroxide scavenging system can contribute to genetic instability. The highest mutation frequency induced by hydrogen peroxide was 3.8x10<sup>-6</sup> at 600 microM and 5.3 x 10<sup>-6</sup> at 40 microM in *oxyR*<sup>+</sup> and *oxyR*<sup>-</sup>, respectively. Hydrogen peroxide induced minus frameshift mutations predominantly followed by transversions (G:C-->T:A, G:C-->C:G, and A:T-->T:A). The types and the nature of the mutations did not differ between strains. Frameshift mutations occurred at G:C and A:T sites equally, and in repeated and non-repeated sequences equally. It is evident that endogenous oxidative damage to DNA can increase the frequency of strand slippage intermediates occurring during DNA replication and contribute to genomic instability. Our results further indicate that *oxyR* regulon does not take part in the DNA-repair pathway against oxidative damage induced by hydrogen peroxide.

Keywords: Microsatellite instability, Hydrogen peroxide, TonB

\*<sup>1</sup> 東北大学・院・生命科学

\*<sup>2</sup> 三菱ウェルファーム

Gruz, P., Shimizu, M., Pisani, F.M.<sup>\*1</sup>, de Felice, M.<sup>\*1</sup>, Kanke, Y.<sup>\*2</sup> and Nohmi, T.: **Processing of DNA lesions by archaeal DNA polymerases from *Sulfolobus solfataricus***

*Nucleic Acids Res.*, **31**, 4124-4030 (2003)

Spontaneous damage to DNA as a result of deamination, oxidation and depurination is greatly accelerated at high temperatures. Hyperthermophilic microorganisms constantly exposed to temperatures exceeding 80°C are endowed with powerful DNA repair mechanisms to maintain genome stability. Of particular interest is the processing of DNA lesions during replication, which can result in fixed mutations. The hyperthermophilic crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus* has two functional DNA polymerases, PolB1 and PolY1. We have found that the replicative DNA polymerase PolB1 specifically recognizes the presence of the deaminated bases hypoxanthine and uracil in the template by stalling DNA polymerization 3-4 bases upstream of these lesions and strongly associates with oligonucleotides containing them. PolB1 also stops at 8-oxoguanine and is unable to bypass an abasic site in the template. PolY1 belongs to the family of lesion bypass DNA polymerases and readily bypasses hypoxanthine, uracil and 8-oxoguanine, but not an abasic site, in the template. The specific recognition of deaminated bases by PolB1 may represent an initial step in their repair while PolY1 may be involved in damage tolerance at the replication fork. Additionally, we reveal that the deaminated bases can be introduced into DNA enzymatically, since both PolB1 and PolY1 are able to incorporate the aberrant DNA precursors dUTP and dITP.

Keywords: DNA polymerase, *Sulfolobus solfataricus*, deamination

\*<sup>1</sup> イタリア CNR, 蛋白質生化学研究所

\*<sup>2</sup> 大妻女子大・院

Furuno-Fukushi, I.<sup>\*1</sup>, Masumura, K., Furuse, T.<sup>\*1</sup>, Noda, Y.<sup>\*1</sup>, Takahagi, M.<sup>\*1</sup>, Saito, T.<sup>\*1</sup>, Hori, Y.<sup>\*1</sup>, Suzuki, H.<sup>\*2</sup>, Wynshaw-Boris, A.<sup>\*3</sup>, Nohmi, T. and Tatsumi, K.<sup>\*1</sup>: **Effect of *Atm* disruption on spontaneously-arising and radiation-induced deletion mutations in mouse liver**

*Radiation Res.*, **160**: 549-558 (2003)

Deletion mutations were efficiently recovered in mouse liver after total-body irradiation with X rays by using a transgenic mouse "*gpt-delta*" system that harbored a lambda EG10 shuttle vector with the *red* and *gam* genes for Spi<sup>-</sup> (sensitive to P2 lysogen interference) selection. We incorporated this system into homozygous *Atm*-knockout mice as a model of the radiosensitive hereditary disease ataxia telangiectasia (AT). Lambda phages recovered from the livers of X-irradiated mice with the *Atm*<sup>+/+</sup> genotype showed a dose-dependent increase in the Spi<sup>-</sup> mutant frequency up to six-fold at 50 Gy over the unirradiated control of 2.8x10<sup>-6</sup>. The livers from *Atm*<sup>-/-</sup> mice yielded a virtually identical dose-response curve for X rays with a background fraction of 2.4x10<sup>-6</sup>. Structural analyses revealed no significant difference in the proportion of -1 frameshifts and larger deletions between *Atm*<sup>+/+</sup> and *Atm*<sup>-/-</sup> mice, although larger deletions prevailed in X-ray-induced Spi<sup>-</sup> mutants irrespective of *Atm* status. While a possible defect in DNA repair after irradiation has been strongly indicated in the literature for nondividing cultured cells *in vitro* from AT patients, the *Atm* disruption does not significantly affect radiation mutagenesis in the station-

ary mouse liver *in vivo*.

Keywords: ataxia telangiectasia, radiation mutagenesis, deletion mutations

\*1 放射線総合医学研究所

\*2 中外製薬探索研究所

\*3 University of California, San Diego

Masumura, K., Totsuka, Y.<sup>1</sup>, Wakabayashi, K.<sup>1</sup> and Nohmi, T.: **Potent genotoxicity of aminophenylnorharman, formed from non-mutagenic norharman and aniline, in the liver of gpt delta transgenic mouse**

*Carcinogenesis*, **24**, 1985-1993 (2003)

Aminophenylnorharman (APNH) is formed from non-mutagenic norharman and aniline, and is mutagenic to *Salmonella typhimurium* TA98 with S9 mix. Norharman and aniline are present in cigarette smoke and cooked foods and both compounds are detected in human urine samples, suggesting that APNH could be a mutagenic and carcinogenic human risk factor. The purpose of the present study was to determine the *in vivo* mutagenicity of APNH. Male gpt delta transgenic mice were fed a diet containing 10 or 20 p.p.m. APNH for 12 weeks. The gpt mutant frequency (MF) in the liver increased 10-fold in 20 p.p.m. APNH-treated mice, which was almost equivalent to the MF observed in the liver of the same transgenic mice treated with 300 p.p.m. 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline for 12 weeks. In the colon mucosa, the gpt MF increased approximately 5-fold in 20 p.p.m. APNH-treated mice. Our results suggest that APNH is a strong hepatic mutagen in mice. The APNH-induced gpt mutations in the liver were dominated by G:C to T:A transversions, followed by G:C to A:T transitions. They also included single G:C deletions in G:C run sequences and 2 bp deletions: GCGC to GC and CGCG to CG. The Spi- deletion MF in the liver was 13-fold higher in 20 p.p.m. APNH-treated mice, relative to the control, and were dominated by single base pair deletions, in particular, in G:C run sequences. Large deletions were rare. The mutational characteristics induced by APNH are compared with those induced by other heterocyclic amines, and the human risk of APNH is discussed.

Keywords: aminophenylnorharman, liver, gpt delta transgenic mouse

\*1 国立がんセンター

Masumura, K., Horiguchi, M.<sup>1</sup>, Nishikawa, A.<sup>2</sup>, Umemura, T.<sup>2</sup>, Kanki, K.<sup>2</sup>, Kanke, Y.<sup>1</sup> and Nohmi, T.: **Low dose genotoxicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) in gpt delta transgenic mice**

*Mutat. Res.*, **541**, 91-102 (2003)

Although humans are chronically exposed to most environmental chemicals at low doses, genotoxicity assays with rodents are usually performed at high doses with short treatment period. To investigate the dose-response of genotoxicity at lower doses, gpt delta transgenic mice were fed a diet containing 300, 30 or 3 parts per million (ppm) of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) for 12 weeks and the gpt mutations in the liver were analyzed. In addition, the mice were continuously fed a diet containing MeIQx at a dose of 300 ppm for 78 weeks to

examine the effect of a long-term treatment. In the mice treated for 12 weeks, the gpt mutant frequencies (MFs) were 8.6-, 2.3- and 1.2-fold higher than the control level at the doses of 300, 30 and 3 ppm, respectively. G:C to T:A transversion was the most predominant type of mutations and the fold increases in the specific MF of G:C to T:A were 58.2, 4.4 and 1.7 above the control at the three doses, respectively. The increases in the whole gpt and specific MFs at 3 ppm were not statistically significant. In the mice treated with 300 ppm of MeIQx for 78 weeks, the gpt MF was about 20 times higher than that of the untreated mice fed a control diet for 78 weeks, which was about two times higher than that of the untreated mice at 12 weeks. These results suggest that no obvious genotoxic effects can be detectable at the dose of MeIQx at 3 ppm in the liver and a longer treatment substantially enhances the genotoxicity. Factors constituting the practical threshold dose are discussed.

Keywords: MeIQx, mutation spectrum, gpt-delta transgenic mice

\*1 大妻女子大・院

\*2 病理部

Shibata, A.<sup>1,2,3</sup>, Masutani, M.<sup>4</sup>, Kamada, N.<sup>4</sup>, Masumura, K., Nakagama, H.<sup>1</sup>, Kobayashi, S.<sup>2</sup>, Teraoka, H.<sup>3</sup>, Suzuki, H.<sup>4</sup> and Nohmi, T.: **An efficient method for mapping and characterizing structures of deletion mutations in gpt delta mice using Southern blot analysis with oligo DNA probes**

*Env. Mol. Mutagen.*, **43**, 204-207 (2004)

Published methods for determining the deletion junctions in mutant transgenes utilize either conventional PCR screening or analysis by restriction fragment length polymorphism (RFLP) in combination with further sequencing. In the case of complex-type deletions that involve rearrangements of DNA sequence, the above methods are time-consuming and inefficient. To overcome these difficulties in determining deletion structures, we here introduce a novel method using Southern blot analysis with oligonucleotide probes.

Keywords: large deletion, screening, Southern blot hybridization

\*1 国立がんセンター

\*2 共立薬科大学

\*3 東京医科歯科大学

\*4 中外製薬探索研究所

Iwashita, S.<sup>1,2</sup>, Osada, N.<sup>3</sup>, Itoh, T.<sup>4</sup>, Sezaki, M.<sup>1</sup>, Oshima, K.<sup>5</sup>, Hashimoto, E.<sup>5</sup>, Kitagawa-Arita, Y.<sup>5</sup>, Takahashi, I.<sup>3</sup>, Masui, T., Hashimoto, K.<sup>3</sup>, and Makalowski, W.<sup>6</sup>: **A Transposable Element-Mediated Gene Divergence that Directly Produces a Novel Type Bovine Bcnt Protein Including the Endonuclease Domain RTE-1**

*Mol. Biol. Evol.*, **20**, 1556-1563, 2003

Ruminant Bcnt protein with a molecular mass of 97kDa (designated p97Bcnt) includes a region derived from the endonuclease domain of a retrotransposable element RTE-1. Human and mouse Bcnt proteins lack the corresponding region but have a highly conserved 82-amino acid region at the C-terminus that is not present in p97Bcnt. By screening a bovine BAC library, we found two more bcnt-related genes: human-type bcnt (h-type bcnt) and its processed pseudogene. Where as the pseudogene is localized

on chromosome 26, both *bcnt*<sup>p97</sup> and the h-type *bcnt* genes are found on bovine chromosome 18, synteny regions of human chromosome 16 on which human BCNT is localized. Complete nucleotide sequence of the BAC clone reveals that the *bcnt*<sup>p97</sup> and h-type *bcnt* genes are located just 6kb apart in the tandem manner. The two h-type *bcnt* and *bcnt*<sup>p97</sup> genes are active at both the transcriptional level and the protein level. H-type bovine Bcnt is more likely human BCNT than p97Bcnt, when compared at their N-terminal regions. However, phylogenetic analysis using the N-terminal region of the *bcnt* gene family revealed that the duplication of bovine genes occurred within the bovine lineage with significantly accelerated substitution in *bcnt*<sup>p97</sup>. This acceleration was not ascribed definitely to positive selection. After duplication, one of the bovine *bcnt* genes recruited the endonuclease domain of an intronic RTE-1 repeat accompanied by the accelerated substitution at the 5'-ORF, resulting in creation of a novel type Bcnt protein in bovine.

Keywords: gene duplication, pseudogene, relaxed evolution

<sup>1</sup> Mitsubishi Kagaku Institute of Life Sciences, Tokyo

<sup>2</sup> Yokohama National University, Yokohama

<sup>3</sup> National Institute of Infectious Diseases, Tokyo

<sup>4</sup> Shirakawa Institute of Animal Genetics, Fukushima

<sup>5</sup> Hitachi Instruments Service Co., Ltd. Tokyo

<sup>6</sup> Pennsylvania University, Pennsylvania

#### 増井 徹: ゲノム研究の時代

世界, 11月号, 199-208, 2003

昨年一月, 英国バイオバンクの調査のために英国ウエルカム財団のBiomedical Ethicsの責任者にインタビューした。彼女らの活動の目的は、「ゲノム科学と脳科学」にまつわる諸問題の調査・研究だということ。これら二つの主題は、少々大げさな表現を許していただければ、西欧社会を支える「人間」の在りように対する見方(人間観)を変化させる性質をもつと考えられる。そのように考えるといろいろなことに合点が行く。

国際協力研究であるヒトゲノムプロジェクトの終結宣言(2003年4月)を受け、公開されたデータを元に、各国はこの成果を自国民や自国にとって、そしてその基礎となる企業活動にとって、最も良い形で収穫するかに血脈を燃やしている。その政策研究活動の一部がBiomedical Ethicsの分野を形成しているときさ見えるほど、諸外国のゲノム研究に関連する報告書は、「倫理」と言いつつ、国としての戦略と戦術で貫かれている。勿論、国の施策は国民の支持なしには長続きしない、その点で、ゲノム研究においても、市民の福祉と倫理が重要な課題となっているのである。

このような状況の中で、現在調査研究している英国のゲノム研究を取り巻く報告書の山を眺めながら、アイスランドと英国の取組について紹介しつつ、ゲノム研究の現状の一側面について論考を試みる。そして、ゲノム研究がもたらす社会・市民の変容について考える機会となれば幸いである。

Keywords: biobank, genome information, genome research

#### 増井 徹: 英国バイオバンクの意味するもの

ジュリスト, 1247, 29-36, 2003

ヒトゲノムプロジェクトの終結が宣言された(2003年4月14日)ことは、記憶に新しい。それが、DNAの2重ラ

セン構造の発見50周年と重なり、欧米でのお祭り気分を盛り上げているという。現在この成果が我々人類にどのような恩恵と災禍をもたらすのかについて、多様な議論がなされている。昨年8月末、オーストラリア法律改正委員会の公表した議論のための基礎資料は1000ページほどあり、今年3月に結論を出す予定であったが、ほぼ1年延期され、来年の初めに最終報告をまとめるという。この分野の進歩の早さもあるが、本稿でのその一端を示すように、ヒトゲノム研究が巻き起こす問題の広さと深さを示していると思われる。このような状況を背景に、欧米をはじめとする諸外国ではヒトゲノム研究の成果をその国と国民にとって最も好ましい形で収穫するための枠組み作り必死に取り組んでいる。英国はこのような動きの中で、国民の理解、支持を得つつ、ゲノム研究の成果を国民の利益として収穫する方策を模索している。本稿で紹介する1999年から始まったUK Biobankの立ち上げを軸にして、保健政策を含めた社会基盤の整備、製薬企業活動の取り込みと活性化を視野にいれた総合的な活動が行われている。日本と近い国民皆保険医療制度を持ち、ゲノム研究の発祥地であると同時に、80年代の社会的変化と90年代の遇い続く不祥事(牛海綿状脳症、遺伝子改変作物、小児臓器の無断保存)を経験した島国である英国。そこで計画されつつあるUK Biobankは45-69歳の一般市民50万人の自主的・積極的参加を募り、今後30年にわたってその病歴(健康情報)及び生活習慣・環境情報とを追跡調査し、ゲノム解析情報と共にデータベース化して一般疾患の予防・診断・治療に供しようという壮大なゲノムコホート研究計画である。本稿はこの動きについて概観すると同時に、上述のような国際的状況の中で、2001年3月のゲノム・遺伝子解析研究指針策定後、ゲノム研究の社会での意義についての議論を行っていない日本のゲノム研究についても言及を試みる。

Keywords: large scale cohort study, genome information, parliamentary control

増井 徹: 医療と医学・生物学研究における one of them 人の法と医の倫理 (唄孝一先生賀寿論文集), 651-681, 2004

この8年ほどの間、人体由来のモノと情報を医学・生物学研究に利用するために、どのような社会基盤が必要であるかについて考える機会が与えられた。はじめは、自分の研究のために人組織を入手する筋道を社会的に説明できるものにしたという願望からの出発であった。しかし、考えが進むにつれ問題の大きさとその深さ、そして、科学研究の公共性・公正性を、人(ヒト)という一生物でありながら、特別な配慮を要する種において貫き通すことの重要性と難しさを実感することとなった。

この5年間に「研究倫理指針」群が策定され、それらを切り貼りすることで、人体由来のモノと情報(人資料)を利用した医学・生物学研究が可能となったように思われている。しかし、医学・生物学研究が作り出す多様な問題を支える人間像、また、人間の一部分であったモノ、人から発せられた情報の性質という根本的な問題の検討は脇にどけられているように思われる。例えば、種としての人間、利害関係を持つ諸集団—そこには国際社会、民族、国家、地方自治体、地域社会、患者団体、親族、家族、兄弟というように多様な段階があるのだが—と、個人—というように、問題の性質は多岐にわたる。このような解き難いと思われる混沌の中で、患者

の治療・診断に役立つという夢のもとに、人に由来する資料の医学・生物学研究利用の開け難い扉は、「指針群と実績」によって開かれたといった状況である。

先ほど言及した科学研究の公共性と公正性を貫徹する、という言葉を考えてときに、「社会の役にたつ研究」という形で社会に受け入れられ易い顔を誇示しながら研究が行なわれることは、大きな問題を含む。それは、研究とは保障のない「やってみなければわからない」ものだという思いを捨てたなら、研究はその名に値しないかもしれないという畏れを、専門家が喪失する可能性を意味すると考えるからである。勿論、研究者は研究費を得るために、現実には虚と実が必要である。しかし、研究者が「虚構を虚偽と取り違え」ることのないようにと思うのである。さらに、現在、私たちが評価できるものは、すでに評価の定まったものであるということに畏れるべきである。今ほどわれわれの経験もなく、対応策の蓄積もない問題に攻め立てられている時も少ないのかもしれない。それだからこそ、科学研究の公共性と公正性にこだわるのである。

この原稿は、この間に私の中で堆積した「もの」が出口を見つけようと蠕動している様子のメモである。

Keywords: bio-medical research, medical practice, humanity, science

Ema, M., Miyawaki, E., Hirose, A. and Kamata, E.: **Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate,** *Reprod Toxicol*, 17, 407-412 (2003)

The objective of this study was to determine the adverse effects of monobenzyl phthalate (MBEP), a major metabolite of butyl benzyl phthalate (BBP), on the development of the reproductive system, and to assess the role of MBEP in the antiandrogenic effects of BBP. Pregnant rats were given MBEP by gavage at 167, 250, or 375 mg/kg on days 15 to 17 of pregnancy. Fetuses were examined on day 21 of pregnancy. Maternal body weight gain and food consumption were significantly decreased at 167 mg/kg and higher. The fetal weights were significantly lowered at 375 mg/kg. A significant increase in the incidence of undescended testes and decrease in the anogenital distance (AGD) and ratio of AGD to the cube root of body weight was found in male fetuses at 250 mg/kg and higher. The AGD and ratio of AGD to the cube root of body weight of female fetuses in the MBEP-treated groups were comparable to those in the control group. The present data indicate that MBEP produces adverse effects on the development of the reproductive system in male offspring and suggest that MBEP may be responsible for the induction of the antiandrogenic effects of BBP.

Keywords: monobenzyl phthalate, antiandrogenic effect, butyl benzyl phthalate

Ema, M., Harazono, A., Fujii, S. and Kawashima, K.: **Evaluation of developmental toxicity of  $\beta$ -thujaplicin (hinokitiol) following oral administration during organogenesis in rats,** *Food Chem Toxicol*, 42, 465-470 (2004)

The objective of this study was to evaluate the developmental toxicity of  $\beta$ -thujaplicin (TP) in rats. Pregnant rats were given

TP by gastric intubation at 15, 45, or 135 mg/kg on days 6-15 of pregnancy. The maternal body weight gain during administration at 45 and 135 mg/kg and after administration at 136 mg/kg and adjusted weight gain at 45 and 135 mg/kg were significantly reduced. A significant decrease in food consumption during and after administration was found at 45 and 135 mg/kg. A significant increase in the incidence of postimpla. A significantly lower weight was found in female fetuses at 45 and 135 mg/kg and in male fetuses at 135 mg/kg. Although a significantly increased incidence of fetuses with skeletal variations and decreased degree of ossification were found at 135 mg/kg, no significant increase in external, skeletal and internal malformations was detected after administration of TP. The data demonstrated that TP had adverse effects on embryonic/fetal survival and growth only at maternal toxic doses. No adverse effects on morphological development were found in rats fetuses. Based on the significant decreases in maternal body weight gain and weight of female fetuses at 45 mg/kg and higher, it is concluded that the no-observed-adverse-effect levels (NOAELs) of TP for both dams and fetuses are considered to be 15 mg/kg in rats.

Keywords:  $\beta$ -thujaplicin, hinokitiol, developmental toxicity

谷本 剛: 原薬 GMP, 不純物プロファイルによる製造工程管理  
医薬品研究, 34, 405-436 (2003)

ICHで合意された原薬 GMP ガイドラインでは不純物プロファイルによる製造工程管理が規定されている。日本では不純物プロファイルによる製造工程管理の概念が十分に浸透していないことから、業界に対して不純物プロファイルの確立方法や同等性評価基準のあり方に対する調査を行い、不純物プロファイルの作成方法とその同等性評価法を示して不純物プロファイルによる製造工程管理の重要性について解説した。また、提示した同等性評価基準の科学的根拠を分析データに基づいて示した。

Keywords: GMP, active ingredient, impurity profile

谷本 剛, 井越伸和<sup>\*1</sup>, 宮川 剛<sup>\*1</sup>, 市川俊治<sup>\*1</sup>, 清原孝雄<sup>\*2</sup>, 佐々木秀樹<sup>\*2</sup>, 高本幸子<sup>\*2</sup>: 医薬品の承認許可制度の見直しに伴う承認事項の一部変更のあり方について、(その1) 軽微な変更の範囲

医薬品研究, 35, 1-21 (2004)

薬事法の改正により医薬品の承認制度が製造承認から製造販売承認に変更された。これに伴い品質、有効性、安全性に加えて製造管理や品質管理が承認の要件になった。このような変更に伴って、承認事項の変更に際して品質に重大な影響を及ぼさない軽微な変更は一部変更申請を不要とし、届出でよいこととされた。そこで、届出でよい軽微な変更の範囲を具体的に策定するための検討を行った。この検討では軽微な変更該当する変更事項を製造施設、製造方法、成分・分量及び本質、規格及び試験方法のそれぞれについて検討したが、規格及び試験方法に関しては分析化学的観点から科学的に妥当な軽微な変更事項を策定した。

Keywords: changes to approved NAD, minor change

<sup>\*1</sup>(社) 東京医薬品工業協会

<sup>\*2</sup> 大阪医薬品協会

谷本 剛, 中村耕治<sup>\*1</sup>, 大澤 孝<sup>\*1</sup>, 夜久晃治<sup>\*1</sup>, 川上公範<sup>\*1</sup>, 岡部年真<sup>\*1</sup>, 山下春雄<sup>\*2</sup>, 高橋三郎<sup>\*2</sup>, 桜井和久<sup>\*3</sup>, 村井敏美, 中川ゆかり, 開原亜樹子: オキシトシン標準品の新規設定に関する分析化学的研究

医薬品研究, 35, 250-254 (2004)

脳下垂体後葉標準品は脳下垂体後葉ホルモン製剤であるオキシトシン注射液の定量法及び純度試験の標準品として使用され, ウシ脳下垂体のアセトン乾燥粉末を原料として製造されていた。しかし, 狂牛病問題でウシ脳を一般に入手することは不可能となり, 脳下垂体後葉標準品のロット更新が困難になった。一方, オキシトシン注射液の主薬には化学合成で得たオキシトシンペプチドが使用されているため, ウシ脳から製する脳下垂体後葉標準品に代えて合成ペプチドを原料としたオキシトシン標準品を設定することにした。原料ペプチドの純度や構造を分析化学的に評価し, ヨーロッパ薬局方オキシトシン標準品の製法を準用してオキシトシン標準品候補品を作製し, その力価を日局脳下垂体後葉標準品を対象にして生物検定法で求めた。

Keywords: oxytocin, reference standard, posterior pituitary hormone

<sup>\*1</sup> 田辺製薬 (株)

<sup>\*2</sup> 帝国臓器製薬 (株)

<sup>\*3</sup> 富士薬品工業 (株)

谷本 剛, 夜久晃治<sup>\*1</sup>, 川上公範<sup>\*1</sup>, 岡部年真<sup>\*1</sup>, 山下春雄<sup>\*2</sup>, 高橋三郎<sup>\*2</sup>: 日本薬局方医薬品各条の脳下垂体後葉ホルモン製剤における試験方法に関する分析化学的研究 - オキシトシン注射液の試験方法に関する分析化学的検討 (第1報) -

医薬品研究, 35, 255-264 (2004)

日局オキシトシン注射液の基原はウシ又はブタの脳下垂体後葉から抽出したオキシトシン又は合成によって得たオキシトシンペプチドと規定されており, その規格は性状, pH, 純度試験, 定量法で構成されている。純度試験は夾雑するバソプレシンに対するラットを用いた生物検定法で設定され, 定量法にはニワトリを用いた生物検定法が設定されている。この規格構成及び試験方法は下垂体由来のオキシトシンを前提にしたもので, 現在臨床使用されているものは化学合成オキシトシンペプチドである。一方, 標準品も化学合成で得たオキシトシンペプチドで設定された。そこで, オキシトシン注射液の主成分が合成オキシトシンペプチドであること, オキシトシン標準品が設定されたことを踏まえて, 「オキシトシン注射液」の規格試験法の抜本的な見直しを行い, 具体的な規格試験法の試案を作成した。

Keywords: oxytocin, oxytocin injection, Japanese Pharmacopoeia

<sup>\*1</sup> 田辺製薬 (株)

<sup>\*2</sup> 帝国臓器製薬 (株)

津村ゆかり, 石光 進, 大滝佳代<sup>\*1</sup>, 内海宏之<sup>\*1</sup>, 松本延之<sup>\*1</sup>, 駄馬正樹<sup>\*2</sup>, 土屋 鍛<sup>\*2</sup>, 右京政補<sup>\*2</sup>, 外海泰秀: 農作物中の104種農薬残留スクリーニング分析に関わる試験技能評価の試み

食品衛生学雑誌, 44, 234-245(2003)

国内の8試験機関の参加を得て, 農作物中の104種農薬の残留スクリーニング分析に関わる試験技能評価を試みた。評価項目は検出下限値, 内部精度評価 (添加回収試験)・外

部精度評価 (ブラインドスパイク試験) とした。104項目の農薬に関して, GCの検出下限値及び添加回収率から, 農作物中における一斉残留スクリーニングが全く不可能であると考えられるものはなかった。ブラインドスパイク試験 (添加量は残留基準値程度) の結果, 農薬の検出効率の推定値は, 機関によって65-100%と開きがあった。また, 含有されていない農薬を検出したと判断した頻度は, 5回の試験で15農薬の誤検出をした機関がある一方で, 全く誤検出のない機関もあった。参加各機関の多成分農薬スクリーニング技能水準にはかなりの開きがあることがうかがえた。

Keywords: proficiency test, pesticide, screening

<sup>\*1</sup> 横浜検疫所 輸入食品・検疫検査センター

<sup>\*2</sup> 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Saito, I.<sup>1</sup>, P, Sakai, Y.<sup>2</sup>, Tsuchida, Y.<sup>2</sup> and Tonogai, Y.: Estimated daily intake of plasticizers in 1-week duplicate diet sample following regulation of DEHP-containing PVC gloves in Japan

Food Add. Contam., 20, 317-324 (2003)

Duplicate hospital diet samples obtained over 1 week in 2001 were analysed to estimate the daily intake of plasticizers and the results were compared with those obtained in 1999. One-week duplicate diet samples provided by three hospitals in three remote prefectures of Japan were analysed as individual meals. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) was detected at 6-675ngg<sup>-1</sup> in 62 of 63 meals, significantly lower levels compared with those detected in 1999. Levels of di(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) and diisononyl phthalate (DINP) also decreased. The mean intake of plasticizers estimated from all samples was 160 µg DEHP day<sup>-1</sup>, 12.5 µg DEHA day<sup>-1</sup>, 4.7 µg DINP day<sup>-1</sup> and 3.4 µg butylbenzyl phthalate day<sup>-1</sup>.

Keywords: plasticizer, phthalate, hospital food

<sup>\*1</sup> 愛知県衛生研究所

<sup>\*2</sup> 新潟県保健環境科学研究所

井上智子\*, 佐々木さおり\*, 内川誠二\*, 平原親嘉\*, 塩見幸博\*, 外海泰秀: イオントラップ型GC/MS/MSによる農作物中低濃度レベルの残留農薬測定

食品衛生学雑誌, 44, 310-315(2003)

食品中の夾雑物のためGC分析が困難な冷凍枝豆, とうもろこし, ほうれんそう, 紅茶, ウーロン茶または緑茶を前処理した試験溶液に有機リン系農薬のクロロピリホス及び有機塩素系農薬のα-BHC, β-BHC, γ-BHC, δ-BHC, pp-DDD, pp-DDE, op-DDT, pp-DDT, アルドリン及びディルドリンを0.01-0.125 µg/ml エンドリンを0.02-0.25 µg/ml 添加し, イオントラップ型GC/MS/MSで測定した。その結果, GC/MSのスキャン法やSIM法では食品マトリックスの影響によって正確に定性, 定量できなかった上記農薬をいずれも高感度に測定することができた。また, 各食品試験溶液にエンドリンが0.02 µg/ml, それ以外の農薬が0.01 µg/ml になるように添加したところ, 61.2-138.3%が回収された。これらの結果から, GC/MS/MSは食品マトリックスの妨害のためGC/MSでは検出が困難な低濃度の農薬の定性及び定量に適していることが明らかになった。

Keywords: ion-trap GC/MS/MS, matrix, pesticide

<sup>\*</sup> 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

Ishimitsu, S., Yoshii, K., Tsumura, Y. and Tonogai Y. : **Determination of fenoxaprop-ethyl in agricultural products by HPLC with photometric detection and mass spectrometry** *J. Health Sci.*, **49**, 492-496 (2003)

A method was developed for the determination of 6-chloro-2,3-dihydrobenzoxazol-2-one(CDHB) generated by the acid decomposition of fenoxaprop-ethyl and fenoxaprop in agricultural products. Fenoxaprop-ethyl and fenoxaprop were extracted from agricultural products using acetonitrile, and the extract was acidified by 0.5mol/l hydrochloric acid to make CDHB. The CDHB was extracted again into ethyl acetate and cleaned up using Sep-Pak Plus Diol and Bond Elut AccuCAT cartridge columns. The recoveries from brown rice, wheat, cotton seed, onion, carrot, sweet potato and cabbage exceeded 70% by HPLC(UV). However, soybean, green soybeans and kidney beans showed many interference peaks in the UV spectra, and Florisil column chromatography was necessary for additional purification. The fortified peaks were confirmed by LC/MS with ESI, and the CDHB peak was quantitatively determined. Almost the sample result was obtained by HPLC(UV) and LC/MS(SIM).

Keywords: fenoxaprop-ethyl, pesticide, HPLC

Yoshii, K., Ishimitsu, S., Tonogai, Y., Arakawa, K.\*, Murata, H.\* and Mikami, H.\*: **Simultaneous determination of emamectin, its metabolites, milbemectin, ivermectin and abamectin in tomato, japanese radish and tea by LC/MS** *J. Health Sci.*, **50**, 17-24 (2004)

We developed a simple and rapid analytical method for determining the residues of emamectin benzoate, milbemectin, abamectin, ivermectin, and emamectin metabolites in tomato, japanese radish and japanese tea by LC/MS with ESI. A sample extracted with acetone was simply cleaned up using only a Sep-Pak C18, and then directly measured by LC/MS (ESI). Several LC/MS measurement conditions were studied that included the mobile phase, solvent for sample solution, range of calibration and standard deviation of the measurement. Detecting target macrocyclic lactone chemicals with methanol as the mobile phase was more sensitive than acetonitrile, especially, milbemectin. The detection limits of these chemicals were 0.1 to 0.5  $\mu$ g/ml, and they were similar or more sensitive to the previous fluorescence detection method.

Keywords: emamectin, LC/MS, matrix-matched calibration

\* 島津製作所, 分析機器事業部

Kamada H.\*<sup>1</sup>, Tsutsumi Y., Yoshioka Y., Yamamoto Y.\*<sup>2</sup>, Kodaiara H.\*<sup>3</sup>, Tsunoda S.\*<sup>4</sup>, Okamoto T.\*<sup>3</sup>, Mukai Y.\*<sup>3</sup>, Shibata H.\*<sup>3</sup>, Nakagawa S.\*<sup>3</sup>, Mayumi T.\*<sup>5</sup> : **Design of a pH-sensitive polymeric carrier for drug release and its application in cancer therapy**

*Clin. Cancer Res.*, **10**, 2545-2550 (2004)

In this study, to optimize the polymeric drug delivery system for cancer chemotherapy, we developed a new pH-sensitive polymeric carrier, poly(vinylpyrrolidone-co-dimethylmaleic anhydride) [PVD], that could gradually release native form of drugs with full activity, from the conjugates in response to changes in

pH. We examined the usefulness of PVD as a polymeric drug carrier. PVD was radically synthesized with vinylpyrrolidone and 2,3-dimethylmaleic anhydride, which is known to be a pH-reversible amino-protecting reagent. Conjugates between PVD and other drugs, such as Adriamycin (ADR), were prepared under the slightly basic conditions (pH 8.5). The drug-release pattern and the anti-tumor activity of PVD were examined. At pH 8.5, the release of the drugs from the conjugate was not observed. In contrast, PVD could release fully active drugs in the native form in response to the change in pH near neutrality, and gradually released drugs at neutral pH (7.0) and slightly acidic pH (6.0). The drug-release pattern in serum was almost similar to that observed during these physiological conditions. The PVD-conjugated ADR showed superior antitumor activity against sarcoma-180 solid tumor in mice, and it had less toxic side effects than free ADR. This enhancement in the antitumor therapeutic window may be due to not only the improvement of plasma half-lives and tumor accumulation of ADR, but also its controlled and sustained release from the conjugates in vivo. These results indicate that PVD is an effective polymeric carrier for optimizing cancer therapy.

Keywords: tumor targeting, bioconjugation, controlled release

\*<sup>1</sup> 三重大学医学部

\*<sup>2</sup> 聖マリアンナ医科大学

\*<sup>3</sup> 大阪大学薬学研究科

\*<sup>4</sup> 産業技術総合研究所

\*<sup>5</sup> 神戸学院大学薬学研究科

Eto Y.\*<sup>1</sup>, Gao J.Q.\*<sup>1</sup>, Sekiguchi F.\*<sup>1</sup>, Kurachi S.\*<sup>1</sup>, Katayama K.\*<sup>2</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Tsutsumi Y., Mayumi T.\*<sup>3</sup>, Nakagawa S.\*<sup>1</sup> : **Neutralizing antibody evasion ability of adenovirus vector induced by the bioconjugation of methoxypolyethylene glycol succinimidyl propionate (MPEG-SPA)**

*Biol Pharm Bull.*, **27**, 936-938 (2004)

Although adenovirus vectors (Ad) which possesses high transduction efficiency are widely used for gene therapy in animal models, clinical use is very limited. One of the main reason is that nearly 80% of human beings possess anti-Ad antibodies. In this study, we tried to modify Ad with methoxypolyethylene glycol (MPEG) activated by succinimidyl propionate, and, the neutralizing antibody evasion ability of PEGylated Ad was evaluated. The results demonstrated that PEG-Ad showed stronger protection ability against anti-Ad neutralizing antibody compared to that with unmodified-Ad. Considering there are many people carrying neutralizing antibody against Ad and readministration of Ad was necessary for treating chronic diseases, this strategy, which was also applicable to other vectors, can be used for developing improved vectors.

Keywords: adenovirus vector, PEGylation, gene therapy

\*<sup>1</sup> 大阪大学薬学研究科

\*<sup>2</sup> 理化学研究所

\*<sup>3</sup> 神戸学院大学薬学研究科

Kodaira H.\*<sup>1</sup>, Tsutsumi Y., Yoshioka Y., Kamada H.\*<sup>2</sup>, Kaneda Y.\*<sup>1</sup>, Yamamoto Y.\*<sup>3</sup>, Tsunoda S.\*<sup>4</sup>, Okamoto T.\*<sup>3</sup>, Mukai Y.\*<sup>1</sup>,

Shibata H.<sup>\*1</sup>, Nakagawa S.<sup>\*1</sup>, Mayumi T.<sup>\*5</sup> : **The targeting of anionized polyvinylpyrrolidone to the renal system**  
*Biomaterials*, **25**, 4309-4315 (2004)

We reported that the co-polymer composed of vinylpyrrolidone and maleic acid selectively distributed into the kidneys after i.v. injection. To further optimize the renal drug delivery system, we assessed the renal targeting capability of anionized polyvinylpyrrolidone (PVP) derivatives after intravenous administration in mice. The elimination of anionized PVP derivatives from the blood decreased with increasing anionic groups, and the clearance of carboxylated PVP and sulfonated PVP from the blood was almost similar. But carboxylated PVP efficiently accumulated in the kidney, whereas sulfonated PVP was rapidly excreted in the urine. The renal levels of carboxylated PVP were about five-fold higher than sulfonated PVP. Additionally, carboxylated PVP was effectively taken up by the renal proximal tubular epithelial cells in vivo after i.v. injection. These anionized PVP derivatives did not show any cytotoxicity against renal tubular cells and endothelial cells in vitro. Thus, these carboxylated and sulfonated PVPs may be useful polymeric carriers for drug delivery to the kidney and bladder, respectively.

**Keywords:** drug targeting, bioconjugation, DDS

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 三重大学医学部

\*3 聖マリアンナ医科大学

\*4 産業技術総合研究所

\*5 神戸学院大学薬学研究科

Yamamoto Y.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Yoshioka Y., Kamada H.<sup>\*2</sup>, Kamada-Sato K.<sup>\*3</sup>, Okamoto T.<sup>\*3</sup>, Mukai Y.<sup>\*3</sup>, Nakagawa S.<sup>\*3</sup>, Mayumi T.<sup>\*4</sup> : **Poly(vinylpyrrolidone-co-dimethyl maleic acid) as a novel renal targeting carrier**

*J. Control. Release.*, **95**, 229-237 (2004)

Poly(vinylpyrrolidone-co-dimethyl maleic acid) (PVD) was found to have high renal-targeting capability and safety as a drug carrier. To optimize the renal drug delivery system using PVD, the relationship between the molecular weight of PVD and its renal accumulation were evaluated in mice by their intravenous injection. It was found that the molecular size of 6-8 kDa was associated with the highest renal accumulation. The specific bioactivity of PVD-conjugated superoxide dismutase (SOD) relative to that of unmodified SOD gradually decreased with an increase in the degree of modification to SOD with PVD6K. The conjugated SOD (L-PVD-SOD) with the molecular size of 73 kDa, which had comparable specific bioactivity with native SOD, showed longer plasma half-life than native SOD. About sixfold more L-PVD-SOD was distributed to the kidneys than native SOD 3 h after intravenous injection, whereas extensive PVD modification did not enhance the renal accumulation of SOD. This L-PVD-SOD effectively accelerated recovery from mercuric chloride-induced acute renal failure in vivo. These results suggest that L-PVD-SOD may be the optimal derivative as a potential therapeutic agent to various renal diseases.

**Keywords:** renal targeting, bioconjugation, protein therapy

\*1 聖マリアンナ医科大学

\*2 三重大学医学部

\*3 大阪大学薬学研究科

\*4 神戸学院大学薬学研究科

Kaneda Y.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Yoshioka Y., Kamada H.<sup>\*2</sup>, Yamamoto Y.<sup>\*3</sup>, Kodaira H.<sup>\*1</sup>, Tsunoda S.<sup>\*4</sup>, Okamoto T.<sup>\*1</sup>, Mukai Y.<sup>\*1</sup>, Shibata H.<sup>\*1</sup>, Nakagawa S.<sup>\*1</sup>, Mayumi T.<sup>\*5</sup> : **The use of PVP as a polymeric carrier to improve the plasma half-life of drugs**  
*Biomaterials*, **25**, 3259-3266 (2004)

To achieve an optimum drug delivery such as targeting or controlled release utilizing bioconjugation with polymeric modifier, the conjugate between drugs and polymeric modifiers must be designed to show desirable pharmacokinetic characteristics in vivo. In this study, we assessed the biopharmaceutical properties of various nonionic water-soluble polymers as polymeric drug carriers. Polyvinylpyrrolidone (PVP) showed the longest mean resident time (MRT) after i.v. injection of all nonionic polymers with the same molecular size. In fact, tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) bioconjugated with PVP (PVP-TNF-alpha) circulated longer than TNF-alpha bioconjugated with polyethylene glycol (PEG-TNF-alpha) with the same molecular size. Each nonionic polymeric modifier showed a different tissue distribution. Dextran was accumulated in the spleen and liver. Polydimethylacrylamide (PDAAm) tended to distribute in the kidney. However, PVP showed the minimum volume of tissue distribution. These results suggested that PVP is the most suitable polymeric modifier for prolonging the circulation lifetime of a drug and localizing the conjugated drug in blood.

**Keywords:** renal targeting, bioconjugation, protein therapy

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 三重大学医学部

\*3 聖マリアンナ医科大学

\*4 産業技術総合研究所

\*5 神戸学院大学薬学研究科

Koizumi K.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Yoshioka Y., Watanabe M.<sup>\*2</sup>, Okamoto T.<sup>\*2</sup>, Mukai Y.<sup>\*2</sup>, Nakagawa S.<sup>\*2</sup>, Mayumi T.<sup>\*3</sup> : **Anti-angiogenic effects of dimethyl sulfoxide on endothelial cells**  
*Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 1295-1298 (2003)

Dimethyl sulfoxide (DMSO) has anti-inflammatory and analgesic properties and is the only intravesical agent approved by the FDA for the treatment of interstitial cystitis. While it is known that DMSO has numerous biological effects on cell differentiation and alteration of cell-surface carbohydrate structures, the anti-inflammatory mechanism of DMSO has been not clear yet. Therefore, further investigation of DMSO in terms of inflammation therapy is needed. This study assessed the in vitro anti-angiogenic effects of DMSO on human aorta endothelial cells to clarify one of the mechanisms of its anti-inflammatory activity. DMSO did not affect expression of E-selectin on endothelial cells in the presence of TNF-alpha. Furthermore, DMSO effectively inhibited capillary tube formation; this mechanism would be due to suppression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) production. These results provide useful knowledge about the anti-inflammatory effects of DMSO and the regulatory mechanism of MMP-2.

**Keywords:** angiogenesis, DMSO

\*1 富山医科薬科大学



\*2 大阪大学薬学研究科  
\*3 神戸学院大学薬学研究科

Koizumi K.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Kamada H.<sup>\*2</sup>, Yoshioka Y., Watanabe M.<sup>\*3</sup>, Yamamoto Y.<sup>\*4</sup>, Okamoto T.<sup>\*3</sup>, Mukai Y.<sup>\*3</sup>, Nakagawa S.<sup>\*3</sup>, Mayumi T.<sup>\*4</sup> : **Incorporation of adult organ-derived endothelial cells into tumor blood vessel**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **306**, 219-224 (2003)

In this study, we attempted to assess the incorporable potential of vascular endothelial cells derived from adult organ blood vessels into tumor blood vessels. Two kinds of adult organ-derived vascular endothelial cells, human aorta endothelial cells (HAEC) and umbilical vein endothelial cells (HUVEC), were administered into murine tumors inoculated to SCID mice. Many human blood vessel networks were visualized in the murine tumors. These cells in solid tumor not only survived and proliferated, but also incorporated into tumor endothelium. These results suggest that adult organ-derived vascular endothelial cells possess the potential to form the neovascular network in various tissues such as vascular endothelial progenitor-like cells in vivo. We propose that these cells can be regarded as a congenic (autologous) vector for vascular regeneration cell therapy and tumor vascular targeting gene therapy.

**Keywords:** angiogenesis, cell therapy

\*1 富山医科薬科大学  
\*2 大阪大学薬学研究科  
\*3 神戸学院大学薬学研究科

Yamamoto Y.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Yoshioka Y., Nishibata T.<sup>\*2</sup>, Kobayashi K.<sup>\*2</sup>, Okamoto T.<sup>\*2</sup>, Mukai Y.<sup>\*2</sup>, Shimizu T.<sup>\*2</sup>, Nakagawa S.<sup>\*2</sup>, Nagata S.<sup>\*3</sup>, and Mayumi T.<sup>\*4</sup> : **Site-specific PEGylation of a lysine-deficient TNF-alpha with full bioactivity**

*Nat. Biotechnol.*, **21**, 546-552 (2003)

Addition of polyethylene glycol to protein (PEGylation) to improve stability and other characteristics is mostly nonspecific and may occur at all lysine residues, some of which may be within or near an active site. Resultant PEGylated proteins are heterogeneous and can show markedly lower bioactivity. We attempted to develop a strategy for site-specific mono-PEGylation using tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha). We prepared phage libraries expressing TNF-alpha mutants in which all the lysine residues were replaced with other amino acids. A fully bioactive lysine-deficient mutant TNF-alpha (mTNF-alpha-Lys(-)) was isolated by panning against TNF-alpha-neutralizing antibody despite reports that some lysine residues were essential for its bioactivity. mTNF-alpha-Lys(-) was site-specifically mono-PEGylated at its N terminus. This mono-PEGylated mTNF-alpha-Lys(-), with superior molecular uniformity, showed higher bioactivity in vitro and greater antitumor therapeutic potency than randomly mono-PEGylated wild-type TNF-alpha. These results suggest the usefulness of the phage display system for creating functional mutant proteins and of our site-specific PEGylation approach.

**Keywords:** PEGylation, phage display system, protein engineering

\*1 聖マリアンナ大学  
\*2 大阪大学薬学研究科

\*3 National Institutes of Health

\*4 神戸学院大学薬学研究科

Kamada H.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Sato-Kamada K.<sup>\*2</sup>, Yamamoto Y.<sup>\*3</sup>, Yoshioka Y., Okamoto T.<sup>\*2</sup>, Nakagawa S.<sup>\*2</sup>, Nagata S.<sup>\*4</sup>, and Mayumi T.<sup>\*5</sup> : **Synthesis of a poly(vinylpyrrolidone-co-dimethyl maleic anhydride) co-polymer and its application as renal targeting carrier**

*Nat. Biotechnol.*, **21**, 399-404 (2003)

We have synthesized a polymeric drug carrier, polyvinylpyrrolidone-co-dimethyl maleic anhydride [poly(VP-co-DMMA)], for use in renal drug delivery. About 80% of the 10-kDa poly(VP-co-DMMA) selectively accumulated in the kidneys 24 h after intravenous administration to mice. Although this accumulated poly(VP-co-DMMA) was gradually excreted in the urine, about 40% remained in the kidneys 96 h after treatment. Poly(VP-co-DMMA) was taken up by the renal proximal tubular epithelial cells and no cytotoxicity was noted. Higher doses did not produce toxicity in the kidneys or other tissues. In contrast, polyvinylpyrrolidone of the same molecular weight did not show any tissue-specific distribution. Poly(VP-co-DMMA)-modified superoxide dismutase accumulated in the kidneys after intravenous administration and accelerated recovery from acute renal failure in a mouse model. In contrast, polyvinylpyrrolidone-modified superoxide dismutase and native superoxide dismutase were not as effective. Thus, poly(VP-co-DMMA) is a useful candidate as a targeting carrier for renal drug delivery systems.

**Keywords:** PEGylation, phage display system, protein engineering

\*1 三重大学医学部  
\*2 大阪大学薬学研究科  
\*3 聖マリアンナ医科大学  
\*4 National Institutes of Health  
\*5 神戸学院大学薬学研究科

堤康央\*, 吉岡靖雄\*, 真弓忠範\*: 医薬価値に優れた機能性人工タンパク質の網羅的かつ迅速同定システムとプロテオーム創薬への展開.

*細胞工学*, 8月号 873-81 (2003)

蛋白質の生体への適用には、依然として蛋白質の生体内安定性を向上させ、かつその多様な in vivo 生理作用の中から目的とする治療作用のみを選択的に発現させ得る創薬テクノロジーの確立が必須となっている。この点我々は最近、ファージ表面提示法を用いた「医薬価値に優れた機能性人工蛋白質の創出システム」と共に、「蛋白質の医薬品としての有効性と安全性を高め得る部位特異的高分子バイオコンジュゲーション」を新規に確立した。本稿では、この「蛋白質性薬物による疾病治療の最適化を目指したトランスレーショナル・リサーチ」の概要と研究プロトコールについて紹介させて頂く。

**Keywords:** 機能性人工蛋白質、ファージ表面提示法、蛋白療法

Nakamura T.<sup>\*</sup>, Peng K-W.<sup>\*</sup>, Vongpunsawad S.<sup>\*</sup>, Harvey M.<sup>\*</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Cattaneo R.<sup>\*</sup>, Russell S.J.<sup>\*</sup> : **Antibody-targeted cell fusion**

*Nat. Biotechnol.*, **22**, 331-336 (2004)

Membrane fusion has many potential applications in biotechnology. Here we show that antibody-targeted cell fusion can be achieved by engineering a fusogenic viral membrane glycoprotein complex. Three different single-chain antibodies were displayed at the extracellular C terminus of the measles hemagglutinin (H) protein, and combinations of point mutations were introduced to ablate its ability to trigger fusion through the native viral receptors CD46 and SLAM. When coexpressed with the measles fusion (F) protein, using plasmid cotransfection or bicistronic adenoviral vectors, the retargeted H proteins could mediate antibody-targeted cell fusion of receptor-negative or receptor-positive index cells with receptor-positive target cells. Adenoviral expression vectors mediating human epidermal growth factor receptor (EGFR)-targeted cell fusion were potently cytotoxic against EGFR-positive tumor cell lines and showed superior antitumor potency against EGFR-positive tumor xenografts as compared with control adenoviruses expressing native (untargeted) or CD38-targeted H proteins.

**Keywords:** cell fusion, gene therapy, cancer

\* Mayo Clinic

Sakurai, F., Terada, T., Maruyama, M., Watanabe, Y., Yamashita, F., Takakura, Y., Hashida, M.: **Therapeutic effect of intravenous delivery of lipoplexes containing the interferon-beta gene and poly I: poly C in a murine lung metastasis model**

*Cancer Gene Ther.* **10**, 661-668 (2003)

We have evaluated and compared the efficacy of systemic administration of lipoplex formulations containing plasmids encoding IFN-beta or IFN-gamma, and a synthetic double-strand RNA poly I:poly C (pI:pC), a type I IFN inducer, in a lung metastasis model in which colon carcinoma CT-26 cells were inoculated intravenously into immunocompatible mice. Injection of lipoplexes containing plasmid DNA, regardless of IFN gene insertion, stimulated a transient increase in the serum concentration of proinflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF)-alpha and IFN-gamma, while injection of lipoplexes containing pI:pC led to a low level of TNF-alpha and undetectable IFN-gamma production. Furthermore, injection of these lipoplexes containing plasmids resulted in the production of a mixture of type I and type II IFNs, partly derived from the inserted IFN genes, in lung tissue cultures. In tumor-prophylactic experiments, intravenous injection of lipoplexes containing plasmid, regardless of IFN gene insertion, showed a significant reduction in lung metastatic nodules probably due to proinflammatory cytokines such as TNF-alpha and IFN-gamma nonspecifically induced by the CpG motifs in the plasmid and the type I IFNs produced. On the other hand, the antimetastatic effect of pI:pC-lipoplex seemed to be due mainly to IFN-beta induced by pI:pC. In established lung metastasis experiments, a single intravenous administration of lipoplexes containing IFN-beta gene or pI:pC, but not other lipoplexes, showed a significant therapeutic effect on the tumor metastasis: reduction in tumor nodules and prolongation of survival time of tumor-burden mice. The therapeutic effects were specifically impaired by anti-IFN-beta antibody treatment, indicating that IFN-beta produced by the lipoplexes played an impor-

tant role in the suppression of established metastatic lung tumors. Thus, the local IFN-beta in the lung delivered by intravenous administration of lipoplex containing IFN-beta gene or pI:pC may be a convenient and useful method of inhibiting established metastatic lung tumors.

**Keywords:** interferon- $\beta$ , gene therapy, lung metastasis

\* 京都大学大学院薬学研究科

Okada Y.<sup>\*1</sup>, Okada N.<sup>\*2</sup>, Mizuguchi H., Takahashi K.<sup>\*1</sup>, Hayakawa T., Mayumi T.<sup>\*3</sup>, Mizuno N.<sup>\*1</sup>: **Optimization of antitumor efficacy and safety of in vivo cytokine gene therapy using RGD fiber-mutant adenovirus vector for pre-existing murine melanoma**

*Biochim. Biophys. Acta.*, **1670**, 172-180 (2004)

We previously reported that RGD fiber-mutant adenovirus vector (AdRGD) was a very useful vector system for in vivo cytokine gene therapy for established murine B16BL6 melanoma. However, intratumoral administration of AdRGD expressing tumor necrosis factor alpha (AdRGD-TNFalpha) at high dose revealed not only the dramatic reinforcement of anti-tumor effect but also serious adverse effects, such as body weight reduction and sudden death, caused by high-level TNF-alpha leakage from the tumor into circulation. These results strongly suggested that the determination of 'limiting dose', which demonstrated therapeutic effectiveness without adverse effect, against each vector was important for the development of appropriate cytokine gene therapy. In the present study, we investigated the efficacy and the safety of AdRGD expressing interleukin-12 (AdRGD-IL12) in murine melanoma model, and determined its limiting dose. Moreover, we demonstrated that combination therapy using AdRGD-IL12 and AdRGD-TNFalpha at limiting doses or less could achieve more effective tumor regression without adverse effects. Therefore, we conclude that a combination of multiple AdRGD expressing cytokines having distinct anti-tumor mechanisms can contribute to the establishment of in vivo cytokine gene therapy for melanoma, which possesses both excellent efficacy and high safety.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

\*<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部

\*<sup>2</sup> 京都薬科大学

\*<sup>3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

Okada N.<sup>\*1</sup>, Gao J-Q.<sup>\*2</sup>, Sasaki A.<sup>\*1</sup>, Niwa M.<sup>\*1</sup>, Okada Y.<sup>\*3</sup>, Nakayama T.<sup>\*4</sup>, Yoshie O.<sup>\*4</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Fujita T.<sup>\*1</sup>, Yamamoto A.<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y., Mayumi T.<sup>\*2</sup>, Nakagawa S.<sup>\*2</sup>: **Anti-tumor activity of chemokine is affected by both kinds of tumors and the activation state of the host's immune system: implications for chemokine-based cancer immunotherapy**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **317**, 68-76 (2004)

In this study, we screened the anti-tumor activity of murine chemokines including CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL27, XCL1, and CX3CL1 by inoculating murine B16BL6, CT26, or OV-HM tumor cells, all of which were transfected with chemokine-expressing fiber-mutant adenovirus vector, into immunocompetent mice. A tumor-suppressive effect was observed in mice inoculated with CCL19/B16BL6 and XCL1/B16BL6, and

CCL22/OV-HM showed considerable retardation in tumor growth. In the cured mice inoculated with CCL22/OV-HM, a long-term specific immune protection against parental tumor was developed. However, we were unable to identify the chemokine that had a suppressive activity common to all three tumor models. Furthermore, an experiment using chemokine-transfected B16BL6 cells was also performed on mice sensitized with melanoma-associated antigen. A drastic enhancement of the frequency of complete rejection was observed in mice inoculated with CCL17-, CCL19-, CCL22-, and CCL27-transfected B16BL6. Altogether, our results suggest that the tumor-suppressive activity of chemokine-gene immunotherapy is greatly influenced by the kind of tumor and the activation state of the host's immune system.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

- \*1 京都薬科大学
- \*2 大阪大学大学院薬学研究科
- \*3 武庫川女子大学薬学部
- \*4 近畿大学大学院医学研究科

Anno T.<sup>\*1</sup>, Uehara S.<sup>\*2</sup>, Katagiri H.<sup>\*3</sup>, Ohta Y., Ueda K.<sup>\*1</sup>, Mizuguchi H., Moriyama Y.<sup>\*2</sup>, Oka Y.<sup>\*3</sup>, Tanizawa Y.<sup>\*1</sup>: **Overexpression of constitutively activated glutamate dehydrogenase induces insulin secretion through enhanced glutamate oxidation**

*Am. J. Physiol.*, **286**, E280-285 (2004)

Glutamate dehydrogenase (GDH) catalyzes reversible oxidative deamination of l-glutamate to alpha-ketoglutarate. Enzyme activity is regulated by several allosteric effectors. Recognition of a new form of hyperinsulinemic hypoglycemia, hyperinsulinism/hyperammonemia (HI/HA) syndrome, which is caused by gain-of-function mutations in GDH, highlighted the importance of GDH in glucose homeostasis. GDH266C is a constitutively activated mutant enzyme we identified in a patient with HI/HA syndrome. By overexpressing GDH266C in MIN6 mouse insulinoma cells, we previously demonstrated unregulated elevation of GDH activity to render the cells responsive to glutamine in insulin secretion. Interestingly, at low glucose concentrations, basal insulin secretion was exaggerated in such cells. Herein, to clarify the role of GDH in the regulation of insulin secretion, we studied cellular glutamate metabolism using MIN6 cells overexpressing GDH266C (MIN6-GDH266C). Glutamine-stimulated insulin secretion was associated with increased glutamine oxidation and decreased intracellular glutamate content. Similarly, at 5 mmol/l glucose without glutamine, glutamine oxidation also increased, and glutamate content decreased with exaggerated insulin secretion. Glucose oxidation was not altered. Insulin secretion profiles from GDH266C-overexpressing isolated rat pancreatic islets were similar to those from MIN6-GDH266C, suggesting observation in MIN6 cells to be relevant in native beta-cells. These results demonstrate that, upon activation, GDH oxidizes glutamate to alpha-ketoglutarate, thereby stimulating insulin secretion by providing the TCA cycle with a substrate. No evidence was obtained supporting the hypothesis that activated GDH produced glutamate, a recently proposed second messenger of insulin secretion, by the reverse reaction, to stimulate insulin secretion.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, insulin

\*1 山口大学大学院医学研究科

\*2 岡山大学大学院薬学研究科

\*3 東北大学大学院医学研究科

Gao J-Q.<sup>\*1</sup>, Alexandre L.S.<sup>\*1</sup>, Tsuda Y.<sup>\*1</sup>, Katayama K.<sup>\*1</sup>, Eto Y.<sup>\*1</sup>, Sekiguchi F.<sup>\*1</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Nakayama T.<sup>\*2</sup>, Yoshie O.<sup>\*2</sup>, Tsutsumi Y.<sup>\*1</sup>, Mayumi T.<sup>\*1</sup>, Nakagawa S.<sup>\*1</sup>: **Tumor-suppressive activities by chemokines introduced into OV-HM cells using fiber-mutant adenovirus vectors**

*Pharmazie*, **59**, 238-239 (2004)

In this study, fiber-mutant adenovirus vectors encoding chemokines, Ad-RGD-mCCL17, Ad-RGD-mCCL21 and Ad-RGD-mCCL22 were constructed. The insertion of integrin-targeting RGD sequence into fiber knob of adenovirus vectors notably enhanced the infection efficiency into tumor cells. Among three chemokine-encoding vectors evaluated, Ad-RGD-mCCL22 showed significant tumor-suppressive activity via transduction into OV-HM cells.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

\*1 大阪大学大学院薬学研究科

\*2 近畿大学大学院医学研究科

Katayama K.<sup>\*1</sup>, Wada K.<sup>\*2</sup>, Miyoshi H.<sup>\*3</sup>, Ohashi K.<sup>\*1</sup>, Tachibana M.<sup>\*1</sup>, Furuki R.<sup>\*1</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Nakajima A.<sup>\*4</sup>, Kadowaki T.<sup>\*5</sup>, Tsutsumi Y.<sup>\*1</sup>, Nakagawa S.<sup>\*1</sup>, Kamisaki Y.<sup>\*2</sup>, Mayumi T.<sup>\*1</sup>: **RNA interfering approach for clarifying PPARγ pathway using lentiviral vector expressing short hairpin RNA**

*FEBS Lett.*, **560**, 178-182 (2004)

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) plays a central role in adipocyte differentiation and insulin sensitivity. Although PPARgamma also appears to regulate diverse cellular processes in other cell types such as lymphocytes, the detailed mechanisms remain unclear. In this study, we established a lentivirus-mediated short hairpin RNA expression system and identified a potent short hairpin RNA which suppresses PPARgamma expression, resulting in marked inhibition of preadipocyte-to-adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. Our PPARgamma-knockdown method will serve to clarify the PPARgamma pathway in various cell types in vivo and in vitro, and will facilitate the development of therapeutic applications for a variety of diseases.

**Keywords:** lentivirus vector, gene therapy, PPARgamma

\*1 大阪大学大学院薬学研究科

\*2 大阪大学大学院歯学研究科

\*3 理化学研究所

\*4 横浜市立大学医学部

\*5 東京大学大学院医学研究科

\*6 ハーバード大学

Suto R.<sup>\*</sup>, Tominaga K.<sup>\*</sup>, Mizuguchi H., Sasaki E.<sup>\*</sup>, Higuchi K.<sup>\*</sup>, Kim S.<sup>\*</sup>, Iwao H.<sup>\*</sup>, Arakawa T.<sup>\*</sup>: **Dominant negative mutant of c-Jun gene transfer: a novel therapeutic strategy for colorectal cancer**

*Gene Ther.*, **11**, 187-193 (2004)

Activator protein-1 (AP-1), a transcription factor, is activated

through many oncogenic signals. However, its biological role in colorectal cancer has not been fully elucidated. To investigate the role of AP-1 in colorectal cancer, we constructed an adenovirus-expressing TAM67, a dominant-negative mutant of c-Jun lacking the transactivation domain of wild c-Jun (DN-c-Jun), to inhibit endogenous AP-1. AP-1 DNA-binding activity was increased in colon cancer cells (HT-29 cells) by serum stimulation, followed by an increase in both [(3)H]thymidine incorporation and cell number. Transfection of Ad-DN-c-Jun to HT-29 cells significantly inhibited serum-induced cell proliferation in vitro. As shown by flow cytometric analysis, DN-c-Jun significantly inhibited entrance into S phase after serum stimulation, thereby leading to G(1) arrest. In vivo transfection of Ad-DN-c-Jun into xenografted HT-29 cell tumors in nude mice significantly decreased tumor volume on day 21 after treatment. A change was associated with decrease in Ki-67 labeling index. These observations together showed that AP-1 is a critical modulator for proliferation and cell cycle of HT-29 cells. We obtained the first evidence that DN-c-Jun gene transfer exerted a significant antitumor effect on colon cancer both in vitro and in vivo. DN-c-Jun gene transfer may be a new candidate for treatment of colorectal cancer.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, c-Jun

\* 大阪市立大学医学部

Koizumi N., Mizuguchi H., Sakurai F., Yamaguchi T., Watanabe Y., Hayakawa T : **Reduction of natural adenovirus tropism to mouse liver by fiber-shaft exchange in combination with both CAR- and  $\alpha v$  integrin-binding ablation**  
*J. Virol.*, **77**, 13062-13072 (2003)

The primary receptor, the coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR), and the secondary receptor,  $\alpha v$  integrins, are the tropism determinants of adenovirus (Ad) type 5. Inhibition of the interaction of both the fiber with CAR and the penton base with the  $\alpha v$  integrin appears to be crucial to the development of targeted Ad vectors, which specifically transduce a given cell population. In this study, we developed Ad vectors with ablation of both CAR and  $\alpha v$  integrin binding by mutating the fiber knob and the RGD motif of the penton base. We also substituted the fiber shaft domain with that derived from Ad type 35. High transduction efficiency in mouse liver was suppressed approximately 130-270-fold by intravenous administration of the double-mutant Ad vectors, which mutated two domains each of the fiber knob, the fiber shaft, and the RGD motif of the penton base, respectively, in comparison with that of the conventional Ad vectors (type 5). Most significantly, the triple-mutant Ad vectors containing the CAR-binding ablated fiber knob, the fiber shaft of Ad type 35, and the penton base with deletion of the RGD motif mediated more than 30,000-fold lower mouse liver transduction than the conventional Ad vectors. This triple-mutant Ad vector also mediated reduced transduction in other organs (the spleen, kidney, heart, and lung). Viral DNA analysis showed that systemically-delivered triple-mutant Ad vectors were primarily taken up by liver nonparenchymal cells and that most viral DNAs were easily degraded, resulting in little gene expression in the liver. These results suggest that the fiber knob, fiber shaft, and RGD motif of the penton base each play an important role in Ad vector-

mediated transduction to mouse liver, and that this triple-mutant Ad vector exhibits little tropism to any organs and appears to be a fundamental vector for the targeted Ad vectors.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, targeting

\* 昭和薬科大学

Sakurai F., Mizuguchi H., Yamaguchi T., Hayakawa T. : **Characterization of in vitro and in vivo gene transfer properties of adenovirus serotype 35 vector**

*Mol. Ther.*, **8**, 813-821 (2003)

There are some hurdles confronting adenovirus (Ad) serotype 5-based vector-mediated gene transfer, such as low transduction efficiency in cells lacking its primary receptor, coxsackievirus-adenovirus receptor (CAR). Construction of replication-incompetent Ad vectors derived from subgroup B Ad offers a simple and attractive strategy to overcome this obstacle, since Ad which belongs to subgroup B recognizes unknown receptor(s) other than CAR. We have recently developed a replication-incompetent, recombinant Ad vector composed of the whole Ad serotype 35 (Ad35), which belongs to subgroup B. Here we show in vitro and in vivo gene transfer properties of Ad35 vector, in comparison with Ad serotype 5 (Ad5) and Ad5F35 vector, which is a fiber-substituted Ad5 vector containing the Ad35 fiber proteins. In vitro, Ad35 vector efficiently transduced not only human CAR-positive cells but also CAR-negative cells, which were refractory to infection with conventional Ad5 vector. Following intravenous administration into mice, both Ad5 and Ad35 vectors were rapidly cleared from the bloodstream with the half-life of about 3 min, however, the Ad35 vector exhibited a biodistribution profile different from Ad5 vector. Ad5 vector-mediated transgene expression predominantly occurred in liver parenchymal cells, although Ad5 vector was delivered to both liver parenchymal and non-parenchymal cells. In contrast, Ad35 vector was efficiently taken up by liver non-parenchymal cells and mediated 4 log orders lower level of transduction efficiency in the liver than Ad5 vector. These findings demonstrate that Ad35 vector would be an attractive vehicle for gene transfer into human cells, while biodistribution profile of Ad35 vector in mice is much different from that of Ad5 vector.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, biodistribution

Mizuguchi H., Xu Z.L., Sakurai F., Mayumi T. **Integrin, Hayakawa T. : Tight positive regulation of transgene expression by a single adenovirus vector containing the rtTA and tTS expression cassettes in separate genome regions**

*Hum. Gene Ther.*, **14**, 1265-1277 (2003)

We previously developed single adenovirus (Ad) vectors that contained the components for a tetracycline-regulatable gene-expression system in the E1 and E3 deletion regions, and showed that the Ad vectors containing the tet-on system exhibit a much inferior regulation of transgene expression than those containing the tet-off system. In many cases, the tet-on system may be preferable due to its positive regulation of transgene expression. To this end, in the present study, by introducing the latest-generation reverse tetracycline-responsive transcriptional activator (rtTA<sup>2s</sup>-M2 or rtTA<sup>2s</sup>-S2) and the tetracycline-controlled transcriptional

silencer (tTS) into the original tet-on system, we constructed various modified Ad-mediated tet-on systems. Among them, the novel single Ad vector, which contained three heterologous gene-expression cassettes of the gene of interest, rTA<sup>2s</sup>-S2, and tTS in the E1 deletion region, the E3 deletion region, and the region between E4 and 3'ITR, respectively, displayed vastly improved doxycycline-inducible gene expression in terms of low basal expression, high induced expression, and high responsiveness to doxycycline both in vitro and in vivo. These results also suggest that the low responsiveness to doxycycline may explain why the original tet-on system in the context of the Ad vector is not effective in vivo. This is the first report describing the cloning of three heterologous gene-expression cassettes into three separate regions of the E1/E3-deleted Ad genome. This improved Ad-mediated tet-on system might be useful for gene therapy and will greatly facilitate the analyses of gene function.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, regulation

\* 大阪大学大学院薬学研究科

Gao J-Q.<sup>1</sup>, Tsuda Y.<sup>1</sup>, Katayama K.<sup>1</sup>, Nakayama T.<sup>2</sup>, Hatanaka Y.<sup>1</sup>, Tani Y.<sup>1</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Yoshie O.<sup>2</sup>, Tsutsumi Y.<sup>1</sup>, Mayumi T.<sup>1</sup>, Nakagawa S.<sup>1</sup>: **Antitumor effect by interleukin-11 receptor  $\alpha$ -locus chemokine/CCL27, introduced into tumor cells through a recombinant adenovirus vector**

*Cancer Res.*, **63**, 4420-4425 (2003)

In this study, we examined antitumor activity of a mouse CC chemokine ILC/CCL27 and a mouse CX(3)C chemokine fractalkine/CX(3)CL1 in vivo. We generated recombinant adenovirus vectors with a fiber mutation, encoding mILC (Ad-RGD-mILC) and mFKN (Ad-RGD-mFKN). We confirmed tumor cells infected with Ad-RGD-mILC and Ad-RGD-mFKN to express and release these chemokines. Tumor rejection experiments in vivo were carried out by inoculating OV-HM cells infected with Ad-RGD-mILC or Ad-RGD-mFKN into immunocompetent mice. mILC significantly suppressed the tumor growth, whereas no such significant effect was observed by mFKN. The antitumor activity induced by mILC was T cell dependent, involving both CD4(+) and CD8(+) T cells. Immunohistochemical analysis revealed accumulation of both CD3(+) lymphocytes and NK cells in the tumor tissue transduced with mILC and mFKN. However, there was a significant difference in the distribution of infiltrating cells. Furthermore, mFKN appeared to have an angiogenic activity, which might have masked its tumor suppressive activity. Collectively, ILC/CCL27 may be a good candidate molecule for cancer gene therapy.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

\*<sup>1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

\*<sup>2</sup> 近畿大学大学院医学研究科

Itoh A.<sup>\*</sup>, Okada T.<sup>\*</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Mizukami H.<sup>\*</sup>, Kume A.<sup>\*</sup>, Takatoku M.<sup>\*</sup>, Komatsu A.<sup>\*</sup>, Hanazono Y.<sup>\*</sup>, Ozawa K.<sup>\*</sup>: **A soluble CAR-SCF fusion protein improves adenoviral vector-mediated gene transfer to c-Kit-positive hematopoietic cells**

*J. Gene Med.*, **5**, 929-940 (2003)

**BACKGROUND:** Although adenoviral vectors primarily derived from the adenovirus serotype 5 (Ad5) are widely used for many gene transfer applications, they cannot efficiently infect hematopoietic cells, since these cells do not express the coxsackie-adenoviral receptor (CAR). **METHODS:** We have developed a soluble fusion protein that bridges adenoviral fibers and the c-Kit receptor to alter Ad5 tropism to immature hematopoietic cells. The CAR-SCF fusion protein consists of the extracellular domains of CAR and stem cell factor (SCF). The human megakaryoblastic leukemia cell lines UT-7 and M07e, human chronic myelogenous leukemia cell line K-562, and erythroleukemia cell line TF-1 were used to assess CAR-SCF-assisted Ad5-mediated gene transfer. Hematopoietic cell lines were infected with an Ad5 vector (Ad5-eGFP) or a fiber-mutant Ad5/F35 (Ad5/F35-eGFP) expressing the enhanced green fluorescent protein gene in the presence or absence of CAR-SCF. **RESULTS:** Twenty-four hours after infection, more than 80% of M07e cells infected in the presence of CAR-SCF were eGFP-positive, compared with very few eGFP-positive cells following Ad5-eGFP infection in the absence of CAR-SCF. The enhancement of Ad5-eGFP infection by CAR-SCF was greater than that caused by Ad5/F35-eGFP (50%). The ability of CAR-SCF to enhance Ad5-eGFP infectivity was highly dependent on cellular c-Kit expression levels. Furthermore, CAR-SCF also enhanced Ad5-mediated gene transfer into human primary CD34(+) cells. **CONCLUSIONS:** The CAR-SCF fusion protein assists Ad5-mediated transduction to c-Kit(+) CAR(-) hematopoietic cells. The use of this fusion protein would enhance a utility of Ad5-mediated hematopoietic cell transduction strategies.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, hematopoietic cell

\* 自治医科大学

Okada N.<sup>1</sup>, Masunaga Y.<sup>1</sup>, Okada Y.<sup>2</sup>, Mizuguchi H., Iiyama S.<sup>1</sup>, Mori N.<sup>1</sup>, Sasaki A.<sup>1</sup>, Nakagawa S.<sup>3</sup>, Mayumi T.<sup>3</sup>, Hayakawa T., Fujita T.<sup>1</sup>, Yamamoto A.<sup>1</sup>: **Dendritic cells transduced with human gp100 gene by RGD fiber-mutant adenovirus vectors are highly efficacious in generating anti-B16 melanoma immunity in mice**

*Gene Ther.*, **10**, 1891-1902 (2003)

Dendritic cells (DCs) are the most potent professional antigen-presenting cells for the initiation of antigen-specific immune responses, and antigen-loaded DCs have been regarded as promising vaccines in cancer immunotherapy. We previously demonstrated that RGD fiber-mutant adenovirus vector (AdRGD) could attain highly efficient gene transduction into human and murine DCs. The aim of the present study is to demonstrate the predominance of ex vivo genetic DC manipulation using AdRGD in improving the efficacy of DC-based immunotherapy targeting gp100, a melanoma-associated antigen (MAA). Vaccination with murine bone marrow-derived DCs transduced with AdRGD encoding gp100 (AdRGD-gp100/mBM-DCs) dramatically improved resistance to B16BL6 melanoma challenge and pulmonary metastasis as compared with immunization with conventional Ad-gp100-transduced mBM-DCs. The improvement in antimelanoma effects upon immunization with AdRGD-gp100/mBM-DCs correlated with enhanced cytotoxic activities of natural killer (NK) cells and B16BL6-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs). Furthermore,

in vivo depletion analysis demonstrated that CD8(+) CTLs and NK cells were the predominant effector cells responsible for the anti-B16BL6 immunity induced by vaccination with AdRGD-gp100/mBM-DCs, and that helper function of CD4(+) T cells was necessary for sufficiently eliciting effector activity. These findings clearly revealed that highly efficient MAA gene transduction to DCs by AdRGD could greatly improve the efficacy of DC-based immunotherapy against melanoma.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

\*1 京都薬科大学

\*2 武庫川女子大学薬学部

\*3 大阪大学大学院薬学研究科

Tanaka K., Towata S., Nakao K., Mizuguchi H., Hayakawa T., Niwa M., Ishii N., Nagayama Y.: **Thyroid cancer immuno-therapy with retroviral and adenoviral vectors expressing granulocyte macrophage colony stimulating factor and interleukin-12 in a rat model**

*Clin. Endocrinol.*, 59, 734-742 (2003)

**BACKGROUND:** Introduction of genes encoding immunostimulatory cytokine(s) into cancer cells is well known to enhance anti-tumour immunity. **AIM:** The present studies were designed to evaluate the therapeutic efficacy of retroviral- and adenoviral-mediated delivery of IL-12 and/or granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) genes for thyroid cancer in an immuno-competent rat model. **METHODS:** A rat thyroid cancer cell line FRTL-Tc syngeneic to Fisher rat was used. **RESULTS:** Expression of these exogenous cytokines did not affect in vitro cell growth. Subcutaneous injection of FRTL-Tc cells retrovirally transduced with IL-12 or GM-CSF genes formed significantly smaller tumours than that of the parental cells, but had little effect on growth of distant tumours, suggesting no vaccine effect. Similarly, injection of the cells infected with adenovirus expressing IL-12 or GM-CSF (AdIL-12 or AdGM-CSF) almost completely abolished tumorigenicity and injection of AdGM-CSF into pre-established tumours significantly inhibited growth of the tumours injected; neither, however, showed a systemic vaccine effect. On the other hand, injection of AdIL-12 into the pre-established tumours significantly inhibited growth of not only the tumours injected but also distant tumours, indicating induction of systemic anti-tumour immunity. Serum IL-12 was detectable only in this approach. There was neither a synergistic or additive effect of these two cytokines. **CONCLUSIONS:** Our data demonstrate in a rat thyroid cancer model that only injection of AdIL-12 into the pre-established tumours elicited systemic anti-tumour immunity, but injection of AdGM-CSF or injection of the cells expressing IL-12 or GM-CSF elicited only local effect, indicating that in situ delivery of IL-12 gene with adenovirus appears most efficacious but may still require adjuvant modalities to enhance the anti-tumour effect.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

\* 長崎大学医学部

Xu Z.L., Mizuguchi H., Mayumi T., Hayakawa T.: **Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulation element enhances transgene expression from adenovirus vectors**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1621, 266-271 (2003)

In studies of both gene therapy and gene function, transgene expression can be modulated at both the transcriptional and post-transcriptional levels. In a previous study, we optimized the transcriptional regulatory elements for adenovirus (Ad) vectors to mediate efficient transgene expression, including promoter, enhancer, intron, and poly(A) sequence. In the present study, we systematically investigated the ability of the Woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulation element (WPRE) to enhance the expression of the luciferase gene, as a model gene, in the context of Ad vectors. We found that the WPRE in the sense orientation cloned between the luciferase gene and the poly(A) sequence stimulated 2- to 7-fold more luciferase expression in vitro and 2- to 50-fold more in the liver, kidney and lung of mouse than occurred without the use of the WPRE. The most efficient Ad vector in this study, which contained the improved CMV promoter (the conventional CMV promoter with the intron A) and the WPRE, showed more than 700-fold luciferase expression in mouse liver than did the Ad vector containing the conventional CMV promoter but no WPRE. These results indicate that inclusion of the WPRE, combined with the optimization of transcriptional regulatory elements in Ad vectors, will permit a given therapeutic goal to be achieved with substantially fewer viral particles. This information would be helpful for the construction of adenovirus vectors for studies regarding both gene therapy and gene function.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, promoter

\* 大阪大学大学院薬学研究科

Nagayama Y., Nakao, K., Mizuguchi H., Hayakawa T., Niwa M.: **Enhanced antitumor effect of combined replicative adenovirus and non-replicative adenovirus expressing interleukin-12 in an immunocompetent mouse model**

*Gene Ther.*, 10, 1400-1403 (2003)

For cancer gene therapy, replicative adenovirus is a promising vector to overcome low infectivity and poor gene delivery of nonreplicative adenovirus in vivo, but its therapeutic efficacy is still unsatisfactory because of the limited spread of replicative virus in a solid tumor. Therefore, the combined therapy with other antitumor agents may be necessary. Nonreplicative adenovirus expressing a therapeutic gene may be a promising candidate because E1 proteins expressed by replicative adenovirus would render nonreplicative adenovirus replicative, augmenting a transgene expression. In this study, we first found that mouse hepatoma Hepa 1-6 cells were permissive for the replication and cytopathic effect of human adenovirus, which enabled us to examine the potential of combined replicative adenovirus and nonreplicative adenovirus expressing an immunostimulator in an immunocompetent mouse-syngeneic Hepa 1-6 tumor model. Nonreplicative adenovirus expressing interleukin-12 (AdIL-12) was used as a model. In vitro coinfection of two adenoviruses produced higher concentrations of IL-12 than infection of AdIL-12 alone in this cell line. In vivo experiments with Hepa 1-6 tumors in syngeneic immunocompetent C57BL/6 mice showed higher concentrations of serum IL-12 and greater therapeutic efficacy in the combination therapy than infection of either adenovirus. These data indicate

that the combination of replicative adenovirus and nonreplicative adenovirus expressing an immunostimulator appears to be very efficacious for cancer gene therapy.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, cancer

\* 長崎大学医学部

Ara, T.<sup>\*1</sup>, Itoi, M.<sup>\*2</sup>, Kawabata, K., Egawa, T.<sup>\*3</sup>, Tokoyoda, K.<sup>\*1</sup>, Sugiyama, T.<sup>\*1</sup>, Fujii, N.<sup>\*4</sup>, Amagai, T.<sup>\*2</sup>, Nagasawa, T.<sup>\*1</sup>: **A role of CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor-1/pre-B cell growth stimulating factor and its receptor CXCR4 in fetal and adult T cell development in vivo**

*J. Immunol.*, **170**, 4649-4655 (2003)

The functions of a chemokine CXC chemokine ligand (CXCL) 12/stromal cell-derived factor-1/pre-B cell growth stimulating factor and its physiologic receptor CXCR4 in T cell development are controversial. In this study, we have genetically further characterized their roles in fetal and adult T cell development using mutant and chimeric mice. In CXCL12(-/-) or CXCR4(-/-) embryos on a C57BL/6 background, accumulation of T cell progenitors in the outer mesenchymal layer of the thymus anlage during initial colonization of the fetal thymus was comparable with that seen in wild-type embryos. However, the expansion of CD3(-)CD4(-)CD8(-) triple-negative T cell precursors at the CD44(-)CD25(+) and CD44(-)CD25(-) stages, and CD4(+)CD8(+) double-positive thymocytes was affected during embryogenesis in these mutants. In radiation chimeras competitively repopulated with CXCR4(-/-) fetal liver cells, the reduction in donor-derived thymocytes compared with wild-type chimeras was much more severe than the reduction in donor-derived myeloid lineage cells in bone marrow. Triple negative CD44(+)CD25(+) T cell precursors exhibited survival response to CXCL12 in the presence of stem cell factor as well as migratory response to CXCL12. Thus, it may be that CXCL12 and CXCR4 are involved in the expansion of T cell precursors in both fetal and adult thymus in vivo. Finally, enforced expression of bcl-2 did not rescue impaired T cell development in CXCR4(-/-) embryos or impaired reconstitution of CXCR4(-/-) thymocytes in competitively repopulated mice, suggesting that defects in T cell development caused by CXCR4 mutation are not caused by reduced expression of bcl-2.

**Keywords:** chemokine, SDF-1, T cell development

\*<sup>1</sup> 京都大学再生医科学研究所

\*<sup>2</sup> 明治鍼灸大学

\*<sup>3</sup> ニューヨーク大学医学部

\*<sup>4</sup> 京都大学大学院薬学研究所

Ara, T.<sup>\*1</sup>, Tokoyoda, K.<sup>\*1</sup>, Sugiyama, T.<sup>\*1</sup>, Egawa, T.<sup>\*2</sup>, Kawabata, K., Nagasawa, T.<sup>\*1</sup>: **Long-term hematopoietic stem cells require stromal cell-derived factor-1 for colonizing bone marrow during ontogeny**

*Immunity*, **19**, 257-267 (2003)

The physiological role of SDF-1 on hematopoietic stem cells (HSCs) remains elusive. We show that colonization of bone marrow by HSCs in addition to myeloid cells is severely impaired in SDF-1(-/-) embryos by a long-term repopulation assay. Colonization of spleen by HSCs was also affected, but to a lesser extent. Enforced expression of SDF-1 under the control of vascular-spe-

cific Tie-2 regulatory sequences could completely rescue the reduction of HSCs but not myeloid cells in SDF-1(-/-) bone marrow. SDF-1 was detected in the vicinity of the vascular endothelial cells in fetal bone marrow. SDF-1 plays a critical role in colonization of bone marrow by HSCs and myeloid cells during ontogeny, and the mechanisms by which SDF-1 functions are distinct between HSCs and myeloid cells.

**Keywords:** SDF-1, hematopoietic stem cells, bone marrow niche

\*<sup>1</sup> 京都大学再生医科学研究所

\*<sup>2</sup> ニューヨーク大学医学部

Sakurai F., Mizuguchi H., Hayakawa T.: **Efficient gene transfer into human CD 34+ cells by an adenovirus type 35 vector**

*Gene Ther.*, **10**, 1041-1048 (2003)

Efficient gene transfer into human hematopoietic stem cells (HSCs) is the most important requirement for gene therapy of hematopoietic disorders and for study of the hematopoietic system. An adenovirus (Ad) vector based on the Ad serotype 5 (Ad5) is known to transduce HSCs, including CD34+ cells, with very low efficiency due to low-level expression of its primary receptor, coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR). In the present study, we developed a recombinant Ad vector composed of the whole Ad serotype 35 (Ad35), which recognizes an unidentified receptor different from CAR for its infection. A transduction study showed that the Ad35-based vectors exhibit higher transduction efficiency in human CD34+ cells than the conventional Ad5 vectors and the Ad5F35 vectors, which are fiber-substituted Ad5 vectors containing Ad35 fiber proteins. The mean of fluorescence intensity in the CD34+ cells transduced with the Ad35 vectors was 12-76 times and 1.4-3 times higher than that in the cells transduced with the Ad5 and Ad5F35 vectors, respectively. The percentages of green fluorescent protein (GFP) positive-CD34+ cells by transduction with Ad35, Ad5, and Ad5F35 vectors expressing GFP at 300 PFU/cell were 53%, 5%, and 52%, respectively, suggesting that Ad35 vectors mediate more efficient gene transfer into human CD34+ cells than Ad5 and Ad5F35 vectors, although the percentage of transduced cells was similar between Ad35 and Ad5F35 vectors. The Ad vector based on Ad35 could be very useful in gene therapy for blood disorders and gene transfer experiments using HSCs.

**Keywords:** adenovirus vector, gene therapy, hematopoietic cell

Iida, A.<sup>\*1</sup>, Kiuchi, F., Ito, M.<sup>\*1</sup>, Honda, G.<sup>\*1</sup>, Mizushima, Y.<sup>\*2</sup>, Yoshida, H.<sup>\*2</sup>, Sarsenbaev, K.<sup>\*3</sup>: **Phenylethanoid Glycosides Targeting Mammalian DNA Polymerases**

*Natural Medicines*, **57**, 146-149 (2003)

A methanolic extract of *Verbascum songaricum* collected in Kazakhstan was investigated. Activity-guided fractionation of the extract prepared from the plant, using a sensitive assay to monitor DNA polymerase reactions, resulted in the isolation of two known phenylethanoid glycosides, poliumoside (1) and verbascoside (2). Glycoside 1 was shown to inhibit mammalian DNA polymerases  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  and  $\epsilon$  with IC<sub>50</sub> values of 42, 23, 35 and 9  $\mu$  M, respectively, whereas those of glycoside 2 were more than 100  $\mu$  M. **Keywords:** *Verbascum songaricum*, phenylethanoid glycoside, DNA polymerase inhibition

\*1 京都大学大学院薬学研究科

\*2 神戸学院大学栄養科学科

\*3 Institute Botany and Phytointroduction, National Academy of Science, Republic of Kazakhstan

Gohari, A.<sup>\*</sup>, Saeidnia, S.<sup>\*</sup>, Matsuo, K.<sup>\*</sup>, Uchiyama, N.<sup>\*</sup>, Yagura, T.<sup>\*</sup>, Ito, M.<sup>\*</sup>, Kiuchi, F., Honda, G.<sup>\*</sup>: **Flavonoid Constituents of *Dracocephalum kotschy* Growing in Iran and Their Trypanocidal Activity**

*Natural Medicines*, 57, 250-252 (2003)

Nine flavonoids together with a phenolic were isolated from the ethyl acetate and methanol extracts of *Dracocephalum kotschy* Boiss. Among the flavonoids, isokaempferide and apigenin showed lethality against epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas disease.

Keywords: *Dracocephalum kotschy*, flavonoid, trypanocidal activity

\* 京都大学大学院薬学研究科

Matsuo, K.<sup>\*1</sup>, Ito, M.<sup>\*1</sup>, Honda, G.<sup>\*1</sup>, Qui, T. K.<sup>\*2</sup>, Kiuchi, F.: **Trypanocidal Flavonoids from *Sophora flavescens***

*Natural Medicines*, 57, 253-255 (2003)

The acetone extract of *Sophora flavescens* exhibited lethal activity against epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*. Column chromatographic separation of the extract afforded a new prenylated flavone together with nine known flavonoids. The minimum lethal concentrations of these flavonoids were 3.6- 71  $\mu$  M.

Keywords: *Sophora flavescens*, flavonoid, trypanocidal activity

\*1 京都大学大学院薬学研究科

\*2 Research Center for Applied Chemistry, Vietnam National University

Uchiyama, N.<sup>\*1</sup>, Ito, M.<sup>\*1</sup>, Kiuchi, F., Honda, G.<sup>\*1</sup>, Takeda, Y.<sup>\*2</sup>, Khodzhimatov, O. K.<sup>\*3</sup>, Ashurmetov, O. A.<sup>\*3</sup>: **A Trypanocidal diterpene with novel skeleton from *Dracocephalum komarovi***

*Tetrahedron Lett.*, 45, 531-533 (2004)

A new diterpene, komarovispirone with a spiro-octaindene skeleton, was isolated from *Dracocephalum komarovi*. The structure was determined by extensive analysis of the spectral data. Komarovispirone showed trypanocidal activity against epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of American Trypanosomiasis, with a minimum lethal concentration of 23  $\mu$  M.

Keywords: *Dracocephalum komarovi*, trypanocidal activity, diterpene

\*1 京都大学大学院薬学研究科

\*2 徳島大学総合科学部

\*3 Scientific Production Center, Uzbek Academy of Science

Yoshimatsu, K., Shimomura<sup>\*1</sup>, K., Yamazaki, M.<sup>\*2</sup>, Saito, K.<sup>\*2</sup>, Kiuchi, F.: **Transformation of ipecac (*Cephaelis ipecacuanha*) with *Agrobacterium rhizogenes***

*Planta Med.*, 69, 1018-1023 (2003)

Transformed root cultures of ipecac were established by co-culturing of in vitro petiole segments with *Agrobacterium rhizogenes*

ATCC 15834. Effects of basal media and auxins on the growth and the ipecac alkaloid production were investigated either under light or in the dark. The transformed roots cultured in the dark grew well in B5 liquid medium containing 0.5 mg/l IBA and yielded 112 mg/l of cephaeline and 14 mg/l emetine after 8 weeks of culture.

Keywords: ipecac, *Cephaelis ipecacuanha*, *Agrobacterium rhizogenes*

\*1 Faculty of Life Science, Toyo University, Japan

\*2 Department of Molecular Biology and Biotechnology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, Japan

Nakamura, Y.<sup>\*1</sup>, Yomura, K.<sup>\*1</sup>, Kikuchi, Y.<sup>\*1</sup>, Ishimatsu, M.<sup>\*1</sup>, Niitsu, K.<sup>\*1</sup>, Sakakibara, I.<sup>\*1</sup>, Higuchi, M.<sup>\*1</sup>, Amagaya, S.<sup>\*1</sup>, Aburada, M.<sup>\*1</sup>, Okada, M.<sup>\*1</sup>, Sekita, S. and Satake, M.<sup>\*2</sup>: **Quality Evaluation of Natural Compound, Isolated from Crude Drugs (Part 2), Aristolochic Acid II**

*IYAKUHIN KENKYU*, 34(8), 485-492 (2003)

ウマノスズクサ科植物に含有されるアリストロキア酸が間質性腎障害の起因为物質であることから、第14改正に本薬局方では参考情報としてHPLC法による試験法を収載した。前報のアリストロキア酸 I に続いてアリストロキア酸 II を分離し、各種の機器分析により標準試薬としての品質評価を行った。

Keywords: Aristolochic Acid II, quality evaluation, standard for chromatographic identification and quantification

\*1 東京生薬協会

\*2 お茶の水女子大学生生活環境センター

Mikami, E.<sup>\*</sup>, Ohno, T.<sup>\*</sup>, Matsumoto, H.<sup>\*</sup>, and Sekita, S.: **Detection of Thyroxine in Dietary Supplements Using an Enzyme-linked Immunosorbent Assay**

*J. Health Science*, 49(6), 547-550 (2003)

チロキシンはダイエタリーサプリメントに違法に添加され健康障害をもたらしている。このチロキシンを検出する方法としてエンザイムイムノアッセイ法を開発した。痩身を目的としたダイエタリーサプリメント13検体について本方法およびLC/MS法によりチロキシンの分析を行ったところ、両者の結果は一致した。よって本エンザイムイムノアッセイ法はサプリメント中のチロキシンの検出に有効であることが判明した。

Keywords: Thyroxine, dietary supplements, enzyme-linked immunosorbent assay

\* 愛知県立衛生研究所

小島 尚<sup>\*</sup>, 関田節子: **エフェドラアルカロイドを含む個人輸入健康食品の医薬品成分に関する検討**

*医薬品研究*, 35(1), 22-28 (2004)

通信販売やインターネットを通じて購入した痩身用健康食品による重篤な健康障害が問題になっている。そこで、エフェドラアルカロイドを含むダイエタリーサプリメントに配合されている医薬品の種類と含量を測定したところ、治療量を越えるカフェインやアスピリンが検出された。

Keywords: personally imported dietary supplement, ephedra alkaloid, Aspirin

\* 神奈川県衛生研究所



中村雄一<sup>\*1</sup>, 余村かおり<sup>\*1</sup>, 神本敏弘<sup>\*1</sup>, 服部尚子<sup>\*1</sup>, 石松 真<sup>\*1</sup>, 菊地祐一<sup>\*1</sup>, 西村浩昭<sup>\*1</sup>, 榊原 巖<sup>\*1</sup>, 中嶋 薫<sup>\*1</sup>, 樋口正視<sup>\*1</sup>, 雨谷 栄<sup>\*1</sup>, 油田正樹<sup>\*1</sup>, 岡田 稔<sup>\*1</sup>, 関田節子, 佐竹元吉<sup>\*2</sup>: 生薬成分の品質規格(第3報) 日本薬局方「エンゴサク」の成分含量測定用硝酸デヒドロコリダリンについて

医薬品研究, 35(4), 185-195 (2004)

第14改正日本薬局方において「エンゴサク」の規格に成分含量測定法が記載されるにあたり, その成分含量測定用試薬としての硝酸デヒドロコリダリンの標準物質の調製法と品質評価について, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, MS, X-線結晶解析等の機器分析により物理恒数を求め, 化学構造を確認した. また, 純度については, TLC, HPLCにより確認した.

Keywords: quality evaluation, Dehydrocorydaline nitrate, Japanese Pharmacopoeia

<sup>\*1</sup> 東京生薬協会

<sup>\*2</sup> お茶の水女子大学生活環境センター

Hosokawa, K.<sup>\*1</sup>, Shibata, T., Nakamura, I.<sup>\*2</sup> and Hishida, A.: Discrimination among species of *Papaver* based on the plastid *rpl16* gene and the *rpl16-rpl14* spacer sequence

*Forensic Science International*, 139, 195-199 (2004)

An attempt was made to discriminate among six species of *Papaver* (*P. bracteatum*, *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. rhoeas*, *P. setigerum* and *P. somniferum*) by comparing the nucleotide sequences of the plastid *rpl16* gene and the *rpl16-rpl14* spacer region. Comparison of sequences allowed us to distinguish five species, namely *P. bracteatum*, *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. rhoeas* and *P. setigerum* plus *P. somniferum* from one another, but sequences from *P. setigerum* and *P. somniferum* were identical. It is difficult to distinguish between *P. bracteatum*, *P. orientale* and *P. pseudo-orientale* at the vegetative stage of growth. However, our method allowed us to distinguish between these species and the others using nucleotide sequences and should allow identification of *P. bracteatum* that has been cultivated illegally in the garden in Japan. Furthermore, *P. rhoeas* was clearly discriminated from *P. setigerum* and *P. somniferum* by reference to the sequence of the *rpl16* exon using young seedling.

Keywords: *Papaver*, Plastid DNA, *rpl16-rpl14* spacer region

<sup>\*1</sup> 兵庫大学健康科学部

<sup>\*2</sup> 千葉大学大学院自然科学研究科

姉帯正樹<sup>\*1</sup>, 菱田敦之, 細川敬三<sup>\*2</sup>, 本田優子<sup>\*3</sup>, 村木美幸<sup>\*3</sup>, 小川 広<sup>\*1</sup>: プイの食材としての可能性について アイヌ民族博物館研究報告, 8, 43-47 (2004)

アイヌ民族が薬用もしくは食用として利用したエゾノリュウキンカ *Caltha palustris* の根(アイヌ語名: プイ)について, デンプン, ポリフェノール含量, 抗酸化活性及び食味などを検討した. ポリフェノール含量は 3.0~3.8  $\mu$ g/mL, DPPH ラジカル捕捉活性を指標とした抗酸化活性は 0.008~0.012  $\mu$ mol/mg であった. これらの値は, アイヌ民族が利用した数種類のユリ科植物根と比べて低かった. 一方, デンプン含量は 42.1~49.2g/100g であり, 食用として利用されているワラビ根茎と同等の値であった. 食味評価は, 癖がなく独特の風味があり良好な評価が得られた. エゾノリュウ

キンカ根の加工法を検討した結果, 生の根を直接通風乾燥するとその粉末試料は濃い褐色を帯びたが, 乾燥前に下ゆでした試料は黄白色で褐色を帯びなかった. 両者のデンプン含量を比較すると乾燥前に下ゆでした試料が高かった. 以上の結果から, エゾノリュウキンカの根は, 抗酸化活性が期待できなかったが, 良好な食味評価が得られたこと及びデンプン含量などを考慮すると, 新規な食材として利用できる可能性が示された. その商品化に当たっては, 外観やデンプン含量の維持などの観点から下ゆですることが品質管理上の重要な前処理であることが示された.

Keywords: *Caltha palustris*, Ainu, starch

<sup>\*1</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*2</sup> 兵庫大学健康科学部

<sup>\*3</sup> 財団法人アイヌ民族博物館

早川堯夫, 永田龍二: 細胞・組織加工医薬品・医療機器の品質管理

*Clinical Neuroscience*, 21, 1195-1197 (2003)

疾患の治療や組織の修復または再建を目的として、ヒト又は動物の細胞・組織を加工した医薬品又は医療機器である細胞・組織加工医薬品・医療機器について、その品質及び安全性の確保のために厚生労働省から「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」及び「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」が公表されている。本稿では、これら指針の趣旨及び内容を解説した。

Keywords: cellular therapy product, quality, guideline

早川堯夫: 我が国発のゲノム創薬基盤研究への期待  
ヒューマンサイエンス, 14(3), (2003)

ポストゲノム時代における創薬基盤のひとつとして、高血圧、糖尿病、がん、痴呆症、喘息などの疾患で変動するタンパク質の探索、解析を目的とする“疾患関連タンパク質解析プロジェクト”が立ち上がった。これについて、かつてない例数の患者さんから得た試料をもとに、最新の分析手法を駆使し、産・官・学がそれぞれの特徴を生かしつつ緊密な連携のもとで疾患関連タンパク質に関する大量かつ精密なデータを取得、画期的医薬品開発のシーズとして活用しようとすることの意義を述べた。また、他の基盤技術との組み合わせが、真に価値ある知的財産に結実させる可能性や確率を一段と高めることに寄与することを示唆し、国益にも叶い、国際貢献にもつながる人類共通の社会的資産である優良な新薬の開発が、わが国独自に進展する期待を述べた。

Keywords: 疾患関連タンパク質解析, 創薬

早川堯夫: バイオ医薬品の新展開と課題, ICH, U 最前線 - 国際調和の新潮流 -

日刊薬業別冊, 特別企画, 109-111 (2003)

ゲノム科学, 幹細胞学, その他の生命科学の進歩と各種先端技術の応用により、どのようなバイオ医薬品の開発が期待されるか、その際、どのような技術が利用され、あるいは開発を求められるか、新たな製品が生み出されてきた場合にどのような視点と技術で評価するか、どのような評価技術の進展が必要か、先端的医薬品等が真に有効に活用されるための社会的理解や倫理的妥当性の保証, 人権の保証の必要性などについて言及した。また、ICH バイオ医薬品分野で今後取り上げるべき課題をリストアップした。革新的なバイオ医薬品のより迅速な開発には、多くの技術的、科学的、社会的、倫理的、経済的問題や規制上、医療上の問題が山積しているが、保健衛生の一層の向上のためには、効果的に問題を克服する努力が必要であることを強調、提言した。

Keywords: ICH, バイオ医薬品開発, バイオ医薬品評価

早川堯夫: 品質 (Quality) 分野 [バイオ], ICH, U 最前線 - 国際調和の新潮流 -

日刊薬業別冊, 特別企画, 137-144 (2003)

ICH6 の品質分野 [バイオ] で取り上げられた課題である「タンパク質性バイオ医薬品の同等性・同質性: コンパラビリティ」の概念, バイオジェネリクスを取扱い, ICH6 で品質部分がステップ 2 になったこと背景と意義, 今後の展

開, 他のガイドラインとの関係などについて解説した。また、遺伝子治療についてのこれまでの ICH での取り組み, 今後の活動, その他, ICH 全般で話題になった創薬におけるファルマコゲノミクス/ファルマコジェネティクスについても言及した。

Keywords: ICH, バイオ医薬品のコンパラビリティ, 国際調和, 遺伝子治療

早川堯夫: 米国における新薬開発の動向

大阪医薬品協会会報, 662, 1-18 (2004)

FDA 副長官であるランプキン博士と 2 時間余にわたり対談し、主に、1) FDA の医薬品開発への関わり, 2) FDA にとってのトランスレーショナルリサーチ, 3) FDA における申請データの評価・解析, 4) FDA の医薬品開発への役割, 5) FDA における新たなバイオテクノロジーの利用と臨床試験, とくにファルマコゲノミクス/ファルマコジェネティクスの取扱い, 6) 今後の創薬において、国が実施/支援すべきと考えられる創薬基盤技術, 7) 新薬開発のターゲットになり得ると考える生体分子, あるいは有望と考えられる医薬品タイプ: 抗体, 遺伝子, 細胞などについて、見解をうかがい、その回答を含めて、要約、解説した。

Keywords: FDA, バイオ医薬品開発, バイオ医薬品評価

早川堯夫: バイオ創薬の新たな展開と効果的な推進に向けて

*Drug Delivery System*, 19(2), 18 (2004)

ゲノム解読後のゲノム科学をベースにした創薬, 幹細胞学の発展などをベースにした細胞治療や再生医療用の製品開発, その他の生命科学や先端技術の進展を背景にした創薬などには、シーズ探索・発見と、それを基にした医薬品候補の探索・選択・最適化, 製法の検討, 品質・有効性・安全性評価という 2 つのステージが必要である。第 1 のステージは、新規遺伝子やタンパク質の探索とその機能解明, 第 2 のステージは、明らかにした遺伝子やタンパク質の機能に基づく創薬である。両ステージでは、各種ゲノミクス, プロテオミクス, バイオインフォマティクスなどの包括的・網羅的なアプローチに加えて「機能の実証的解析・確認」に関する適切な技術基盤がブレークスルーポイントであることを示した。さらに、第 2 ステージで最も重要なことは、有効性・安全性確保の観点から最終的にあるべき薬剤の姿を想定しながら開発を進めることであり、そこで DDS 研究の果たす役割が大きいことを強調した。

Keywords: バイオ創薬, DDS

早川堯夫, 石井明子: バイオ医薬品の現状と将来

*Journal of Integrated Medicine*, 14, 142-143, (2004)

既に臨床で用いられているバイオ医薬品について、タンパク質の種類ごとに適応症を例示して紹介し、その開発の歴史を振り返ると共に、新たなバイオ医薬品の開発に向けた課題を述べた。

Keywords: biologics, biotechnology products

青柳 伸男: 日本のジェネリック医薬品は世界で最も厳しい基準により承認されている

月刊ジェネリック, 6, 7-9(2003)

後発医薬品に生物学的同等性試験を求めた経緯, 溶出の比較試験を求めた理由, 現在の生物学的同等性試験法を紹介し, 新しい試験法で承認された後発品, 再評価が終了した後発品は生物学的同等性の問題が起こる可能性は低いことを述べた。

Keywords: generic drug, bioequivalence, dissolution

青柳 伸男: 溶出試験の変動要因と適格性保証  
製剤と機械, 290, 2-3 (2003)

溶出試験の結果は施設間で異なりやすいこと, その理由として制御しにくい変動要因が多いことを述べ, その中での脱気, 振動は重要な要因となり得ることを紹介した。そして, 溶出試験の適格性を保証するためには, メカニカルな検証, カリブレーションを用いた検証, SOPの整備が大切であることを述べた。

Keywords: dissolution test, validation, calibrator

青柳 伸男: 後発医薬品の現状と将来—生物学的同等性に関して—研究者の立場から  
医薬ジャーナル, 39, 66-71 (2003)。

過去に, 先発品と後発品との間で生物学的非同等性の問題があった可能性は否定できない。しかし, 現在, 新たに申請される後発品に対しては, 薬物の溶出性が先発品と異なった場合, 無胃酸被験者等での試験が必要で厳密な生物学的同等性の確認が求められる。また, 既承認後発品に対しては溶出試験による品質再評価が実施されており, 先発品と溶出が異なる後発品は生物学的同等性が証明されない限り承認整理となる。したがって, 現在の試験法で承認された後発品, 再評価が終了した後発品では生物学的非同等性の問題が生じる可能性は少ないと思われる。

Keywords: generic drug, bioequivalence, dissolution

伊豆津 健一: 凍結乾燥によるタンパク質の構造変化と添加剤による安定化  
低温生物工学会誌 49: 47-54 (2003)。

タンパク質の凍結乾燥および乾燥品保存時におこる高次構造変化について, FT-IR等を用いた測定法と, 糖類など添加剤による安定化機構について概説した。

Keywords: freeze-drying, protein formulation, stabilization

伊豆津 健一: 凍結乾燥によるタンパク質の構造変化と安定化法  
冷凍 79, 49-52 (2004)

タンパク質の凍結乾燥による高次構造変化を抑制するための添加剤選択, およびプロセス制御法について概説した。

Keywords: freeze-drying, protein formulation, stabilization

麻生 伸一郎\*, 吉岡 澄江: 安定性試験ガイドラインについて—ブラケット法及びマトリキシング法を中心として

医薬品研究, 34, 384-393 (2003)

新有効成分含有医薬品の安定性試験ガイドライン「原薬及び製剤の安定性試験へのブラケット法及びマトリキシング法の適用について」の概要を解説し, これらの方法を適用する際の留意点などを考察した。

Keywords: Stability, Guideline, Pharmaceutical

\* ノバルティスファーマ

吉岡 澄江, 麻生 伸一郎\*: 品質に関わるトピックの動向—Q1E及び1Fを中心として

医薬品研究, 34, 445-450 (2003)

ICHで最終合意に達した新有効成分含有医薬品の安定性試験ガイドライン「データ評価に関するガイドライン(Q1E)」および「気候区域Ⅲ及びⅣにおける承認申請のための安定性試験成績に関するガイドライン(Q1F)」について, ステップ4の合意に至った経緯を含めて, 概要を解説した。

Keywords: Stability, Guideline, Pharmaceutical

\* ノバルティスファーマ

阿曾幸男: 生分解性高分子ハイドロゲルの調製と薬物放出特性, ファームテックジャパン, 20, 523-531 (2004)。

$\gamma$ 線照射を利用することによって,  $\beta$ -ガラクトシダーゼ(GA), 牛血清アルブミン(BSA), リゾチーム(Lyz), インスリン(INS)などのモデルタンパク質を内包する生分解性ハイドロゲルを調製した。分子量が10,000以下のLyzやINSの放出速度はパルス磁場勾配NMRによって求めた拡散係数によって予測でき, 分子量が大きくパルス磁場勾配NMRによって拡散係数の測定が困難なGA, BSAにおいては, ゲル高分子のスピン-スピン緩和測定によって見積もられるゲルの網目サイズの値とOgstonによって報告された数学モデルを用いて放出速度が予測できることを明らかにした。ゲルの網目サイズが小さいゲルほど放出速度が小さいことから, ゲル高分子はタンパク質の拡散の障害物として作用することが示唆された。この仮説に基づき温度に依存してゲルの網目サイズが変化するゼラチン-デキストランゲルを調製し, 得られたゲルが温度変化に依存してGAやBSAの放出速度が可逆的に変化することを明らかにした。

Keywords: Hydrogel, Protein, Release rate

檜山行雄: 行政・業界の各トピック有識者インタビュー: 品質(Quality)

日刊薬業別冊ICH-6 最前線, 131-135(2003)

平成15年11月に大阪で開催されたICH化学薬品品質部門の新しいトピックを概説した。製剤開発文書の目的は製品開発における考慮すべき重要点をまとめること, 企業内および行政内における技術情報のより良き共有を推進することである。また品質リスク管理は医薬品品質分野におけるリスク管理の適応範囲, 適応方法の原則を国際的に合意し, 可能であれば行政手続きの簡略化をめざすものである。

Keywords: ICH, Pharmaceutical Development, Quality Risk Management

檜山行雄: 医薬品のGMPと品質保証

ファルマシア, 40, 21-25 (2004)

医薬品の品質確保は人々が薬を安心して使用する上で不可欠である。そのためには, 医薬品国際調和会議(ICH)新医薬品の規格及び試験方法の設定ガイドライン(Q6A)に述べられているように, 研究開発段階における徹底的な製品特性の解析, 規格及びGMP(Good Manufacturing Practices)の遵守が3つの方策としてある。この三大方策が適切な連携により運営されれば, 問題は少ないはずであり, 平成17年か

ら施行される改正薬事法に向けて、企業、行政ともに品質保証関連の体制の見直しを進めているところである。本稿ではこの三方策の概説とこれらに関する現状の問題・課題を述べ、その現状認識から始めた筆者らによる厚生労働科学研究からの提言を紹介するとともに、改正薬事法関連の課題、ICHにおけるGMPなどの品質トピックを交え、課題解決の方向を解説する。

Keywords: GMP, ICH, Pharmaceutical Affair Law

石井明子：EGF受容体を介する情報伝達系のプロテオーム解析

ファルマシア, 40, 67-68, (2004)

近年、細胞内情報伝達系の研究にプロテオーム解析を応用する試みがなされているが、その際、目的とするタンパク質群をいかに特異的に抽出し、同定するかが重要課題となる。本稿では、細胞培養時に安定同位体標識アミノ酸を添加することによって、活性型EGF受容体と特異的相互作用するタンパク質を選択することに成功した例を紹介した。

Keywords: stable isotope labeling, affinity purification

Kawasaki, N., Hashii, N., Itoh, S., Hyuga, M., Kawanishi, T., and Hayakawa, T.: Glycome analysis by oligosaccharide profiling using liquid chromatography/ mass spectrometry

*J. Electrophoresis*, 48, 5-10 (2004)

LC/MSを用いた糖鎖プロファイリング、2次元電気泳動法、及びレクチンプロットなどを組み合わせたグライコム・グライコプロテオーム解析法を紹介した。

Kawasaki, N., Ohta, M., Itoh, S., and Hayakawa, T.: Analyses of glycoproteins and glycopeptides by liquid chromatography/ mass spectrometry, and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Methods Molecular Biology*, 251, HPLC of Peptides and Proteins, Edited by M. I. Aguilar, 263-274 (2003)

LC/MSを用いた糖タンパク質及び糖ペプチドの糖鎖解析法について解説した。

川西 徹, 河合 洋: 細胞傷害機構のイメージング, 実験医学 22, 428-429 (2004)

カスパーゼはアポトーシス誘導メカニズムにおいて、重要な役割を有したシステインプロテアーゼである。そこで蛍光共鳴エネルギー遷移 (Fluorescence Resonance Energy Transfer: FRET) 現象を利用してカスパーゼの活性化をイメージングするためのタンパク質系蛍光プローブを設計、作製した。即ち、GFP誘導体のECFPとEYFPの間にカスパーゼ特異的に切断されるペプチドを配した融合タンパク質をHeLa細胞内に発現させた。これを共焦点レーザー走査顕微鏡で観察すると、カスパーゼ誘発刺激に伴い蛍光の変化が観察された。カスパーゼ3およびカスパーゼ8/9の活性化の検出が可能で、カスパーゼ3を用いて、カスパーゼ活性化のタイミングを比較したところ、カスパーゼ8/9の活性化までは細胞個々で大きく異なり、1~数時間かかるものの、カスパーゼ3とカスパーゼ8/9の活性化はすべての細胞で10分以内程度の時間差で生じることが明らかとなった。

Keywords: caspase, fluorescent probe, GFP

川西 徹, 松木 滋\*: 品質に関するトピックの動向 ミ QSE: バイオ医薬品のコンパラビリティ— 医薬品研究, 34, 508-512 (2003)

ICH-QSEトピック「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) の製造工程の変更にとともなう同等性/同質性評価」の進捗状況を報告したものである。2002年2月ブリュッセル会議においてコンセプトペーパーがまとめられ、9月のワシントン会議を挟んで、2003年2月の東京会議でドラフトが本格的に開始された。基本的には、まず製法変更前後の製品間の品質特性の比較を行い、その結果から製法変更が製品の品質・有効性・安全性に影響する可能性がぬぐえない場合は、非臨床、臨床試験を行って同等性/同質性評価を行う、という基本的な考え方について合意が得られた。今後11月のICH6でのステップ2を目標に作業を進める予定である。

Key words: ICH, biotechnology-derived products, comparability

\*キリンビール株式会社

合田幸広: 一般用漢方処方 (210処方) に関する最近の話題: Kampo Med., 55, 14-21 (2004).

第54回日本東洋医学会学術総会での漢薬原料調査委員会セミナーで講演した一般用漢方処方 (210処方) に関する内容について概説した。

Keywords: the 210 Kampo formulations, OTC drug, ATC classification

合田幸広, 代田 修, 丸山卓郎: 生薬分析 - 最近の進歩 - ぶんせき 2003, 308-314.

生薬分析は、生薬 (及び生薬を原料とする医薬品) の品質確保、生薬中の有効成分 (生理活性成分) の解明、生薬からの創薬リード化合物の発見等を目的として行われる。生薬の品質確保には、生薬の鑑定が最優先事項となる。従来、生薬の鑑定には、その形態の観察 (鏡検を含む)、味、におい等、五感を利用したもの、含有成分分析を組み合わせて行われていた。PCR法の発見から始まる分子系統学の爆発的な進歩は、生薬の分類や鑑定に新しい風を導入した。本稿では、原則として1999年以降の文献について扱い、まずDNAによる生薬の基原種の分析法と分析例について紹介した。次いで、生薬の品質確保や有効成分の解明のため、昨今その利用が積極的に行われるようになってきたハイフネーテッド技術 (hyphenated techniques) を用いた生薬の分析例について紹介した。さらに、免疫化学的測定法を利用した分析例を紹介したのち、キャピラリー電気泳動 (CE) 法を利用した分析例、近赤外分光法による分析例を紹介した。

Keywords: Crude drug analysis, hyphenated technique, DNA technique authentication

合田幸広: 薬用植物の栽培と資源保護 日中医学 18, 2 (2003)

漢方医学は、有限資源である薬用植物を利用することで成り立っていることを述べ、我々、日本人は、漢方医学という日本の「文化」を守り、発展させるためにも、薬用資源の現状にもっと目をむけ、薬用植物の栽培と資源保護により努力する必要がある旨を提言した。

Keywords: Kampo medicine, good agricultural practice, medici-

nal plants

佐藤陽治, 石田誠一: DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析による薬物の分類

生体の科学, 54, 399-404 (2003)

DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析に基づく薬物の標的遺伝子の同定と分類について, 主に筆者らの経験をもとに概説した。

Keywords: DNA microarray, retinoids, predictor gene

鈴木孝昌: 変異原性 (イニシエーター) から見たリスク評価  
*Environ. Mutagen. Res.*, 25, 181-186 (2003)

Has the mutation research contributed sufficiently to the genetic risk assessment of chemicals towards human? The answer may be "No". Although it has contributed much for a prediction of carcinogenicity, but how much benefit has the prevention of those mutagens brought to real human life? It is suggested that the contribution of environmental chemicals to human carcinogenesis is less than 10 %. The main causes for cancer are tobacco smoking, food habit, and aging. We, genetic toxicologists, satisfy with a qualitative evaluation of mutation assay results and try to cover as much "carcinogens" as possible. This approach ignores the quantitative evaluation, which is more important in risk assessment. Many of "carcinogens", especially so-called non-genotoxic carcinogens, may not cause cancer at the human exposure level. The "genotoxic non-carcinogens", if they exist, are more important because cancer is not the only toxicological outcome of genotoxicity. We should pay more attention to heritable genetic effects of chemicals. An increasing incidence of smoking among young women alerts us to investigate the genetic effects of smoking in their progeny. The paradigm shift from the hazard identification to risk assessment is important in mutation research. In this regards, quantitative, mechanism-based, and humanized mutation assay is required.

Keywords: mutation research, risk assessment, initiator

鈴木孝昌: トランスジェニックマウス変異原性試験の有用性に関する研究

*Environ. Mutagen. Res.*, 25, 119-125 (2003)

The transgenic mouse mutation assay was developed as a striking new tool for mutation research in 1990. This assay enables the detection of mutations in a transgene in multiple organs including germinal tissues and thus reveals organ-specific genotoxicity of the mutagen. Accumulation of experimental data suggests the transgenic mouse mutation assay can be used as a standard in vivo test for mutagenesis. Sequencing of the transgene enables to draw mutagen-specific mutation spectrum, a molecular signature of the mutagen, and is very useful to deduce the mechanism of mutagenesis. In this regard, we have intensively used a positively selectable target gene 'cII'. This gene is relatively short (300 bp) which made the sequencing process easier and less time consuming and enables us to generate data on mutagenesis of several mutagens. A quantitative comparison of carcinogenic and mutagenic potency of chemicals revealed a good correlation with transgenic mutation assay and therefore suggest-

ing a usefulness of this assay for the quantitative risk assessment.  
Keywords: transgenic mouse mutation assay, cII, mutation spectrum

矢上 健, 範島由二, 土屋利江, 富高晶子\*, 加野尚生\*, 松永佳世子\*: プロテオミクスの手法を用いたラテックスアレルギーの解析

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 7, 38-43 (2003)

遺伝子や蛋白質のシーケンス情報がデータベースに蓄積されるに従い, 2次元電気泳動や質量分析といったプロテオミクスの手法により, 問題となる蛋白質群を迅速・網羅的に解析することが可能となってきた。そして最近, こうした手法を用いて蛋白質性アレルギーを網羅的に分析しようとする試みが始められ, allergenomics と呼ばれるようになった。本稿ではプロテオームやプロテオミクスの概念を簡単に述べた後, allergenomics の方法論について解説し, さらに, 実際にラテックスアレルギーを解析した例を紹介する。

Keywords: allergenomics, proteomics, allergen

\* 藤田保健衛生大学医学部

矢上 健: 見逃しやすいアレルギー疾患「ラテックスアレルギー」

*Nikkei Medical*, 32, 123-126 (2003)

1980年代の終わりから, 医療用具を中心とした天然ゴム製品による即時型アレルギー反応が多く報告され, ラテックスアレルギーと呼ばれるようになった。問題となる天然ゴム製品の多くは, ゴムの木の樹液 (ラテックス) に鋳型を浸すことにより形成・加工された, 手袋やカテーテルである。しかし, 固形ゴムから製造された物品に患者が反応するケースもあり, 天然ゴムを含むあらゆる製品がラテックスアレルギーを引き起こす潜在性を有すると言える。ラテックスアレルギーが報告されるようになった背景には, 肝炎やHIV (ヒト免疫不全ウイルス) に対する予防措置として, 医療現場で天然ゴム製手袋が頻繁に使用されるようになった経緯があるとされている。本稿では, ラテックスアレルギーについて概説すると共に, このアレルギーにかかわる交叉反応性アレルギーの特徴, 食物アレルギーとの関連性について解説する。  
Keywords: allergenicity, cross-reactivity, defense-related protein

矢上 健: ラテックスアレルギーとラテックスアレルギー  
日本薬剤師会雑誌, 56, 197-201 (2004)

ラテックスアレルギーとは, 天然ゴム製品が原因となって誘発に至る即時型アレルギー反応のことである。エイズや肝炎などに対する防御対策として, 医療従事者が天然ゴム製手袋を頻繁に着用するようになった80年代後半から, このアレルギーが増加し始めた。症状としては接触局所に誘発される蕁麻疹が一般的であるが, 全身性の蕁麻疹やアナフィラキシーショックに発展する場合もある。また, 天然ゴム製品のみならず果物や野菜に対しても即時型アレルギー反応を示す症例があり, 「ラテックス-果物症候群」と呼ばれている。さらに, ラテックスアレルギーは, 原因となるアレルギー蛋白質という面からも注目されている。本稿では, ラテックスアレルギーとその原因物質について概説する。

Keywords: allergenicity, cross-reactivity, class 2 food allergy

## 矢上 健：OASに関する交差反応性抗原の特徴

医学のあゆみ, 209, 143-146 (2004)

即時型アレルギー反応は、IgE抗体とアレルゲン蛋白とが相互作用することにより引き起こされる。一般に食物アレルギーの原因となる蛋白質は熱や消化酵素に抵抗性を示すが、そのような特質を持たない抗原もある。熱処理や消化酵素により速やかに抗原性を失う蛋白質がIgE抗体と相互作用した場合に、OASという病態が誘発されると考えられる。また、このような抗原には経口感作能がないことから、患者はあらかじめ交差反応性があるような蛋白質により感作されていたと判断される。最近になってOASなど、感作・誘発抗原の交差反応性に基づき発症に至る食物アレルギーは、クラス2食物アレルギーと呼ばれるようになった。従来の食物アレルギーでは感作抗原と誘発抗原が一致するのに対し、クラス2食物アレルギーでは、感作と誘発の過程に異なる蛋白質が関与することがポイントとなる。よって各抗原に対する曝露経路が異なるケースも想定されなければならない。

Keywords: epitope, pan-allergen, class 2 food allergy

## 鹿庭正昭：家庭用品の安全性確保における健康被害の原因究明と製品・化学物質情報の収集・伝達の重要性

MATERIAL STAGE, 3, 90-93 (2003)

家庭用品の安全性を確保するうえで、健康被害の原因となった製品と化学物質の関連性を究明するとともに、その結果を製品表示・化学物質等安全データシート等を通じて、健康被害の発生防止のため製品情報の収集・伝達が重要であることを概説した。

Keywords: household product, health hazard, product information delivery system

## 鹿庭正昭：特集 身のまわりで使われる「農薬」類似製品の有害性と安全対策

化学物質と環境, 63, 5-7 (2004)

身のまわりで使われる抗菌加工製品等の「農薬」類似製品について、健康被害の発生実態、配合成分の有害性情報等を明らかにするとともに、それらの製品情報をどのように入手し、健康被害の発生防止のために、どのような点を心がければよいかを概説した。

Keywords: household biocide-like product, health hazard information, preventive measure

## 新谷英晴, 山瀬 豊\*, 山口透\*: 耐放射線性医療用高分子素材の開発の動向

防菌防黴, 32, 87-90 (2004)

放射線滅菌後に素材の品質特性が変化したり、着色したりして滅菌後の製品の品質の確保が困難になるケースが報告されている。本解説では放射線曝露に耐性な高分子素材を見出す方法について現在までに得られた種々の知見を基に耐放射線性医療用高分子素材の開発の動向に関して解説した。

Keywords: medical-use polymer, radiation resistance, sterilization

\* 日本電子照射サービス株式会社

## 新谷英晴：D値、Z値、L値、F値、F0値ならびにFH値について

防菌防黴, 31, 557-560 (2003)

D値を除いて表題に示した物理的計算値は専ら加熱滅菌(加圧湿熱ならびに乾熱)に使用される。パラメトリックリリース実施に伴い今後は加熱滅菌器(高压蒸気滅菌器ならびに乾熱滅菌器)に対してこれらの因子の計算/測定が要求される。そこでこれらの因子の意味、計算の意義、重要性、注意点などについて解説した。

Keywords: D value, Z value, F value

## 新谷英晴：医療用具滅菌の現状と将来展望

防菌防黴, 31, 619-623 (2003)

医療用具滅菌の現状と将来の滅菌法に関して現状の滅菌法の利点、問題点、現状の滅菌法に替わり得る滅菌法について解説した。

Keywords: ethylene oxide sterilization, hydrogen peroxide plasma sterilization, pulsed-light sterilization

三木亜希子\*, 黒須志のぶ\*, 林 郁江\*, 榊原靖久\*, 並木祥代\*, 並木 努\*, 加藤薫一\*, 新谷英晴：光触媒装置の病院内環境菌に対する滅菌効果の有効性  
クリーンテクノロジー, 13, 70-73 (2003)

院内感染の原因となり得る空中浮遊菌ならびに落下細菌は滅菌されて減少されなければならない。二酸化チタン膜と紫外線ランプで構成された光触媒装置は微生物の滅菌に有効であると報告されている。そこで、著者等は光触媒装置が実際に医療機関の院内感染菌を減少させ得るのかを検証した。医療機関の未滅菌、紫外線ランプ照射のみならびに光触媒装置滅菌での菌数を比較した。その結果、未滅菌と紫外線ランプ照射との間ならびに未滅菌と光触媒装置滅菌との間には浮遊菌数に有意な差が認められた。一方、紫外線ランプ照射と光触媒装置滅菌との間には有意な差は認められなかった。このことからあまりにも短時間の菌と二酸化チタン膜との接触では二酸化チタンの滅菌に対する有効性は不十分であることが分かった。二酸化チタン膜機能の改良にあたっては、湿度制御機能の付与、二酸化チタン膜からのOHラジカル形成の増加ならびに光触媒装置内で菌と二酸化チタン膜との接触時間を長くすることなどが今後検討されなければならない。

Keywords: photocatalyst, nosocomial infection, airborne microorganisms

\*1 ミノファーゲン株式会社

\*2 並木クリニック

\*3 光触媒研究所

谷合悦子\*, 黒須志のぶ\*, 三木亜希子\*, 新谷英晴：市販エアサンプラーに拠る空中浮遊菌の捕集効率の比較  
クリーンテクノロジー, 13, 60-64 (2003)

空中浮遊菌捕集エアサンプラーの捕集性能を5社のエアサンプラーを用いて比較した。培地は1社の培地を除いて同一培地を用いた。その結果SCDA培地を用いた場合は機種間に捕集性能に差が認められた。一方SCDALP培地の場合は機種間に捕集性能に差が認められなかった。それでSCDALP培地を用いればどの会社のエアサンプラーを用いても捕集菌数に有意差がないと言える。

30度培養に関して言えばSCDALPとSCDAとの間には生育性能の差が認められた。一方、20度培養の場合はSCDALPとSCDAとの間には生育性能の差が認められなかった。20度培

養の場合、空中浮遊菌の培養日数のバリデートには真菌と細菌を混在させて塗布菌数が何日で回収されるかをバリデートする必要がある。

Keywords: air sampler, SCDALP culture medium, airborne microorganisms

\*ミノファーゲン株式会社

黒須志のぶ\*, 谷合悦子\*, 三木亜希子\*, 藤木光正\*, 平林一広\*, 新谷英晴: 医薬品製造環境の清浄度維持ならびに保守管理

クリーンテクノロジー, 14, 49-54 (2004)

無菌製剤製造環境中の重要工程である秤量, 充填, 溶解, ろ過を行う作業室の環境微生物管理の清浄度維持は厳重に実施されなければならない。その中で特に, 薬液の充填を行うクリーンブースは無菌性を厳重に維持すべき環境である。製造環境の維持は, その環境を維持でき得る設備とそれを管理するに適した方法次第に拠る。維持すべき環境のグレードは, かなりの部分をそれらの設備, 機器の性能に依存している。基本的には設計時に設定した設備, 機器により製造環境が決定されるため, 設計, 建築する初期の段階より最終製品の品質を考慮し, 無菌性の保証ができる環境を構築する必要がある。また, バリデーションを実施し, それぞれの作業室の製造環境が所期の目的どおり機能していることを検証することも重要である。以上のように構築された製造環境の維持と微生物管理について具体例を示しながら解説した。

Keywords: clean room, aseptic procedure, validation

\*ミノファーゲン株式会社

新谷英晴: 院内感染と制御

防菌防黴, 31, 331-337 (2003)

最近セラチア, レジオネラ菌, メシチリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) などが原因となった院内感染の報告が多々なされている。医療用具はGMPならびに滅菌バリデーションの規格を通し一般に無菌性保証 (SAL) 10<sup>-6</sup> が達成された物が市場に出荷されている。にも拘わらず医療現場でのバイオオーバーデン菌数の多さ, 医療用具の取扱いの不注意, 汚染に対する注意の欠如などが原因と考えられる院内感染の発生は跡を絶たない。そこで院内感染を如何に防止するかについて滅菌剤/消毒剤の適用などを通して考えてみることにした。

Keywords: nosocomial infection, Legionella spp, dialysis

新谷英晴: 紫外線滅菌による損傷とその修復メカニズム  
防菌防黴, 31, 385-391 (2003)

紫外線滅菌は病院などの外来や手術室などで人のいなくなった時に院内感染防止の意味で使用される場合が多い。ただそれでも院内感染を防ぐのが困難なのは紫外線の滅菌/殺菌力の問題と人工光での損傷菌の修復があるからである。同時に紫外線滅菌の効果が素材表面に限定されるためであるが, 紫外線と組み合わせる酸化チタン触媒での光触媒でOHラジカルを発生させることに拠って紫外線滅菌効果とオゾンならびに過酸化水素の滅菌効果も期待でき, 紫外線照射量も減少させることが可能となる。紫外線と組み合わせる酸化チタン触媒での光触媒を用いて院内感染起因菌の減少を定性的ならびに定量的に行う実験は今後予定しておりここでは紫外線滅菌の有効性とその限界について解説する。

Keywords: UV sterilization, injured bacteria, repair

土屋利江: 細胞組織医療機器等の製品化のためのガイドライン・環境整備について

高分子, 53, 144-146 (2004)

医療機器・細胞組織医療機器関連の薬事法の改正が昨年度からスタートしている。その内容は, (1)多様に富んだ医療機器のリスクに応じた新クラス分類とその承諾制度の見直し, (2)細胞組織医療機器が含まれる生物由来製品の感染リスクに応じた安全対策の充実, (3)市販後安全対策の抜本的見直しが急ピッチで進められている。また, 第三者認証制度の導入において必要な規格・基準の整備も行われている。本校では, 細胞組織医療機器や新たな制度である生物由来製品の薬事法改正内容について記載した。

Keywords: tissue engineered medical product, manufacturing, regulation

土屋利江: 細胞組織医療機器等の品質・安全性確保について  
再生医療, 3(1), 107-110 (2004)

平成12年12月26日付でヒトまたは動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について, 別添1「細胞組織利用医薬品等の取り扱い及び使用に関する基本的考え方」と別添2「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」の二つの文書が示された。平成13年3月28日付で「薬事法施行規則の一部を改正する省令等の施工について (細胞組織医薬品及び細胞組織医療用具に関する取扱いについて)」が公布され, 平成13年4月1日より施行されている。ヒトまたは動物の細胞または組織より構成された医療機器及び医薬品に関して科学技術の進歩に伴う感染症への対策が急務となり, ドナースクリーニング, 感染因子の不活化など, ドナーに由来する感染症への対策, 培養等の処理により細胞又は組織が有害な性質のものとならないことの確認等, 品質および安全性を確保するために特別の対策が必要とされ, 改正された内容の概略を紹介した。

Keywords: infection factor, tissue engineered medical product, biological product

土屋利江: バイオマテリアルの安全性を考える

バイオマテリアル—生体材料—, 22, 69-70 (2004)

学会では, 華々しい発表がありながら, 製品としては, 新規な材料が申請されてこない状況がある。あきらかにもっと良い材料があるにもかかわらず, いつまでも同じ材料が使用されている。安全性は, 裏返せば, 開発研究の論理的手段, 指標をみつけるための評価であると考え, 前向きに考慮する。表面だけの安全性では, 大きな市場を独占できる医療機器はうまれない。材料を完成させたあとで, 安全性を評価する従来のスタイルでは, 製品開発の効率は悪い。原料選びの段階, 設計の段階こそが重要である。医療材料, 医療機器評価には幅広い知識・経験・技術が必要で, 多くの専門家と協力し, 安全で有効な医療材料・医療機器開発にむかって, 一丸となつてすすめる時機にきていることなどについて, 提言した。

Keywords: safety, biomaterial, preclinical evaluation

土屋利江: ティッシュエンジニアリング用マテリアルの製品化条件と国際標準化

再生医療, 3(2), 71-75 (2004)

ティッシュエンジニアリング用マテリアルの製品化において、現在、考えられる問題点やこの分野の国際標準化の動向について紹介した。

Keywords: tissue engineered medical product, manufacturing, international standardization

西村哲治: 環境汚染物質は水棲生物の初期発生にどのような影響をあたえるか. *かんきょう*, 2003年1月号, 40-41.

環境中に存在する内分泌かく乱化学物質の影響を、特定の器官に対する影響としてとらえるのみではなく、個体全体に及ぼす影響としてとらえ、正常な成長・成熟と機能の維持を妨げる作用として理解することにより、内分泌かく乱化学物質影響評価の試験管内実験動物代替試験法を、遺伝子工学技術を応用して開発している。特に、個体発生に重要な時期である初期発生中の胚や胎児期に及ぼす影響を評価することのできる試験法を分子生物学的な視点から検討している。17β-エストラジオール、ビスフェノールA、4-tert-オクチルフェノールの3物質を対象に、アフリカツメガエルの発生期に及ぼす影響を検討し、受精後48時間目までの暴露により奇形の発生が起こることを明らかにした。ディファレンシャル・ディスプレイ法やDNAチップを用い、異常の発生と関係が推測され、転写産物の発現変化が確認されたクローンを同定し、内分泌かく乱化学物質の影響を評価することのできるバイオマーカーとしての候補を探索している。

Maitani, T.: Evaluation of Exposure to Chemical Substances through Foods-Exposure to pesticides, heavy metals, dioxins, acrylamide and food additives in Japan-

*J. Health Sci.*, 50, 205-209 (2004)

For the risk management of chemical substances in foods, evaluating the exposure to chemical substances is essential. The Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) continuously performs total diet studies to estimate the average Japanese dietary intake of various chemical substances, such as pesticides, heavy metals, dioxins, food additives, etc. In many of the studies, the National Institute of Health Sciences, especially the Division of Foods plays a central role. In this mini-review, the results of several recent total diet studies are described. The Total Diet Study of Food Contaminants which began in 1977 has found that the intake of banned pesticides is very low compared with the acceptable daily intake (ADI). However, the dietary intake of Cd is high, and was 52% of the Provisional Tolerable Weekly Intake in 2002. The average daily intake of dioxins (PCDDs, PCDFs and coplanar-PCBs) was 1.49 pgTEQ/kg in 2002, which is lower than the tolerable daily intake (TDI) value of 4 pgTEQ/kg/day. Total diet study samples from the Kansai area demonstrated a reduction in dioxin intake between 1977 and 2002. The daily dietary intake of acrylamide was estimated to be several scores of micrograms per person. Although the daily intake of most food additives was much lower than ADI, the intake of nitrate exceeded ADI when estimated by the market basket method. The contribution of food additives was low and most of the intake was attributed to nitrate in vegetables. These data form the basis for risk management per-

formed by the MHLW.

米谷民雄: 食品添加物をめぐる最近の状況について  
*乳業技術* 53, 23-31 (2003)

指定添加物については国会付帯決議に基づき、添加物数を増やさないよう措置されてきたため、海外で広く使用され国際的に安全性評価が終了したが国内では使用できない品目が多く、違反事例が多くあった。そこで、フェロシアン化物の問題を契機に、そのような添加物を国が指定していく方針が打ち出された。また、香料化合物については、わが国は特殊な指定方法を採用しているが、世界的なポジティブリスト制への動きと、わが国での違反事例に対応するため、安全性評価法の検討が進んでいる。その他、保健機能食品で使用する食品添加物の新規指定、既存添加物の安全性評価作業と既存添加物名簿からの削除の方針、厚生労働科学研究における香料化合物と既存添加物の化学的安全性評価の研究、ナタマイシンの指定についての動きなど、最近の食品添加物に関する動きについて概説した。

Keywords: food additive, food flavoring, natural food additive

米谷民雄: 加工食品中のアクリルアミド  
*食品衛生研究* 53(10), 7-14 (2003)

スウェーデン政府は平成14年4月に、ポテトチップスなどの食品中に、発がん性の可能性があるアクリルアミド(AA)が含まれていると発表した。ことが重大であるため、世界中で対応が開始された。直後の各国からの報告とWHO専門家会議、わが国における厚生労働科学特別研究での研究、その後の国際的な会合と今後の課題について紹介し、また、AAの生成機構および代謝と毒性についてもまとめた。

Keywords: acrylamide, processed food, production mechanism

米谷民雄: 食品添加物の新しい分析法と最近の話題  
*ケミカル・エンジニアリング* 48, 760-764 (2003)

食品添加物の分析に関しては、①食品添加物そのものの分析、②食品中の食品添加物の分析、③摂取後の食品添加物とその代謝物に関する分析の、3つの領域において分析法が研究されている。そこで、最近報告された新しい分析手法を用いた研究、および注目すべき研究例について紹介した。

Keywords: food additive, analysis, new method

宮原 誠: 照射食品安全性検証の歴史  
*食品照射* 38 31-48 (2003)

1953年にアメリカ合衆国陸軍が照射食品を本格的に研究し始めて、50年になる。その歴史を振り返り、古い資料を評価し、どのような経緯で研究され、当時の評価がどのようなものであったかを論じた。アメリカ合衆国議会報告書、アメリカ原子力エネルギー委員会の報告書を中心にその歴史を振り返った。同時に、今後この分野のあり方を考察した。

Keyword: ssafety, irradiated foods, US congress reports

宮原 誠: 照射食品とアレルギー  
*食品照射* 38 49-56 (2003)

照射が食品のアレルギー性をどのように変化させるかを種々の論文を通じて、免疫化学的に論じた。放射線化学的には、低分子化が主な反応だが、蛋白分子の再結合により高分子化も観測される。実際の生体への影響を知るには今後の研



究を待たねばならない。

Keywords: allergen, immuno-chemistry, irradiated foods

宮原 誠：2003年FDAサイエンスフォーラムについて  
食衛誌, 44, J-339-341(2003)

およそ10年前からAOAC年會に替わるFDAの中心的なイベントとして始まった本會の概要を述べた。今年の本會のテーマはアメリカ人の健康を守るであったが、“テロ対策”など、基本的に米国内の事情を知るための良い機会であった。  
Keyword: FDA science forum, Protecting American's Health, strategies for countering terrorism

穂山浩, 渡邊敬浩, 笠間菊子\*, 松木容彦\*, 米谷民雄  
食品衛生外部精度管理調査研究の概要(第1報)  
遺伝子組換えトウモロコシ(CBH351)および遺伝子組換えジャガイモ(NewLeaf Plus and NewLeaf Y)の検知用試料の作製と調査成績について  
食品衛生研究, 52(6), 65-73(2002)

我が国においては平成12年の厚生省告示第232号ならびに第233号により、安全性の確認されていない遺伝子組換え(GM)食品が国内で流通しないよう、食品衛生法の規格基準を改正し、平成13年4月以降、GM食品の安全性審査ならびに表示を法的に義務付けた。さらに、流通ならびに表示の科学的検証を行うため、「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」を通知し、GM食品の検査方法を定めている。この検査方法により安全性審査の終了していないGM食品が定性的に検知された場合は、積戻しあるいは廃棄の対象となる。そのため、当検査方法を用いて得られる測定結果の信頼性を確保することが大変重要であり、精度管理が不可欠であると考えられる。

GM食品検査法の外部精度管理調査に関しては、検査法が分子生物学的技術を要するために、食品衛生外部精度管理調査事業としてではなく、調査研究的な要素を含んだ形態で平成13年度より実施されている。

本稿では平成13年度に実施したGMジャガイモおよびトウモロコシの定性検査法における外部精度管理試験調査研究の内容を紹介し、分析結果の相互比較を通じて、検査機関によるばらつき程度のならびにその要因について詳細な検討を行ったので概説した。

\*1 (財)食品薬品安全センター-秦野研究所

穂山浩：食品中のアレルギー誘発物質の検出法について  
食肉の科学, 44(2), 167-173(2003)

現在、我が国では少なくとも人口の1~3%の人が何らかの食物アレルギーを持っていると考えられている。有効なアレルギー治療法がないため、アレルギーを誘発する物質(アレルゲン)を含む食品を避けることが、最も一般的な予防・治療法となっている。近年、アレルゲンを含む食品に起因する健康危害が多く見られるようになり、表示による情報提供の必要性が高まったため、平成13年4月の食品衛生法関連法令の改定に伴い、平成14年4月より本格的にアレルゲンを含む食品の表示が義務付けられている。これに併せて、国立医薬品食品衛生研究所を中心に産官学の支援研究機関が協力して、省令で定めた特定原材料5品目の検出法に関して検討された。平成14年11月6日には、特定原材料の表示を監視する目的で、特定原材料検出法検討会で開発及び評価さ

れた検出法を基に、医薬局食品保健部長通知として「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(食発第1106001号)が特定原材料5品目の検査法が定められた。本稿では、主にこの検査法で示された特定原材料検出法とアレルギー誘発物質の新しい検出法について紹介する。

穂山浩：原因食品中のアレルギー誘発物質の解明に関する研究

食物アレルギー研究会誌, 3, 67-70(2003)

平成13年度から15年度に行った厚生労働科学研究「食物アレルギーの実態および誘発物質の解明に関する研究」の分担研究である「原因食品中のアレルギー誘発物質の解明に関する研究」の3年間の研究成果について解説した。

杉本直樹：天然添加物中の主成分の構造決定に関する研究  
食品衛生学雑誌, 44, J278-280(2003)

天然添加物(既存添加物)は、その多くが植物等の抽出物であることから、殆どが数種以上の化合物からなる混合物であり、しかも成分規格や使用基準が未整備のまま使用許可されている。また、天然添加物には、食経験のない植物等からの抽出物、生薬を基原植物とするもの、添加物用途以外に健康食品素材としても用いられ多量の摂取が予測されるもの等があり、化学的に安全性が十分に確保されているとは言い難いものもある。したがって、天然添加物の成分組成を明確にし、規格基準整備を行い、化学的な安全性を確保する目的で、1. 酵素分解ハトムギ抽出物、2. テンリョウチャ抽出物、3. 耐酸性コチニールの主成分および副成分の構造決定を行った。

Keywords: enzymatically hydrolyzed coix extract, tenryocha extract, acid-stable carmine

山本茂貴：食品のリスクアセスメント

ソフトドリンク技術資料, 138, 69-76(2003)

食品の微生物学的リスクアセスメントについて概要と確率論的方法を解説した。

Keywords: food microbiology, food safety, risk assessment

山本茂貴：食品の微生物学的リスクアナリシス

IISI, 73, 23-27(2003)

食品の微生物学的リスクアナリシスについて概要と確率論的方法を解説した。

Keywords: food microbiology, food safety, risk assessment

山本茂貴：UJNR 有毒微生物専門部会第37回日米合同部会日米合同会議の概要

食品衛生研究, 5月号 7-9(2003)

合同会議の内容と科学会議について概要を解説した。

Keywords: food microbiology, food hygiene, mycotoxin

山本茂貴：食品中の微生物のリスクアナリシス

食品衛生対策のツールとして

バムサ会誌, 15, 2-5(2003)

食品の微生物学的リスクアナリシスについて概要と確率論的方法を解説した。

Keywords: food microbiology, food safety, risk assessment

山本茂貴: 食品工場における微生物汚染対策の考え方  
IBEC, 24, 32-34 (2003)

食品工場の微生物汚染防止対策を施設設備の洗浄方法を含めて解説した。

Keywords: Food safety, microbiological contamination, sanitation standard operating program

山本茂貴: 食品中の微生物のリスクアセスメント  
日本食品保全研究会報, 9 (1), 1-9 (2003)

食品の微生物学的リスクアセスメントについて概要と確率論的方法を解説した。

Keywords: food microbiology, food safety, risk assessment

山本茂貴: 食品の微生物学的リスクアセスメント  
食品工業, 46, 18-21 (2003)

食品の微生物学的リスクアナリシスについて概要と確率論的方法を解説した。

Keywords: food microbiology, food safety, risk assessment

五十君静信: 乳酸菌を応用した感染症対策  
獣医畜産新報, 56 (6), 493-497 (2003)

プロバイオティクスは、現在、食品を汚染する有害微生物の制御に利用され、効果を上げている。遺伝子組換え技術により、プロバイオティクスは今後もっと高い効果や新たな機能を持つことが期待される。強いストレスにより効果が薄かった生産動物への使用に耐えるプロバイオティクスやヒトや動物を対象とした多くのワクチンの作出が考えられる。乳酸菌組換えワクチンは、既に医薬品に相当する機能を持ちつつあり、その高い機能ゆえ、医薬品と同等の管理を必要とすることになるかもしれない。

Keywords: Lactic acid bacteria, recombinant DNA organisms, foodborne pathogens

五十君静信, 奥谷晶子: 日本国内におけるリステリア症発生状況の調査

獣医疫学雑誌, 6月号 7 (1), 52 (2003)

厚生科学研究班により行われたリステリア症発生調査の結果を示し、その発生状況に関して考察を加えた。臨床の現場でリステリア症診断にどのような問題点があるかを示し、その解決法を示した。

Keywords: *Listeria monocytogenes*, surveillance, food hygiene

五十君静信: リステリア —注目されるようになった食品媒介感染症菌—

食品衛生研究, 9月号 53 (9), 11-16 (2003)

リステリア症は、リステリア(*Listeria monocytogenes*)を原因とする感染症で、ヒトや動物に敗血症、髄膜炎など重篤な症状を起こし、この様な症状まで進んだ場合致死率が高い。本感染症が食品衛生上特に注目されるようになったのは、1980年代からで、欧米諸国で野菜サラダ、乳製品、食肉加工品などの食品を介したヒトにおける集団感染が相次いで報告されたことによる。検査法の整備により、フランス、スイス、デンマーク産のナチュラルチーズから高い菌数のリステリアが検出され、以後リステリアの食品汚染が世界的

に注目されるようになった。

Keywords: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, food hygiene

五十君静信: Codexにおける遺伝子組換え微生物利用食品の安全性に関するガイドライン作り

日本乳酸菌学会誌, 14 89-93 (2004)

本年(2003)年6月30日~7月7日にローマで開催されたCodex総会において、バイオテクノロジー応用食品の安全性に関する特別部会の討議事項が承認され、4年間におよぶ本特別部会のガイドライン作成作業は完結した。日本がCodexの特別部会の議長国として、バイオテクノロジー応用食品(とりわけ遺伝子組換え食品)について、国際的な基準、指針、勧告を策定することに十分な成果を上げることができたのは、食品衛生の分野で大変な国際貢献ができたものと思う。Codexの部会、特別部会は、それぞれ議長国がCodex事務局とともに、部会の会議の運営を行うが、アジアの国が議長国となるのはこれまでなかった。本報告ではCodexの概略を紹介した後、特に乳酸菌研究と最も関連が深いと思われる“遺伝子組換え微生物由来食品の安全性評価に関するガイドライン”の作成過程を示しながら、Codexでこの問題がどのように議論されたかにつき報告する。

Keywords: recombinant DNA organisms, guideline, Codex

五十君静信: バクテリア・バクテリアトキシンセッション  
UJNR有害微生物専門部会第38回日米合同会議

食品衛生研究, 5月号 54 (5), 12-13 (2004)

UJNR有害微生物専門部会第38回日米合同会議は、2003年11月に東京で開催された。このとき開催された学術会議の細菌関連の研究報告につき、その発表内容を紹介すると共に解説した。

Keywords: food microbiology, food hygiene, bacteria

高鳥浩介, 小管句子\*: 獣医領域からみた人獣共通真菌症の問題点

Jpn. J. Med. mycol., 44, 249-251 (2003)

近年、我が国ではペットや家畜から感染する様々な人獣共通真菌症が問題視されるようになった。これらの人獣共通真菌症の発生の背景には、人と動物の関係を巻き巻く複雑な社会事情があることから、医師や獣医師のような異なる分野間で連携して病気の蔓延の防除に努めることが重要である。

Keywords: 人獣共通真菌症

\* 宮崎大学

高鳥浩介, 相原真紀: 家庭環境と防菌防黴  
防菌防黴, 31, 663-667 (2003)

さまざまな場における防菌防黴技術について本稿では家庭環境の現状をまとめた。家庭環境にみる微生物とその汚染対策を生物学的観点から論じた。また、家庭環境において今後の防菌防黴の進むべき方向性について私見を述べた。

Keywords: 家庭環境, 防菌防黴, 微生物汚染

高鳥浩介, 相原真紀: 住環境と真菌アレルギー  
健康創造研究, 2(1), 27-34 (2003)

我々の生活している住環境には無数の真菌を含めた微生物が存在している。中でもアレルギーと関わりの深い真菌は

地球上のいたる場所に分布し、自然界にみる多くの基質と拮抗、共存しながら生息している。ヒトに対しても生活環境や生体で直接あるいは間接的に影響を及ぼしている。その影響は時として有害であったり、有益であったりするが、本稿では住環境に

おける真菌の有害性、特にアレルギーとの関わりについて生物学的観点からまとめた。

Keywords: 住環境, 真菌アレルギー, 生物特性

高鳥浩介, 相原真紀, 村松芳多子\*: 微生物汚染についての考え方

建築環境・省エネルギー情報 IBEC, 24(4), 5-9 (2003)  
建築環境と微生物汚染について多くは建築, 設備関係の非生物学分野の研究者によってまとめられてきた。そこで、建築と微生物について今までの見方を変え生物学的観点から汚染防止の考え方をまとめた。そのため微生物に関する基礎編から汚染防止等の応用編までかなり広範な解説を加え、汚染防止の考え方についてまとめた。

Keywords: 建築環境, 微生物

\* 千葉県立衛生短期大学

高鳥浩介, 相原真紀: 細菌・真菌の計測と安全性評価—計測の必要性和安全性の理解のために—

BE 建築設備, 55(2), 34-40 (2004)

微生物によるさまざまな問題が表面化し、それに対する社会の関心が高まっている。そこで、医療・食品施設における細菌・真菌の基本、さらに計測の必要性、安全性を踏まえながら計測の基本とその安全性評価についてまとめた。

Keywords: 微生物, 計測, 安全性評価

高鳥浩介, 相原真紀: 病原性真菌の今日的意味 4. 真菌とアレルギー

化学療法の領域, 20(3), 351-355 (2004)

真菌による人への害は、かつては感染症や中毒が目立っていたが、今日ではアレルギーも問題視されるようになってきた。そこで、生物学的視点から住環境における真菌とアレルギーについてまとめた。

Keywords: 真菌, アレルギー, 住環境

高鳥浩介, 村松芳多子\*, 高橋淳子\*: 居住環境と真菌空気清浄・衛生工学, 78(3), 229-234 (2004)

居住環境には多くの真菌が生息している。空気中にはクロカビ (*Cladosporium*), ススカビ (*Alternaria*), アオカビ (*Penicillium*), コウジカビ (*Aspergillus*) など空気特有の真菌がある一定のバランスを保ちながら分布しており、環境の変化が起こることにより真菌の調和が乱れ居住環境での真菌汚染が発生する。本稿では、こうした真菌の生態をそれぞれの環境毎にまとめ、特異的分布を示す真菌を紹介した。その真菌分布性や汚染要因さらに汚染による危害について環境・基質及び生体の観点から論じた。

Keywords: 真菌, 居住環境, 汚染

\*1 千葉県立衛生短期大学

\*2 (財)食品薬品安全センター

室井正志, 大西貴弘, 棚元憲一: Toll-like receptor を介する NF- $\kappa$ B の活性化に必須なマウス CD14 分子の機能的

部位

エンドトキシン研究, 6, 136-143 (2003)

CD14 は種々の細菌菌体成分を認識し、そのシグナルを異なった Toll-like receptor (TLR) に伝達する。本稿では TLR2 と TLR4 にシグナルを分別するのに必要な CD14 のアミノ酸領域について解析した結果について解説した。

Keywords: CD14, Toll-like receptor 4, lipopolysaccharide

大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: Toll-like receptor 4 の膜発現に重要な N-グリコシル化における MD-2 の役割

エンドトキシン研究, 6, 31-35 (2003)

MD-2 はエンドトキシンのシグナルを細胞内に伝達する Toll-like receptor 4 (TLR4) の機能に必要なだけでなく、TLR4 が細胞膜上に発現するためにも必須であるが、MD-2 の存在によりなぜ TLR4 が細胞膜上に発現できるようになれるのかは明らかになっていなかった。本稿では、このメカニズムを解析した結果について解説した。

Keywords: MD-2, Toll-like receptor 4, glycosylation

Fujihara, M.<sup>1</sup>, Muroi, M., Tanamoto, K., Suzuki, T.<sup>2</sup>, Azuma, H.<sup>1</sup>, Ikeda, H.<sup>1</sup>: Molecular mechanisms of macrophage activation and deactivation by lipopolysaccharide: roles of the receptor complex.

Pharmacol. Therapeut., 100, 171-194 (2003).

Lipopolysaccharide (LPS) is a potent activator of macrophages. Over the past several years, significant progress has been made in identifying and characterizing several key molecules and signal pathways involved in the regulation of macrophage functions by LPS. In this review, we summarize the current findings of the functions of the LPS receptor complex, which is composed of CD14, Toll-like receptor 4 (TLR4), and myeloid differentiation protein-2 (MD-2), and the signal pathways of this LPS receptor complex with regard to both activation and deactivation of macrophages by LPS. In addition, recent therapeutic approaches for septic shock targeting the LPS receptor complex are described.

Keywords: CD14, Toll-like receptor 4, lipopolysaccharide

<sup>1</sup>Hokkaido Red Cross Blood Center

<sup>2</sup>University of Kansas Medical Center

工藤由起子: 食品の安全性確保のための規格基準と検出法の重要性, 培養不能細菌 -VNC 研究の現状と課題 - 月刊海洋, 号外 No. 33. p. 164-169. (2003)

食品の安全に関する規格基準において示されている微生物の検出方法の大部分は、培養法に依存している。培養法によって菌を分離することは疫学調査においては必要性が高く利点も少なくないが、問題点も挙げられる。検出の目的に合わせて培養に依存しない方法も有効に活用するべきである。

工藤由起子, 熊谷 進: 国内の海産物の調査研究と腸炎ビブリオ対策

日本食品微生物学会雑誌, 24 (4), 165-169 (2003)

食品衛生調査会の 1998 年以降のとりまとめによって、具体的な二次汚染防止の方策および魚介類の管理についての具体的な温度を示した。さらに、魚介類の規格基準 (成分規格) に腸炎ビブリオ菌数を設定しており、これらの点で具

体性を多くもつ特徴を有する。これに加え、生産・流通・消費の各段階（生産者、産地市場、水産加工場、消費地市場、小売業、飲食店など、消費者）について細やかに対策が講じられている<sup>9)</sup>。2001年以降の腸炎ビブリオ食中毒は、1998年に比べ患者数が1/4に事件数が1/3に減少した。各段階での具体的な細やかな対策が取られたことと指導が強化されたことによるところが大きいと思われる。食品の安全性を確保するためには、科学的根拠に基づく現実的な対応が必要であろう。ここに示した魚介類の腸炎ビブリオに対する対応は、市場検査所およびその他関係機関の尽力によって得られたデータに負うところが大きい。今後こうした関係機関の協力の下、食品衛生向上に向けた対策が講じられることに期待したい。

奥田晴宏, 井越伸和\*: コモン・テクニカル・ドキュメント(CTD-Q)について

医薬品研究, 34, 475-480 (2003)

ICHガイドラインであるコモン・テクニカル・ドキュメントを施行するに当たっての各極の取り組みやQ&Aの作成状況を説明し、特に承認申請資料のサマリーである概要の取扱いについて詳細に解説した。また、今後の品質分野におけるICHの新トピックの動向について紹介した。

Keywords: ICH, quality, new topic

\* 三共株式会社

奥田晴宏: コモン・テクニカル・ドキュメント(CTD)-CTD-Q 中心として

医薬品研究, 35, 35-42 (2004)

ICHガイドラインCTDの施行状況について、特に品質部門を中心に最新の動向を解説した。品質部門では補足的なガイドライン「Common technical document-quality question and answers/location issues」が合意し、step4に達した。この補足的なガイドラインによって、各文書間の階層構造が決定し、最終的に承認申請書添付資料の構成方法が確定した。

Keywords: ICH, quality, implementation

栗原正明: SARS プロテアーゼの構造: 阻害剤の設計は可能か?

ファルマシア, 40, 166-167 (2004)

SARSは、2003年3月中旬に世界的規模の脅威であることが初めて認識されたが、4ヶ月以内の間に封じ込めに成功した。WHOは2003年7月5日に、SARSの最後のヒト-ヒト感染伝播の連鎖がたたれたことを報告した。現在まで、新しいコロナウイルス(SARS-CoV)が原因であることを含め、この疾患に関して多くのことがわかったが、SARSコロナウイルス感染およびこの疾患の、疫学や生態学に関する我々の知識は依然として限られたものである。SARSは再び流行する可能性があり、治療薬の開発等の対策が急務である。これまでに治療薬の設計のために、SARS-CoVのタンパクの構造、特にプロテアーゼの構造の解析が、多くのグループによって行われた。

Keyword: SARS, SARS-CoV

手島玲子: アレルギー相談室 Q&A

アレルギーの臨床, 24, 83 (2004)

3歳児を対象に行った調査結果から、一般小児が、食物や吸入アレルゲンにどの程度感作されているかの解説を行った。

Keywords: 3-year-old children, food allergen, inhaled allergen

佐藤義隆<sup>\*1</sup>, 木谷誠一<sup>\*2</sup>, 手島玲子: 上気道と下気道における免疫応答

The lung perspectives, 11, 50-54 (2003)

気道の2大免疫異常であるアレルギー性炎症であるアレルギー鼻炎と気管支喘息は、それぞれ上気道と下気道炎症の代表と位置づけられる。それらは、慢性アレルギー性炎症として同一病態(one airway, one disease)にまとめられるが、それら病態に関与する共通のメディエータについて概観し、次いで両者の違いについても解説を行った。

Keywords: upper and lower airways, allergic inflammation, anti-allergic agent

<sup>\*1</sup> 東京大学

<sup>\*2</sup> 東京水産大学

安達玲子, 鈴木和博: 食細胞の機能発現とLIMキナーゼ-コフィリンによるアクチン細胞骨格制御

生化学, 75, 1238-1243 (2003)

コフィリンはアクチンフィラメント調節タンパク質の一つであり、その活性はリン酸化状態の変化により制御されている。我々は以前、食細胞の刺激時にコフィリンの脱リン酸化(活性化)及び細胞膜近傍への集積が起きることを見出し、研究を進めてきた。このミニレビューは、コフィリンのリン酸化酵素であるLIMキナーゼの発現ベクター及びコフィリンに対するアンチセンスオリゴDNAを用いた最近の実験により、活性酸素産生や貪食等の食細胞機能とLIMキナーゼ-コフィリン-アクチン系との関連が明らかとなり、新たな局面が開けてきたことを紹介するものである。

Keywords: phagocyte, actin cytoskeleton, cofilin

井上和秀: ATP受容体の脳・神経系での役割

遺伝子医学, 7, 209-213 (2003)

ATP受容体は、細胞外液のヌクレオチド(ATP, ADP, UTP, UDPなど)をアゴニストとする細胞膜上受容体群の総称であり、P2XおよびP2Yの2つのファミリーに分類される。P2Xファミリー(P2X1からP2X7までの7種類)は膜2回貫通型イオンチャネル内臓ATP受容体であり、三分子が会合して非選択的カチオンチャネルを形成し速いシナプス伝達を担う。P2YファミリーはGタンパク共役型受容体スーパーファミリー(GPCRs)に属し、これまでにP2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13が認知されていたが、ごく最近オーファン受容体(GPR105)をP2Y14と呼称することが提案された。前5者はGq/11と共役し、そのうちP2Y11はGsとも共役している。P2Y12, P2Y13およびP2Y14はGi/oと共役している。本稿ではまず新メンバーP2Y14の特徴について概略し、その後P2Yファミリー各サブタイプの脳神経系での機能について最近の知見を紹介した。

井上和秀: 神経因性疼痛とミクログリア: ATP受容体の関与

細胞工学, 22, 1208-1209 (2003)

神経因性疼痛は、求心性一次知覚ニューロンが何らかの原因で傷害を受けた場合に発症するが、その発症メカニズムが未だ不明であり、有効な治療法も確立されていないことから、患者に最も負担を与える痛みとされている。発症機序は様々な角度から検討が加えられ、後根神経節(DRG)ニューロンと脊髄後角ニューロン間のシナプス伝達の可塑化や、脊髄後角ニューロンに対するDRGニューロンの誤った部位への入力などで説明する仮説が提唱されたが、本質的には未だ不明である。今回、病態モデルにおいて、活性化型ミクログリア上に過剰発現しているP2X4受容体(イオンチャンネル型ATP受容体サブタイプ的一种)刺激により神経因性疼痛の主症状アロディニアが発現すること、ならびにP2X4受容体機能阻害によりそれが緩和されることが見いだされた。神経因性疼痛の全く新しいメカニズムの一つが提示されたのである。本稿ではこれについて概説した。

津田誠, 井上和秀: 活性化ミクログリアのATP受容体と神経因性疼痛.

Bio Medical Quick Review Net (ネット上レビュー誌), 2003  
痛みは、生体が何らかの危険に直面していることや異常があることを認識させる生体防御手段として非常に重要な生理的存在意義を持っている。しかし、癌や糖尿病、あるいは脳卒中や事故、手術などの後遺症に見られる慢性的な耐え難い痛みは生活の質(Quality of Life: QOL)を極度に低下させる。これらの痛みは、神経系の損傷、圧迫や機能不全が原因と考えられ、特に神経因性疼痛と呼ばれ、その典型的な症状として異痛症(アロディニア: 通常、痛みを起こさない触・圧刺激によって誘発される痛み)がある。この異痛症は、強力な鎮痛薬であるモルヒネで十分な緩解が得られず、全世界で数百万人が神経因性疼痛を含めた慢性疼痛に苦しんでいる。痛み研究における大きな課題は、この“病的な痛み”を如何に克服するかにある。

末梢への刺激は一次求心性感覚神経を介し脊髄後角へと運ばれ、シナプス伝達を介して脊髄神経細胞に伝えられる。脊髄後角神経細胞が受容した情報はさらに脳へと運ばれ認知される。脊髄後角は末梢の感覚情報が最初に入る中枢のゲートであり、また異痛症を含めた神経因性疼痛を引き起こす末梢一次求心性神経の損傷によって多種多様な変化を劇的に起こす場でもあり、神経因性疼痛のメカニズムを解明できる鍵が隠されているところとして注目されている。最近、脊髄後角におけるATP受容体が異痛症発症に重要な役割を演じていることが明らかになったので、本稿ではそれを紹介した。

井上和秀: 活性化ミクログリアと神経因性疼痛-ATP受容体の役割. 医学の歩み, 207, 509 (2003)

神経因性疼痛は、求心性一次知覚ニューロンが物理的力、がんの浸潤や糖尿病などにより直接傷害を受けた場合に発症するが、そのメカニズムが未だ不明であるために、有効な治療法も確立されていないことから、患者に最も負担を与える痛みとされている。今回、病態モデルラットにて、ミクログリアの活性化、特にATP受容体サブタイプ・P2X4受容体刺激が神経因性疼痛の主症状アロディニア発症に必須であることがわかり、神経因性疼痛の新しいメカニズムの一つとして注目されている。このようなことを本稿ではトピックと

して紹介した。

井上和秀, 小泉修一, 津田誠: 脳とATP  
脳21, 7, 69-74 (2004)

ATP(アデノシン3リン酸)はあらゆる細胞のミトコンドリアで生産されタンパク質のリン酸化酵素の基質として機能する一方、細胞間情報伝達物質としても機能することが、1993年のATP受容体クローニング以来認知され、今ではごく普通概念として定着している。ATP受容体はイオンチャンネル型受容体のP2X受容体とGタンパク質共役型受容体のP2Y受容体とに大別され、それぞれ7種類と8種類のサブタイプが報告されている。これらは中枢・末梢を問わず、生体のあらゆる部分に多様に発現しており、そこでの生理反応を担っていると考えられている。最近、それらの機能がようやく明らかにされつつあり、その中から「くすり」の種となるような発見も見いだされつつある。我々は16年ほど前からATPの生理機能に着目して研究を進めてきた。今回、その一端を紹介し、医薬品シーズの可能性を見だしつつ筆を進めた。ATPは脊髄後根にあってはミクログリアをP2X4を介して活性化し、神経因性疼痛を発現する可能性がある。海馬では、アストロサイトから恒常的に放出されておりグルタミン酸によるシナプス伝達を持続的に抑制しているようである。さらに中枢神経系でのATPの機能については興味深い知見が集積されている。P2X4選択的阻害剤は新しい鎮痛薬の可能性を持っているが、これを含めてATP研究分野から優れた医薬品が誕生するには、さらなる研究の発展が必要であろう。

井上和秀: 活性化ミクログリアのATP受容体と神経因性疼痛

Clinical Neuroscience, 22, 504-505 (2004)

ATP(アデノシン3リン酸)は、あらゆる細胞のミトコンドリアで生産されタンパク質リン酸化基質として細胞の生死を左右する貴重な分子であるが、近年、細胞間情報伝達物質としての地位もその受容体のクローニングにより確立された。我々は痛み情報伝達とATPに関しても研究を進めている。急性痛とATPについては既に出版された多くの総説を参照されたい。ごく最近、我々は、ATP受容体サブタイプP2X4受容体が神経因性疼痛モデルラットの脊髄ミクログリアに高濃度に発現し、神経因性疼痛の発生と維持に関わることを見いだした。これまで、神経因性疼痛における脊髄後角領域でのP2X受容体の役割については全く不明であったが、本稿ではその一端を明らかにした経緯について概説した。

春日文子: ICMSF(国際食品微生物企画委員会)年次大会に参加して

食品衛生研究, 53(5), 27-37 (2003)

ICMSF(国際食品微生物規格委員会)は1962年に設立されたNGOである。FAO/WHOの専門家会議やコーデックス食品衛生部会(CCFH)の議論を先導する役割を担ってきた。2002年11月、チリのプコンで開かれたICMSF第35回年次会議にコンサルタントとして参加した。会議の活動を紹介すると共に、現在の最新話題であるFSO(food safety objectives)とALOP(appropriate level of protection)の関係に

ついて解説した。

Keywords : ICMSF, FSO, ALOP

春日文子：食品中の微生物のリスクアナリシス，微生物学的リスクアセスメントの普及に向けての世界の取り組み  
バムサ会誌, 15(2), 2-6 (2003)

微生物学的リスクアセスメントの手法の発展のために，コーデックス食品衛生部会 (CCFH)，FAO，WHO がどのような活動を行っているかについて紹介した。その中で日本がどのような協力をを行い，国際的リスクアセスメントの中でどのように反映されたかについても述べた。

Keywords : 微生物学的リスクアセスメント, CCFH, FAO, WHO

春日文子：2003年 ICMSF (国際食品微生物企画委員会) 年次大会に参加して

食品衛生研究, 54(3), 17-22 (2004)

2003年10月9～17日にスイスのLuganoで開かれたICMSF第36回年次会議の様子とその後のICMSFの活動について紹介した。ICMSFでは1) リスクマネジメントにおける疫学手法の利用について，2) FSOとサンプリングプランについての2点についてポジションペーパーを作成しており，その内容と用途について解説した。

Keywords : ICMSF, 疫学情報, FSO

山本 都：化学物質のハザード性と安全性評価

ファルマシア, 40(3), 215-219 (2004)

化学物質の安全性に関する評価の過程及び国際的な取り組みを中心に紹介した。化学物質の安全性評価についての考え方はさまざまな経験を経ながら社会の状況に応じて変化してきており，現在では毒性の強さだけでなくその暴露量やその他の要因も考慮しながらリスクを許容できるレベル以下に保つという考え方になってきている。現在，世界全体の化学物質安全管理に関する活動は，1992年の国連環境開発会議で採択されたアジェンダ21の第19章に沿って進んでおり，その行動目標にはGHS (有害性分類と表示システムの国際調和)，POPs (残留性有機汚染物質) なども含まれる。さまざまな国際機関や公的機関等が作成している評価文書やレビューに関する主なサイトについても表にまとめて紹介した。

Keywords : リスク, レギュラトリーサイエンス, 化学物質安全性情報

谷森奏一郎<sup>\*1</sup>, 佐藤智之<sup>\*2</sup>, 中田琴子, 福澤薫<sup>\*2</sup>, 大河内郁雄<sup>\*2</sup>, 小谷野和郎<sup>\*1</sup>, 北浦和夫<sup>\*3</sup>, 青木孝造<sup>\*4</sup>, 阿部行伸<sup>\*1</sup>, 愛澤昌宏<sup>\*4</sup>, 甘利真司<sup>\*4</sup>, 小野寺賢司<sup>\*4</sup>, 張軍衛<sup>\*4</sup>, 岩澤義郎<sup>\*1</sup>, 加藤昭史<sup>\*2</sup>, 雨宮克樹<sup>\*1</sup>, 山口貴史<sup>\*1</sup>, 中野達也：タンパク質-化学物質相互作用解析システム「ABINIT-MP BioStation」の開発

生産研究, 55, 254-260 (2003)

タンパク質-化学物質相互作用解析グループでは，量子論に基づいたタンパク質と化学物質との分子間相互作用をin silicoで解析するシステムの開発を行っている。このシステムは4つのサブシステム 1) In silico 詳細スクリーニングシステム 2) Ab initio FMO法による相互作用解析 3) 標的データベース 4) Javaによる統合システム から構成され，

分子間の相互作用エネルギーを高精度で予測することにより効率的な分子設計を可能にすることを目指している。

Keywords : タンパク質-化学物質相互作用解析, ABINIT-MP, BioStation

<sup>\*1</sup> アドバンスソフト (株)

<sup>\*2</sup> (株) 富士総合研究所

<sup>\*3</sup> 産業技術総合研究所

<sup>\*4</sup> 東京大学生産技術研究所

田中成典<sup>\*1</sup>, 福澤薫<sup>\*2</sup>, 中野 達也, 栗田典之<sup>\*3</sup> : DNA 鎖の第一原理計算の現状と将来

表面科学, 24, 664-670 (2003)

フラグメント分子軌道法に基づいたDNA鎖の第一原理計算について解説した。

Keywords : fragment molecular orbital method, DNA, first-principles calculations

<sup>\*1</sup> (株) 東芝

<sup>\*2</sup> (株) 富士総合研究所

<sup>\*3</sup> 豊橋技術科学大学

鹿庭なほ子, 青柳伸男 : 局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドラインについて

医薬品研究, 35, 212-222 (2004)

2003年7月に「局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン」が発行された。局所皮膚適用製剤では，薬物は製剤適用部位から体循環血流を経ないで直接作用部位へ到達するために，生物学的同等性を検討する上においては，体循環血流へ吸収されて薬効を発揮する製剤とは異なるバイオアベイラビリティの定義や評価方法が必要であること，健常皮膚による生物学的同等性の評価は必ずしもいつも病態皮膚における生物学的同等性を保証できるとは限らないので，局所皮膚適用製剤では後発医薬品の定義が限定されていることなど，本ガイドライン設定の背景と根拠について説明した。また，本ガイドラインで紹介されている局所皮膚適用製剤の生物学的同等性を評価する個々の試験法の特徴，及び，バリアー機能が低下した皮膚へ適用したときの薬物全身暴露量が許容される範囲にあることを評価する暴露量試験について解説した。

Key words : topical drug, generic drug, bioequivalent study

長谷川隆一：医薬品の適正使用のための基盤的研究

医薬品研究, 35, 265-279 (2004)

医薬品の適正使用を推進するための基盤的な研究を行うべく，平成14年4月に新設された医薬安全科学部の研究内容並びに進捗状況について以下の6項目を解説した。1. 薬剤反応性遺伝子解析プロジェクトの一環として抗がん剤および抗てんかん薬服用患者血液の解析，2. 糖尿病患者におけるファーマコキネティクス・ファーマコジェネティクス解析ではグリメピリド服用患者のCYP2C9の解析，3. 薬物代謝に関連した遺伝子の人種間多型に関する研究ではUDPGの解析，4. 諸外国における医薬品安全対策の調査研究では，海外で安全性の問題で発売中止となった薬剤の国内対応の解析，5. 薬物代謝酵素等が原因となる薬物相互作用に関する研究ではスタチン系薬剤と他剤との相互作用の解析，6. 母集団薬物動態試験の普及に関する研究では製薬企業へのアン

ケート調査の結果の紹介と問題点について解説した。

Key words: drug safety, pharmacogenetics, drug interaction

井上 達: 特集毒[毒の現在] 毒性学の現状と展望—あ  
たらしいバイオサイエンスとしての生体異物応答科学。  
科学 (Science Journal KAGAKU), 74(1), 18-23, 2004.

概要: 「毒」という特集テーマは多分に反語的である。科  
学の動向は「毒」を特定しない方向にあるからである。むしろ  
日常身の回りの物に眼をむけ、それらの生理的レベルから  
非生理的レベルにまでわたる、生体と物質の相互作用の全過  
程を理解しようとしている。かつて「毒」の強さという生物  
指標を「物性」の一部と理解して成立した毒性学は、「トキ  
シコロジー」という名の新しいバイオサイエンス、生体異物  
応答科学として再登場した。

Keywords: 生体異物応答, トキシコロジー, 加齢

T. Inoue: **Hormonally active agents and plausible relation-  
ships to adverse effects on human health.**

*Pure Appl Chem*, 75(11-12), 2555-2561, 2003.

A hormonally active compound was first identified in the book  
Silent Spring by Rachel Carson in 1962, implicating the effect of  
pesticides such as DDT and the derivatives. Nearly four decades  
later, the book Our Stolen Future by Theo Colborn et al., and other  
pertinent publications have revisited and broadened the issue re-  
garding a variety of possible chemicals and the area exposed.  
Translation and publication became available in Japan within the  
last four years. Since then, Japan joined the member countries  
involved in the global issue of endocrine disruptors, the "environ-  
mental hormone". Although a significant number of chemicals  
possessing a hormone-like action have been recognized for many  
years, and the action of their biological plausibility related to the  
receptor-mediated effects strongly suggests possible human ef-  
fects comparable to hormonal changes in wildlife, little is known  
about evidences or adversities in experimental animals and hu-  
mans. The most essential key to resolving these dilemmas may be  
to understand the mechanism of actions (i.e., a possible low-dose  
issue). In other words, the mechanism at the low-dose effect may  
be resolved simultaneously by the mechanism of three major ques-  
tions linked to the low-dose issue; namely, threshold, possible  
oscillation, and additive and/or synergistic action.

Keywords: biological plausibility, endocrine disruptor, human  
health

Lamb, J. C. I.<sup>1</sup>, Koeter, H. B. W. M.<sup>2</sup>, Becker, R.<sup>3</sup>, Gies, A.<sup>4</sup>,  
Davies, L.<sup>5</sup>, Inoue, T., Jacobs, A.<sup>6</sup>, Lyons, G.<sup>7</sup>, Matsumoto,  
M.<sup>8</sup>, Timm, G.<sup>9</sup>: **Risk management options for endocrine  
disruptors in national and international programs.**

*Pure Appl Chem*, 75(11-12), 2549-2553, 2003.

This workshop was convened to address common issues and  
concerns associated with risk management of endocrine-disrupt-  
ing chemicals (EDCs). The talks described the tools and policies  
for key Japanese, Australian, German, and U.S. regulatory agen-  
cies. The agencies participating in the workshop were responsible  
for the regulation of various substances including: chemicals, pes-  
ticides, environmental contamination, pharmaceuticals, and food

additives. The panel also described the role of the Organization  
for Economic Cooperation and Development (OECD) in standard-  
izing the tools and validation of testing and screening methods.  
The panel also included nongovernmental organizations present-  
ing the views of the World Wildlife Fund, and the chemical indus-  
try from industrialized nations; each organization described its  
concerns and proposed approaches to risk management of EDCs.  
This summary highlights the most important areas of common  
points of view of government, industry, and environmentalists.  
We also try to identify issues upon which viewpoints diverge.  
Keywords: biological plausibility, endocrine disruptor, human  
health

<sup>1</sup>BBL Sciences, BBL, Inc.

<sup>2</sup>Organization for Economic Cooperation and Development

<sup>3</sup>American Chemical Council

<sup>4</sup>UBA, Germany

<sup>5</sup>Department of Health and Ageing, Australia

<sup>6</sup>U.S. Food and Drug Administration

<sup>7</sup>World Wildlife Fund

<sup>8</sup>Chemical Management Policy Division, Ministry of Economy,  
Trade and Industry, Japan;

<sup>9</sup>U.S. Environmental Protection Agency

菅野 純: 創薬への利用 “トキシコゲノミクス”

生体の科学, 54, 477-481 (2003)

トキシコゲノミクスへの形質非依存的手法の導入原理は  
明解であるが、実際にはテクニカルに非常に簡単で有るとい  
う訳ではない。また、初期投資がある程度必要である点も、  
速やかな普及を阻む要因となりうる。しかし、遺伝子発現値  
の絶対量化によるデータは、従来型データとはかなり異なっ  
た情景を描写する。個々の化学物質に関するデータが詳細に  
検討されつつあり、この段階で、すでに興味深い結果が得ら  
れはじめている。将来的な予測毒性学は、この形質非依存型  
と形質依存型の両アプローチを組み合わせる事によって形  
成されるバランスのよいインフォマティクスにその基礎を  
置くことになると考えられる。

Keywords: toxicogenomics, clustering, all-gene database

菅野 純: 新たな創薬へ向け “トキシコゲノミクス”

現代医療, 35, 239-244 (2003)

ヒトやマウスなどの全ゲノム解読が進み、そして、それら  
遺伝子の発現状況が一挙に把握できるようなマイクロア  
レーなどの技術が利用可能となりつつある。こうした状況か  
ら、「全遺伝子発現プロファイリング」が、我々や実験動物  
の体内で起こっている分子レベルの出来事を解明する一つ  
の手段として採用可能であると考えられるようになってきた。  
この際のプロファイリングの特徴は、通常の毒性試験が要求  
するような発現形質をモニターする事を必ずしも必要とし  
ないことにある。言い換えると、従来のプロファイリング  
は、ある所見が存在し、それを引き起こした原因と考えられ  
る遺伝子発現を追いかける方法を探ってきた。しかし、ここ  
では、全遺伝子をモニターするため、必ずしも明瞭な形質発  
現が見られなくても、プロファイリングに必要な情報を収集  
できるという特徴がある。この手法は、内分泌かく乱化学物  
質問題における生体側の標的の一つである恒常性維持機構

の解析に威力を発揮すると考えられる。

Keywords: toxicogenomics, phenotype-independent toxicology, all-gene database

高橋芳樹：薬物代謝酵素の誘導と分子機構：成長ホルモンによるCYP2C12の雌性ラット肝特異的な発現誘導機構を中心として

*YAKUGAKU ZASSHI*, 123, 17-20 (2003)

The expression of CYP2C12 by growth hormone (GH) occurs in female but not in male rat livers. To identify a functional GH-responsive element (GHRE) in vivo, we performed the direct injection of promoter-luciferase chimeric genes into female rat livers. The results showed that the luciferase activity was decreased to approximately 20% by the deletion of the sequence between nucleotides -4213 and -4161. Within this region, two copies of a possible GHRE were present. The sequence of the GHRE was overlapped with that of binding site for signal transducer and activator of transcription (STAT) 5. To understand the chromatin structure of the CYP2C12 gene, DNase I hypersensitive assay using nuclei from the livers of male or female rats was carried out. It was found that a hypersensitive site at position -4.2 kb, termed as HS1, was specific for female rat livers. HS1 possessed the GHRE. Alternatively, a hypersensitive site at position approximately -3 kb, designated as HSm, was characteristic of male rat livers. A -3425/-3275 region within HSm functioned as a negative regulatory region, when the region was inserted in front of simian virus 40 promoter fused to the luciferase gene. Based on these results, we conclude that the gender-related expression of the CYP2C12 gene results from the inaccessibility of STAT5 to the GHRE by chromatin condensation in male rat livers, and from the presence of male-specific HSm to suppress CYP2C12 expression.

Keywords: growth hormone, chromatin, histone deacetylase

Hirabayashi, Y., Li, G. X., Yoon, B. I., Fujii-Kuriyama, Y.\*, Kaneko, T., Kanno, J., Inoue, T: **AhR suppresses hemopoiesis during steady state but accelerates cell cycle as an early response: a study of AhR-knockout mice.**

*Organohalogen Compounds*, 64, 270-273(2003)

Whether the aryl hydrocarbon receptor (AhR) physiologically suppresses cell growth through relevant signals via a possible endogenous ligand or facilitates cell cycle progression from G1 with Fos and Jun signaling, is still controversial. In this study, the authors attempted to elucidate a possible consistent function of AhR in hematopoiesis using AhR-knockout (KO) mice. In this study, attention was focused on the function of AhR in the hemopoietic system, specifically in hemopoietic stem cells/progenitor cells, and the controversial dual function of AhR was found to be consistent because AhR seems to stimulate the cell cycle as an early response to cytokines, whereas simultaneously, suppress hematopoiesis during the steady state. The dual function of AhR found in the present study may contribute to a better understanding of health effects that can be induced by an interaction between AhR and its environmental ligands.

Keywords: aryl hydrocarbon receptor, AhR-knockout mice, hemopoiesis

\* TARA, Tsukuba Univ.

Ozawa, S., Soyama, A., Saeki, M., Fukushima-Uesaka, H., Itoda, M., Koyano, S., Sai, K., Ohno, Y., Saito, Y., Sawada, J.: **Ethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP2C19, CYP3As and MDR1/ABCB1.**

*Drug Metab. Pharmacokinet.*, 19, 83-95 (2004)

Metabolic capacities for debrisoquin, sparteine, mephenytoin, nifedipine, and midazolam, which are substrates of polymorphic CYP2D6, CYP2C19, and CYP3A, have been reported to exhibit remarkable interindividual and ethnic differences. These ethnic differences are partly associated with genetic differences. Interindividual differences in its transporter activities toward various clinical drugs are also attributed to genetic polymorphisms of *ABCB1/MDR1*, one of several drug transporter genes. The existence and frequency of various low-activity alleles of drug metabolizing enzymes as well as populational drug metabolic capacities are compared among several different races or ethnicities. Distribution of nonsynonymous *ABCB1/MDR1* SNPs and haplotype frequency in various races are summarized, with the association of nonsynonymous SNPs with large functional alterations as a rare event.

Keywords: drug metabolizing enzymes and transporters, genetic polymorphisms, ethnic difference

小澤正吾, 神野透人, 斎藤嘉朗, 澤田純一：薬物代謝酵素の遺伝的多型と臨床的意義：第Ⅱ相酵素臨床検査, 48, 129-137 (2004)

第Ⅱ相薬物代謝酵素の中には、遺伝的多型が比較的多く認められるものがあり、薬物応答の個人差や代謝異常の一因となっている。酵素活性の著しい変化をもたらす遺伝子型のタイプングは、いずれ臨床検査の一部として定着すると予想される。本稿では、いくつかの第Ⅱ相薬物代謝酵素、特に、UDP-グルクロン酸転移酵素、N-アセチル転移酵素、硫酸転移酵素等の抱合酵素を中心に、これらの酵素をコードする遺伝子の多型およびそれらの臨床的意義を解説したい。

Keywords: phase II drug metabolizing enzymes, genetic polymorphisms, drug responsiveness

小澤正吾：化学物質の代謝とその安全性

塩ビ食品衛生協議会会報, 145 (12), 1-9 (2003)

塩化ビニル樹脂製品等に使用できる原材料リスト、すなわちポジティブリストに掲載されている物質について、それらの代謝経路を含めた体内動態、および実験動物で認められた毒性と代謝との関連について概説した。

Keywords: plastics, chemicals, metabolism

小澤正吾：日本人臓器の研究利用の必要性について

*Altern. Animal Test. Exp.*, 9, 98-105 (2003)

ヒトにおける薬物の動態を予測するために、実験動物に代わる試験法を開発することは動物愛護の観点からも重要である。しかし、実験動物とヒトの間には薬物動態特性に大きな種差があり、ラット、ウサギ、サル等の実験動物由来の代謝酵素遺伝子を用いてヒトの薬物動態を予測する方法には限界がある。また、ヒトには薬物の代謝・動態には著しい個



体差が知られている。また、人種差も知られており、最近入手が容易になった欧米人組織を用いた場合でも日本人の薬物代謝・動態特性を十分に予測できない。これらのことより、薬物応答性を規定する一因子である薬物代謝・動態の予測に、日本人由来の組織を用いる研究の重要性が高まっている。

Keywords: human tissue, species differences, drug metabolizing enzymes

小澤正吾：抗がん剤代謝関連 SNP と薬効・副作用  
がん分子標的治療, 1, 213-219 (2003)

抗がん剤応答性には大きな個体差が存在する。抗がん剤の代謝、および薬理作用を考慮すると、個体差を規定する機構の一つとして、薬物の代謝・動態の個体差が考えられる。本稿では、種々の抗がん剤の代謝・動態に関連する薬物代謝酵素や薬物トランスポーター-およびそれらの発現調節因子等をコードする遺伝子の一塩基多型(SNP)について概説した。薬物代謝酵素やトランスポーターには人種差があり、これら遺伝子の新規 SNP が日本人投薬患者についての探索的研究によりかなり見出された。SNP と抗がん剤の血中薬物動態、薬効、副作用についての関連を臨床情報との注意深い比較を行って確立することで、個別化薬物療法につながると考えられた。

Keywords: anti-cancer agents, genetic polymorphisms, drug metabolizing enzymes and transporters

Kirkland, D.J.<sup>1</sup>, Hayashi, M., MacGregor, J.T.<sup>2</sup>, Muller, L.<sup>3</sup>, Schechtman, L.M.<sup>2</sup> and Sofuni, T.<sup>4</sup>: **Summary of major conclusions - the 3rd International Workshop on Genotoxicity Testing -**

*Mutat. Res.*, **540**, 123-125 (2003)

A 2-day International Workshop on Genotoxicity Tests (IWGT) was held on June 28-29, 2002 in Plymouth, U.K. Comprehensive summaries of the outcome of each working group are given in the individual workgroup reports. The following outline summarizes the main points that either differ from existing published recommendations (as in the case of mouse lymphoma and *in vitro* micronucleus tests) or are key features to be considered in the development of new guidelines.

Keywords: IWGT, genotoxicity test, strategy

<sup>1</sup> Covance Laboratories Ltd

<sup>2</sup> NCTR, U.S. FDA

<sup>3</sup> Novartis Pharma AG

<sup>4</sup> NovusGene Inc.

Muller, L.<sup>1</sup>, Blakey, D.<sup>2</sup>, Dearfield, K.L.<sup>3</sup>, Galloway, S.<sup>4</sup>, Guzzie, P.<sup>5</sup>, Hayashi, M., Kasper, P.<sup>6</sup>, Kirkland, D.<sup>7</sup>, MacGregor, J.T.<sup>8</sup>, Parry, J.M.<sup>9</sup>, Schechtman, L.<sup>8</sup>, Smith, A.<sup>10</sup>, Tanaka, N.<sup>11</sup>, Tweats, D.<sup>12</sup> and Yamasaki, H.<sup>13</sup>: **Strategy for genotoxicity testing and stratification of genotoxicity test results - report on initial activities of the IWGT Expert Group**  
*Mutat. Res.*, **540**, 177-181 (2003)

During the past two decades, a number of national and international efforts have developed or refined the test methods and guidance on their strategic use to assess the potential genotoxicity of

many chemicals, including pharmaceuticals, pesticides, and industrial chemicals. Among the guidance documents agreed to and used multi-nationally are the OECD protocol guidelines on individual tests (OECD, 1998) and the ICH test and strategy guidelines for pharmaceuticals.

Keywords: strategy, genotoxicity test, IWGT

<sup>1</sup> Novartis Pharma AG

<sup>2</sup> Safe Environments Programme, HealthCanada

<sup>3</sup> U.S. Environmental Protection Agency

<sup>4</sup> Merck Research Laboratories

<sup>5</sup> Pfizer, Inc. Global Research and Development

<sup>6</sup> Federal Institute for Drugs and Medical Devices

<sup>7</sup> Covance Laboratories Limited

<sup>8</sup> NCTR, U.S. FDA

<sup>9</sup> University of Wales Swansea

<sup>10</sup> Health and Safety Executive, Magdalen House

<sup>11</sup> Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

<sup>12</sup> Glaxo SmithKline

<sup>13</sup> Kwansai Gakuin University

本間正充：遺伝毒性試験とその科学的リレバンス  
ポリ衛協会報 JHOSPA, 17, 3-30 (2003)

これまで人間の手によって新たに作り出された化学物質は数百万種類にのぼり、我が国では現在、そのうち約 5 万種類の化学物質を使用している。その多くは我々の生活環境中に存在しており、これらの中には人にがんを引き起こすものも含まれる。このような発がん性をもつ化学物質を迅速にスクリーニングする方法として、遺伝毒性試験が開発されてきた。遺伝毒性試験は発がん性物質のスクリーニングとして、遺伝的影響を与える物質の同定 (hazard identification) を目的としてきたが、今後はヒトに対するリスクの評価 (risk assessment) への転換が求められている。この場合、ヒト個体を用いた実験は不可能であることから、ヒト細胞、ヒト生体試料を用いた試験法が有効となるかもしれない。

Keywords: genotoxicity, humanized system, risk assessment

Thybaud, V.<sup>1</sup>, Dean, S.<sup>2</sup>, Nohmi, T., de Boer, J.<sup>3</sup>, Douglas, G.R.<sup>4</sup>, Glickman, B.W.<sup>3</sup>, Gorelick, N.J.<sup>5</sup>, Heddle, J.A.<sup>6</sup>, Heflich, R.<sup>7</sup>, Lambert, I.<sup>4</sup>, Martus, H.J.<sup>8</sup>, Mirsalis, J.C.<sup>9</sup>, Suzuki T.<sup>10</sup> and Yajima, N.<sup>11</sup>: ***in vivo* transgenic mutation assays**

*Mutat. Res.*, **540**, 141-151 (2003)

Transgenic rodent gene-mutation models provide relatively quick and statistically reliable assays for gene mutations in the DNA from any tissue. This report summarizes those issues that have been agreed upon at a previous IWGT meeting [*Environ. Mol. Mutagen.* 35 (2000) 253], and discusses in depth those issues for which no consensus was reached before. During the current workshop, a general protocol was agreed in which animals are treated daily for 28 consecutive days and tissues sampled 3 days after the final treatment. This recommendation could be modified by reducing or increasing the number of treatments or the length of the treatment period, when scientifically justified. Normally male animals alone are sufficient and normally at least one rapidly proliferating and one slowly proliferating tissue should be sampled. Although, as agreed previously, sequencing data are not normally

required, they might provide useful additional information in specific circumstances, mainly to identify and correct for clonal expansion and in some cases to determine a mechanism associated with a positive response.

Keywords: transgenic rodent, IWGT meeting, gene mutation

\*1 Aventis Pharma

\*2 Huntingdon Life Sciences

\*3 University of Victoria

\*4 Health Canada

\*5 Ann Arbor

\*6 York niversity

\*7 NCTR, U.S. FDA

\*8 Novartis Pharma AG

\*9 SRI International

\*10 遺伝子細胞医薬部

\*11 雪印ラビオ

山田雅巳：遺伝子破壊の方法について—細菌からマウス個体まで—

放射線生物研究, 38, 144-154 (2003)

ポストゲノムの時代になり、従来用いられてきた「遺伝子をクローニングするために mutant を単離する」という手順が逆になった。すなわち、DNA 配列からプライマーを作製して PCR で遺伝子をクローニングし、それを用いて mutant を作製するという手順である。Mutant 作製の方法は研究対象となる生物の性質に依存するところが大きい。細菌、酵母、動物個体に加え、近年工業的に注目を集めつつある古細菌について遺伝子破壊の方法を解説する。

Keywords: mutant, gene disruption, cloning

Yamada, M.: **Technical report for construction of bacterial disruptants**

*Environ. Mutagen Res.*, 25, 87-92 (2003)

Gene disruption methods are useful to construct bacteria lacking a specific gene especially when a gene's function is unknown. In the 1980s, complementation techniques were used as the first step in cloning a gene. With the advances made through genome projects, gene identification and cloning have allowed easier construction of deficient bacterial strains with the cloned genes. In this report, I describe three methods of disrupting specific genes on chromosomes in a strain of interest, namely linear transformation, preligation and the 'one-step' method. Moreover, several genetic techniques which are necessary for conducting these methods are also reviewed.

Keywords: gene disruption, strain construction, recombination

能美健彦：環境とゲノミクス：“Made in JEMS”の研究をめざして

*Environ. Mutagen Res.*, 26, 59-60 (2004)

日本環境変異原学会 (JEMS) は、各種変異原性試験法の確立、試験の定型化 (信頼性保障の向上)、国際的標準化 (ICH) などに貢献してきた。その結果遺伝毒性試験はトキシコロジーの世界で市民権を得ることができた。しかし、遺伝毒性試験が社会に定着すればするほど、標準的な試験を組み合わせることで解決できない大きな問題が浮上してきている。それらを解決するための糸口は基礎研究にある

のではないかと考える。実際に学会設立以来の活動の中から数多くの“made in JEMS”の研究が生み出されている。JEMS は欧米の EMS に比べて「化学」に強い点に特徴がある。これらを踏まえて、今後は「化学」に基づく遺伝学研究を展開して“made in JEMS”の研究がどんどん発展するように努力したい。

Keywords: 環境変異原研究, 化学物質, made in JEMS

Nohmi, T. and Masumura, K.: ***gpt delta* transgenic mouse: a novel approach for molecular dissection of deletion mutations *in vivo***

*Advances in Biophysics*, 38, 97-121 (2004)

To gain insights into the mechanisms of deletion mutations *in vivo*, we have established a novel transgenic mouse, named *gpt delta*. The mice carry tandem repeats of  $\lambda$  EG10 DNA in the chromosome, which are retrievable as phage particles by *in vitro* packaging reactions. The rescued phages are then subjected to Spi-selection using *Escherichia coli* host cells for the analysis of mutations. Using the mouse/*E. coli* shuttle vector mutation assay, deletions can be analyzed at a molecular level in various organs of mice. In this chapter, we summarize the characteristics of deletion mutations induced by IRs in liver and spleen, UVB in epidermis, MMC in bone marrow and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in colon of *gpt delta* mice and discuss the possible mechanisms and future directions.

Keywords: transgenic mouse, *gpt delta*, mutation assay

Tanabe, H.: **Chromosome territory: recent advancement of studies on interphase chromosome positioning in relation to nuclear architecture**

*Environ. Mutagen Res.*, 25, 11-22 (2003)

The individual chromosomes in animal and plant interphase cell nuclei are discretely highly compartmentalized called "chromosome territories" that are visualized by 3D-FISH techniques. The chromosome territories are mutually exclusive without mixing each other, formed in essential components of the higher order chromatin architecture. Here I reviewed historical aspects of studies on the chromosome territory and recent advancement of studies on the chromosome positioning in relation to nuclear architecture. Chromosome positioning in the interphase cell nuclei has been investigated with regard to the following two aspects: radial positioning or relative positioning. It has been generally considered that the former radial positioning of a given chromosome territory is correlated with its size, its gene-density, and replication timing, namely comprehended as non-random distribution. From a series of 3D-FISH studies on the primate and chicken cell nuclei, the topology of the radial positioning of human chromosomes 18 and 19 homologs shows highly evolutionarily conserved during the evolution, but its functional significance is still within the speculation. On the other hand, the relative positioning has much affects to the translocation frequencies between adjacent two chromosomes, which was experimentally indicated by the mouse lymphoma cell nuclei, but in human lymphocytes the majority of reports suggested the random organization without particular patterns except for some clusters formed between homologous chromosomes. In future studies higher order nuclear archi-

ture in relation to chromosome territory will be more elucidated by 3D-FISH techniques combined with living cell (*in vivo*) approaches by means of visualizing various nuclear molecules.  
 Keywords: chromosome territory, interphase cell nucleus, 3D-FISH (three dimensional-fluorescence in situ hybridization)

宇都木伸<sup>\*1</sup>, 菅野純夫<sup>\*2</sup>, 角田政芳<sup>\*3</sup>, 恒松由記子<sup>\*4</sup>, 増井徹:  
 人由来物質の医学研究利用のために  
 ジュリスト 1247, 6-28, 2003

医療者, ゲノム研究者, 医事法学者, 特許法学者, 細胞バンク関係者の5名による, 現在の医学・生物学研究を支えるための, 人体由来研究資源に関する座談会.

Keywords: post-sequence era, patent, nature of scientific research

\*1 東海大学・法学部

\*2 東京大学・医科学研究所

\*3 東海大学・院・実務法学研究科

\*4 国立小児病院

増井 徹:ゲノム研究を支え, その成果を生かすことのできる社会基盤

SRL 宝函, 27, 170-178, 2004

20世紀の半ばDNAの二重らせん構造が発見され, 遺伝における重要性が認識され, 50年を経て, ヒトゲノム配列の解読が終結し「DNA配列を元にした人体理解」の基礎データになると期待されている. 今, DNA配列は人体理解における市民権を得る端緒に着いたところである. マクロからミクロへ, 観念的から科学的理解への動きは, 今度は, 文字列情報(Genotype, ゲノム型)から生体情報(Phenotype, 表現型)へと異なった方向性を獲得しようとしているといわれる. しかし, それは原則としては傾けても, 壮大な仮説という側面をもつ. 今はじまったポストシーケンス時代のゲノム研究がこの仮説を検証していくのである.

ゲノム研究の全体像を描くこと, 特にその歴史的社会的インパクトを描くことは, 今後の課題とさせて頂きたい. 本稿は, 人を研究対象とするゲノム研究のもつ問題の一端について考察することを目的とする. 今まであまり論じられていない日本の生命倫理, 研究倫理の方向性と, その検討の始まりから5年を経た次のラウンドについて論考する. この際に重要なことは, この問題を「あらかじめ解決してから次といった安易な形式論理」によるのではなく, まさに走りながら考え・対策することを, 人間の営みとしての科学という視点から組み立て直すことであろうという考えに立っている. このような現状を考えると, 2001年3月の三省ゲノム指針策定後, ゲノム研究を支え, 育てる社会基盤問題についての議論が, 専門家の間でも社会においても急速に衰退したことは, 欧米のみでなく国際的なゲノム研究とその応用への議論の高まりを見ると, 日本に特異な現象である.

Keywords: genome research, ethics, infrastructure

増井 徹:ヒト組織の分類

AATEX, 9, 80-84, 2003

人体に由来する組織・細胞は, 医学・生物学研究にとって欠くことのできない研究資源である. しかし, 人は尊厳を有し, 特別に配慮されるべき存在である. そこで, これらの相関する事項に注目して, 人体に由来する資源の分類を試みた.

Keywords: human tissue, domestic and international issues, mor-

bidity of human tissues

増井 徹:人体を理解し, 病気を癒そうとする歴史の中で  
 のゲノム研究の位置付け

人倫研プロジェクト News Letter, 9, 3-6, 2003

ヘルシンキ宣言(2000年改訂)1)は§4において, 「医学の進歩は, 最終的にはヒトを対象とする試験に一部依存せざるを得ない研究に基づく(日本医師会訳)」と述べている. さらに, biomedical research(医学・生物学研究)という言葉をも2000年の改訂で medical research(医学研究)に変更している. また, 新たに人体の一部(material)や情報(information)を利用した研究を医学研究として定義している. その前の版からの改訂の要点について, 改訂に関わったロバート・レビン氏は2点挙げている2). ①非合理的な治療的研究と非治療的研究の区別の撤廃と, ②証明された治療方法が存在する場合のプラセボ・コントロールの考え方に関する議論であるという. 後者の問題については, ヘルシンキ宣言の改訂をにらみ激しい議論がなされているという. これらの議論はどのような言葉でくれるだろうか. それは, ヒトの生物学としての医学という立場の鮮明化と, 診療と研究の距離の接近による診療と医学・生物学領域の関係性の変容と表現することができると考えている.

ヘルシンキ宣言の中で, integrityは重要な概念である. 首尾一貫性, 公正性, 公平性, 信頼可能性(trustworthiness and incorruptibility to a degree that one is incapable of being false to a trust, responsibility, or pledge, Webster)と訳すことができる. ちなみに, 日本医師会の訳では, 「完全無欠性」とされているが, この言葉のもつ動的性格を表現するには硬く, 強すぎる様に思われる. この言葉を利用して, 医学・生物学研究の位置付けについて, 以下のように考えることができる. 広い意味での医療のintegrityの現代的枢要としてのヒトの生物学としての医学と言う考え方である. これは, 現在日本で議論されている, 医療と研究を峻別する, あるいは, 臨床研究と基礎研究を分けましょうという議論とは異なった医学・生物学研究像を, われわれにもたらしてくれる可能性があると考えている. もちろん, それは, 医療の名の許に「人体実験」が行われていた時代(現在は, 先端医療の名の許に, となるところなのだが)を礼賛しているわけではない. 本稿は, この問題について, 初歩的な論考を加えることを目的とする.

Keywords: Helsinki declaration, medical research, human experimentation

増井 徹, 水澤 博:プロテオミクスの研究倫理

ヒューマンサイエンス, 15, 16-20, 2004

ヒトのゲノム情報が明らかになったことで, 人を対象とした研究は新しい段階を迎えたといわれる. 個人のゲノム型は受精時に決まり, その後一生変化しない. この不変性は分類指標としての優れた性質である. そこで, ゲノム情報を物差しとして一注目した遺伝子群のタイプによって一人をグループ化して, 同じグループ内では遺伝的背景は均一とし, 異なるグループ間で比較するという考え方がゲノム研究の基本にある. そして, 刻々と変化する人の表現形情報(生活習慣, 病歴, 環境情報など)をデータベース化し, この方面でも人をグループ化し, 比較研究する.

この考え方は, 研究者が実験動物を開発するときを利用し

た戦略である。動物を近親交配して遺伝的背景を均一にして、人工的にコントロールされた環境で飼育することによって、実験の再現性を高めるという考え方である。

しかし、特別に護られるべき存在である人の場合には、実験動物のようなことはできない。そこで、多くの市民の参加を得て、ゲノム型を解析して、人をグループ化し、さらに、生活習慣や環境情報を提供して頂いてデータベース化し、さらに似たパターンの人たちを選びだしてグループ化し、それらを付き合わせ、比較研究するのである。

このゲノム情報による人のグループ化という利用形態を考えると、プロテオミクス研究も、ゲノム研究の一環として、ゲノム情報と表現形情報の中間地点としてのたんぱく質情報を解析する研究と位置づけることができる(図1)。

現在の三省ヒトゲノム・遺伝子研究指針では、たんぱく質やmRNAの発現解析はゲノム研究に含まれていない。しかし、たんぱく質の解析が精確になると(そして精確さの達成なしでは、この研究は成功しないのだが)、遺伝的に異常なものも検出可能であること。また、人集団を用いたプロテオミクス解析においても、先に述べたように、ゲノム情報による人のグループ化を導入する必然性があること。これらの2つの問題を考えるだけでも、ゲノム研究の一形態としてプロテオミクス研究を位置づけることが重要である。そもそも、海外のゲノム研究指針では、たんぱく質、mRNAなど全て遺伝する形質に関わる指標を解析する研究をゲノム研究に含めている。日本の指針の定義自体が狭くなっているのが現状である。

Keywords: proteomix, research ethics, research policy

広瀬明彦, 江馬 真, 鎌田栄一, 小泉睦子, 長谷川隆一:  
ビスフェノールAの内分泌かく乱作用のヒトへの健康影響評価

日本食品化学学会誌, 10, 1-12 (2003).

ビスフェノールA(BPA)はこれを原料としたポリカーボネート, エポキシおよびポリスチレン樹脂等から高温処置等で容易に溶出されるという性質から、これらの樹脂を使用した際の食品等への溶出や金属製の缶のエポキシコーティングからの溶出により直接ヒトに暴露される可能性が高く、健康に対する影響が懸念される物質の一つである。一般毒性に関しては、米国EPAでは50  $\mu$ g/kg/dayをヒトの経口摂取に対するReference Dose (RfD)として設定している。しかし、近年報告されている内分泌系への影響は、このRfDよりも低い用量で現れることが報告されている。本稿では、このような議論の基となったBPAの内分泌かく乱作用に関する文献情報等をまとめると共に、現状のヒト暴露レベルとの比較を行い、低用量問題を含めたヒトへの健康影響の可能性について考察した。

Keywords: bisphenol A, endocrine disruption effects, risk assessment

Yoshioka Y., Tsutsumi Y., Nakagawa S.<sup>\*1</sup>, Mayumi T.<sup>\*2</sup> Recent progress on tumor missile therapy and tumor vascular targeting therapy as a new approach

Current Vascular Pharmacology, 2, 259-270 (2004)

Tumor targeting therapy, that is "Missile therapy", using a com-

plex composed of a tumor suppressive drug and a whole antibody against tumor cells, is expected to become an attractive chemotherapy strategy. However, clinically convincing results have not yet been obtained mainly due to poor transport from the circulation to tumor tissue and marked toxicity. Recently, recombinant immunotoxins, composed of an Fv fragment of an antibody to a tumor-related antigen fused to various truncated toxins have been developed to overcome the distribution of immunotoxins in tumors. These recombinant immunotoxins have shown encouraging clinical results for some hematopoietic malignancies. However, there were no significant anti-tumor responses to many tumors, especially solid tumors, probably due to their rapid clearance from the circulation and their immunogenicity and antigenicity. More recently, PEGylation of recombinant immunotoxins has been attempted to overcome these drawbacks. It was found that PEGylation of recombinant immunotoxins improves their effectiveness. We discuss the recent progress in tumor missile therapy. In contrast to others, we developed "Missile therapy against tumor blood vessels" by using specific monoclonal antibodies against tumor endothelial cells rather than actual tumor cells. The complex between antibodies to tumor vascular endothelial cells and anti-tumor drugs can freely access the target cells without concern for their vascular permeability. These preparations have exhibited excellent antitumor effects for solid tumors. In this review, we also discuss this vascular targeting therapy as an attractive new strategy for tumor chemotherapy.

Keywords: tumor vascular targeting, antibody therapy

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央: 蛋白療法の最適化に叶うDDSの開発を目指して

薬剤学(生命とくすり), 64, 159-163 (2004)

ヒトゲノム解読が完了し、創薬を目指したポストゲノム研究は疾患プロテオミクス研究などへと移行しており、今後生命現象や疾病に関与する蛋白質が急速に同定されるものと考えられている。また近年、種々疾病に対するサイトカイン療法や抗体療法等といった蛋白療法が再注目されてきた。しかし過去の多くの事例が示すように、蛋白質は体内安定性に極めて乏しいため臨床応用の際には大量頻回投与を余儀なくされ、重篤な副作用を招いてしまっている。また一般にサイトカイン等は、複数種のレセプターを介して多様なin vivo生理活性を示すため、目的とする治療作用のみならず副作用までも同時に発現してしまう。従って蛋白療法を推進するためには、上述した生理活性蛋白質固有の問題点を克服し得る創薬(DDS)基盤技術の確立が不可欠である。以上の観点から本稿では、蛋白療法の最適化を目的に我々が試みている、①レセプター親和性・特異性といった医薬価値に優れた機能性人工蛋白質を迅速創出できる分子進化戦略の構築、②蛋白質の生体内安定性を向上させ、かつ目的治療作用の選択的発現能を付与できる高分子バイオコンジュゲーション法の確立、③DDS機能を有した機能化高分子キャリアの設計について解説した。

Keywords: bioconjugation, phage display system, protein engineering

堤 康央：プロテオーム/プロテオミクス

DDS, 18, 549 (2003)

本稿では、プロテオームおよびプロテオミクスについて用語解説した。

Keywords: proteome, proteomics

堤 康央, 真弓忠範<sup>\*1</sup>：ファージ表面提示法を駆使した機能性人工蛋白質の創出と DDS への展開

DDS, 18, 536-544 (2003).

近年のプロテオミクス研究などの進展も相俟って、蛋白質を疾病治療に有効な医薬品として開発しようとする試みに期待が寄せられている。しかしながら蛋白質の生体への適用には、依然として蛋白質の生体内安定性を向上させ、かつその多様な *in vivo* 生理作用の中から目的とする治療作用のみを選択的に発現させ得る創薬テクノロジーの確立が必須となっている。本観点から本稿では、我々が開発した「ファージ表面提示法を駆使した医薬価値に優れた機能性人工蛋白質の迅速創出システム」と「蛋白質の医薬品としての有効性と安全性を高め得る高分子バイオコンジュゲーション法」などについて解説した。

Keywords: bioconjugation, phage display system, protein engineering

<sup>\*1</sup> 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央, 吉岡靖雄, 真弓忠範<sup>\*1</sup>：医薬価値に優れた機能性人工タンパク質の網羅的かつ迅速同定システムとプロテオーム創薬への展開

細胞工学, 22, 873-881 (2003)

本稿では、ファージ表面提示法を利用した蛋白質の構造変異体ライブラリの作製プロトコルと、1億種類以上もの多様性を有した構造変異蛋白質ライブラリの機能解析方法について解説した。

Keywords: phage display system, protein engineering

<sup>\*1</sup> 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央, 鎌田春彦<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>：機能性高分子キャリアの開発とプロテオーム創薬への展開

Bio ベンチャー, 3, 56-57 (2003)

本稿では、我々が開発した「腎臓への標的指向能と薬物の pH 応答性徐放化能」を併せ持った新規合成高分子について、その作製法や薬物担体としての有用性について解説した。

Keywords: renal targeting, controlled release, bioconjugation

<sup>\*1</sup> 三重大学医学部

<sup>\*2</sup> 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央, 真弓忠範<sup>\*1</sup>：プロテオーム創薬にかなう機能性人工蛋白質の迅速創出とその PEGylation への展開

蛋白質核酸酵素, 48, 1519-1526 (2003)

蛋白質の生体への適用には、依然として蛋白質の生体内安定性を向上させ、かつその多様な *in vivo* 生理作用の中から目的とする治療作用のみを選択的に発現させ得る創薬テクノロジーが必須となっている。そのため近年、蛋白質の生体内安定性を改善し得る高分子バイオコンジュゲーションが注目されているものの、蛋白質の著しい比活性低下を招いてしまうなど、数多くの問題を抱えている。本稿ではまず、高

分子バイオコンジュゲーションの現状とその問題点を概説し、引き続き、従来までの問題点を克服した我々の「新規バイオコンジュゲーション法」について紹介した。

Keywords: phage display system, protein engineering, bioconjugation

<sup>\*1</sup> 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央, 真弓忠範<sup>\*1</sup>：高分子化医薬 (PEG 化製剤)

血液・免疫・腫瘍, 8, 56-62 (2003)

本稿では、ポリエチレングリコールで化学修飾された PEG 化蛋白質の医薬品化における諸問題や現状を概説し、その克服方法や将来展望について解説した。

Keywords: PEGylation, protein therapy

<sup>\*1</sup> 神戸学院大学薬学研究科

Abiru N.<sup>1</sup>, Sun F.<sup>1</sup>, Kawasaki E.<sup>1</sup>, Yamasaki H.<sup>1</sup>, Oshima K.<sup>1</sup>, Nagayama Y.<sup>1</sup>, Mizuguchi H., Hayakawa T., Miao D.<sup>2</sup>, Liu E.<sup>2</sup>, Eisenbarth G.S.<sup>2</sup>, Eguchi K.<sup>1</sup> : **In vivo expression of B:9-23 peptide/I-Ag7 complex may abrogate the inhibition of diabetes induced by RGD-fiber-mutant adenovirus in NOD mice.**

*Annals N.Y. Acad. Sci.*, 1005, 218-221 (2003)

Insulin B chain peptide B:9-23 given to NOD mice decreases the development of diabetes, and phase II trials of an altered peptide ligand of B:9-23 are under way in humans. We have created a gene for the NOD MHC class II beta chain, covalently linked to the B:9-23 peptide. B lymphoma cells transfected with the gene stimulated NOD islet-derived B:9-23 reactive T cell clones *in vitro*. In this study, we generated an RGD-fiber-mutant adenovirus vector encoding the covalent B:9-23 peptide/I-A(g7) gene (Ad-RGD-B:9-23) to test whether *in vivo* expression of the gene could protect NOD mice from diabetes. NOD female mice were injected intramuscularly with 5 x 10<sup>8</sup> PFU of Ad-RGD-B:9-23 and empty RGD-adenovirus vector. A single administration of the empty vector did not alter the expression of insulin autoantibodies, but delayed the onset of diabetes in NOD mice. In contrast, Ad-RGD-B:9-23 immunization induced an early expression of insulin autoantibodies, but did not change the disease occurrence compared to control NOD mice. Our results suggest that adenovirus infection could confer protection from diabetes in NOD mice. The *in vivo* expression of covalent B:9-23 peptide/class II complex by adenovirus gene transfer might activate anti-insulin autoimmunity, resulting in abrogation of the inhibition of diabetes induced by an RGD-fiber-mutant adenovirus vector.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy, diabetes

<sup>\*1</sup> 長崎大学医学部

<sup>\*2</sup> コロラド大学ヘルスサイエンスセンター

水口裕之, 早川堯夫：アデノウイルスベクター

Mebio, 21(4), 8-16 (2004)

アデノウイルスベクターは、これまでの全遺伝子治療臨床研究のプロトコル数あたりで約27%、患者数あたりで約18% (2003年10月現在) に用いられ、レトロウイルスベクターについて汎用されているベクターである。1999年には、アデノウイルスベクターを用いたオルニチントランスカルバミ

レーザー損傷に対する遺伝子治療臨床研究で死亡事故（高用量のベクター投与に伴うウイルス血症が関与）がおり、ベクターや遺伝子治療プロトコルなどの安全面での一層の強化が課題となった。

本稿では、アデノウイルスベクターの特徴と問題点、および課題点を克服した改良型ベクターの開発などの現状について解説した。

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

水口裕之：次世代遺伝子治療薬の開発基盤研究  
薬学雑誌, 123, 761-771 (2003)

Successful gene therapy depends largely on vectors that can efficiently deliver the therapeutic genes into the target tissue and cells. Recombinant adenovirus (Ad) vectors continue to be the preferred vectors for gene therapy because they can easily be grown to high titer and can efficiently transfer genes into both dividing and non dividing cells. However, there are some limitations such as time-consuming and labor-intensive procedures of vector construction, coxsackievirus-adenovirus receptor (CAR)-dependent gene transfer, immunological side effects, lack of tissue-specificity, lack of regulation of gene expression, et al. In this paper, I review our approach to the development of advanced recombinant Ad vectors. The next generation of Ad vectors have not only become promising vectors for gene therapy, but also important tools for gene transfer into mammalian cells.

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

水口裕之, 早川堯夫：遺伝子機能解析のための遺伝子導入ベクター - ウイルスベクターを中心として -  
蛋白質核酸酵素, 48, 1653-1662 (2003)

遺伝子治療用ベクターの開発研究を通して発展してきたウイルスベクターは、作製法が簡便化されたこともあり、遺伝子の機能解析などの生命科学研究を行う上で必須の基盤技術となっている。本稿では、遺伝子機能解析用ベクターとしての各種ウイルスベクターの特徴について解説した。

Keywords: adenovirus vector, gene therapy

香月茂樹：種子島の多様な野生植物  
日本植物園協会誌, 38, 94-99(2004)

種子島は離島であり、生物分布上の境界線として知られる渡瀬線に隣接する位置にあり、降霜と無霜が島内に同居するという大変稀な環境にある。その自然環境の概略について記し、特色ある野生植物として、北限・南限の植物、希少種の生育状況を述べた。特色ある植生として7種の群落を、稀少植物の種子島での現状について7種を記した。今後の活用と保護について略述した。

Keywords: Tanegashima, wild plant, flora

- 早川堯夫：臨床試験，“バイオテクノロジー応用医薬品”，内藤周幸編，薬事日報社，東京（2003），pp. 155-179
- 早川堯夫，永田龍二：“医薬品の安全性”，長尾拓編集，南山堂，東京（2004），pp.31-51
- 吉岡澄江，阿曾幸男：“固体医薬品の物性評価，第6節緩和測定”，寺田勝英，山本恵司，米持悦生編，じほう，東京（2003），pp. 141-169
- Yoshioka, S.: **Molecular Mobility of Freeze-Dried Formulations as Determined by NMR Relaxation, and its Effect on Storage Stability, In Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products**, ed, Rey, L., and May, J.C., Marcel Dekker, Inc., (2004) pp.187-212
- 靄島由二：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，発熱性物質試験，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 37-42
- 靄島由二：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，エンドトキシン試験，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 43-50
- 靄島由二，中澤裕<sup>\*1</sup>，本郷敏雄<sup>\*2</sup>，宮崎 隆<sup>\*3</sup>，佐藤温重<sup>\*2</sup>：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，プラスチック製医療用具からのフタル酸エステル類の溶出特性とリスク評価，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 235-259
- <sup>\*1</sup> 星薬大  
<sup>\*2</sup> 東京医科歯科大  
<sup>\*3</sup> 昭和大
- 矢上 健：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，天然ゴム製品のアレルゲン性試験，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 7-11
- 五十嵐良明：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，マウス感作性試験，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 1-6
- 五十嵐良明：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，抗原性試験，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 12-17
- 松岡厚子，土屋利江：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，遺伝毒性試験，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 18-27
- 中岡竜介，土屋利江：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，微粒子状物質の安全性，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 212-218
- 中岡竜介：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，材料表面の改質とそれに伴う生体成分への影響，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 219-224
- 佐藤道夫：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，埋植医療機器の不具合報告，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 250-258
- 伊佐間和郎：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，滅菌による材料変化と細胞分化機能，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 225-229
- 伊佐間和郎，土屋利江：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，金属イオン等と骨分化，土屋利江編，シーエムシー出版，東京（2003），pp. 230-234
- 新谷英晴：“最新医療機器マニュアル”，医療機器の滅菌バリデーション，情報機構，東京（2003），pp. 303-319
- 柳楽 勤，土屋利江：“生体物理刺激と生体反応”，メカニカルストレスに対する細胞応答の分子機構，大森豊明監修，フジ・テクノシステム，東京（2004），pp. 667-677
- 土屋利江：“微粒子工学大系 第Ⅱ巻 応用技術”，無機微粒子の安全性と生体適合性，柳田博明監修，フジ・テクノシステム，東京（2002），pp. 743-748
- 土屋利江：“図解 再生医療工学”，再生医療とその周辺：再生医療をとりまく規制とその現状・今後，工業調査会，東京（2004），pp. 296-303
- 土屋利江編集：“医療材料・医療機器の安全性と生体適合性”，シーエムシー出版，東京（2003）
- Tsuchiya, T.: **“Tissue Engineered Medical products (TEMPS), ASTM STP 1452”**, A Useful Marker for Evaluating the Safety and Efficacy of Tissue Engineered Products, Schutte, E., Picciolo, G.L., Kaplan, D.S., eds., ASTM International, West Conshohocken, PA (2004), pp.254-261
- 米谷民雄：“健康・栄養食品アドバイザー・テキストブック”，食品添加物，(独)国立健康・栄養研究所監修，山田和彦・松村康弘編著，第一出版，東京（2003.7）pp. 207-216
- 米谷民雄，長岡（浜野）恵：“ミネラル事典”，アルミニウム，糸川嘉則編，朝倉書店，東京（2003.6），pp. 365-372
- 米谷民雄：“安全・安心の基礎知識”，食品添加物の安全性は，総務省 国民安全事典編集委員会監修，(財)全国危険物安全協会発行，ダイヤモンド社，東京（2004.3），pp. 346-347
- 米谷民雄：“医薬品の安全性”，食品の安全性，長尾 拓編，南山堂，東京（2004.5）pp. 291-307
- 佐々木久美子：“HACCP：衛生管理計画の作成と実践・改訂データ編”，熊谷進，小久保彌太郎，小沼博隆，豊田正武編

- 集, 中央法規, 東京(2003), pp. 387-396
- 佐々木久美子: “食品衛生検査指針・残留農薬編”, 厚生労働省監修, 日本食品衛生協会, 東京(2003), pp. 25-34, pp. 60-75, pp. 91-102, pp. 236-241, pp. 253-259, pp. 436-446, pp. 495-499, pp. 852-856
- 高附 巧: “食品衛生検査指針・残留農薬編”, 厚生労働省監修, 日本食品衛生協会, 東京(2003), pp. 103-109, pp. 472-472
- 村山三徳: “HACCP: 衛生管理計画の作成と実践 改訂データ編”, 熊谷進, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 豊田正武編集, 中央法規出版, 東京 (2003) pp. 356-386
- 村山三徳: “食品衛生検査指針 動物用医薬品・飼料添加物編”, 厚生労働省監修, 日本食品衛生協会, 東京 (2003) pp. 3-5, pp. 26-43, pp. 68-79, pp. 98-110, pp. 117-135, pp. 140-191, pp. 226-227
- 穂山 浩: “食品衛生学—食の安全の科学—”, 遺伝子組換え食品, 菊川清見・那須正夫編, 南江堂, 東京(2004), pp. 283-297
- 穂山 浩: “考えよう地球環境 7—化学物質と健康の本”, バイオテクノロジーが産んだ新しい食品, ポプラ社, 東京(2004), pp. 24-25
- 穂山 浩: “安全・安心の基礎知識”, 遺伝子組換え食品やアレルギー現状は, 総務省 国民安全辞典編集委員会監修, (財) 全国危険物安全協会発行, ダイヤモンド社, 東京(2004), pp. 348-349
- 河村葉子: “HACCP: 衛生管理計画の作成と実践 改訂データ編”, 熊谷進他編, 中央法規出版, 東京(2003), pp. 335-348.
- Kawamura, Y.: “Effect of gamma irradiation on polyethylene, polypropylene, and polystyrene”, In “Irradiation of Food and Packaging-Recent Developments”, ed., Komolprasert, V., and Morehouse, K. M., American Chemical Society, Washington, DC. (2004), pp.262-276.
- 山本茂貴: “動物由来感染症 その診断と対策” 神山恒夫, 山田章雄 編, 真興交易 (株) 医書出版部 東京 (2003) pp. 166-168
- 山本茂貴: “食品の安全性評価と確認” 一色賢司, 豊田正武, 西島基弘 編, サイエンスフォーラム 東京 (2003) pp. 141-142
- 山本茂貴, 小久保彌太郎, 小沼博隆, 熊谷進: “食品の安全を創る HACCP” (社) 日本食品衛生協会 (2003)
- 里見弘治, 伊藤蓮太郎, 山本茂貴, 小久保彌太郎: “食品の安全を創る HACCP HACCP プラン作成ガイド” (社) 日本食品衛生協会 (2003)
- 山本茂貴: “食品安全システムの実践理論” 新山陽子 編 (株) 昭和堂 (2004) pp. 39-48
- 山本茂貴: “食品衛生学” 太田房雄, 西島基弘 編 建帛社 (2004) pp. 7-14, pp. 190-193, pp. 207-208
- 山本茂貴: “食の安全とリスクアセスメント” 熊谷進, 山本茂貴 編 中央法規出版(株)(2004) pp. 18-20, pp. 66-77
- 五十君静信他: “分子生物学歯科小辞典” 西澤俊樹監修 財団法人 口腔保健協会 東京 (2003)
- 宮原美知子: “分子予防環境医学, 食中毒”, 分子予防環境医学研究会編, 本の泉社, 東京(2003), pp323~333.
- 工藤由起子: “食の安全とリスクアセスメント”, 第2章 食品の安全性に関わる危害因子 2 細菌, 熊谷進・山本茂貴共編, 中央法規, 東京 (2004) .
- 工藤由起子, 他. 西澤俊樹 監修, 分子生物学歯科小辞典, 口腔保健協会, 東京 (2003).
- 小西良子: “食の安全とリスクアセスメント” 中央法規, 東京 (2004) , pp149-154
- 小西良子: “畜産物のマイコトキシン” 臨床獣医 4 月号チクサン出版社, 東京 (2004) , pp21-25
- 小西良子: “UJNR 有毒微生物専門部会第37回日米同部会” 食品衛生研究 5 月号, 日本食品衛生協会, 東京 (2003) , pp17-19
- 小西良子: “パツリンの試験法について” 食品衛生研究 3 月号, 日本食品衛生協会, 東京 (2004) , pp-11-16
- 澤田純一, 手島玲子: “免疫毒性”, 医薬品の安全性, 長尾拓編, 南山堂, 東京(2004), pp229-241
- 手島玲子: “アレルギー”, 食の安全とリスクアセスメント, 熊谷進・山本茂貴編, 中央法規, 東京(2004), pp155-159
- 井上和秀: “慢性疼痛とミクログリア: ATP 受容体の関与” 痛みの基礎と臨床. 緒方宣邦, 柿木隆介編, 真興交易 (株) 医書出版部, 東京 (2003), pp93-101
- 山本 美智子他: “薬剤師の臨床業務に役立つ情報活用法” エルゼビア・ジャパン, 東京(2004) , pp. 193-234
- 春日文子: “微生物学リスクアセスメントの実態” 食品の安全性評価と確認, 一色賢司, 豊田正武, 西島基弘編, サイエンスフォーラム, 東京(2003) , pp. 149-154
- 春日文子, 山本茂貴: “微生物学的リスクアセスメント” 食の安全とリスクアセスメント, 熊谷進, 山本茂貴共編, 中央法規, 東京(2004) , pp. 65-77



- 石光 進他：“食品衛生検査指針・残留農薬編”，厚生労働省監修，日本食品衛生協会，東京（2003），pp. 110-115, pp. 153-162, pp. 342-347
- 山本 都他：“必携 生物化学テロ対処ハンドブック”，生物化学テロ災害対処研究会，診断と治療社，東京（2003），pp. 1-24.
- 鹿庭なほ子：“医薬品の分析法バリデーション”，林純薬工業株式会社，大阪（2003. 11）
- 長谷川隆一他：“医薬品の安全性”，長尾 拓編，南山堂，東京（2004. 4）pp. 277-290
- 菅野 純：食品の安全性評価と確認 第5章汚染化学物質の安全確認の実用的評価法 第4節 環境ホルモン，一色賢司，豊田正武，西島基弘編集，スフォーラム，東京（2003），p p 123-127
- 平林容子：第9章臓器毒性 II. 血液毒性. In:長尾 拓編，医薬品の安全性，南山堂，東京（2004），pp. 146-160
- 五十嵐勝秀：DNAチップによる内分泌かく乱物質の評価システム，環境ホルモンの最新動向と測定・試験・機器開発，CMC出版（2003）pp. 242-246
- 大野泰雄：“新薬申請における薬物動態データの推移 - 過去，現状，ICH，今後の状況 - 薬物動態研究ガイド - 創薬から臨床へ”，佐藤哲男，堀井郁夫，山添 康編集. Life Science Information Center（2003）pp192-214.
- 大野泰雄：“非臨床試験の進捗状況から見た臨床試験の開始時期”，臨床試験2003，内藤周幸編集，薬事日報社（2003）pp181-198.
- 大野泰雄：“臨床試験，GMP，GLP，GCP，有害反応，有害反応に影響を及ぼす要因，相互作用，医薬品の安全性確保のために”，「医薬品の安全性」長尾拓編集，南山堂（2004）pp4-11.
- 大野泰雄：“光毒性試験”，「医薬品の安全性」長尾拓編集，南山堂（2004. 3）pp27-29.
- 大野泰雄：“毒性試験の代替法”，「医薬品の安全性」長尾拓編集，南山堂（2004）pp27-29.
- 大野泰雄：“第四章 薬の毒性とその予測”，「医薬品の安全性」長尾拓編集，南山堂（2004）pp53-63.
- 大野泰雄：“ダイオキシンの安全性評価（TDI決定の経緯），食の安全とリスクアセスメント” 第7章特殊な化学物質の安全性評価，熊谷 進，山本茂貴共編. 中央法規出版（2004）p136-148.
- 大野泰雄他：“トキシコロジー用語事典”（薬物動態，トキシコキネティクス，安全性薬理，及び動物実験代替法に関する用語77項目を担当），日本トキシコロジー学会編集，編集委員長：黒川雄二，編集幹事：遠藤 仁，大野泰雄，小野宏，佐藤哲男，土井邦雄，長谷川隆一，馬屋原 宏）じほう社，（2003）
- 小澤正吾：“臨床薬物代謝化学”，堀江 透・横井 毅編集，廣川書店，東京（2003），pp130-144
- 林 真，本間正充：“医薬品の安全性”，長尾 拓編，南山堂，東京（2004），pp. 91-104
- 水澤 博：“培養細胞なるほどQ&A”，第2章12 & 15, 第6章62, 63, 64, 68, 69, 巻末付録，許南浩編，日本組織培養学会，JCRB細胞バンク協力，羊土社，東京（2004）
- 増井 徹：“細胞培養なるほどQ&A”，2章17, 7章，巻末付録3 & 4，許南浩編，日本組織培養学会/JCRB細胞バンク協力，羊土社，東京（2004），pp. 53-55, pp. 160-173, pp. 211-217
- 谷本 剛：“分析法バリデーション”，標準品の試験項目，情報機構，東京（2003）pp. 267-291

モクツウ、モッコウ、ボウイ及びサイシンを含有する漢方・生薬製剤並びにそれら原料生薬の溶出試験 アリストロキア酸に関する分析報告：川原信夫，合田幸広  
医療用後発医薬品品質確保対策事業経費（平成15年4月平成16年3月）平成16年3月厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課に報告

無承認無許可医薬品買い上げ調査報告（痩身用健康食品）：合田幸広，鎌倉浩之  
医薬品審査等業務庁費無承認無許可医薬品買い上げ調査経費（平成15年4月平成16年3月）平成16年3月厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課に報告

無承認無許可医薬品買い上げ調査報告（強壮用健康食品，脱法ドラッグ）：合田幸広，花尻瑠理，最所和宏  
医薬品審査等業務庁費無承認無許可医薬品買い上げ調査経費（平成15年4月平成16年3月）平成16年3月厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課に報告

脱N-ジメチルシブトラミンの分析法：合田幸広，鎌倉浩之  
医薬品迅速分析法作成のための試験経費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年2月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告。

ヒドロキシホモシルデナフィルの分析法：合田幸広，鎌倉浩之  
平成16年2月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告。

健康食品の品質（安全性）確保のための調査分析：合田幸広，川原信夫，鎌倉浩之，丸山卓郎，花尻（木倉）瑠理，最所和宏  
食品試験検査費（平成15年4月～平成16年3月）平成16年3月厚生労働省食品安全部基準審査課新開発食品対策室に報告

あへん中のモルヒネ含量試験：花尻瑠理，最所和宏，合田幸広  
あへん等取り扱い業務費（平成15年4月～平成16年3月）平成15年11月及び平成16年3月（インド産あへん），平成16年2月（国産あへん）厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策室に報告

鑑識用麻薬等標準品の製造報告（アミネブチン塩酸塩，1-ベンジルピペラジン，1-(3-オトルフルオロメチルフェニル)ピペラジン塩酸塩）：花尻瑠理，最所和宏，合田幸広  
標準品製造費（平成15年4月～平成16年3月）平成16年2月厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策室に報告

麻薬及び向精神薬分析マニュアルの作成：花尻瑠理，最所和宏，合田幸広  
向精神薬分析法作成経費（平成15年4月～平成16年3月）平成16年3月厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策室に報告

繊維製剤中ホルムアルデヒドの樹脂加工/移染判別法のバリデーション：五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江  
家庭用品等調査研究費（平成15年4月～平成16年3月），平成16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。

ろうそく用芯材の金属含有量と燃焼による放散について：五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江  
家庭用品等調査研究費（平成15年4月～平成16年3月），平成16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。

クレオソート油及びその混合物を含有する木材防腐剤，並びにそれらで処理された木材中のベンズ[a]アントラセン，ベンゾ[a]ピレン及びジベンズ[a,h]アントラセンの分析法：五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江  
家庭用品等調査研究費（平成15年4月～平成16年3月），平成16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。

平成15年度家庭用品試験品目，メチレンビスチオシアネート，2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレート及び4,4'-チオビス(3-メチル-6-tert-ブチルフェノール)の細胞毒性：五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江  
家庭用品等調査研究費（平成15年4月～平成16年3月），平成16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。

平成15年度家庭用品試験品目，酢酸ジエチレングリコールモノブチルエーテルの分析法策定：五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江  
家庭用品等調査研究費（平成15年4月～平成16年3月），平成16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。

平成15年度家庭用品試験品目，セバシン酸ジブチルの分析法策定：五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江  
家庭用品等調査研究費（平成15年4月～平成16年3月），平成16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。

国設自動車交通環境測定所における大気汚染測定調査：神野透人，香川聡子，松島江里香，埴岡伸光，安藤正典  
環境省環境保全費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年4月環境省環境管理局自動車環境対策課に報告。

水道水質検査精度管理調査：安藤正典，西村哲治，綾野絵理  
（平成15年7月～平成16年3月）平成16年4月厚生労働省健康局水道課に報告。

ヒ素の無機態・有機態分別定量法に関する資料収集及び試験法の検討：米谷民雄，穠山 浩，長岡 恵  
食品等試験検査費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

輸入小麦中のカドミウムの汚染実態調査と解析：米谷民雄，松田りえ子，穠山 浩，長岡 恵  
食品等試験検査費（平成15年4月～平成16年3月），平

成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**食品中のスズ濃度実態**：米谷民雄，松田りえ子  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**期限表示を設定するための基礎的検討及びガイドライン案の作成**：米谷民雄，穠山 浩，山本茂貴，工藤由起子  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**食品からの硝酸塩の摂取量**：米谷民雄，松田りえ子  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**汎用農薬分析調査試験等の試験検査（残留農薬分析法開発に関する試験）**：根本 了，佐々木久美子，米谷民雄  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 5 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**照射食品の安全性に関する研究**：宮原 誠，米谷民雄，井上 達  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**組換え DNA 応用技術食品の検知法の研修**：穠山浩，渡邊敬浩，米谷民雄  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月）平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部新開発保健対策室に報告。

**GM スタックトウモロコシの実態調査**：穠山浩，渡邊敬浩，米谷民雄  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月）平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部新開発保健対策室に報告。

**ダイズおよびトウモロコシ加工食品を対象とした遺伝子組換え作物定量分析法の開発検討**：渡邊敬浩，穠山浩，米谷民雄  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月）平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課に報告。

**遺伝子組換え食品検査法の外部精度管理調査結果**：渡邊敬浩，穠山浩，米谷民雄  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月）平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課に報告。

**組換え DNA 技術応用食品のモニタリング調査**：渡邊敬浩，穠山浩，米谷民雄  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月）平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課に報告。

**健康食品に係わる試験検査（アマメシバの成分検索に関する報告書）**：穠山浩，近藤一成，米谷民雄，川原信夫，合田幸広  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月）平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部新開発保健対策室に報告。

**食品中の汚染物質等の一日摂取量調査の実施—食品からのセレン及びクロムの一日摂取量**：米谷民雄，松田りえ子  
食品等試験検査費（平成 14 年 4 月～平成 15 年 3 月），平成 15 年 11 月厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課に報告。

**食品中の汚染物質に係わる試験法の開発及び実態調査—食品中の鉛濃度実態**：米谷民雄，松田りえ子  
食品等試験検査費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 4 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**国際的な食品添加物の指定に関する調査（規格の検討）**：四方田千佳子，大西有希子，久保田浩樹，川崎洋子，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成 15 年 4 月～平成 15 年 10 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**既存添加物の品質規格の策定に関する研究**：山崎 壮，佐藤恭子，秋山卓美，杉本直樹，多田敦子，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**栄養強化剤リン酸三マグネシウムの規格基準の設定に関する検討**：四方田千佳子，久保田浩樹，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成 15 年 4 月～平成 15 年 10 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**黄色 5 号アルミニウムレーキ中の副成色素の測定**：川崎洋子，久保田浩樹，四方田千佳子，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成 15 年 11 月～平成 15 年 12 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**セミマイクロポストカラム誘導体化 HPLC による生鮮野菜中の亜塩素酸塩の分析法**：川崎洋子，久保田浩樹，四方田千佳子，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

**強化剤 L-アスコルビン酸 2-グルコシドの規格試験法の検討**：大西有希子，久保田浩樹，四方田千佳子，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成 15 年 4 月～平成 15 年 10 月），平成 16 年 3 月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

食品中の新規強化剤L-アスコルビン酸2-グルコシドの分析：大西有希子，久保田浩樹，四方田千佳子，棚元憲一  
食品添加物規格基準策定費（平成15年4月～平成15年10月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

マーケットバスケット方式による保存料と着色料の摂取量調査：四方田千佳子，大西（阿部）有希子，棚元憲一，五十嵐正次<sup>\*1</sup>，大澤テイ子<sup>\*2</sup>，宮崎奉之<sup>\*3</sup>，山下みよ子<sup>\*4</sup>，大和康博<sup>\*5</sup>，玉那覇康二<sup>\*6</sup>

食品添加物の一日摂取量調査費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

- \*1 札幌市衛生研究所
- \*2 仙台市衛生研究所
- \*3 東京都健康安全研究センター
- \*4 香川県環境保健研究センター
- \*5 北九州市環境科学研究所
- \*6 沖縄県衛生環境研究所

器具及び容器包装に係る告示分析法の見直しに関する検討：河村葉子，六鹿元雄，棚元憲一  
容器包装規格基準等作成費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

紙製容器包装の規格基準に関する検討：河村葉子，六鹿元雄，棚元憲一，尾崎麻子<sup>\*</sup>，藤田忠雄<sup>\*</sup>  
容器包装規格基準等作成費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告。

\* 大阪市環境科学研究所

食品中の微生物のリスク評価に関する研究：山本茂貴，春日文子，岡部信彦<sup>\*1</sup>，武田直和<sup>\*1</sup>，熊谷進<sup>\*2</sup>，林志直<sup>\*3</sup>  
平成15年度厚生労働科学研究（平成15年4月～平成16年3月）  
平成16年4月厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課に報告

- \*1 国立感染症研究所
- \*2 東京大学大学院
- \*3 東京都健康安全研究センター

ビブリオ・バルニフィカスによる重篤な経口感染症に関する研究：山本茂貴，岡部信彦<sup>\*1</sup>，田村和満<sup>\*1</sup>，渡辺治雄<sup>\*1</sup>，小野友道<sup>\*2</sup>  
平成15年度厚生労働科学研究新興再興感染症研究事業（平成15年4月～平成16年3月）  
平成16年4月厚生労働省健康局結核感染症課に報告

- \*1 国立感染症研究所
- \*2 熊本大学

粉末調整乳中の *Enterobacter sakazakii* など微生物に関するFAO/WHO 専門家会議報告：五十君静信  
平成16年2月厚生労働省医薬食品局食品保健部監視安全課および基準審査課に報告

食品由来のリステリア菌の研究被害に関する研究報告：五十君静信，山本茂貴，岡田由美子，奥谷晶子，牧野壮一<sup>\*1</sup>，本藤良<sup>\*2</sup>，仲真晶子<sup>\*3</sup>，寺尾通徳<sup>\*4</sup>  
厚生労働科学研究事業，平成16年4月厚生労働省医薬食品局食品保健部監視安全課に報告

- \*1 帯広畜産大学
- \*2 日本獣医畜産大学
- \*3 東京都衛生研究所
- \*4 新潟大学医学部

組換えベクターのマーカ-遺伝子のマウス腸管内における移行に関する知見：長尾拓，吉倉廣<sup>\*</sup>，五十君静信  
厚生労働科学研究事業，平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品保健部監視安全課に報告

\* 国立感染症研究所

食品由来のリステリア菌の研究被害に関する研究の研究内容報告と本菌の制御に関する解説：五十君静信  
厚生労働科学研究事業，平成16年5月食品安全委員会に報告

2002年度対EU輸出ホタテガイ貝毒検査機関における貝毒検査の comparative test 及び verification 実施報告：町井研士

マリントキシン検査外部精度管理関係費，平成15年3月厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課に報告

ノリ加工海水の浄化・再生に関する研究：木村邦夫<sup>\*1</sup>，工藤由起子  
環境省国立機関公害防止等試験研究費（平成15年4月～平成16年3月）：

\*1 産業技術総合研究所九州センター

食品製造の高度衛生管理に関する研究 液卵製造における高度衛生管理に関する研究：尾上洋一<sup>\*1</sup>，柳川敬子<sup>\*2</sup>，杉山明<sup>\*3</sup>，甲斐明美<sup>\*4</sup>，中川弘<sup>\*5</sup>，工藤由起子，高鳥浩介  
平成15年度厚生労働科学研究（平成15年4月～平成16年3月）平成16年4月厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課に報告

- \*1 神奈川県衛生研究所
- \*2 埼玉県衛生研究所
- \*3 三重県科学技術振興センター
- \*4 東京都立衛生研究所
- \*5 (財) 東京顕微鏡院

メチル水銀のリスク評価のための文献収集：畝山智香子，山本都，森川馨  
微生物基準等の検討のための実態調査等実施要領（平成15年12月～平成16年3月），平成16年4月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

食品中のメチル水銀含量についての文献収集：畝山智香子，山本都，森川馨  
微生物基準等の検討のための実態調査等実施要領（平成15年12月～平成16年3月），平成16年4月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

残留ホルモン剤等に関する文献収集：畝山智香子，山本都，森川 馨

微生物基準等の検討のための実態調査等実施要領（平成15年12月～平成16年3月），平成16年4月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

家庭用不快害虫用殺虫剤安全確保マニュアルの手引き：森田 健，石光 進，森川 馨

家庭用品等試験検査費（平成15年12月～平成16年3月），平成16年4月厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

感染症定期報告制度に伴う事務処理標準手順書の作成事業：浦野 勉

医薬品審査等業務庁費（平成15年度），平成15年6月厚生労働省医薬食品局安全対策課に報告

セイヨウオトギリソウの慢性毒性試験：小川幸男，関田清司，斉藤 実，内田雄幸，松島裕子，川崎 靖，井上 達，菅野 純

健康食品安全性評価費（平成12年4月～平成15年3月），平成15年8月厚生労働省医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室に報告

F344ラットによるベニバナ赤色素の90日間反復投与毒性試験：関田清司，斉藤 実，小川幸男，松島裕子，菅野 純  
食品添加物試験検査費（～平成15年3月）  
平成16年3月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

2-トリフルオロメチルアニリン，パークロロメチルカブタン及び2-メチル-5エチルピリジンの毒物劇物指定に必要なデータ確保のための試験：関田清司，菅野 純  
医薬品審査等業務庁費（平成14年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局審査管理課安全対策室に報告

硫酸カルボニル，トリメチルアセチルクロライド，メタンシルホニルクロライドの毒物劇物指定に必要なデータ確保のための試験：菅野 純，松島裕子，小川幸男，北嶋 聡，関田清司

医薬品審査等業務庁費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省医薬食品局審査管理課安全対策室に報告

タール色素等毒性試験法に関する調査・研究 タール色素（青色2号，青色201号）の毒性試験に関する文献調査および当該色素のAhRへの反応性の検討（試験管内試験）：菅野 純，北嶋 聡

医薬品審査等業務庁費（平成14年4月～平成15年4月），平成15年6月厚生労働省医薬食品局審査管理課に報告

タール色素等毒性試験法に関する調査・研究 タール色素（赤色226号）の毒性試験に関する文献調査および当該色素のAhRへの反応性の検討（試験管内試験）：菅野 純，北嶋 聡

医薬品審査等業務庁費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年4月厚生労働省医薬食品局審査管理課に報告

D-キシロースのF344ラットにおける癌原性試験（最終報告）：今沢孝喜，前田真智子，梅村隆志，西川秋佳，広瀬雅雄  
食品添加物安全性再評価費（平成9年4月～12年3月），平成16年3月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

レバミゾールのF344ラットにおける癌原性試験（中間報告）：今沢孝喜，前田真智子，梅村隆志，西川秋佳，広瀬雅雄  
容器包装，規格基準，乳肉水産基準費（平成13年4月～平成16年3月），平成16年3月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

トウガラシ色素（パプリカ色素）のF344ラットにおける慢性毒性・発がん性併合試験（中間報告）：梅村隆志，前田真智子，今沢孝喜，西川秋佳，広瀬雅雄  
食品添加物安全性再評価費（平成12年4月～平成15年3月），平成16年6月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

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，井上 薫，李 京烈，森川朋美，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16年3月），平成16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）：渋谷 淳，井上 薫，李 京烈，森川朋美，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15年3月），平成16年6月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

ヒノキチオールの雄F344/DuCrjラット心臓に対する影響に関するメカニズム解明試験：渋谷 淳，井上 薫，李 京烈，森川朋美，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13年4月～平成16年3月），平成16年6月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

タデ抽出物の90日間反復投与毒性試験（中間報告）：渋谷 淳，井上 薫，李 京烈，森川朋美，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15年4月～平成16年3月），平成16年6月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

モリンのF344ラットにおける13週間亜慢性毒性試験（最終報告）：小野寺博志，今井俊夫，広瀬雅雄  
食品添加物安全性再評価費（平成12年4月～平成13年3月），平成15年6月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

カテキンのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験（最終報告）：蓮村麻衣，小野瀬淳一，今井俊夫，広瀬雅雄  
食品添加物安全性再評価費（平成13年4月～平成14年3月），平成15年9月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

塩化マグネシウムのF344ラットにおける慢性・発がん性併合試験（中間報告）：曹永晩，今井俊夫，瀧澤保，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10年4月～平成16年3月），平成16年5月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

セイヨウワサビ抽出物およびアリルイソチオシアネートのF344ラットにおける13週間亜慢性毒性試験（中間報告）：蓮村麻衣，今井俊夫，上田誠，曹永晩，小野瀬淳一，広瀬雅雄

食品添加物安全性再評価費（平成13年4月～平成16年3月），平成16年5月 厚生労働省医薬局食品保健部基準課へ報告。

OECD/HPV点検化学物質安全性調査：江馬 眞，鎌田栄一，広瀬明彦

既存化学物質等安全性調査費（平成14年4月～平成15年3月），平成15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。

既存化学物質等安全性調査（生殖発生毒性試験）：江馬 眞，鎌田栄一，広瀬明彦

既存化学物質等安全性調査費（平成14年4月～平成15年3月），平成15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。

化学物質毒性ふるい分け調査（28日間反復投与毒性試験）：江馬 眞，鎌田栄一，広瀬明彦

化学物質毒性ふるい分け（スクリーニング）調査費（平成14年4月～平成15年3月），平成15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。

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等：江馬 眞，鎌田栄一，広瀬明彦

国際的に汎用されている添加物（香料）の指定に向けた試験，平成15年3月厚生労働省医薬局食品安全部基準審査課に報告。

食用青色2号の純度試験等について：辻 澄子，古川みづき，木下博貴，吉井公彦，外海泰秀

食品添加物規格基準策定費（平成15年4月～平成16年3月），平成16年3月厚生労働省食品安全部基準審査課に報告。

## 学会発表

## Titles of Speeches Scientific Meetings etc.

- 早川堯夫：生物由来製品  
第41回JAPIC講演会(2003.7)
- 早川堯夫, 水口裕之：創薬研究に役立つ新規アデノウイルスベクター  
創薬薬理フォーラム第11回シンポジウム(2003.9)
- 早川堯夫：バイオロジクスのトランスレーショナルリサーチにおける基本的要素  
創薬薬理フォーラム第11回シンポジウム(2003.9)
- Takao Hayakawa: New Challenging Areas of Biologicals and Related Issues**  
The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003.11)
- 早川堯夫：米国における新薬開発の動向  
第3回創薬基盤技術の開発に関するシンポジウム(2003.11)
- 早川堯夫：バイオロジクスのウイルス安全性  
第18回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー(2004.1)
- 早川堯夫：バイオロジクスの進展に向けて  
バイオロジクスフォーラム第1回学術シンポジウム(2004.2)
- 早川堯夫：国際化時代におけるバイオ創薬の推進とレギュラトリーサイエンス  
日本薬学会第124年会(2004.3)
- 早川堯夫：バイオロジクスの将来展望と課題  
04-1 ポリマーフロンティア21, 高分子学会(2004.4)
- Takao Hayakawa: Bio-safety of Medicinal Products Derived from Urine -Current Situation in Japan-**  
Conference on the Bio-safety of Urinary Derived Medicinal Products (2004.4)
- 早川堯夫：疾患関連タンパク質プロジェクトの現状と今後の展望  
第11回HAB研究機構学術年会(2004.5)
- 伊豆津健一, 青柳伸男, 小嶋茂雄：タンパク質と二糖類の凍結溶液における混合性と凍結乾燥時の安定化作用  
日本薬剤学会18年会(2003.4)
- 伊豆津健一, 青柳伸男, 小嶋茂雄：ポリオール-ホウ素錯体凍結水溶液の物性と凍結乾燥時のタンパク質安定化作用  
低温生物工学会第49年会(2003.5)
- Izutsu, K., Aoyagi, N., Kojima, S., Randolph, T.W.\*, Carpenter, J.F.: **Mixing of protein and disaccharide in frozen solutions required for protein stabilization during freeze-drying**  
Colorado Protein Stability Conference (2003.7)
- \* University of Colorado
- 青柳伸男：経口製剤の製法変更の生物学的同等性試験ガイドライン(JPAC-IR)Q&A  
製剤機械技術研究会第12回講演会(2003.8)
- Aoyagi, N.: Assurance of bioequivalence from clinical lot to commercial products  
Symposium of Korean Food and Drug Administration (2003.8)
- 青柳伸男：製剤の品質保証, 試験法の諸問題  
東西合同技術研究常任委員会(2003.8)
- Aoyagi, N.: **Assessment of bioequivalence of oral dosage forms of generic drugs**  
International Symposium at Catholic University of Daegu (2003.10)
- 青柳伸男：局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドラインについて  
公定書協会第17回新薬部門審査説明会(2003.10)
- 香取典子, 吉谷隆志, 祖山晃子, 福島(上坂)浩美, 児矢野 聡, 井戸田昌也, 黒瀬光一, 鹿庭なほ子, 斎藤嘉朗, 小澤正吾, 青柳伸男, 小嶋茂雄, 山本 昇\*, 南 博信\*, 田村友秀\*, 西條長宏\*, 澤田純一：パクリタキセル及び代謝物の体内動態に対するMDR1の遺伝子多型の影響  
第18回日本薬物動態学会年会(2003.10)  
\*1 国立ガンセンター
- 中島由起子, 鹿庭なほ子, 斎藤嘉朗, 始関紀彰, 渡辺秀実, 福島(上坂)浩美, 長谷川隆一, 小嶋茂雄, 小澤正吾, 澤田純一, 南成祐\*, 加藤昌明\*, 須貝研司\*, 木村英雄\*, 後藤雄一\*: てんかん患者におけるカルバマゼピン動態 薬物代謝酵素の遺伝子多型の影響  
第18回日本薬物動態学会年会(2003.10)  
\*1 国立精神・神経センター
- 青柳伸男：品質再評価からの課題  
第40回全国衛生化学技術協議会(2003.11)
- 青柳伸男：医薬品の品質保証について  
第1回医薬品・化粧品品質管理研修会(2003.11)
- 伊豆津健一：糖類の物性と生体高分子・細胞の凍結乾燥による安定化  
日本低温医学会第30年会(2003.11)
- 青柳伸男：医薬品再評価で浮かび上がった課題  
医薬品品質フォーラム第1回シンポジウム(2004.1)
- 伊豆津健一, Shemaine O. Ocheda\*, 青柳伸男, 小嶋茂雄：ホウ素錯体形成による凍結溶液中マンニトールの結晶性制御とタンパク質安定化

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*フィリピン食品医薬品庁

青柳伸男：日本薬局方製剤総則の改正について  
大阪医薬品協会 (2004.3)

香取典子, 吉谷隆志, 中島由起子, 井戸田昌也, 黒瀬光一, 鹿庭なほ子, 斎藤嘉朗, 小澤正吾, 青柳伸男, 小嶋茂雄, 山本昇<sup>\*1</sup>, 南博信<sup>\*1</sup>, 田村友秀<sup>\*1</sup>, 西條長宏<sup>\*1</sup>, 澤田純一：パクリタキセル及び代謝物の体内動態に対するMDR1の遺伝子多型の影響

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*1 国立ガンセンター

Aoyagi, N.: Recent trend of pharmaceutical regulations in Japan 2004 ROC-Japan Joint Symposium on Particle Design, Nanotechnology and Drug Delivery (2004.5)

吉岡澄江：医薬品の安定性に影響する分子運動  
CBI学会第234回研究講演会 (2003.8)

Yoshioka, S., Aso, Y., C Kojima, S.: Temperature dependence of bimolecular reaction rates in lyophilized formulations described Adam-Gibbs-Vogel equation  
American Association of Pharmaceutical Sciences, (2003.10)

Miyazaki, T., Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S.: Effect of polymer excipients on physical stability of amorphous acetaminophen  
American Association of Pharmaceutical Sciences (2003.10)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄：<sup>13</sup>CのT<sub>1</sub>およびT<sub>1ρ</sub>に反映される凍結乾燥製剤の分子運動の実態は何か  
第42回NMR討論会 (2003.11)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄：<sup>1</sup>Hおよび<sup>13</sup>C-NMRスピン格子緩和時間に基づく非晶質医薬品に対するPVPの安定化機構の解析  
第42回NMR討論会 (2003.11)

Yoshioka, S.: Evaluation for Stability Data (Q1E)  
The sixth International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003.11)

阿曾幸男：たん白質医薬製剤の放出性制御と安定性  
創剤フォーラム, 若手研究会 (2003.11)

吉岡澄江：非晶質の特異性を活かしたバイテク薬物および超難溶性薬物の製剤化とその評価  
創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業第2期研究成果発表会 (2004.3)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄：イソマルトオリゴ糖を含有する凍結乾燥製剤の分子運動の誘電緩和による測定  
日本薬学会124年会 (2004.3)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 小嶋茂雄：カチオン性リポソームを含有するショ糖凍結乾燥製剤の動的粘弾性の解析  
日本薬学会124年会 (2004.3)

宮崎玉樹, 吉岡澄江, 阿曾幸男, 小嶋茂雄：非晶質アセトアミノフェンの結晶化に及ぼす高分子添加剤と湿度の影響  
日本薬学会124年会 (2004.3)

Santiago, Ma.L.C.<sup>\*1</sup>, dela Cruz, R.M.<sup>\*1</sup>, Ishibashi, M.<sup>\*2</sup>, Sakamoto, T. Urciada, L.M.<sup>\*1</sup>, Gonzales, T.I.<sup>\*1</sup>, Sarau, J.K.<sup>\*1</sup>, Santero, E.C.M.<sup>\*1</sup>: Development of a Dissolution Method for Mefenamic Acid Suspension  
FIP 2003, World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (2003.9)

\*1 Bureau of Food and Drugs (Philippines)

\*2 JICA 長期専門家

坂本知昭：クロマトグラフ分析におけるデータ評価と品質保証—分析のばらつきが試験判定に与える影響—  
第14回クロマトグラフィー科学会議 (2003.11)

坂本知昭, 檜山行雄, 小嶋茂雄：クロマトグラフ分析における品質保証システム構築の1例  
第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

坂本知昭, 檜山行雄, 小嶋茂雄：品質試験の技術移管に関する保証システムの考察例—標準操作手順書(SOP)と教育訓練の役割—  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

Katayama, H.<sup>\*</sup>, Koyama, Y.<sup>\*</sup>, Tokunaga, Y.<sup>\*</sup>, Hiyama, Y., Morikawa, K.: Evaluating the Aseptic Room by Three Dimensional Airflow Pattern and Particulate Count  
PDA Annual Meeting, (2003.11)

\* Fujisawa Pharmaceutical

檜山行雄：薬事法改正とGMP  
日本薬剤学会第28回製剤セミナー (2003.7)

檜山行雄：薬事法改正とGMPについて  
薬事関係技術高度化研修会 (2003.10)

檜山行雄：医薬品の品質管理システムのあり方及び有効的・効率的手法  
日本PDA第11回年会 (2003.10)

檜山行雄：日本のGMPの課題  
日本製薬工業協会 GMP事例研究会 (2003.11)

Hiyama, Y.: Pharmaceutical Affair Law Change and Quality Systems/Regulations in Japan  
QUALITY SYSTEMS AND REGULATORY INNOVATION FOR THE 21ST CENTURY, FIP symposium (2003.11)

檜山行雄：医薬品のGMPと品質保証



富山県薬事研究会 (2004.3)

Hiyama, Y.: **Pharmaceutical Affair Law Change and Quality Systems/Regulations in Japan**

Arden House Eighth Annual European Conference (2004.3)

犬飼和良\*, 金澤あずさ\*, 宮寺彰彦\*, 檜山行雄, 森川 馨:  
マイクロバランス法による原薬吸脱湿性把握と含量測定法改良  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*第一製薬

本田昌徳\*, 日高由雄\*, 森田広正\*, 播磨武\*, Broad, N.\*,  
Simon, M.\*, 檜山行雄, 森川馨: 近赤外(NIR)分光法を用い  
る分析法のバリデーション

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*ファイザー

高橋宏次\*, 田原務\*, Hawley, M.\*, Amidon, G.\*, Price, J.\*,  
Ciolkowski, E.\*, Martino, A.\*, Wu, S.J.\*, 檜山行雄, 森川 馨:  
結晶多形の評価とその開発に関する影響および製剤化に適  
した結晶の粒子径についての研究

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*ファイザー

石橋信康\*, 及川栄輝\*, 向井浩二\*, 池和夫\*, 下条芳敬\*, 百永  
真士\*, 川上良一\*, 加加良耕二\*, 檜山行雄, 森川 馨: 原薬  
粒子径制御に及ぼす晶析操作因子の設定と種晶の影響

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*藤沢薬品

石井(渡部)明子, 川崎ナナ, 川西 徹, 早川堯夫, Chang,  
E.\*, Cooke, J. P.\*: ヒト微小血管内皮細胞に対する nicotine の  
効果

第4回 Pharmacology-Hematology シンポジウム (2003.6)

\*スタンフォード大学

Ishii-Watabe, A., Uchida, E., Iwata, A.<sup>\*1</sup>, Nagata, R., Satoh, K.<sup>\*1</sup>,  
Fan, K.<sup>\*2</sup>, Murata, M.<sup>\*2</sup>, Mizuguchi, M., Kawasaki, N., Kawanishi,  
T., Yamaguchi, T., Hayakawa, T.: **Detection of replication-com-  
petent adenoviruses spiked into recombinant adenovirus vec-  
tor products by infectivity-PCR Combined with Glass Beads-  
Based DNA Extraction**

第9回日本遺伝子治療学会 (2003.7)

\*1 埼玉県赤十字血液センター

\*2 JSR-KK 筑波研究所

川崎ナナ, 早川堯夫: LC/MS を用いた糖鎖のプロファイリ  
ングと構造解析

第53回電気泳動学会シンポジウム (2003.7)

川崎ナナ, 伊藤さつき, 蜂須賀暁子, 橋井則貴, 澤田純一,  
川西 徹, 早川堯夫: 2次元電気泳動及びLC/MSを用いた  
グライコーム解析

科学研究費補助金特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と  
分子複合体の機能調節」第一回夏期シンポジウム (2003.8)

川崎ナナ: 糖タンパク質の質量分析

横浜バイオテクノロジー懇談会平成15年度第1回リカレント  
講座「マススペクトロメトリーとプロテオミクス—蛋白質  
研究の最前線」 (2003.8)

Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Jin Yuan, Satsuki Itoh, Akira  
Harazono, Akiko Ishii, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: **Iso-  
tope tag method for quantitative oligosaccharide analyses by  
LC/MS**

第76回日本生化学会大会 (2003.10)

Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Masashi Hyuga,  
Toru Mawanishi, Takao Hayakawa: **Oligosaccharide profiling  
of cell membrane by LC/MS**

第76回日本生化学会大会 (2003.10)

Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima,  
Jun-ichi Sawada, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: **Analysis of  
IgLON family protein in rat brain by gel electrophoresis and  
capillary LC/MS**

第76回日本生化学会大会 (2003.10)

Ishii-Watabe, A., Chang, E.\*, Kawasaki, N., Kawanishi, T.,  
Hayakawa, T., Cooke, J. P.\*: **Transcriptional profiling in nico-  
tine-treated human microvascular endothelial cells**

第76回日本生化学会大会 (2003.10)

\*スタンフォード大学

川崎ナナ: 糖鎖関連医薬品の現状と課題

第3回糖鎖科学名古屋拠点研究会(2004.2)

川崎ナナ: 糖タンパク質性医薬品の質量分析

日本薬学会第124年会 (2004.3)

橋井則貴, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 日向昌司, 川西 徹, 早  
川堯夫: 糖鎖プロファイリングを用いた差異解析に基づく  
グライコーム解析

日本薬学会第124年会 (2004.3)

伊藤さつき, 川崎ナナ, 橋井則貴, 蜂須賀暁子, 手島玲子,  
澤田純一, 川西 徹, 早川堯夫: 2次元電気泳動とLC/MS  
を用いたラット脳内 GPI アンカー型タンパク質の解析

日本薬学会第124年会 (2004.3)

原園 景, 川崎ナナ, 川西 徹, 早川堯夫: LC/MS/MSによ  
る apolipoprotein B100 の部位特異的糖鎖構造解析

日本薬学会第124年会 (2004.3)

石井明子, 内田恵理子, 岩田明子<sup>\*1</sup>, 永田龍二, 佐藤功栄<sup>\*1</sup>,  
范 可君<sup>\*2</sup>, 村田充弘<sup>\*2</sup>, 水口裕之, 川崎ナナ, 川西 徹, 山口  
照英, 早川堯夫: アデノウイルスベクターに混入する増殖性  
アデノウイルスの迅速高感度検出法の開発

日本薬学会124年会 (2004.3)

\*1 埼玉県赤十字血液センター

\*2 JSR-KK 筑波研究所

原園 景, 江馬 眞: ラット妊娠初期に投与した塩化トリブチルスズの着床阻害作用  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003. 7)

日向須美子\*<sup>1</sup>, 熊谷由紀絵\*<sup>1</sup>, 日向昌司, 山形貞子\*<sup>2</sup>, 山形達也\*<sup>2</sup>, 花輪壽彦\*<sup>1</sup>: 癌細胞の運動能に対する漢方薬の効果

第20回和漢医薬学会大会 (2003. 8)

\*<sup>1</sup> 北里研究所東洋医学総合研究所

\*<sup>2</sup> 瀋陽薬科大学薬学部

日向須美子\*<sup>1</sup>, 日向昌司, 山形貞子\*<sup>2</sup>, 山形達也\*<sup>2</sup>, 花輪壽彦\*<sup>1</sup>: 高転移性 FBJ-LL 細胞の運動能に対する漢方薬の作用

第62回日本癌学会総会 (2003. 9)

\*<sup>1</sup> 北里研究所東洋医学総合研究所

\*<sup>2</sup> 瀋陽薬科大学薬学部

後藤洋子\*<sup>1</sup>, 新見伸吾, 早川堯夫, 宮下徳治\*<sup>2</sup>: ラクトース修飾絹フィブロインのラット肝細胞の接着形態

第52回高分子学会年次大会 (2003. 5)

\*<sup>1</sup> 生物資源研

\*<sup>2</sup> 東北大多元研

Niimi, S., Oshizawa, T., Yamaguchi, T., Harashima, M., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., and Hayakawa, T.: Specific expression of annexin III in rat small hepatocytes

第76回 日本生化学会大会 (2003. 10)

\* 日本大学生物資源科学部

Harashima, M., Nagaoka Y., Niimi, S., Seki, T., Ariga, T., Kawanishi, T., and Hayakawa, T.: The mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by lactacystin, a proteasome specific inhibitor

第76回 日本生化学会大会 (2003. 7)

\* 日本大学生物資源科学部

新見伸吾, 押澤 正, 山口照英, 原島 瑞\*, 関泰一郎\*, 有賀豊彦\*, 川西 徹, 早川堯夫: ラット肝細胞におけるアネキシンの特異的な発現

第10回 肝細胞研究会 (2003. 7)

\* 日本大学生物資源科学部

原島 瑞\*, 新見伸吾, 長岡陽子\*, 関泰一郎\*, 有賀豊彦\*, 川西 徹, 早川堯夫: 初代培養ラット肝細胞においてプロテアソーム特異的阻害剤であるラクタシステンはグルココルチコイド依存的なチロシンアミノトランスフェラーゼの誘導を阻害する

第10回 肝細胞研究会 (2003. 7)

\* 日本大学生物資源科学部

河合 洋, 川西 徹: 解析プローブ開発  
公開シンポジウム「ナノとバイオの融合学理構築と産業基盤形成」(2003. 9)

川西 徹, 河合 洋, 鈴木琢雄, 小林 哲, 早川堯夫,

中村 竜, 桜井晴奈\*, 大幡久之\*, 百瀬和享\*: 細胞障害のメカニズムをイメージングするための蛍光プローブの開発と利用

第12回日本バイオイメーキング学会学術集会シンポジウム (2003. 10)

\* 昭和大学薬学部

河合 洋, 鈴木琢雄, 小林 哲, 桜井晴奈\*<sup>1</sup>, 早川堯夫, 川西 徹: ミトコンドリア膜電位及びカスパーゼ活性の同時イメージングによる細胞死の解析

第12回日本バイオイメーキング学会学術集会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 昭和大学薬学部

Toru KAWANISHI: The key Role of Characterization and Analytical Results in Comparability

The Sixth International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003.12)

川西 徹: 細胞障害機構を解析するためのイメージングプローブ

公開シンポジウム「ナノとバイオイメーキングの融合と医用への展開 —安全な医薬・治療法へのアプローチ」(2004. 1)

川西 徹: ICH国際調和ステップ2ガイドライン 背景および内容について

バイオリジクスフォーラム第一回学術集会 (2004. 2)

川西 徹, 河合 洋: はじめに: 細胞障害機構を視る, 測る, 解析する創薬等総合研究推進事業研究成果発表会「細胞機能を視る, 測る, 解析する技術 — 蛍光プローブの創薬への応用—」(2004. 3)

河合 洋, 行方衣由紀\*<sup>1</sup>, 田中 光\*<sup>1</sup>, 中村 竜\*<sup>2</sup>, 桜井晴奈\*<sup>3</sup>, 鈴木琢雄, 小林 哲, 重信弘毅\*<sup>1</sup>, 大幡久之\*<sup>3</sup>, 百瀬和享\*<sup>3</sup>, 早川堯夫, 川西 徹: 上流/下流カスパーゼ活性化及びミトコンドリア膜電位変化の時間関係

第77回日本薬理学会年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 東邦大学薬学部

\*<sup>2</sup> カールツァイス

\*<sup>3</sup> 昭和大学薬学部

桜井晴奈\*<sup>1</sup>, 河合 洋, 土屋亜由美\*<sup>1</sup>, 柴山理恵, 鈴木琢雄, 川西 徹, 早川堯夫, 大幡久之\*<sup>1</sup>, 百瀬和享\*<sup>1</sup>: FIAshを利用した分泌タンパク質蛍光標識の試み

日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 昭和大学薬学部

河合 洋, 行方衣由紀\*<sup>1</sup>, 田中 光\*<sup>1</sup>, 中村 竜\*<sup>2</sup>, 桜井晴奈\*<sup>3</sup>, 鈴木琢雄, 小林 哲, 重信弘毅\*<sup>1</sup>, 大幡久之\*<sup>3</sup>, 百瀬和享\*<sup>3</sup>, 早川堯夫, 川西 徹: 種々の蛍光タンパク質を用いたFRET応用カスパーゼプローブの解析

日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 東邦大学薬学部

\*<sup>2</sup> カールツァイス

\*3 昭和大学薬学部

小林 哲, 河合 洋, 鈴木琢雄, 川西 徹, 早川堯夫:  
MALDI-TOF MSにおけるタンパク質のシグナル増強  
日本薬学会第124年会(2004.3)

鈴木琢雄, 河合 洋, 小林 哲, 桜井晴奈<sup>\*1</sup>, 佐藤陽治,  
最上(西巻)知子, 浅川義範<sup>\*2</sup>, 井上和秀, 川西 徹, 首  
藤紘一<sup>\*3</sup>, 早川堯夫: 蛍光タンパク質を用いた核内受容体  
リガンド候補化合物のスクリーニングおよび候補化合物の  
解析

日本薬学会第124年会(2004.3)

<sup>\*1</sup> 昭和大学

<sup>\*2</sup> 徳島文理大学

<sup>\*3</sup> 乙卯研究所

合田幸広: 一般用漢方処方に関する最近の話題  
第54回日本東洋医学会学術総会(2003.5)

合田幸広: 薬用資源の栽培と資源保護に関する最近の話題  
第20回和漢医薬学会大会(2003.8)

合田幸広: 食薬区分の考え方  
千葉県高機能性食品開発事業化研究会第一回セミナー  
(2003.9)

代田 修, 菊池 裕, 合田幸広: 幻覚性キノコ(いわゆるマ  
ジックマッシュルーム)の高感度検知法の開発(1)ーサ  
イロシンハプテンの合成と免疫, 抗体作製ー  
日本生薬学会第50回年会(2003.9)

田中理恵, 六鹿元雄, 合田幸広, 坂野勇一<sup>\*1</sup>, 渋谷雅明<sup>\*1</sup>, 海  
老塚豊<sup>\*1</sup>, 永津明人<sup>\*2</sup>: 糖脂質のヒト由来ラノステロール合  
成酵素阻害活性について

日本生薬学会第50回年会(2003.9)

<sup>\*1</sup> 東京大学大学院薬学系研究科

<sup>\*2</sup> 名古屋市立大学薬学部

永津明人<sup>\*1</sup>, 水上元<sup>\*1</sup>, 伊藤静恵<sup>\*2</sup>, 荻原幸夫<sup>\*2</sup>, 田中理恵, 合  
田幸広, 渋谷雅明<sup>\*3</sup>, 海老塚豊<sup>\*3</sup>: セイヨウノコギリソウ花蕾  
に含有されるフラボノイドの検索

日本生薬学会第50回年会(2003.9)

<sup>\*1</sup> 名古屋市立大学薬学部

<sup>\*2</sup> 名城大学薬学部

<sup>\*3</sup> 東京大学大学院薬学系研究科

酒井英二<sup>\*1</sup>, 田中俊弘<sup>\*1</sup>, 佐竹元吉<sup>\*2</sup>, 合田幸広, 関田節子:  
FHH各国薬局方にみる生薬の形態記載  
日本生薬学会第50回年会(2003.9)

<sup>\*1</sup> 岐阜薬科大学

<sup>\*2</sup> お茶の水女子大学生生活環境研究センター

合田幸広: 生薬に関する最近の話題  
大阪生薬協会研修会(2003.9)

合田幸広: 生薬に関する最近の話題

奈良県製薬薬剤師会研修会(2003.9)

合田幸広: 食薬区分と和漢薬及び日本薬局方の方向性  
平成15年度富山医科薬科大学和漢薬研究所特別セミナー  
(2003.10)

合田幸広: 健康食品に関わる健康障害事例と原因物質の同  
定  
第39回日本環境化学会(2003.10)

合田幸広: 生薬・漢方製剤に関する最近の話題  
第15回生薬漢方製剤の微生物および異物汚染対策ならびに  
品質管理に関するシンポジウム(2003.12)

Yukihiro GODA: Borderline of herbal medicine (pharmaceu-  
ticals) to foods (not pharmaceuticals) in Japan  
the 2nd. Meeting of International Advisory Board on Hong Kong  
Chinese Materia Medica Standards(2004.2)

斉藤君枝<sup>\*</sup>, 福島健<sup>\*</sup>, 加藤 大<sup>\*</sup>, 豊岡利正<sup>\*</sup>, 代田修, 合田幸  
広: HPLC-FL および HPLC-MS による蛍光標識化 psilocy-  
bin, psilocin の測定

日本薬学会第124年会(2004.3)

<sup>\*</sup> 静岡県立大学薬学部

下村裕子, 合田幸広, 徳本廣子, 関田節子, 佐竹元吉<sup>\*1</sup>, 徳  
川斉正<sup>\*2</sup>, 徳川真木<sup>\*2</sup>: 徳川家康の薬「烏犀圓」VIII  
日本薬学会第124年会(2004.3)

<sup>\*1</sup> お茶女大生活環境研究センター

<sup>\*2</sup> 水府明德会彰考館徳川博物館

合田幸広: 生薬分野の国際調和(FHH)  
日本薬学会第124年会(2004.3)

田中理恵, 清水 賢, 渋谷雅明, 海老塚豊, 合田幸広: ロー  
レル(Laurus nobilis)のヒト由来ラノステロール合成酵素  
阻害活性について

日本薬学会第124年会(2004.3)

川原信夫, 井上真由美, 細江智夫<sup>\*1</sup>, 河合賢一<sup>\*1</sup>, 関田節子,  
佐竹元吉<sup>\*2</sup>, 合田幸広: オータムセージの成分研究(2).  
日本生薬学会第50回年会,(2003.9)

<sup>\*1</sup> 星薬科大学

<sup>\*2</sup> お茶の水女子大

尾崎晴子<sup>\*1</sup>, 求野麻里子<sup>\*1</sup>, 袴塚高志<sup>\*1</sup>, 川原信夫, 関田節子,  
佐竹元吉<sup>\*2</sup>: Cucurbitacin, B 処理により発現変動する骨代謝  
遺伝子の探索.

日本生薬学会第50回年会,(2003.9)

<sup>\*1</sup> 東京理科大学薬学部

<sup>\*2</sup> お茶の水女子大

黒柳正典<sup>\*1</sup>, 池田周正<sup>\*1</sup>, 黒飛知香<sup>\*1</sup>, 川原信夫, 中根孝久, 佐  
野俊和<sup>\*2</sup>: シロモジの抗発ガンプロモーター物質.  
日本生薬学会第50回年会,(2003.9)

<sup>\*1</sup> 広島県立大学生物資源学部

## \*2 広島県林業技術センター

酒井信夫, 川原信夫, 合田幸広, 川口基一郎\*: セイヨウサンザシ (*Crataegus oxyacantha* L.) 葉の成分研究.  
第86回日本食品衛生学会, (2003.10)

\*北里大学薬学部

酒井信夫, 川原信夫, 合田幸広, 佐藤恭子, 棚元憲一: 既存添加物「アルカネット色素」の成分に関する研究.  
第86回日本食品衛生学会, (2003.10)

川原信夫, 酒井英二\*1, 佐竹元吉\*2, 合田幸広: FHH 各国局方における生薬の試験法と規格値.

日本薬学会第124年会, (2004.3)

\*1 岐阜薬科大学

\*2 お茶の水女子大

大槻 崇\*1, 小谷野喬\*2, Kowithayakorn T.\*3, 酒井信夫, 川原信夫, 合田幸広, 山口直人\*1, 石橋正己\*1: Agave fourcroydes の細胞毒性成分. 日本薬学会第124年会, (2004.3)

\*1 千葉大学薬学部

\*2 テムコ

\*3 コンケン大農

叶 英樹\*, 八百屋さやか\*, 黒柳正典\*, 川原信夫, 中根孝久: アサガオ毛状根によるフェノール性化合物の配糖化 - その3-. 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\* 広島県立大学生物資源学部

池田竜也\*, 黒柳正典\*, 大滝恵介\*, 武藤徳夫\*, 川原信夫, 中根孝久: ヒノキの神経突起誘導活性物質. 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\* 広島県立大学生物資源学部

花尻(木倉)瑠理, 最所 和宏, 合田 幸広: 平成14年度無承認無許可医薬品の買い上げ調査について—いわゆる脱法ドラッグを中心に—

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

Kikura-Hanajiri, R.: Profiling technique and ATS precursors  
International Forum on Control of Precursors for ATS (2004.2)

花尻(木倉)瑠理, 最所和宏, 宮坂一善\*, 牧野由紀子\*, 合田幸広: 新規麻薬指定3薬物 (BZP, FMPP 及びアミネブチン) の分析法について

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\* 関東信越麻薬取締部

最所和宏, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: 健康食品中の勃起不全治療薬 (シルデナフィル, バルデナフィル及びタダラフィル) の LC/MS による分析法について

日本薬学会第124年会 (2004.3)

下村 裕子: 徳川家康の薬, 烏犀圓

平成15年度 第5回「一般用医薬品・植物製剤の現状と将来」研究会 (2004.1)

江崎勝司, 佐竹元吉, 合田幸広: 宮内庁より移管を受けた生薬標本について (2) 日本薬局方第一局との整合性について

日本生薬学会第50年会 (2003.9)

鎌倉浩之, 代田 修, 川原信夫, 合田幸広: 平成14年度無承認無許可医薬品の買い上げ調査について—健康食品について—

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

丸山卓郎, 川原信夫, 合田幸広, 横山和正\*1, 牧野由紀子\*2: TaqMan PCR 法を用いた幻覚性キノコの鑑定 (2)

食品衛生学会第86回学術講演会 (2003.10)

\*1 滋賀大学教育学部

\*2 関東信越厚生局麻薬取締部

山口照英: ウイルス検出に関する NAT ガイドライン  
第3回日本医薬品等ウイルス安全性研究会シンポジウム (2003.12)

Yamaguchi, T.: Update of gene therapy in Japan.

The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003.11)

Yamaguchi, T.: Adenovirus Reference Material - Detection of RCA and AdV by Infectivity PCR.

The 6th International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2003.11)

内田恵理子: 遺伝子治療薬に混入する可能性のある増殖性ウイルスの迅速・高感度検出法の開発

第3回日本医薬品等ウイルス安全性研究会シンポジウム (2003.12)

Shimazawa, R., Nagata, R., Okuda, H. and Toyoshima, S.: Issues related to quality evaluation of new drug substances and drug products

2003 Fifth AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (2003.10)

宮澤 宏, 山口照英: P19 細胞神経分化誘導時のタンパク質プロファイルの解析

第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

Minamisawa, S.\*1, Sato, Y., Uemura, N.\*2, Yokoyama, U.\*1, Mochizuki, S.\*2, Ishikawa, Y.\*1: Retinoid and thyroid pathways play an important role in the transcriptional regulation of sarcolipin

第68回日本循環器学会総会 (2004.3)

\*1 横浜市立大学大学院・医学研究科

\*2 東京慈恵会医科大学

Sato, Y., Mori, S., Nakamura R., Ishida, S., Sawada, J., Miyazawa,

H., Yamaguchi, T., Inoue, K., Ohno, Y. **Microarray analysis of coronary artery smooth muscle cells stimulated by PPAR alpha and gamma ligands**

第77回日本薬理学会年会(2004.3)

T. Suzuki, P. Rajaguru, J. Kanno, H. Sakamoto, M. Hayashi, T. Yamaguchi, and M. Honma: **GeneChip analysis on transcriptional changes induced in human lymphoblastoid (TK6) cells by six genotoxic chemicals.**

33rd Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society (2003.8)

鈴木孝昌, 小原有弘, 山田勉也\*, 佐伯憲一\*, 本間正充, 山口照英, 林 真: **ニトロソアミン類がマウスに誘発する突然変異の多様性**

第62回日本癌学会総会(2003.9)

\*名古屋市立大学大学院薬学研究科

山田勉也\*, 鈴木孝昌, 羽倉昌志\*, 佐伯憲一\*: **10位窒素置換ベンズピレンのヒト肝 microsome を用いた Ames 試験での変異原性評価**

第62回日本癌学会総会(2003.9)

\*1 名古屋市立大学大学院薬学研究科

\*2 エーザイ(株)

鈴木孝昌: **環境化学物質のリスク評価のためには現行遺伝毒性試験に何が欠けているか**

日本環境変異原学会微生物変異原性試験研究会第31回定例会(2003.11)

JEMS/MMSマイクロアレイ共同研究グループ(世話人代表: 鈴木孝昌): **DNAマイクロアレイの変異原性試験への応用に関する共同研究**

日本環境変異原学会第32回大会(2003.11)

パラニサミー・ラジャグル, 鈴木孝昌, 坂本浩子, 菅野 純, 林 真, 本間正充: **ヒトリンパ腫由来 TK6 細胞における遺伝子傷害性物質による遺伝子発現変化の解析**

日本環境変異原学会第32回大会(2003.11)

Suzuki, T.: **Toxicogenomics in the genetic toxicology.**

Annual Meeting of the Chinese Environmental Mutagen Society (2003.11)

戸部香織\*1, 仲地豊\*3, 近藤恭光\*3, 中嶋園\*4, 浜田修一\*5, 鈴木孝昌, 兵庫淳志\*6, 田代 英夫\*3, 榊 佳之\*2, 降旗 千恵\*1,\*2: **マウス肝発癌初期過程における遺伝子発現解析に用いる Oligonucleotide Microarray の開発**

日本分子生物学会(2003.12)

\*1 青山学院大・院・理工

\*2 東大・医科研・ヒトゲノム解析セ

\*3 理研・工学基盤

\*4 安評センター

\*5 エスエス製薬(株)

\*6 三共(株)

山田勉也\*1, 羽倉昌志\*2, 鈴木孝昌, 加藤隆明\*1, 竹本育世\*1, 水谷隆治\*1, 佐伯憲一\*1: **一連の含窒素芳香族化合物の代謝活性化に関わるヒト CYP 分子種**

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 名古屋市立大学大学院薬学研究科

\*2 エーザイ(株)

小原有弘\*1, 鈴木孝昌, 鈴木孝禎\*2, 宮田直樹\*2, 二宮真一\*1, 須藤哲司\*1: **GeneChip を用いた薬剤曝露時の遺伝子発現解析 (Toxicogenomics への応用を目指して)**

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 第一化学薬品(株)

\*2 名古屋市立大学大学院薬学研究科

小原有弘\*1, 鈴木孝昌, 小貫慶昭\*2, 佐藤陽美\*2, 板井昭子\*2, 鈴木孝禎\*3, 宮田直樹\*3, 二宮真一\*1, 須藤哲司\*1: **チアゾリジン誘導体曝露ヒトプライマリー肝細胞のGeneChip遺伝子発現解析 (KeyMolnet を用いた分子ネットワーク解析への展開)**

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 第一化学薬品(株)

\*2 (株)医薬分子設計研究所

\*3 名古屋市立大学大学院薬学研究科

鈴木孝昌: **トキシコゲノミクス研究から見た大集積アレイの有用性と臨床診断用の次世代カスタムアレイに求められるもの**

文部科学省科学技術振興調整費ゲノムフロンティア開拓研究シンポジウム一次世代のマイクロアレイーカスタムアレイの展開(2004.3)

鴻野貴司\*1, 鈴木孝昌, 田代朋子\*1, 榊佳之\*2, 降旗千恵\*1: **大集積DNAマイクロアレイを用いた老化促進モデルマウス (Senescence Accelerated Mouse: SAM) の原因遺伝子の研究**

文部科学省科学技術振興調整費ゲノムフロンティア開拓研究シンポジウム一次世代のマイクロアレイーカスタムアレイの展開(2004.3)

\*1 青山学院大学・理工学部

\*2 東京大学・医科研

Kanayasu-Toyoda, T., Oshizawa, T., Suzuki, T., Uchida, E., Hayakawa, T. and Yamaguchi, T.: **Role of PKC  $\iota$  on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils.**

The 6th World Congress on Inflammation. (2003. 8.)

Kanayasu-Toyoda, T., Oshizawa, T., Suzuki, T., Uchida, E., Hayakawa, T. and Yamaguchi, T.: **Role of PKC  $\iota$  on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils.**

第76回日本生化学大会. (2003. 10)

有川稔多加\*, 豊田淑江, 山口照英, 小村健\*, 早川堯夫, 森田育男\*: **血管内皮細胞化に伴う各種コネクシンの発現変化**

第24回日本炎症・再生医学会. (2003.11)

\*: 東京医科歯科大学・歯学部

齧島由二, 樋口多恵<sup>\*1</sup>, 井之上浩一<sup>\*1</sup>, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江, 中橋敬輔<sup>\*2</sup>, 中澤裕之<sup>\*1</sup>: PVC 製医療用具からの可塑剤溶出量を予測する簡易評価系の開発  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

<sup>\*1</sup> 星薬大

<sup>\*2</sup> テルモ

齧島由二, 長谷川千恵, 矢上 健, 土屋利江: キチン類に混在するエンドトキシンの回収と不活化  
第25回日本バイオマテリアル学会大会 (2003.12)

矢上 健, 齧島由二, 土屋利江, 富高晶子\*, 加野尚生\*, 松永佳世子\*: プロテオミクス的手法を用いたラテックスアレルギーの解析

第8回日本ラテックスアレルギー研究会 (2003.7)

\*藤田保健衛生大学医学部

富高晶子\*, 秋田浩孝\*, 鈴木加余子\*, 加野尚生\*, 加藤弥寿子\*, 赤松浩彦\*, 松永佳世子\*, 矢上 健: ラテックスアレルギーの対策 - 8年間の活動報告 -

第8回日本ラテックスアレルギー研究会 (2003.7)

\*藤田保健衛生大学医学部

Matsunaga, K.\*, Tomitaka, A.\*, Kano, H.\*, Yagami, T.: **Diagnosis and management of latex-fruit syndrome**

The 14th International Symposium on Contact Dermatitis (2003.9)

\*Fujita Health University School of Medicine

Tomitaka, A.\*, Akita, H.\*, Suzuki, K.\*, Kano, H.\*, Kato, Y.\*, Akamatsu, H.\*, Matsunaga, K.\*, Yagami, T.: **Follow up study of latex allergy for 8 years**

The 14th International Symposium on Contact Dermatitis (2003.9)

\*Fujita Health University School of Medicine

Sugiura, M.<sup>\*1</sup>, Hayakawa, R.<sup>\*1</sup>, Sugiura, K.<sup>\*2</sup>, Kato, Y.<sup>\*1</sup>, Shamoto, M.<sup>\*2</sup>, Shinzato, M.<sup>\*2</sup>, Osada, A.<sup>\*2</sup>, Yagami, T.: **Hevein is an allergen of delayed-type latex allergy**

The 14th International Symposium on Contact Dermatitis (2003.9)

<sup>\*1</sup> Nagoya University School of Medicine

<sup>\*2</sup> Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

矢上 健, 齧島由二, 土屋利江, 富高晶子\*, 加野尚生\*, 松永佳世子\*: ラテックスアレルギーとしての isoflavone reductase

第53回日本アレルギー学会総会 (2003.10)

\*藤田保健衛生大学医学部

富高晶子\*, 秋田浩孝\*, 鈴木加余子\*, 加野尚生\*, 加藤弥寿子\*, 赤松浩彦\*, 松永佳世子\*, 矢上 健: ラテックスアレルギーへの治療・対策と臨床経過

第53回日本アレルギー学会総会 (2003.10)

\*藤田保健衛生大学医学部

矢上晶子\*, 鈴木加余子\*, 加野尚生\*, 赤松浩彦\*, 松永佳世子\*, 矢上 健: ラテックスアレルギーへの防御, 啓発活動の成果  
第28回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2003.12)

\*藤田保健衛生大学医学部

Yagami, T., Haishima, Y., Tsuchiya, T., Tomitaka-Yagami, A.\*, Kano, H.\*, Matsunaga, K.\*: **A new latex allergen classified into the plant defense-related reductase family**

60th Annual Meeting of The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (2004.3)

\*Fujita Health University School of Medicine

矢上晶子\*, 加野尚生\*, 松永佳世子\*, 矢上 健: ヘベインのアレルゲン性は立体エピトープ由来かそれともリニアエピトープ由来か?

日本研究皮膚科学会第29回年次学術大会・総会 (2004.4)

\*藤田保健衛生大学医学部

矢上晶子\*, 加野尚生\*, 矢上 健, 齧島由二, 土屋利江, 松永佳世子\*: 異なった症状を呈するラテックスアレルギー患者に対するアレルゲン蛋白の差異

第103回日本皮膚科学会総会 (2004.4)

\*藤田保健衛生大学医学部

鹿庭正昭, 五十嵐良明: 市販製品における製品表示及び化学物質等安全データシート(MSDS)の実態調査—家庭用ゴム製品—

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

鹿庭正昭, 五十嵐良明: 市販製品における製品表示及び化学物質等安全データシート(MSDS)の実態調査—木材防腐剤クレオソート及びクレオソート処理品—

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

鹿庭正昭, 五十嵐良明: 健康被害の発生実態と製品情報の理解度に関する消費者アンケート調査—家庭用ゴム製品—

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

鹿庭正昭, 五十嵐良明: 健康被害の発生実態と製品情報の理解度に関する消費者アンケート調査—木材防腐剤クレオソート及びクレオソート処理品—

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

鹿庭正昭: ポリクロロブレン製品によるアレルギー性接触皮膚炎: チオウレア系加硫促進剤の役割

第28回日本接触皮膚炎学会学術大会・総会 (2003.12)

鹿庭正昭: 教育講演 家庭用品による皮膚障害の原因製品と原因化学物質—皮膚障害の発生実態と原因究明の実際—  
第67回日本皮膚科学会東京支部学術大会 (2004.2)

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 土屋利江: クレオソート油及びクレオソート油処理木材中の多環芳香族炭化水素の分析

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 土屋利江: ホルムアルデヒド公定法

の改定に向けた検討について(2): 吸光度法のクロスチェックと HPLC 法

第 40 回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 土屋利江: 医用材料の即時型アレルギー性の検出: マウス IgE test と popliteal lymph node assay

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

松岡厚子, 靛島由二, 長谷川千恵, 土屋利江: 医用材料関連物質による核内倍加の誘発

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

中村 哲\*, 高野智好\*, 松岡厚子, 加藤幸彦\*: In vitro 小核試験における数的異常誘発物質処理による異常細胞出現パターンの相違 - II

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

\* キヤノン株式会社

松岡厚子, 伊佐間和郎, 土屋利江: 医療機器の生物学的安全性試験の標準化に関する研究: モデル材料を用いた細胞毒性試験および染色体異常試験の検討

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

澤田留美, 土屋利江, 伊藤友実, 松田良枝, 松岡厚子: ヒト幹細胞を用いた細胞組織医療機器の安全性評価に関する研究(1)

第 3 回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

川手尚江<sup>\*1</sup>, 佐川利恵<sup>\*1</sup>, 牛山育子<sup>\*1</sup>, 澤田留美, 脊山洋右<sup>\*1</sup>, 河島洋<sup>\*2</sup>, 小野佳子<sup>\*2</sup>, 堀川千賀<sup>\*2</sup>, 木曾良信<sup>\*2</sup>, 藤原葉子<sup>\*1</sup>: 生体内脂質代謝に及ぼすジホモ- $\gamma$ -リノレン酸(DGLA, 20:3 n-6)の影響

日本農芸化学会 2004 年度大会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> お茶の水女子大学

<sup>\*2</sup> サントリー

佐川利恵<sup>\*1</sup>, 伊藤友実<sup>\*1</sup>, 澤田留美, 脊山洋右<sup>\*1</sup>, 河島洋<sup>\*2</sup>, 小野佳子<sup>\*2</sup>, 堀川千賀<sup>\*2</sup>, 木曾良信<sup>\*2</sup>, 藤原葉子<sup>\*1</sup>: 食餌性ジホモ- $\gamma$ -リノレン酸が生体内脂質代謝に及ぼす影響について(第 2 報)

第 58 回日本栄養・食糧学会大会 (2004. 5)

<sup>\*1</sup> お茶の水女子大学

<sup>\*2</sup> サントリー

堀川千賀<sup>\*1</sup>, 立石政友<sup>\*1</sup>, 出雲貴幸<sup>\*1</sup>, 小野佳子<sup>\*1</sup>, 河島洋<sup>\*1</sup>, 澤田留美, 藤原葉子<sup>\*2</sup>, 木曾良信<sup>\*1</sup>: モルモットにおける食餌性ジホモ- $\gamma$ -リノレン酸の生体内脂質代謝について(第 3 報)

第 58 回日本栄養・食糧学会大会 (2004. 5)

<sup>\*1</sup> サントリー

<sup>\*2</sup> お茶の水女子大学

佐藤道夫, 土屋利江: 整形外科インプラントの不具合報告について

第 40 回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

佐藤道夫: シンポジウム「標準化とバイオマテリアル」インプラント・データシステムの活動

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

佐藤道夫, 土屋利江: パネルディスカッション「整形外科インプラント不具合発生の現状とその対策」インプラントの安全性のための評価の現状と展望

第 77 回日本整形外科学会学術総会 (2004. 5)

伊佐間和郎, 靛島由二, 土屋利江: ガンマ線照射コラーゲンの骨芽細胞に及ぼす影響

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

伊佐間和郎, 靛島由二, 長谷川千恵, 佐々木和夫\*, 土屋利江: ガンマ線照射コラーゲンスポンジの骨芽細胞に及ぼす影響評価

第 3 回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

\* 日本ハム(株)中央研究所

新谷英晴: 培地の違いに拠る浮遊菌の生育性能の相違と浮遊菌除去

日本防菌防黴学会環境殺菌事例研究会 (2003. 12)

新谷英晴: ビスフェノール A を用いない耐放射線性ポリサルフォン

日本防菌防黴学会第 31 回大会 (2004. 5)

Ahmed, S., Tsuchiya, T.: The different effects of PLLA plates on the surrounded tissues between two strains of mice

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

Banu, N., Tsuchiya, T., Tsutsumi, S.: Different action on the chondrogenesis of human articular chondrocytes with two types of hyaluronic acid

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

\* 京都大学再生医科学研究所

柳楽 勤, 長幡 操, 土屋利江, 阿部康次\*: 陰イオン修飾ヒアルロン酸による正常ヒト表皮角化細胞の分化促進及び細胞間連絡機構亢進効果

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

\* 信州大学

長幡 操, 土屋利江, 伊佐間和郎, 阿部康次\*: 陰イオン修飾ヒアルロン酸による正常ヒト骨芽細胞の分化促進効果

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

\* 信州大学

土屋利江, 伊佐間和郎, 松岡哲也<sup>\*1</sup>, 大庭耕輔<sup>\*2</sup>, 林 達也<sup>\*3</sup>, 中田和彦<sup>\*3</sup>: 医療用具の生物学的試験の標準化に関する研究: 医療材料の感作性試験(その 3)

第 25 回日本バイオマテリアル学会大会 (2003. 12)

<sup>\*1</sup> ボゾリサーチセンター

<sup>\*2</sup> 安評センター

<sup>\*3</sup> メニコン(株)

土屋利江：医療機器，細胞組織医療機器の製品化のための規制環境の整備について  
東京大学医科学研究所 講演 (2004. 4)

土屋利江：医療機器及び細胞組織医療製品の安全性・有効性の基本的な考え方  
2nd BMC-NIMS シンポジウム (2004. 3)

山越葉子\*，土屋利江：生物活性を指向した機能性 C<sub>60</sub> 誘導体の合成  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)  
\*カルフォルニア大学サンタバーバラ校

土屋利江：再生医療実用化への課題  
第3回再生医療学会総会公開シンポジウム「再生医療フォーラム」(2004.3)

Banu, N., Tsuchiya, T.: Effect of the catalyst used in the biodegradable polymers on chondrogenesis of human articular cartilage  
第3回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

柳楽 勤，土屋利江，阿部康次\*，長幡操：陰イオン修飾ヒアルロン酸による正常ヒト表皮角化細胞及びヒト間葉系幹細胞の分化促進効果  
第3回日本再生医療学会総会 (2004. 3)  
\*信州大学

Ahmed, S., Tsuchiya, T.: Studies on the different tumorigenic activities of PLLA between two strains of mice  
第3回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

Yang, J., Tsuchiya, T.: Enhancement of E-cadherin expression and liver functions of HepG2 in alginate gel  
第3回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

土屋利江：パネルディスカッション 医療機器，細胞組織医療機器の製品化のための規制環境の整備について  
第3回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

土屋利江：細胞間結合機能の評価  
第3回日本再生医療学会 NEDO サテライトシンポジウム (2004. 3)

土屋利江：再生医療のための細胞の評価と標準化  
第4回分子・細胞医療における ME 研究会 (2004. 2)

Tsuchiya, T.: Standards and guidelines for the sound development of the medical devices and tissue engineered products  
High-level workshop on international standards for medical technologies, WHO (2004.2)

土屋利江：医療機器，細胞組織医療機器の製品化のための規制環境の整備について  
日中シンポジウム (2004. 2)

鈴木寿子\*，土屋利江，吉原なみ子\*：コラーゲンスポンジを用いたバイオヒト皮膚モデルにおける HIV-1 検出法の検討  
第17回日本エイズ学会 (2003. 11)  
\*国立感染症研究所エイズ研究センター

Tsutsumi, S., Tsuchiya, T.: Recent Japanese regulations for tissue engineered medical products and trials for evaluation of their mechanical properties  
2nd Japanese-Swiss Workshop on Biomaterials (2003.11)  
\*京都大学再生医科学研究所

土屋利江：医療機器に関連した薬事法改正と有効性・安全性・品質確保の考え方について  
第133回日本金属学会2003年秋季大会 (2003. 10)

土屋利江：生物学的指標“ギャップジャンクション”および組織工学製品と組織工学材料の国際標準化  
医療機器フォーラム設立記念シンポジウム (2003. 10)

土屋利江：医療機器・材料の安全性  
日本バイオマテリアル学会産業委員会主催シンポジウム (2003. 9)

土屋利江：組織工学材料と細胞組織医療機器の標準化：国際的な動向とわが国の現在・近未来について  
第3回日本バイオマテリアル学会シンポジウム (2003. 9)

今安正樹\*<sup>1</sup>，島田昌一\*<sup>2</sup>，土屋利江：ラット眼を用いたコンタクトレンズの安全性評価  
第23回比較眼科学会年次大会発表 (2003. 7)  
\*<sup>1</sup> (株)メニコン  
\*<sup>2</sup> 名古屋市立大学

バヌー・ナスリン，土屋利江：起源の異なるヒアルロン酸のヒト軟骨細胞の増殖と分化に及ぼす相反する効果  
第6回日本組織工学会大会 (2003. 6)

柳楽 勤，スーザン マチュー，山越葉子，土屋利江：正常ヒト皮膚繊維芽細胞のギャップ結合細胞間連絡機能に及ぼす温度応答性ポリ-N-イソプロピルアクリルアミドの促進効果  
第6回日本組織工学会大会 (2003. 6)

柳楽 勤，土屋利江，阿部康次\*，長幡操：陰イオン修飾ヒアルロン酸による正常ヒト表皮角化細胞の分化促進効果  
第6回日本組織工学会大会 (2003. 6)  
\*信州大学

土屋利江：医療用具の安全性  
東京女子医科大学 (2003. 6)

Tsuchiya, T., Banu, N., Tsutsumi, S.: Different action on the chondrogenesis of human articular chondrocytes with hyaluronic acid and collagen matrix  
7th World Biomaterial Congress (2004.5)  
\*京都大学再生医科学研究所



Tsuchiya, T.: **Recent Activities of Standards of Medical Devices and Tissue Engineered Products in Japan**  
International Conference on Biomaterials and Tissue Engineering 2004 (2004.5)

Tsuchiya, T.: **Overview on Biological and Clinical Evaluation**  
International Conference on Biomaterials and Tissue Engineering 2004 (2004.5)

綾野絵理, 金澤秀子\*, 西村哲治, 安藤正典: ウレア系農薬 8 種の水試料からの分離定量法の検討  
第12回環境化学討論会 (2003.6)  
\* 共立薬科大学

内山茂久, 安藤正典, 青柳象平\*: アルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体の異性化反応と高速液体クロマトグラフィー分析  
日本分析化学会第52年会 (2003.9)  
\* 千葉大学工学部

浅井佳祐\*, 内山茂久, 青柳象平\*, 安藤正典: 室内空气中揮発性有機化合物の分析方法 —3層吸着管(ORBO-91T)捕集/溶媒抽出法の検討—  
日本分析化学会第52年会 (2003.9)  
\* 千葉大学工学部

長宗寧<sup>\*1</sup>, 牧原大<sup>\*2</sup>, 皆川直人<sup>\*1</sup>, 高玲華, 内山茂久, 安藤正典: 室内空气中揮発性有機化合物の分析方法 —固体吸着法における加熱脱着と溶媒抽出の比較—  
日本分析化学会第52年会 (2003.9)  
<sup>\*1</sup> グリーンブルー株式会社  
<sup>\*2</sup> オーエスラボ株式会社

高玲華, 内山茂久\*, 安藤正典: 経気道暴露化学物質における大気および室内からの非発ガン性物質の寄与率とリスク評価に関する研究  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
\* 千葉大学工学部

高玲華, 内山茂久, 安藤正典: 大気中発ガン性化学物質の暴露によるリスク評価に関する研究  
大気環境学会第44年会 (2003.9)

高玲華, 内山茂久, 安藤正典: アルデヒド類の経気道暴露によるリスク及び健康影響評価に関する研究  
大気環境学会第44年会 (2003.9)

奥平純子\*, 内山茂久, 青柳象平\*, 安藤正典: 室内空間における二酸化窒素の特性  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
\* 千葉大学工学部

松島江里香, 内山茂久, 大野彰子, 埴岡伸光, 安藤正典: 室内空間におけるアルデヒド類・ケトン類の特性  
大気環境学会第44年会 (2003.9)

三浦香寿子\*, 内山茂久, 松島江里香, 工藤一郎\*, 安藤正典: 室内の閉鎖空間におけるアルデヒド類・ケトン類の特性  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
\* 昭和大学薬学部

北尾奈穂子\*, 田中恒雄\*, 青柳象平\*, 内山茂久, 安藤正典: ピーナッツ殻によるホルムアルデヒド吸収能  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
\* 千葉大学工学部

牧原大<sup>\*1</sup>, 長宗寧<sup>\*2</sup>, 皆川直人<sup>\*2</sup>, 高玲華, 内山茂久, 安藤正典: 室内空气中揮発性有機化合物(VOC)の測定方法の開発に関する研究  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
<sup>\*1</sup> オーエスラボ株式会社  
<sup>\*2</sup> グリーンブルー株式会社

牧原大<sup>\*1</sup>, 長宗寧<sup>\*2</sup>, 皆川直人<sup>\*2</sup>, 高玲華, 内山茂久, 安藤正典: 室内空气中化学物質の測定方法としての加熱脱離法と溶媒抽出法の比較  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
<sup>\*1</sup> オーエスラボ株式会社  
<sup>\*2</sup> グリーンブルー株式会社

長宗寧<sup>\*1</sup>, 皆川直人<sup>\*1</sup>, 牧原大<sup>\*2</sup>, 安藤正典: 室内外の揮発性有機化合物(VOCs)の実態調査(2)  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
<sup>\*1</sup> グリーンブルー株式会社  
<sup>\*2</sup> オーエスラボ株式会社

長宗寧<sup>\*1</sup>, 皆川直人<sup>\*1</sup>, 牧原大<sup>\*2</sup>, 安藤正典: 総揮発性有機化合物(TVOC)の実態調査(2)  
大気環境学会第44年会 (2003.9)  
<sup>\*1</sup> グリーンブルー株式会社  
<sup>\*2</sup> オーエスラボ株式会社

綾野絵理, 岡田裕司<sup>\*1</sup>, 坂本千賀子<sup>\*1</sup>, 金澤秀子<sup>\*1</sup>, 菊池明彦<sup>\*2</sup>, 岡野光夫<sup>\*2</sup>, 西村哲治, 安藤正典: 温度応答性クロマトグラフィーによるスルフォニルウレア系農薬の分析  
日本分析化学会第52年会 (2003.9)  
<sup>\*1</sup> 共立薬科大学  
<sup>\*2</sup> 東京女子医科大学

西村哲治, 安藤正典, 西川淳一<sup>\*1</sup>, 西原力<sup>\*1</sup>, 橋本安弘<sup>\*2</sup>: 核内受容体リガンドアッセイによる内分泌攪乱化学物質の評価  
第6回日本環境学会シンポジウム(2003.9)  
<sup>\*1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科  
<sup>\*2</sup> マイクロシステムズ

安藤正典, 高玲華: 室内空气中化学物質の経気道暴露によるリスクアセスメントに関する研究  
日本公衆衛生学会第62年会 (2003.10)

高玲華, 長宗寧<sup>\*1</sup>, 牧原大<sup>\*2</sup>, 皆川直人<sup>\*1</sup>, 安藤正典: 室内空气中総揮発性有機化合物(TVOC)の測定方法とその実態に

## 関する研究

日本公衆衛生学会第62年会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> グリーンブルー株式会社

\*<sup>2</sup> オーエスラボ株式会社

松島江里香, 高玲華, 安藤正典: 全国の室内・外空气中化学物質の存在状況に関する研究

日本公衆衛生学会第62年会 (2003. 10)

長宗寧<sup>\*1</sup>, 牧原大<sup>\*2</sup>, 皆川直人<sup>\*1</sup>, 高玲華, 安藤正典: 室内空气中揮発性有機化合物の加熱脱離及び溶媒抽出法による測定方法に関する研究

日本公衆衛生学会第62年会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> グリーンブルー株式会社

\*<sup>2</sup> オーエスラボ株式会社

牧原大<sup>\*1</sup>, 長宗寧<sup>\*2</sup>, 皆川直人<sup>\*2</sup>, 高玲華, 安藤正典: 室内空气中のVOCおよびTVOCの測定対象物質に関する研究

日本公衆衛生学会第62年会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> オーエスラボ株式会社

\*<sup>2</sup> グリーンブルー株式会社

香川(田中)聡子, 神野透人, 石田誠一, 埴岡伸光<sup>\*</sup>, 斎藤嘉朗, 小澤正吾, 西村哲治, 成松鎮雄<sup>\*</sup>, 澤田純一, 安藤正典: ヒト肝臓における薬物代謝酵素関連遺伝子発現量の個体差に関する研究

フォーラム2003 (2003. 10)

\* 岡山大学薬学部

綾野絵理, 岡田裕司<sup>\*1</sup>, 坂本千賀子<sup>\*1</sup>, 金澤秀子<sup>\*1</sup>, 菊池明彦<sup>\*2</sup>, 岡野光夫<sup>\*2</sup>, 西村哲治, 安藤正典: 温度応答性クロマトグラフィを用いた環境水試料からの農薬の分離定量法の検討

フォーラム2003 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 共立薬科大学

\*<sup>2</sup> 東京女子医科大学

神野透人, 佐伯真弓, 斎藤嘉朗, 香川(田中)聡子, 埴岡伸光, 佐井君江, 鹿庭なほ子, 安藤正典, 白尾国昭<sup>\*</sup>, 南博信<sup>\*</sup>, 大津敦<sup>\*</sup>, 吉田輝彦<sup>\*</sup>, 西條長宏<sup>\*</sup>, 小澤正吾, 澤田純一: イリノテカン投与患者で見出されたUDP-グルクロン酸転移酵素(UGT) 1A9の一塩基多型

第18回日本薬物動態学会年会 (2003. 10)

\* 国立がんセンター

徳永裕司, Roychowdhury T., 内野 正, 安藤正典: インド共和国西ベンガル州におけるヒ素暴露評価に関する研究

第11回ヒ素シンポジウム (2003. 10)

内野 正, Tarit Roy Chowdhury, 徳永裕司, 安藤正典: インド共和国西ベンガル州におけるヒ素暴露評価に関する研究—井戸水, 食物及びヒト毛髪中のヒ素濃度—

第11回ヒ素シンポジウム (2003. 10)

徳永裕司, 竹内織恵, 内野 正, 安藤正典: 薄層クロマトグラフィ法による口紅中のタール色素の分析法に関する研究

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

西村哲治, 綾野絵理, 安藤正典: LC/MS法およびGC/MS法による農薬の一斉分析

第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

徳永裕司, 平野貴子, 高崎祥子, 竹内織恵, 内野 正, 安藤正典: 高速液体クロマトグラフィ法による化粧品及び口紅中のタール色素の分析に関する研究

第53回化粧品技術者会研究討論会 (2003. 11)

神野透人, 香川(田中)聡子, 石田誠一, 佐伯真弓, 祖山晃子, 井戸田昌也, 西村哲治, 斎藤嘉朗, 小澤正吾, 安藤正典, 澤田純一: ヒト核内レセプターCARのスプライス変異体に関する研究

日本薬学会第124年会 (2004. 3)

内野 正, 竹内織恵, 徳永裕司, 安藤正典: より生体に近い3次元培養ヒト皮膚モデルの構築及びそのin vitro評価法に関する研究(その2)—免疫機能への影響—

日本薬学会第124回年会 (2004. 3)

徳永裕司, 森 謙一郎<sup>\*1</sup>, 野坂富雄<sup>\*2</sup>, 土井佳代<sup>\*3</sup>, 坂口 洋<sup>\*4</sup>, 藤井まき子<sup>\*5</sup>, 高野勝弘<sup>\*6</sup>, 林 正人<sup>\*7</sup>, 吉沢賢一<sup>\*8</sup>, 島村公雄<sup>\*9</sup>, 佐藤信夫<sup>\*10</sup>: 化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究: 安息香酸ナトリウム, クロルクレゾール

日本薬学会第124回年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 都衛研国立がんセンター

\*<sup>2</sup> 埼玉衛研

\*<sup>3</sup> 神奈川衛研

\*<sup>4</sup> 北里大理学部

\*<sup>5</sup> 昭和薬大

\*<sup>6</sup> 粧工連

\*<sup>7</sup> 資生堂

\*<sup>8</sup> ポーラ

\*<sup>9</sup> カネボウ

\*<sup>10</sup> コーセー

綾野絵理, 岡田裕司<sup>\*1</sup>, 坂本千賀子<sup>\*1</sup>, 金澤秀子<sup>\*1</sup>, 菊池明彦<sup>\*2</sup>, 岡野光夫<sup>\*2</sup>, 西村哲治, 安藤正典: 温度応答性クロマトグラフィ/質量分析法を用いた親水性農薬およびその塩素処理生成物の検討

日本薬学会第124回年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 共立薬科大学

\*<sup>2</sup> 東京女子医科大学

西村哲治, 福島実<sup>\*1</sup>, 大橋則雄<sup>\*2</sup>, 小林規矩夫<sup>\*3</sup>, 菅谷なえ子<sup>\*4</sup>, 鈴木俊也<sup>\*2</sup>, 中室克彦<sup>\*5</sup>, 永瀬久光<sup>\*6</sup>, 深澤喜延<sup>\*3</sup>, 森田久男<sup>\*7</sup>: 環境試験法・水質試験法 エストラジオール類

日本薬学会第124回年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 大阪市環境研究所

\*<sup>2</sup> 東京都健康安全研究センター

\*<sup>3</sup> 山梨県衛生公害研究所

\*<sup>4</sup> 横浜市衛生研究所

\*<sup>5</sup> 摂南大学薬学部

\*<sup>6</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>7</sup> 埼玉県衛生研究所

保坂三継<sup>\*1</sup>, 西村哲治, 大橋則雄<sup>\*1</sup>, 小林規矩夫<sup>\*2</sup>, 菅谷なえ子<sup>\*3</sup>, 鈴木俊也<sup>\*1</sup>, 永瀬久光<sup>\*4</sup>, 中室克彦<sup>\*5</sup>, 深澤喜延<sup>\*2</sup>, 福島実<sup>\*6</sup>, 森田久男<sup>\*7</sup>: 環境試験法・水質試験法 飲料水のクリプトスポリジウム及びジアルジア試験

日本薬学会第 124 回年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*2</sup> 山梨県衛生公害研究所

<sup>\*3</sup> 横浜市衛生研究所

<sup>\*4</sup> 岐阜薬科大学

<sup>\*5</sup> 摂南大学薬学部

<sup>\*6</sup> 大阪市環境研究所

<sup>\*7</sup> 埼玉県衛生研究所

鎌田素之<sup>\*1</sup>, 島崎大<sup>\*1</sup>, 西村哲治, 相澤貴子<sup>\*2</sup>: 監視農業プライオリティリストを用いた水道における農業の管理の試み 第 38 回日本水環境学会年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 国立保健医療科学院

<sup>\*2</sup> 横浜市水道局

Tokunaga H.: Cosmeceuticals: Melanin synthesis inhibitors and in vitro Evaluation for Whitening Cosmetics

53rd Annual Convention of Pharmaceutical Society of Korea (2004. 4)

米谷民雄: 食品安全に向けた試験研究機関の最近の業務 第 1 回食品安全フォーラム「食品安全に向けたレギュラトリーサイエンス」(2003. 9)

米谷民雄: 食品からの化学物質の暴露評価 フォーラム 2003「生活環境からの化学物質による曝露影響評価」(2003. 10)

米谷民雄: 残留化学物質の分析法の構築にむけて 第 39 回日本環境化学学会講演会「食品と化学物質」(2003. 11)

米谷民雄: 食品中のカドミウムとメチル水銀をめぐる国際的動向 日本薬学会第 124 年会ミニシンポジウム「国際化時代における食に関わる化学物質と安全性」(2004. 3)

根本 了, 山口 拓, 佐々木久美子, 米谷民雄: 畜水産物中の残留農業分析に対する超臨界流体抽出の適用—肉, 魚試料について— 日本食品衛生学会第 86 回学術講演会 (2003. 10)

堀伸二郎<sup>\*1</sup>, 外海泰秀, 岡 尚男<sup>\*2</sup>, 佐々木久美子, 田中敏嗣<sup>\*3</sup>, 中村好志<sup>\*4</sup>, 永山敏廣<sup>\*5</sup>, 前川吉明<sup>\*6</sup>, 松木宏晃<sup>\*7</sup>, 村上りつ子<sup>\*8</sup>: GC/MS (SIM) による食品中のフタル酸エステル及びアジピン酸エステルの同時分析 日本薬学会第 124 年回 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 大阪府公衛研

<sup>\*2</sup> 愛知県衛研

<sup>\*3</sup> 神戸市環境研

<sup>\*4</sup> 梶山女学園大

<sup>\*5</sup> 東京都健安研センター

<sup>\*6</sup> 日本食品分析センター

<sup>\*7</sup> サントリー分析化学センター

<sup>\*8</sup> 茨城県衛研

天倉吉章, 堤 智昭, 佐々木久美子, 米谷民雄: 野菜試料中のダイオキシン類分析における前処理法の検討 日本食品化学学会第 9 回総会・学術大会 (2003. 6)

堤 智昭, 天倉吉章, 佐々木久美子, 米谷民雄: 魚介類の摂食部位別におけるダイオキシン類の汚染実態 第 12 回環境化学討論会 (2003. 6)

Tsutsumi, T., Amakura, Y., Yanagi, T.<sup>\*1</sup>, Nakamura, M.<sup>\*1</sup>, Kono, Y.<sup>\*1</sup>, Uchibe, H.<sup>\*1</sup>, Iida, T.<sup>\*2</sup>, Toyoda, M.<sup>\*3</sup>, Sasaki, K. and Maitani, T.: Levels of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in retail fish and shellfish in Japan

23rd International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants & POPs (2003.8)

<sup>\*1</sup> Japan Food Research Laboratories

<sup>\*2</sup> Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

<sup>\*3</sup> Jissen Woman's University

奥山 亮<sup>\*1</sup>, 水上春樹<sup>\*1</sup>, 谷岡洋平<sup>\*2</sup>, 上田和恵<sup>\*2</sup>, 坂田一登<sup>\*2</sup>, 堤 智昭, 天倉吉章, 佐々木久美子, 森田昌敏<sup>\*3</sup>, 米谷民雄: ELISA による市販魚中のコプラナー PCB 簡易測定法の開発 第 6 回環境ホルモン学会 (2003. 12)

<sup>\*1</sup> (株) エンバイオテック・ラボラトリーズ

<sup>\*2</sup> (株) 第一ファインケミカル

<sup>\*3</sup> 国立環境研究所

堤 智昭, 天倉吉章, 奥山 亮<sup>\*1</sup>, 水上春樹<sup>\*1</sup>, 谷岡洋平<sup>\*2</sup>, 上田和恵<sup>\*2</sup>, 坂田一登<sup>\*2</sup>, 佐々木久美子, 米谷民雄: ELISA による市販魚中のコプラナー PCBs および総 PCBs のスクリーニング 日本薬学会第 124 回年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> (株) エンバイオテック・ラボラトリーズ

<sup>\*2</sup> (株) 第一ファインケミカル

宮原 誠: 照射食品の安全性に関する歴史 放射線利用促進協議会 (2003. 6)

宮原 誠, 上村智美<sup>\*1</sup>, 斎藤顕子<sup>\*1</sup>, 小林泰彦<sup>\*2</sup>, 米谷民雄: DNA 法による照射食品の検知 基礎的検討 日本食品衛生学会 第 84 回学術講演会 (2003. 5)

<sup>\*1</sup> 北里大学医療衛生学部

<sup>\*2</sup> 日本原子力研究所高崎研究所

宮原 誠, 増水章季<sup>\*1</sup>, 小林泰彦<sup>\*2</sup>, 米谷民雄: ESR 法による照射食品の検知 その 2 糖成分を含む食品に関する基礎的検討 第 40 回理工学における同位元素・放射線研究発表会 (2003. 7)

<sup>\*1</sup> 日本電子応用研究所

<sup>\*2</sup> 日本原子力研究所高崎研究所

Makoto Miyahara, Yasuo Kobayashi<sup>\*1</sup>, Toshiki Mashimuzu<sup>\*2</sup>, Tamio Maitani: ESR Method for detection of irradiated

## unborned-meats and seafood 5

XIIIth International Meeting on Radiation Processing 2003, (2003.9)

\*1 Japan Atomic Energy Research Institute, Takasaki Establishment

\*2 Japan Electro Optics Laboratory

Makoto Miyahara, Tamio Maitani, Masaru Nakamura\*1, Yoshiyuki Tanizaki\*1, Yasuo Kobayashi\*2: **A New Photon Activation Reaction Method for Detection of Irradiated Foods Which Treated with High Energy Electron Beam. A Fundamental Approach.** The 117th Annual AOAC International Meeting and Exposition (2003.9)

\*1 Tokyo Metropolitan Industrial and Technological Institute

\*2 Japan Atomic Energy Research Institute, Takasaki Establishment;

宮原 誠, 増水章季\*1, 小林泰彦\*2, 米谷民雄: **ESR 法による照射食品の検知 その 4 糖分を含む食品について**

日本食品衛生学会第 84 回学術講演会 (2003. 10)

\*1 日本電子応用研究所

\*2 日本原子力研究所高崎研究所

宮原 誠: **照射食品の検知法について**

日本放射線照射工業連合会 2003 年会 (2003. 10)

宮原 誠, 増水章季\*1, 小林泰彦\*2, 米谷民雄: **ESR 法による照射食品の検知 その 6 照射骨付き食品等について**

第 40 回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

\*1 日本電子応用研究所

\*2 日本原子力研究所高崎研究所

宮原 誠, 増水章季\*1, 小林泰彦\*2, 米谷民雄: **ESR 法による照射食品の検知 その 7**

日本食品照射研究協議会 第 39 回大会 (2003. 12)

\*1 日本電子応用研究所

\*2 日本原子力研究所高崎研究所

近藤一成, 阿部郁朗\*, 田中秀弥\*, 長岡 (浜野) 恵, 穠山 浩, 米谷民雄: **LC/MS を用いたアガリクス中 agaritine の分析**

日本食品衛生学会, 第 86 回学術講演会 (2003. 10)

\* 静岡県立大学

近藤一成, 内田理一郎\*, 徳武昌一\*, 米谷民雄: **ブドウ種子プロアントシアニジンの肥満細胞からの脱顆粒抑制機構**

日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

\* キッコーマン

堀江正一\*1, 竹上晴美\*1, 長田淳子\*1, 戸谷和男\*1, 原田修一\*2, 村山三徳: **LC/MS による豚肉中のカルバドックス及びその代謝物モノオキシカルバドックス, デスオキシカルバドックス, キノキサリンカルボン酸の分析**

日本食品衛生学会第 86 回学術講演会 (2003. 10)

\*1 埼玉県衛生研究所

\*2 林純薬工業

名取俊明\*1, 斎藤ひろみ\*1, 島田由美子\*1, 堀江正一\*1, 村山三徳: **HPLC による畜産食品中のダノフロキサシン, サラフロキサシンの定量**

日本食品衛生学会第 86 回学術講演会 (2003. 10)

\*1 埼玉県衛生研究所

穠山 浩: **リアルタイム PCR 装置を用いた遺伝子組換え食品の検査**

酵素法による食品分析研究会講演会 (2003. 12)

穠山 浩: **「組換え食品とは何か」と「最近の動向」: 食の安全性に関するシンポジウム (2003. 12)**

穠山 浩, 渡邊敬浩, 笠間菊子\*, 松木容彦\*, 米谷民雄: **遺伝子組換えパパイヤの定性検査法の外部精度管理について**

第 40 回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

\* (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所

穠山 浩, 若林薫, 渡邊敬浩, 菊地博之, 米谷民雄, 中出晋介\*1, 安井修二\*1, 千葉良子\*2, 日野明寛\*3: **遺伝子組換えスタック品種トウモロコシの検知法について (第 1 報)**

日本食品衛生学会第 87 回学術講演会 (2004. 5)

\*1 安井器械 (株)

\*2 昭和薬大

\*3 (独) 食総研

穠山 浩, 佐藤雄嗣, 菅沼大行\*, 渡邊敬浩, 長岡 (浜野) 恵, 稲熊隆博\*, 合田幸広, 米谷民雄:  **$\beta$ -カロテン経口摂取による即時型アレルギー抑制作用**

第 124 年会日本薬学会 (2004. 3)

\* カゴメ総研

穠山 浩: **食物アレルギーの抗原解析およびその低減化に関する研究**

第 4 回食物アレルギー研究会 (2004. 1)

和久井千世子, 渡邊敬浩, 穠山 浩, 米谷民雄, 吉村倫彰\*1, 紀雅美\*2, 富岡千鶴子\*3, 有田世乃\*4, 松岡 猛\*5, 栗原秀夫\*5, 日野明寛\*6, 酒井栄一\*7, 豊田安基江\*8, 小川真智子\*9, 布藤 聡\*9, 梶原淳睦\*10, 乙黒敬生\*11: **マイクロキャピラリー型リアルタイム PCR システムを用いた遺伝子組換え食品定量法のコラボレーションスタディ**

日本食品化学会第 9 回学術大会 (2003. 6)

\*1 アサヒビール (株)

\*2 大阪環境科学研究所

\*3 群馬県衛生環境研究所,

\*4 静岡県環境衛生科学研究所

\*5 (独) 農林水産消費技術センター

\*6 (独) 食品総合研究所

\*7 (株) 日本遺伝子研究所

\*8 広島県保健環境センター

\*9 (株) ファスマック

\*10 福岡県保健環境研究所

\*11 (株) 三菱化学ビーシーエル

荒川史博<sup>\*1</sup>, 小笠原健<sup>\*1</sup>, 小関良宏<sup>\*2</sup>, 高畑能久<sup>\*3</sup>, 森松文毅<sup>\*3</sup>, 穂山 浩, 米谷民雄: 食品中の特定原材料の分析について(1)

<sup>\*1</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

<sup>\*2</sup> 東京農工大

<sup>\*3</sup> 日本ハム(株)

穂山 浩: HPLCを用いた食品中のかび毒の分析法に関する研究

日本食品化学会第9回学術大会奨励賞受賞講演(2003.6)

佐藤雄嗣, 穂山浩, 渡邊敬浩, 長岡(浜野)恵, 米谷民雄, 菅沼大行\*, 稲熊隆博\*:  $\beta$ -カロテン経口摂取によるI型アレルギー抑制作用について

第10回日本免疫毒性学会学術大会(2003.9)

\*カゴメ総研

佐藤雄嗣, 穂山浩, 渡邊敬浩, 長岡(浜野)恵, 合田幸広, 米谷民雄, 庄司俊彦\*, 神田智正\*: リンゴプロシアニジン画分経口摂取のオポアルブミン経口感作に及ぼす影響

第124年会日本薬学会(2004.3)

\*アサヒビール

栗原秀夫<sup>\*1</sup>, 松岡 猛<sup>\*1</sup>, 吉村倫彰<sup>\*2</sup>, 井上真以子<sup>\*3</sup>, 古井 聡<sup>\*4</sup>, 正野仁慈<sup>\*5</sup>, 布藤 聡<sup>\*6</sup>, 小川真智子<sup>\*6</sup>, 大島慎司<sup>\*7</sup>, 渡邊敬浩, 和久井千世子, 穂山 浩, 米谷民雄, 砂川美佐緒<sup>\*8</sup>, 日野明寛<sup>\*8</sup>, 一色賢司<sup>\*8</sup>: 遺伝子組換え食品定量分析法のコラボレーションスタディーI

第85回日本食品衛生学会学術講演会(2003.5)

<sup>\*1</sup>(独)農林水産消費技術センター

<sup>\*2</sup>アサヒビール(株)

<sup>\*3</sup>飼料作物研究所

<sup>\*4</sup>(株)ニッポンジー

<sup>\*5</sup>ハウス食品(株)

<sup>\*6</sup>(株)ファスマック

<sup>\*7</sup>(財)日本穀物検定協会

<sup>\*8</sup>(独)食品総合研究所

渡邊敬浩, 和久井千世子, 穂山浩, 米谷民雄, 栗原秀夫<sup>\*1</sup>, 松岡猛<sup>\*1</sup>, 太田順司<sup>\*2</sup>, 青木信太郎<sup>\*2</sup>, 渡井正俊<sup>\*2</sup>, 澤田千尋<sup>\*3</sup>, 森曜子<sup>\*3</sup>, 重松万由<sup>\*4</sup>, 大峯太郎<sup>\*5</sup>, 梶野敏彦<sup>\*6</sup>, 砂川美佐緒<sup>\*7</sup>, 日野明寛<sup>\*7</sup>, 一色賢司<sup>\*7</sup>: 遺伝子組換え食品定量分析法のコラボレーションスタディーII

第85回日本食品衛生学会学術講演会(2003.5)

<sup>\*1</sup>(独)農林水産消費技術センター

<sup>\*2</sup>(財)日本食品分析センター

<sup>\*3</sup>(財)日本冷凍食品検査協会

<sup>\*4</sup>(株)日清製粉グループ本社

<sup>\*5</sup>海外貨物検査株式会社

<sup>\*6</sup>森永製菓株式会社

<sup>\*7</sup>(独)食品総合研究所

吉村倫彰<sup>\*1</sup>, 栗原秀夫<sup>\*2</sup>, 松岡猛<sup>\*2,\*8</sup>, 児玉貴志<sup>\*2</sup>, 布藤聡<sup>\*3</sup>, 小川真智子<sup>\*3</sup>, 渡辺聡<sup>\*4</sup>, 青木信太郎<sup>\*5</sup>, 飯塚太由<sup>\*6</sup>, 吉川礼次<sup>\*6</sup>, 渡邊敬浩, 和久井千世子, 穂山浩, 米谷民雄, 砂川美佐緒<sup>\*7</sup>, 日野明寛<sup>\*7</sup>, 一色賢司<sup>\*7</sup>: サイズ及びトウモロコシ

シ加工食品中の遺伝子組換え体の定量

第85回日本食品衛生学会学術講演会(2003.5)

<sup>\*1</sup>アサヒビール(株)

<sup>\*2</sup>(独)農林水産消費技術センター

<sup>\*3</sup>(株)ファスマック

<sup>\*4</sup>ハウス食品(株)

<sup>\*5</sup>(財)日本食品分析センター

<sup>\*6</sup>(財)食品環境検査協会

<sup>\*7</sup>(独)食品総合研究所

Furui, S.<sup>\*1</sup>, Kanayama, S.<sup>\*1</sup>, Futo, S.<sup>\*2</sup>, Ogawa, M.<sup>\*2</sup>, Matsuoka, T.<sup>\*3</sup>, Kodama, T.<sup>\*3</sup>, Kuribara, H.<sup>\*3</sup>, Akiyama, H., Maitani, T., Hino, A.<sup>\*4</sup>, Isshiki, K.<sup>\*4</sup>: Collaborative Identification of Genetically Modified Maize by Multiplex PCR

The 117th AOAC INTERNATIONAL Annual Meeting & Exposition(2003.9.)

<sup>\*1</sup>NIPPONGENE Co., Ltd., Japan

<sup>\*2</sup>FASMAC Co., Ltd., Japan

<sup>\*3</sup>Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services, Japan House Foods Co., Japan

<sup>\*4</sup>National Food Research Institute, Japan

Yoshimura, T.<sup>\*1</sup>, Kuribara, H.<sup>\*2</sup>, Matsuoka, T.<sup>\*2</sup>, Kodama, T.<sup>\*2</sup>, Futo, S.<sup>\*3</sup>, Ogawa, M.<sup>\*3</sup>, Watanabe, S.<sup>\*4</sup>, Aoki, N.<sup>\*5</sup>, Iizuka, T.<sup>\*6</sup>, Akiyama, H., Maitani, T., Sunagawa, M.<sup>\*7</sup>, Hino, A.<sup>\*7</sup>, Isshiki, K.<sup>\*7</sup>: Quantitative Analysis of Genetically Modified Organisms in Processed Foods from Soy and Maize by using Japanese Standard Method

The 117th AOAC INTERNATIONAL Annual Meeting & Exposition(2003.9.)

<sup>\*1</sup>Asahi Breweries Ltd., Japan Japan

<sup>\*2</sup>Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services,

<sup>\*3</sup>FASMAC Co., Ltd., Japan

<sup>\*4</sup>House Foods Co., Japan

<sup>\*5</sup>Japan Food Research Laboratories, Japan

<sup>\*6</sup>Japan Frozen Inspection Corporation, Japan

<sup>\*7</sup>National Food Research Institute, Japan

Kuribara, H.<sup>\*1</sup>, Matsuoka, T.<sup>\*1</sup>, Watanabe, T., Wakui, C., Akiyama, H., Maitani, T., Yoshimura, T.<sup>\*2</sup>, Futo, S.<sup>\*3</sup>, Shono, J.<sup>\*4</sup>, Aoki, N.<sup>\*5</sup>, Sawada, C.<sup>\*6</sup>, Sunagawa, M.<sup>\*7</sup>, Hino, A.<sup>\*7</sup>: Collaborative Studies of Construct-Specific Quantitation for Genetically Modified Maize and Soybean Using Four Real-Time PCR Equipments

The 117th AOAC INTERNATIONAL Annual Meeting & Exposition(2003.9.)

<sup>\*1</sup>Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services, Japan

<sup>\*2</sup>Asahi Breweries Ltd., Japan

<sup>\*3</sup>FASMAC Co., Ltd., Japan

<sup>\*4</sup>House Foods Co., Japan

<sup>\*5</sup>Japan Food Research Laboratories, Japan

<sup>\*6</sup>Japan Frozen Inspection Corporation, Japan

<sup>\*7</sup>National Food Research Institute, Japan

渡邊敬浩, 和久井千世子, 栗原秀夫<sup>\*1</sup>, 久保操<sup>\*1</sup>, 児玉貴志<sup>\*1</sup>, 布藤 聡<sup>\*2</sup>, 小川真智子<sup>\*2</sup>, 笠間菊子<sup>\*3</sup>, 豊田安基江<sup>\*4</sup>,

藤井明美<sup>\*5</sup>, 高橋邦彦<sup>\*6</sup>, 日野明寛<sup>\*7</sup>, 穂山 浩, 米谷民雄: 遺伝子組換えジャガイモ定性検知法について  
第 86 回日本食品衛生学会学術講演会 (2003. 11)

<sup>\*1</sup> (独) 農林水産消費技術センター

<sup>\*2</sup> (株) ファスマック

<sup>\*3</sup> (財) 食品薬品安全センター

<sup>\*4</sup> 広島県保健環境センター

<sup>\*5</sup> 横浜検疫所

<sup>\*6</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*7</sup> (独) 食品総合研究所

渡邊敬浩, 穂山 浩, 米谷民雄, 笠間菊子<sup>\*1</sup>, 松木容彦<sup>\*1</sup>, 児玉貴志<sup>\*2</sup>, 栗原秀夫<sup>\*2</sup>, 日野明寛<sup>\*3</sup>: 遺伝子組換え大豆定量検査法の外部精度管理について

第 40 回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

<sup>\*1</sup> 財団法人 食品薬品安全センター 秦野研究所

<sup>\*2</sup> (独) 農林水産消費技術センター

<sup>\*3</sup> (独) 食品総合研究所

長岡 (浜野) 恵, 穂山 浩, 米谷民雄: 健康人血清中パナジウムのトランスフェリンへの結合状態の解析

第 13 回日本微量元素学会 (2003. 7)

長岡 (浜野) 恵, 長岡寛明, 武田 健, 近藤一成, 穂山 浩, 米谷民雄: 蛍光誘導体化による食品中ヒドラジン類の分析法の検討

日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

Nagaoka M.H., Akiyama H., and Maitani T.: Vanadium Speciation in Healthy Human Serum: Binding Patterns of Vanadium to Transferrin Studied by HPLC/High-Resolution ICP-MS  
The Eighth International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine. (2004. 5)

松田りえ子, 林 譲: 内標準法の不確かさ  
第 169 回 HPLC 研究懇談会 (2003. 7)

松田りえ子, 林 譲, 今井一洋<sup>\*1</sup>, 西村和香<sup>\*2</sup>, 伊藤克敏<sup>\*2</sup>, 前田昌子<sup>\*2</sup>: 非競合法イムノアッセイにおける精度と検出限界  
第 52 回分析化学会 (2003. 9)

<sup>\*1</sup> 共立薬科大学

<sup>\*2</sup> 昭和大学薬学部

松田りえ子, 林 譲, 今井一洋<sup>\*1</sup>, 西村和香<sup>\*2</sup>, 伊藤克敏<sup>\*2</sup>, 前田昌子<sup>\*2</sup>: 非競合法イムノアッセイにおける精度と検出限界  
第 52 回分析化学会 (2003. 9)

<sup>\*1</sup> 共立薬科大学

<sup>\*2</sup> 昭和大学薬学部

松田りえ子, 林 譲, 米谷民雄: HPLC 分析における調製, 測定, 検量の不確かさ  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

岡本貴行<sup>\*</sup>, 吉岡靖雄<sup>\*</sup>, 向 洋平<sup>\*</sup>, 川村真紀<sup>\*</sup>, 堤 康央<sup>\*</sup>, 中川晋作<sup>\*</sup>, 真弓忠範<sup>\*</sup>: 抗 TNF- $\alpha$  療法の最適化に向けて: TNF- $\alpha$  に対する 1 本鎖抗体の作成とその特性評価

日本薬学会第 123 年会 (2003. 3)

<sup>\*</sup> 大阪大学薬学部

向 洋平<sup>\*</sup>, 吉岡靖雄<sup>\*</sup>, 岡本貴行<sup>\*</sup>, 川村真紀<sup>\*</sup>, 堤 康央<sup>\*</sup>, 中川晋作<sup>\*</sup>, 真弓忠範<sup>\*</sup>: Phage display system を利用した機能性 1 本鎖抗体の創出に関する基礎的検討

日本薬学会第 123 年会 (2003. 3)

<sup>\*</sup> 大阪大学薬学部

柴田寛子<sup>\*</sup>, 吉岡靖雄<sup>\*</sup>, 小林恭子<sup>\*</sup>, 岡本貴行<sup>\*</sup>, 堤康央<sup>\*</sup>, 中川晋作<sup>\*</sup>, 真弓忠範<sup>\*</sup>: フェージ表面提示法を駆使した部位特異的バイコンジュゲーションの最適化

日本薬学会第 123 年会 (2003. 3)

<sup>\*</sup> 大阪大学薬学部

棚元憲一: 局方微生物試験法—最近の国内及び国際的動向を中心として—

日本防菌防黴学会主催「第 19 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 (2004. 3)

細瀬和成<sup>\*</sup>, 棚元憲一: 照射および加熱の組合せ処理によるエンドトキシンの不活化

日本医科器械学会第 79 回年次大会 (2004. 5)

<sup>\*</sup> 東京都立産業技術研究所

四方田千佳子, 大西 (阿部) 有希子, 棚元憲一, 相澤 博<sup>\*1</sup>, 大澤テイ子<sup>\*2</sup>, 宮崎奉之<sup>\*3</sup>, 毛利孝明<sup>\*4</sup>, 大和康博<sup>\*5</sup>, 玉那覇康二<sup>\*6</sup>: 平成 14 年度マーケットバスケット方式による 8 種甘味料の摂取量調査

日本食品化学学会第 9 回学術大会 (2003. 6)

<sup>\*1</sup> 札幌市衛生研究所

<sup>\*2</sup> 仙台市衛生研究所

<sup>\*3</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*4</sup> 香川県環境保健研究センター

<sup>\*5</sup> 北九州市環境科学研究所

<sup>\*6</sup> 沖縄県衛生環境研究所

四方田千佳子, 久保田浩樹, 棚元憲一, 荻野周三<sup>\*1</sup>, 渡部健二郎<sup>\*2</sup>, 西村正美<sup>\*3</sup>, 森 曜子<sup>\*4</sup>, 石橋 亮<sup>\*5</sup>: 未指定添加物サイクラミン酸の改良分析法の共同検定

日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

<sup>\*1</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*2</sup> 横浜市衛生研究所

<sup>\*3</sup> 日本食品分析センター

<sup>\*4</sup> 日本冷凍食品検査協会

<sup>\*5</sup> 東京顕微鏡院

川崎洋子, 久保田浩樹, 四方田千佳子, 棚元憲一, 松下邦明<sup>\*</sup>, 大垣内誠<sup>\*</sup>, 三上博久<sup>\*</sup>: セミマイクロポストカラム誘導体化 HPLC 法による食品中の臭素酸塩の分析

日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

<sup>\*</sup> (株) 島津製作所

久保田浩樹, 西山 聡, 四方田千佳子, 棚元憲一: 食品中のサイクラミン酸塩分析法の改良

日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

久保田浩樹, 大西有希子, 四方田千佳子, 棚元憲一: 食塩中のフェロシアン化物分析法の検討  
第 40 回全国衛生化学技術協議会年会 (2003. 11)

大西 (阿部) 有希子, 杉本直樹, 久保田浩樹, 四方田千佳子, 棚元憲一: 小麦粉及び小麦製品中の過酸化ベンゾイルと安息香酸の分別定量  
日本食品衛生学会第 85 回学術大会 (2003. 5)

大西有希子, 戸田恭子, 四方田千佳子, 棚元憲一: 新規栄養強化剤 L-アスコルビン酸 2-グルコシドの分析法の検討  
日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

松本ひろ子<sup>\*1</sup>, 安田和雄<sup>\*1</sup>, 大石光男<sup>\*1</sup>, 川名清子<sup>\*2</sup>, 岸 弘子<sup>\*3</sup>, 杉本敏明<sup>\*4</sup>, 成田弘子<sup>\*5</sup>, 浜野 孝<sup>\*6</sup>, 山田真記子<sup>\*7</sup>, 渡部健二郎<sup>\*8</sup>, 四方田千佳子: 亜硫酸, 次亜硫酸およびこれらの塩類の通気蒸留-HPLCによる定量法  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 東京都安全健康研究センター

<sup>\*2</sup> 神奈川県衛生部

<sup>\*3</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*4</sup> 日本食品分析センター

<sup>\*5</sup> 日本大学短期大学部

<sup>\*6</sup> 神戸市環境保健研究所

<sup>\*7</sup> 三栄源エフエフアイ

<sup>\*8</sup> 横浜市衛生研究所

杉本直樹, 井上かおり, 山崎壮, 棚元憲一, 米谷民雄, 尹永淑\*, 中島裕希\*, 功刀彰\*: 天然添加物の抗酸化活性の評価  
日本食品化学学会第 9 回学術大会 (2003. 6)

\* 東京薬科大学生命科学部

秋山卓美, 神永靖久\*, 杉本直樹, 永津明人\*, 山崎 壮, 水上元\*, 米谷民雄: 酵素反応を用いた水溶性クルクミン配糖体の合成  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

\* 名古屋市立大学大学院薬学系研究科

磯朝枝\*, 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壮, 石橋邦子\*, 棚元憲一: 天然増粘安定剤キダチアロエ抽出物の成分分析  
日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

\* 栃木県南健康福祉センター

小島一夫\*, 永津明人\*, 水上 元\*, 杉本直樹, 佐藤恭子: 植物性食品添加物「コメヌカ油抽出物」の微量成分の検索  
15 年度日本薬学会東海支部例会 (2003. 12)

\* 名古屋市立大学薬学部

Kawamura, Y.: Japanese Regulation for Food Packaging and Their Issues  
2003 International Symposium on Food Packaging (2003.9)

河村葉子: 器具・容器包装の規格基準と試験法  
日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

河村葉子: 容器包装に関わる分析法について

第 39 回日本環境化学学会講演会 (2003. 11)

河村葉子, 六鹿元雄, 棚元憲一: レポータージーンアッセイによる水酸化ベンゾフェノン類のエストロゲン活性および抗アンドロゲン活性  
環境ホルモン学会第 6 回研究発表会 (2003. 12)

六鹿元雄, 戸島貴浩, 河村葉子, 棚元憲一: ポリエチレンテレフタレート製品中のホルムアルデヒド, アセトアルデヒド及びオリゴマー  
日本食品衛生学会第 86 回学術大会 (2003. 10)

六鹿元雄, 河村葉子, 小西良子, 高鳥浩介, 棚元憲一: ミネラルウォーター中のホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドに関する検討  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

大門由佳, 六鹿元雄, 河村葉子, 田村悦臣\*, 棚元憲一: リサイクル PET 中の揮発性物質に関する研究  
日本食品衛生学会第 87 回学術大会 (2004. 5)  
\* 共立薬科大学

大野浩之<sup>\*1</sup>, 河村葉子, 伊藤 誠<sup>\*2</sup>, 金子令子<sup>\*3</sup>, 河野政美<sup>\*4</sup>, 辰濃 隆<sup>\*5</sup>, 中村好志<sup>\*6</sup>, 馬場二夫<sup>\*7</sup>, 平山クニ<sup>\*8</sup>, 藤枝秀嘉<sup>\*9</sup>, 堀江正一<sup>\*10</sup>, 渡辺悠二<sup>\*11</sup>: 生活用品試験法 器具・玩具試験法 塩化ビニルおよび塩化ビニリデン: ガスクロマトグラフィー/質量分析法による定性および定量  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*2</sup> 東洋製罐 (株)

<sup>\*3</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*4</sup> 昭和ゴム (株)

<sup>\*5</sup> (財) 日本食品衛生協会

<sup>\*6</sup> 椋山学園大

<sup>\*7</sup> 武庫川女子大学

<sup>\*8</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*9</sup> (財) 日本食品分析センター

<sup>\*10</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*11</sup> (財) 化学技術戦略推進機構

大野浩之<sup>\*1</sup>, 河村葉子, 伊藤 誠<sup>\*2</sup>, 金子令子<sup>\*3</sup>, 河野政美<sup>\*4</sup>, 辰濃 隆<sup>\*5</sup>, 中村好志<sup>\*6</sup>, 馬場二夫<sup>\*7</sup>, 平山クニ<sup>\*8</sup>, 藤枝秀嘉<sup>\*9</sup>, 堀江正一<sup>\*10</sup>, 渡辺悠二<sup>\*11</sup>: 生活用品試験法 器具・玩具試験法 エピクロルヒドリン: ガスクロマトグラフィー/質量分析法による定性および定量  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*2</sup> 東洋製罐 (株)

<sup>\*3</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*4</sup> 昭和ゴム (株)

<sup>\*5</sup> (財) 日本食品衛生協会

<sup>\*6</sup> 椋山学園大

<sup>\*7</sup> 武庫川女子大学

<sup>\*8</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*9</sup> (財) 日本食品分析センター

<sup>\*10</sup> 埼玉県衛生研究所

\*<sup>11</sup>(財) 化学技術戦略推進機構

大野浩之\*, 六鹿元雄, 河村葉子, 鈴木昌子\*, 青山大器\*: ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデン製品中の塩化ビニル及び塩化ビニリデンの分析

日本食品衛生学会第 87 回学術大会 (2004. 5)

\* 名古屋市衛生研究所

山本茂貴: 欧米・諸外国における HACCP 手法の構築と考え方  
第 31 回防菌防黴学会学術総会 (2004. 5)

五十君静信: 乳酸菌ワクチンの開発  
日本酪農科学会 (2003. 9)

五十君静信: シンポジウムプロバイオティクスの乳業における将来性  
日本酪農科学会 (2003. 9)

村上裕之\*, 藤田康弘\*, 五十君静信, 丸山 務\*, 園部廣美  
\*<sup>1</sup>: *Listeria monocytogenes* の LAMP 法による検出法の検討  
第 24 回日本食品衛生微生物学会総会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> キリンビール

\*<sup>2</sup> 日本食品衛生協会

酒井史彦\*, 青山顕司\*, 篠澤映子\*, 山縣尚\*, 丸山 務\*, 五十君静信, 柳平修一\*: 各種ナチュラルチーズからのリステリア菌検出方法の検討  
第 24 回日本食品衛生微生物学会総会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 雪印乳業

\*<sup>2</sup> 日本バイオメリユ

\*<sup>3</sup> 日本食品衛生協会

青山顕司\*, 高橋千登勢\*, 奥谷晶子, 丸山 務\*, 山本茂貴, 五十君静信: 食品および臨床由来 *Listeria monocytogenes* のパルスフィールド電気泳動解析  
第 24 回日本食品衛生微生物学会総会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 雪印乳業

\*<sup>2</sup> 日本食品衛生協会

奥谷晶子, 岡田由美子, 山本茂貴, 五十君静信: 国内における食品等のリステリア汚染状況の報告  
第 24 回日本食品衛生微生物学会総会 (2003. 10)

山崎 学, 天野富美夫\*, 片山葉子\*, 山本茂貴, 五十君静信: 好気ストレスによって coccoid 化した *Campylobacter jejuni* に関する研究  
第 24 回日本食品衛生微生物学会総会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 大阪薬科大学

\*<sup>2</sup> 東京農工大学

岡田由美子, 廣田雅光\*, 奥谷晶子, 山本茂貴, 五十君静信: 環境及び臨床由来リステリア菌株における病原因子関連遺伝子の保有状況について  
第 24 回日本食品衛生微生物学会総会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> (財) 冷凍食品検査協会

Amano, F.<sup>1</sup>, Karahashi, H. <sup>1</sup>, Terai, S.<sup>1</sup>, Okamoto, A. <sup>1</sup>, Ishii, Y.<sup>1</sup>, Igimi, S., Okutani, A., Yamasaki, M., Nakamura A.<sup>1</sup>: Pathogenicity of Sep22, identical to *Salmonella* Dps, in BALB/c mice, and its relation to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resistance.

日本生化学会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 大阪薬科大学

山崎 学, 天野富美夫\*, 山本茂貴, 五十君静信: *Campylobacter jejuni* の 27kDa タンパク質の酸化ストレスに対する応答性及びその機能解析

第 86 回細菌学会関東支部会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 大阪薬科大学

酒井史彦\*, 青山顕司\*, 篠澤映子\*, 山縣尚\*, 丸山 務\*, 五十君静信, 柳平修一\*: 自動免疫蛍光測定装置を用いたリステリア菌検査法の評価

日本食品衛生学会第 86 回学術講演会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 雪印乳業

\*<sup>2</sup> 日本バイオメリユ

\*<sup>3</sup> 日本食品衛生協会

五十君静信: 食品のリステリア汚染について  
平成 15 年度食肉衛生技術研修会 (2004. 1)

奥谷晶子, 五十君静信, 山本茂貴: リステリア症診断のための ELISA 法の検討  
第 77 回日本細菌学会総会 (2004. 1)

山崎 学, 天野富美夫\*, 山本茂貴, 五十君静信: *Campylobacter jejuni* の 27kDa タンパク質の好気ストレスに対する応答性  
第 77 回日本細菌学会総会 (2004. 1)

\*<sup>1</sup> 大阪薬科大学

岡田由美子, 牧野壮一\*, 奥谷晶子, 山本茂貴, 五十君静信: *Listeria monocytogenes* の患者及び食品・環境由来株における病原因子関連遺伝子の保有状況

第 77 回日本細菌学会総会 (2004. 4)

\*<sup>1</sup> 帯広畜産大学

五十君静信: 乳酸菌ベクターワクチンシンポジウム「ワクチン研究の新展開: 多様な手法が切り開く 'ワクチン' の可能性」  
第 137 回日本獣医学会学術集会 (2004. 4)

朝倉 宏, 度会雅久\*, 白幡敏一\*, 牧野壮一\*: マウス通過による *Salmonella* Oranienburg の食塩感受性変化に関する遺伝学的研究  
第 77 回日本細菌学会学術総会 (2004. 4)

\*<sup>1</sup> 帯広畜産大学応用獣医学講座

\*<sup>2</sup> 帯広畜産大学原虫病研究センター

朝倉 宏: 大腸菌 O157 の VNC について  
第 6 回 VNC 研究会 (2004. 2)

伊藤嘉典: 麦類中のデオキシニバレノールの分析方法および汚染実態



第30回カビ毒研究連絡会(2003.8)

伊藤嘉典: DONの減衰とELISA  
第30回カビ毒研究連絡会(2003.8)

伊藤嘉典, 熊谷進<sup>\*1</sup>: 小麦玄麦と小麦粉におけるデオキシニ  
バレノール(DON)とニバレノール(NIV)の汚染実態  
日本食品衛生学会第86回学術講演会(2003.10)  
<sup>\*1</sup>東京大学院農生命

Nakajima, M.<sup>\*1</sup>, Tabata, S.<sup>\*2</sup>, Akiyama, H., Itoh, Y., Tanaka, T.<sup>\*3</sup>,  
Sunagawa, H.<sup>\*4</sup>, Tyonan, T.<sup>\*4</sup>, Yoshizawa, T.<sup>\*5</sup>, Kumagai, K.<sup>\*6</sup>:  
**Aflatoxin M1 in milk and its risk in Japan**  
International Symposium of Mycotoxicology in Kagawa 2003  
(ISMYCO Kagawa "03)(2003.11)

<sup>\*1</sup>名古屋市衛研  
<sup>\*2</sup>都安全研究セ  
<sup>\*3</sup>神戸市環保研  
<sup>\*4</sup>北海道衛研  
<sup>\*5</sup>香川大学  
<sup>\*6</sup>東京大学院農生命

Itoh, Y., Kumagai, S.<sup>\*1</sup>: **Contamination of deoxynivalenol and  
nivalenol in wheat and its flour**  
International Symposium of Mycotoxicology in Kagawa 2003  
(ISMYCO Kagawa"03)(2003.11)  
<sup>\*1</sup>東京大学院農生命

李憲俊\*, 相原真紀, 高鳥浩介: シリコンシーラントでの  
**Cladosporium**の発育  
第30回日本防菌防黴学会(2003.5)  
\* 衛生微生物研究センター

荒勝俊<sup>\*1</sup>, 相原真紀, 小島みゆき<sup>\*1</sup>, 都島康彦<sup>\*1</sup>, 川合修次<sup>\*1</sup>,  
上田伸男<sup>\*2</sup>, 秋山一男<sup>\*3</sup>, 高鳥浩介: 家庭内生活環境(寝室,  
寝具)における真菌分布変化  
第30回日本防菌防黴学会(2003.5)  
<sup>\*1</sup>花王株式会社  
<sup>\*2</sup>宇都宮大学教育学部  
<sup>\*3</sup>国立相模原病院臨床研究センター

小島みゆき<sup>\*1</sup>, 都島康彦<sup>\*1</sup>, 荒勝俊<sup>\*1</sup>, 相原真紀, 小屋えな子<sup>\*1</sup>,  
上田伸男<sup>\*2</sup>, 秋山一男<sup>\*3</sup>, 高鳥浩介: 家庭における生活者の  
カビ意識と真菌分布  
第30回日本防菌防黴学会(2003.5)  
<sup>\*1</sup>花王株式会社  
<sup>\*2</sup>宇都宮大学教育学部  
<sup>\*3</sup>国立相模原病院臨床研究センター

Ri N.<sup>\*</sup>, Aihara M. and Takatori K.: **Growth of *Cladosporium*  
and *Phoma* in silicon**  
International Biodeterioration and Biodegradation  
Society/ International Biodeterioration Research Group  
Joint Meeting Autumn 2003, Manchester (2003.9)  
\* 衛生微生物研究センター

荒勝俊<sup>\*1</sup>, 相原真紀, 小島みゆき<sup>\*1</sup>, 都島康彦<sup>\*1</sup>, 川合修次<sup>\*1</sup>,  
上田伸男<sup>\*2</sup>, 秋山一男<sup>\*3</sup>, 高鳥浩介: 家庭内生活環境(押し  
入れ, クローゼット)における真菌分布変化  
第47回日本医真菌学会総会(2003.10)

<sup>\*1</sup>花王株式会社  
<sup>\*2</sup>宇都宮大学教育学部  
<sup>\*3</sup>国立相模原病院臨床研究センター

高鳥浩介: 食品中のカビ毒(マイコトキシン)規格  
第86回日本食品衛生学会シンポジウム(2003.10)

Takatori K., Sakai A., Hanazawa R., Nakahara Y., Sekiguchi S.,  
Sugita-Konishi Y., Ichinoe M.<sup>\*1</sup>, Saito T.<sup>\*2</sup>, and Yoshizawa T.<sup>\*3</sup>:  
**Mycological investigation in domestic unpolished rice and the  
potential risk of mycotoxin contamination**  
38th Toxic Microorganisms Joint Panel Meeting, UJNR,  
Tokyo (2003.11)

<sup>\*1</sup>東京家政大学家政学部  
<sup>\*2</sup>東京農業大学総合研究所  
<sup>\*3</sup>香川大学農学部

相原真紀, 李東熙, 朴奉柱<sup>\*1</sup>, 李憲俊<sup>\*1</sup>, 高鳥浩介: シリコー  
ンに侵入した *Cladosporium* の生残性  
第31回日本防菌防黴学会(2004.5)  
<sup>\*1</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科  
衛生微生物研究センター

李東熙, 相原真紀, 朴奉柱<sup>\*1</sup>, 朴鍾喆<sup>\*2</sup>, 高鳥浩介: 抗菌剤の  
継続暴露による抵抗性評価  
第31回日本防菌防黴学会(2004.5)  
<sup>\*1</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科  
<sup>\*2</sup>延世大学医学部

藪根ちあき<sup>\*1</sup>, 田中辰明<sup>\*1</sup>, 荒勝俊<sup>\*2</sup>, 小島みゆき<sup>\*2</sup>, 相原真紀,  
高鳥浩介: 寝室と寝具における真菌の動態  
第31回日本防菌防黴学会(2004.5)  
<sup>\*1</sup>お茶の水女子大学  
<sup>\*2</sup>花王株式会社

小菅句子\*, 上杉清香\*, 芳賀猛\*, 後藤藤孝\*, 相原真紀, 高鳥  
浩介: ハウスダストにおける微生物の消長  
第31回日本防菌防黴学会(2004.5)  
\* 宮崎大学農学部

韓東旭<sup>\*1</sup>, 朴鍾喆<sup>\*1</sup>, 李玖燮<sup>\*1</sup>, 鶴澤正和<sup>\*2</sup>, 姜奇完<sup>\*3</sup>, 金正洙<sup>\*3</sup>,  
李東熙, 朴奉柱<sup>\*4</sup>, 相原真紀, 高鳥浩介: 銀ナノ粒子を含有  
するポリウレタンの抗菌性  
第31回日本防菌防黴学会(2004.5)  
<sup>\*1</sup>延世大学医学部  
<sup>\*2</sup>(株)アプライドサイエンス  
<sup>\*3</sup>Dongwon Medipia Co., Ltd.  
<sup>\*4</sup>岐阜大学大学院連合獣医学研究科

朴鍾喆<sup>\*1</sup>, 李玖燮<sup>\*1</sup>, 韓東旭<sup>\*1</sup>, 鶴澤正和<sup>\*2</sup>, 李東熙, 朴奉柱<sup>\*3</sup>,  
相原真紀, 高鳥浩介: 低電圧電流を利用した海水の殺菌  
第31回日本防菌防黴学会(2004.5)

\*1 延世大学医学部

\*2 (株)アプライド サイエンス

\*3 岐阜大学大学院連合獣医学部

Muroi, M., Ohnishi, T., and Tanamoto, K.: **Signal sorting by CD14 to Toll-like receptors.**

第76回日本生化学会(2003.10).

志水美文, 室井正志, 棚元憲一: 内毒素によるマクロファージの一酸化窒素産生に対するアラクロールとカルバリルの抑制作用機序

第9回日本エンドトキシン研究会(2003.11).

畑尾史彦, 室井正志, 比企直樹\*, 三村芳和\*, 上西紀夫\*, 棚元憲一: エンドトキシン活性に及ぼす Toll-like receptor 刺激薬による cross tolerance 効果

第9回日本エンドトキシン研究会(2003.11).

\*東京大学

志水美文, 室井正志, 棚元憲一: マクロファージ機能に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響

環境ホルモン学会第6回研究発表会(2003.12).

杉山圭一, 室井正志, 棚元憲一: ヒトとマウスの誘導型 NO 合成酵素遺伝子のエンドトキシン応答性の解析

第77回日本細菌学会総会(2004.4)

志水美文, 室井正志, 棚元憲一: 内毒素によるマクロファージの一酸化窒素産生を抑制する2種の外因性内分泌攪乱化学物質の作用機序

第77回日本細菌学会総会(2004.4)

室井正志, 棚元憲一: CD14 または CD14/TLR4/MD-2 複合体に対する lipopolysaccharide の結合様式

第77回日本細菌学会総会(2004.4)

大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: Toll-like receptor 4 の情報伝達における可溶性 MD-2 の性状解析

第77回日本細菌学会総会(2004.4)

畑尾史彦, 室井正志, 棚元憲一: Toll-like receptor 刺激による IRAK-1 および IRAK-4 の down regulation

第77回日本細菌学会総会(2004.4)

畑尾史彦, 比企直樹\*, 小川利久\*, 小島 淳一\*, 三村芳和\*, 上西紀夫\*, 室井正志, 棚元憲一: Synthetic LPS receptor agonist:ER-803058 を用いた endotoxin tolerance 誘導の試み

第40回日本外科代謝栄養学会(2003.7)

\*東京大学

畑尾史彦, 比企直樹\*, 小川利久\*, 三村芳和\*, 上西紀夫\*, 室井正志, 棚元憲一: エンドトキシン活性に及ぼす Toll-like receptor 刺激薬による cross tolerance の効果

第104回日本外科学会定期学術集会(2004.4)

\*東京大学

宮原美知子: 食品からの赤痢菌の検査法  
衛生微生物技術協議会第24回研究会(2003.7)

Michiko Miyahara, Shigeko Ueda\*<sup>1</sup>, Seiji Kaneko\*<sup>2</sup>, Tomohiko Fujisawa\*<sup>3</sup>: Detection for Bacterial Pathogens in Food  
The 117th AOAC International Annual Meeting and Exposition(2003.9)

\*<sup>1</sup> Kagawa Nutrition University

\*<sup>2</sup> Metropolitan Research Laboratory of Public Health

\*<sup>3</sup> Nippon Veterinary and Animal Science University

宮原美知子, 小沼博隆\*: 食品からの赤痢菌新検出法における *S. sonnei* と *S. flexneri* 検出比較

第24回日本食品微生物学会学術総会(2003.10)

\*東海大学海洋学部

宮原美知子: 食品からの特定病原性微生物検出一括培養法の検討—腸炎ビブリオ—

日本食品衛生学会第86回学術講演会(2003.10)

Michiko Miyahara and Hiroataka Konuma\*: A new two-step enrichment method for detection of Shigella in food Toxic Microorganisms Panel, UJNR(2003.11)

\*Tokai University

宮原美知子: 腸炎ビブリオの好気あるいは嫌気培養による増殖の検討

第77回日本細菌学会総会(2004.4)

宮原美知子: 四種食中毒細菌の食品からの一斉検出法  
第31回日本防菌防黴学会年次総会(2004.5)

斉藤陽\*, 阿部吉邦\*, 宮原美知子, 小沼博隆\*<sup>2</sup>, 倉田浩\*<sup>1</sup>: 食品微生物検査におけるパルス式ホモジナイザー「パルスファイヤー」の性能評価

第31回日本防菌防黴学会年次総会(2004.5)

\*<sup>1</sup> GSI クレオス

\*<sup>2</sup> 東海大学海洋学部

松谷佐知子: RNAポリメラーゼIIIのプロモーター配列と転写因子 ArtA による大腸菌での転写の活性化  
第26回日本分子生物学会年会(2003.12)

尾上洋一\*<sup>1</sup>, 古川一郎\*<sup>1</sup>, 小西典子\*<sup>2</sup>, 甲斐明美\*<sup>2</sup>, 工藤由起子, 高鳥浩介: Salmonella Enteritidis の生残性に及ぼす相対湿度の影響

第86回日本食品衛生学会(2003.10)

\*<sup>1</sup> 神奈川県衛生研究所

\*<sup>2</sup> 東京都健康安全研究センター

大友良光\*<sup>1</sup>, 阿部幸一\*<sup>1</sup>, 小田桐和枝\*<sup>2</sup>, 白戸明\*<sup>3</sup>, 工藤由起子, 高鳥浩介: 鶏卵及び採卵廃鶏におけるサルモネラ属菌汚染状況

第86回日本食品衛生学会(2003.10)

\*<sup>1</sup> 青森県環境保健センター

\*2 青森県健康福祉部薬務衛生課

\*3 青森県農林総合研究センター

大田博昭\*1, 豊田有樹子\*1, 江川智哉\*1, 工藤由起子, 小沼博隆\*2, 水本直恵\*3, 山本覚\*4, 馬場栄一郎\*3: **S. Enteritidis** 鞭毛特異抗原 (Sep9) コーティング ELISA による市販パック卵の抗体保有調査成績の解析

第23回日本食品微生物学会 (2003.10)

\*1(株)シーエーエフ ラボラトリーズ

\*2 東海大学

\*3 大阪府立大学

\*4 福山大学

古川一郎\*1, 尾上洋一\*1, 小西典子\*2, 甲斐明美\*2, 工藤由起子, 高鳥浩介: **Salmonella Enteritidis** の生残性に及ぼす相対湿度の影響

平成15年度地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会, 第16回総会・研究会 (2004.2)

\*1 神奈川県衛生研究所

\*2 東京都健康安全研究センター

工藤由起子: 国内の海産物の調査研究と腸炎ビブリオ対策  
第24回日本食品微生物学会 (2003.10)

工藤由起子, 仁科徳啓\*1, 三輪憲永\*2, 増田高志\*2, 小沼博隆\*3, 長谷川順子\*1, 熊谷進\*4: 鮮魚の洗浄による腸炎ビブリオ汚染菌数の減少

日本食品衛生学会第86回学術講演会 (2003.10)

\*1 東海大学短期大学部静岡校

\*2 静岡県環境衛生科学研究所

\*3 東海大学

\*4 東京大学院

工藤由起子: 食品微生物の検査法とその話題

平成15年度食品衛生検査協会微生物研修会 (2003.9)

工藤由起子: 腸炎ビブリオをめぐる最近の話題

国立保健医療科学院平成15年度特別過程食品衛生管理コース (2004.1)

工藤由起子, 山田加奈子\*1, 松寄洋輔\*2, 吉川邦衛\*2, 林谷秀樹\*3, 熊谷進\*4: 腸炎ビブリオの挙動解析に有用な指標菌の検索

日本食品衛生学会第87回学術講演会 (2004.5)

\*1 玉川大学

\*2 東京農業大学

\*3 東京農工大学

\*4 東京大学院

酒井綾子, 川上久美子, 高鳥浩介, 齋藤行生\*1: 苦情・事故食品からみた真菌による食品汚染

日本食品衛生学会第86回学術講演会 (2003.10)

\*1(社)日本食品衛生協会 食品衛生研究所試験検査センター

酒井綾子, 花澤 良, 中原徳之, 関口将二, 小西良子, 吉川

邦衛\*1, 一戸正勝\*2, 芳澤宅實\*3, 高鳥浩介: 国産米の真菌汚染調査: 備蓄玄米 (平成13年産) と前年産玄米 (平成14年産) の平成15年初夏における比較

第55回マイコトキシン研究会学術講演会 (2004.1)

\*1 東京農業大学

\*2 東京家政大学

\*3 香川大学

酒井綾子, 菊池 裕, 高鳥浩介: BALB/3T3細胞において非変異・がん原性物質が誘発する遺伝子発現変化の解析

日本薬学会第124年会 (2004.3)

大森清美\*1, 梅田 誠\*2, 高木弘毅\*3, 吉村 功\*4, 佐々木澄志\*2, 浅田 晋\*2, 田中憲穂\*2, 酒井綾子, 中村好志\*5, 大石英俊\*6, 鷲塚昌隆\*7, 荒木春美\*1, 鬼頭暢子\*8, 矢島 聡\*9, 佐々木聡\*9, 浅倉眞澄\*10, 中村 哲\*11, 嶋田佐和子\*12, 宇野芳文\*13, 山村英二\*13, 山本康人\*14, 伏脇裕一\*1, 浜田修一\*15, 土屋敏行\*16: 発癌プロモーター簡易検出法 Bhas assay の研究室間バリデーション・スタディー (その2)

日本環境変異原学会第32回大会 (2003.11)

\*1 神奈川県衛生研究所

\*2 (財)食品薬品安全センター

\*3 アベンティスファーマ (株)

\*4 東京理科大学

\*5 静岡県立大学

\*6 大日本製薬 (株)

\*7 ゼリア新薬工業 (株)

\*8 富山化学工業 (株)

\*9 高砂香料工業 (株)

\*10 日本バイオアッセイセンター

\*11 キヤノン (株)

\*12 (財)食品農医薬品安全性評価センター

\*13 三菱ウエルファーマ (株)

\*14 ライオン (株)

\*15 エスエス製薬 (株)

\*16 萬有製薬 (株)

菊池裕, 掛谷知志, 酒井綾子, 高鳥浩介, 中村尚登\*1, 松田治男\*1, 山崎壮, 棚元憲一, 澤田純一: **In vitro Propagation of A Sporadic CJD-like Form of PrP<sup>Sc</sup> in Long-term Cultured Human Glioblastoma Cell Line T98G**

第76回日本生化学会大会 (2003.10)

\*1 広島大

塚崎 匡\*, 薩 秀夫\*, 小西 良子, 清水 誠\*: 腸管上皮細胞 Caco-2 におけるトリブチルスズ (TBT) に透過・吸収の食品成分による制御

日本農芸化学会2003年度大会 (2003.4)

\* 東京大学大学院農学生命科学研究科

中島耕平\*, 小西良子, 小林一夫, 好田 正\*, 高橋孝資\*, 服部 誠\*: 牛乳グリコマクロペプチドの腸管感染症予防効果

日本農芸化学会2003年度大会 (2003.4)

\* 東京農工大学農学部

小林一夫, 服部誠\*, 工藤由起子, 山本茂貴, 小西良子:

食中毒菌に対するオボムチン由来糖ペプチドの結合特性  
日本農芸化学会 2003 年度大会 (2003. 4)

\* 東京農工大学農学部

Sugita-Konishi, Y., Takatori, K., Kushiro, M.<sup>\*1</sup>, Tanaka, T.<sup>\*2</sup>, Nakajima M.<sup>\*3</sup>, Chonan T.<sup>\*4</sup> and Kumagai, S.<sup>\*5</sup> : **Validation of analytical method for determination of DON in unpolished wheat and the retention of DON in wheat during milling, processing and cooking**

38th Toxic Microorganisms joint UJNR Panel Meeting,

<sup>\*1</sup> (独) 食品総合研究所

<sup>\*2</sup> 神戸市環境保健研究所

<sup>\*3</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*4</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*5</sup> 東京大学大学院

中島正博<sup>\*1</sup>, 新山和人<sup>\*2</sup>, 青柳光敏<sup>\*2</sup>, 長南隆夫<sup>\*2</sup>, 会田紀雄<sup>\*3</sup>, 田端節子<sup>\*4</sup>, 久城真代<sup>\*5</sup>, 田中健治<sup>\*5</sup>, 水野和俊<sup>\*3</sup>, 石黒瑛一<sup>\*3</sup>, 金丸直樹<sup>\*6</sup>, 南沢正敏<sup>\*6</sup>, 濃野正典<sup>\*7</sup>, 田中敏嗣<sup>\*8</sup>, 中家陽子<sup>\*9</sup>, 木船信行<sup>\*10</sup>, 小西良子, 熊谷 進<sup>\*11</sup>: 小麦中のデオキシニバレノール分析法の複数機関による評価研究 - HPLC 法および ELISA 法について -

日本食品衛生学会第 86 回学術講演会 (2003. 10)

<sup>\*1</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*2</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*3</sup> 肥飼料検査所

<sup>\*4</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*5</sup> (独) 食品総合研究所

<sup>\*6</sup> 日本穀物検定協会

<sup>\*7</sup> 横浜検疫所

<sup>\*8</sup> 神戸市環境保健研究所

<sup>\*9</sup> 神戸検疫所

<sup>\*10</sup> 日本食品分析センター

<sup>\*11</sup> 東京大学大学院

小西良子, 長南隆夫<sup>\*1</sup>, 田中敏嗣<sup>\*2</sup>, 吉川邦衛<sup>\*3</sup>, 高鳥浩介, 熊谷 進<sup>\*4</sup>: 製粉, 調理工程におけるデオキシニバレノールの減衰

日本食品衛生学会第 86 回学術講演会 (2003. 11)

<sup>\*1</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*2</sup> 神戸市環境保健研究所

<sup>\*3</sup> 東京農業大学

<sup>\*4</sup> 東京大学大学院

Poapolatthep, A.<sup>\*</sup>, Sugita-Konishi, Y., Doi, K.<sup>\*</sup> and Kumagai, S.<sup>\*</sup>: **Toxicological characteristics of nivalenol trichothecene mycotoxin in mice. .**

ASIATOX III, Thailand, (2004.2)

\* 東京大学大学院

Tsunoda I, M.<sup>\*</sup>, Konno N.<sup>\*</sup> and Sugita-Konishi, Y. : **The effects of tributyltin (TBT) on neurotransmitters and NMDA receptors in the brains of ICR mouse offspring.**

43th Annual meeting Society of Toxicology (2004.3)

\* 福島県立医科大学

Kobayashi, K., Watanabe, T., Sugita-Konishi, Y. : **Downregulation of MDR1B mRNA expression in the kidney of next generation exposed to tributyltin chloride. ,**

43th Annual meeting Society of Toxicology (2004.3)

小西 良子, 小林 一夫, 阪中 専二<sup>\*1</sup>, JUNEJA LEKH RAJ<sup>\*2</sup>, 天野 富美夫<sup>\*3</sup>: 鶏卵卵黄シアリル糖ペプチド-難消化性多糖複合体の食中毒菌感染予防効果

日本農芸化学会 2004 年度大会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 広島県立大学

<sup>\*2</sup> 太陽化学(株) 基礎研究所

<sup>\*3</sup> 大阪薬科大学

塚崎 匡<sup>\*1</sup>, 薩 秀夫<sup>\*1</sup>, 川上 浩<sup>\*2</sup>, 小西 良子, 清水 誠<sup>\*1</sup>: トリブチルスズの腸管上皮 Caco-2 細胞層透過を調節する乳由来成分の解析

日本農芸化学会 2004 年度大会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 東京大学大学院

<sup>\*2</sup> 雪印(株) 基礎研究所

坂田隠行<sup>\*</sup>, 小西良子, 小林一夫, 好田 正<sup>\*</sup>, 高橋幸資<sup>\*</sup>, 服部 誠<sup>\*</sup>: 大豆タンパク質由来糖ペプチドの腸管感染症予防効果

日本農芸化学会 2004 年度大会 (2004. 3)

\* 東京農工大学農学部

奥田晴宏: コモン・テクニカル・ドキュメント (CTD) - CTD-Q を中心として -

第 9 回 ICH 即時報告会 (2003. 8)

Okuda H. : **Present situation of new chiral drug application on Japan**

15th International Symposium on Chirality (ISCD-15) (2003.10)

Shimazawa R., Nagata R., Okuda H, Toyoshima S.: **Issues related to quality evaluation of new drug substances and drug products**

Fifth AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (2003.10)

嶋澤るみ子, 奥田晴宏, 永井尚美, 豊島聡: 新化学合成医薬品のキラリティーに関する検討事項について

日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 稲見圭子<sup>\*3</sup>, 望月正隆<sup>\*3</sup>, 浦野四郎<sup>\*4</sup>, 松本茂信<sup>\*5</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊東 忍<sup>\*5</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: ビタミン E モデルラジカルの金属イオンによる安定化

第 13 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (2003, 6)

<sup>\*1</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup> 大阪大学大学院工学研究科

<sup>\*3</sup> 共立薬科大学

<sup>\*4</sup> 東京都老人総合研究所

<sup>\*5</sup> 大阪市立大学大学院理学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 宮崎健太郎<sup>\*2</sup>, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 浦野四

郎<sup>\*2</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: フラボノイド系抗酸化剤のラジカル消去反応における金属イオンの加速効果

第13回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(2003.6)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院工学研究科

福原 潔, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 袴田 航, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 島田知一<sup>\*3</sup>, 宮崎健太郎<sup>\*3</sup>, 浦野四朗<sup>\*3</sup>, 宮田直樹<sup>\*4</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 平面型カテキン誘導体の合成と抗酸化作用

第25回日本フリーラジカル学会(2003.6)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>大阪大学大学院工学研究科

<sup>\*3</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*4</sup>名古屋市立大学大学院薬学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 宮崎健太郎<sup>\*3</sup>, 袴田 航, 浦野四朗<sup>\*3</sup>, 奥田晴宏, 宮田直樹<sup>\*4</sup>, 上田順市<sup>\*1</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 福原 潔, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: フラボノイド系抗酸化剤のラジカル消去機構

第25回日本フリーラジカル学会(2003.6)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>大阪大学大学院工学研究科

<sup>\*3</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*4</sup>名古屋市立大学大学院薬学研究科

福原 潔, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 宮崎健太郎<sup>\*2</sup>, 袴田 航, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 浦野四朗<sup>\*2</sup>, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 平面型カテキン誘導体の抗酸化機構の解析

第10回日本がん予防研究会(2003.6)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 宮崎健太郎<sup>\*2</sup>, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 浦野四朗<sup>\*2</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: フラボノイド系抗酸化剤のラジカル消去反応における金属イオンの加速効果

第13回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(2003.6)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 稲見圭子<sup>\*3</sup>, 望月正隆<sup>\*3</sup>, 浦野四朗<sup>\*2</sup>, 松本茂信<sup>\*4</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊東 忍<sup>\*5</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: ビタミンEモデルラジカルの金属イオンによる安定化

第13回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(2003.6)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>大阪大学大学院工学研究科

<sup>\*3</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*4</sup>東京都老人総合研究所

<sup>\*5</sup>大阪市立大学大学院理学研究科

福原 潔, 奥田晴宏: がん予防を目的とした新型カテキン誘導体の開発

第62回日本癌学会総会(2003.9)

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 宮崎健太郎<sup>\*2</sup>, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 袴田 航, 浦野四朗<sup>\*2</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔: フラボノイド系抗酸化剤アニオン種の酸化反応挙動

第36回酸化反応討論会(2003.10)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 清水健彦<sup>\*2</sup>, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 袴田 航, 宮崎健太郎<sup>\*2</sup>, 浦野四朗<sup>\*2</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔: フラボノイド系抗酸化剤の酸化における溶媒効果

第36回酸化反応討論会(2003.10)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 西澤千穂<sup>\*1</sup>, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 竹下啓蔵<sup>\*1</sup>, 鈴木和夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 丹野雅幸, 末吉祥子, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔: ピリジンN-オキシドの還元による活性酸素生成

第36回酸化反応討論会(2003.10)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 宮崎健太郎<sup>\*2</sup>, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 浦野四朗<sup>\*2</sup>, 上田順一<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 福原 潔, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: フラボノイド類の酸化還元挙動

第18回生体機能関連化学部会・第7回バイオテクノロジー部会,(2003.10)

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*3</sup>大阪大学大学院工学研究科

Fukuhara, K., Nakanishi, I.<sup>\*1</sup>, Hakamata, W., Ohkubo, K.<sup>\*2</sup>, Miyazaki, K.<sup>\*3</sup>, Urano, S.<sup>\*3</sup>, Miyata, N.<sup>\*4</sup>, Ozawa, T.<sup>\*1</sup>, Fukuzumi, S.<sup>\*2</sup>, Ikota, N.<sup>\*1</sup>, Okuda, H.: Planar Catechin Analogue as a New Type of Synthetic Antioxidant

5th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (2003.10).

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup>大阪大学大学院工学研究科

<sup>\*3</sup>芝浦工業大学工学部応用化学科

<sup>\*4</sup>名古屋市立大学大学院薬学研究科

Nakanishi, I.<sup>\*1</sup>, Ohkubo, K.<sup>\*2</sup>, Miyazaki, K.<sup>\*3</sup>, Urano, S.<sup>\*3</sup>, Okuda, H., Ozawa, T.<sup>\*1</sup>, Fukuzumi, S.<sup>\*2</sup>, Fukuhara, K., Ikota, N.<sup>\*1</sup>: Mechanism of Radical-Scavenging Reaction of Antioxidative Polyphenolic Flavones

5th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, K (2003.10).

<sup>\*1</sup>放射線医学総合研究所

\*2 大阪大学大学院工学研究科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

福原 潔, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 袴田 航, 中村友里子<sup>\*2</sup>, 清水健彦<sup>\*3</sup>, 樋口 創<sup>\*3</sup>, 増田 雄<sup>\*4</sup>, 奥 忠武<sup>\*4</sup>, 浦野四朗<sup>\*3</sup>, 齋藤慎一<sup>\*2</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 宮田直樹<sup>\*5</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 活性酸素毒性の予防を目的とした平面型カテキン誘導体の開発  
日本環境変異原学会第32回大会 (2003.11)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 東京理科大学理学部化学科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*4 日本大学生物資源科学部農芸化学科

\*5 名古屋市立大学大学院薬学研究科

福原 潔, 袴田 航, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 中村友里子<sup>\*2</sup>, 清水健彦<sup>\*3</sup>, 樋口 創<sup>\*3</sup>, 増田 雄<sup>\*4</sup>, 奥 忠武<sup>\*4</sup>, 浦野四朗<sup>\*3</sup>, 齋藤慎一<sup>\*2</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 脂溶性平面型カテキン誘導体の合成とラジカル消去能の解析  
第47回日本薬学会関東支部大会 (2003.11)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 東京理科大学理学部化学科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*4 日本大学生物資源科学部農芸化学科

Nakanishi, I.<sup>\*1</sup>, Ohkubo, K.<sup>\*2</sup>, Miyazaki, K.<sup>\*3</sup>, Hakamata, W., Urano, S.<sup>\*3</sup>, Ozawa, T.<sup>\*1</sup>, Okuda, H., Fukuzusmi, S.<sup>\*2</sup>, Ikota, N.<sup>\*1</sup>, Fukuhara, K.: A Planar Catechin Analogue Having a More Negative Oxidation Potential than (+)-Catechin as an Electron-Transfer Antioxidant against a Peroxyl Radical  
Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research, Asia (2003.11)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 大阪大学大学院工学研究科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

Nakanishi, I.<sup>\*1</sup>, Miyazaki, K.<sup>\*2</sup>, Ohkubo, K.<sup>\*3</sup>, Urano, S.<sup>\*2</sup>, Ueda, J.<sup>\*1</sup>, Hakamata, W., Okuda, H., Ozawa, T.<sup>\*1</sup>, Fukuzusmi, S.<sup>\*3</sup>, Fukuhara, K., Ikota, N.\*1: Oxidation Potentials of Antioxidative Flavonoids and the Radical-Scavenging Abilities

10th Annual Meeting of the Society for Free Radical Biology and Medicine (2003.11)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*3 大阪大学大学院工学研究科

福原 潔, 袴田 航, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 中村友里子<sup>\*2</sup>, 清水健彦<sup>\*3</sup>, 樋口 創<sup>\*3</sup>, 増田 雄<sup>\*4</sup>, 奥 忠武<sup>\*4</sup>, 浦野四朗<sup>\*3</sup>, 齋藤慎一<sup>\*2</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 平面型カテキン誘導体の開発 - 生活習慣病の予防及び治療薬を目指して -  
日本フリーラジカル学会関東支部会 (2003.12)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 東京理科大学理学部化学科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*4 日本大学生物資源科学部農芸化学科

福原 潔, 袴田 航, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>,

奥田晴宏: 天然抗酸化剤を利用した創薬化学: 平面型カテキンの合成と抗酸化能

第1回日本カテキン学会 (2004.1)

\*1 放射線医学総合研究所

福原 潔, 袴田 航, 中西郁夫<sup>\*1</sup>, 中村友里子<sup>\*2</sup>, 清水健彦<sup>\*3</sup>, 樋口 創<sup>\*3</sup>, 増田 雄<sup>\*4</sup>, 奥 忠武<sup>\*4</sup>, 浦野四朗<sup>\*3</sup>, 齋藤慎一<sup>\*2</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 宮田直樹<sup>\*5</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 脂溶性平面型カテキン誘導体の合成と抗酸化活性  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 東京理科大学理学部化学科

\*3 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*4 日本大学生物資源科学部農芸化学科

\*5 名古屋市立大学大学院薬学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 内藤有紀, 佐藤由紀子, 宮田直樹, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔: キノンによる酸化的DNA損傷の化学的解析  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*1 放射線医学総合研究所

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 西澤千穂<sup>\*1</sup>, 竹下啓蔵<sup>\*1</sup>, 鈴木和夫<sup>\*1</sup>, 丹野雅幸, 末吉祥子, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: ピリジン N-オキシド類の光還元によるヒドロキシルラジカル生成機構  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 清水健彦<sup>\*2</sup>, 大久保 敬<sup>\*3</sup>, 上田順市<sup>\*1</sup>, 葉丸晴子<sup>\*1</sup>, 浦野四郎<sup>\*2</sup>, 奥田晴宏, 福住俊一<sup>\*3</sup>, 福原 潔, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>: 天然抗酸化剤のラジカル消去能および一電子酸化電位に対する溶媒効果  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 芝浦工業大学工学部応用化学科

\*3 大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 上田順市<sup>\*1</sup>, 松本茂信<sup>\*1</sup>, 稲見圭子<sup>\*2</sup>, 望月正隆<sup>\*2</sup>, 福原 潔, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: 重水素化ビタミンEモデルラジカル-マグネシウム錯体のキャラクタリゼーション  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 共立薬科大学

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 西澤千穂<sup>\*1</sup>, 竹下啓蔵<sup>\*1</sup>, 鈴木和夫<sup>\*1</sup>, 丹野雅幸, 末吉祥子, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: ピリジン N-オキシド誘導体による活性酸素生成  
日本化学会第84春季年会 (2004.3)

日本化学会第84春季年会 (2004.3)

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 大阪大学大学院工学研究科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 清水健彦<sup>\*3</sup>, 浦野四郎<sup>\*3</sup>, 袴田 航, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>,

夫<sup>\*1</sup>: フェノール性抗酸化剤のラジカル消去反応に対する溶媒効果

日本化学会第84春季年会(2004.3)

<sup>\*1</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup> 大阪大学大学院工学研究科

<sup>\*3</sup> 芝浦工業大学工学部応用化学科

中西郁夫<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 大久保 敬<sup>\*2</sup>, 葉丸晴子<sup>\*1</sup>, 上田順市<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏, 小澤俊彦<sup>\*1</sup>, 福住俊一<sup>\*2</sup>, 伊古田暢夫<sup>\*1</sup>: フラボノイド系抗酸化剤および対応するアニオン種の一電子酸化電位

日本化学会第84春季年会(2004.3)

<sup>\*1</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>\*2</sup> 大阪大学大学院工学研究科

袴田 航, 山本恵美子<sup>\*1</sup>, 福原 潔, 望月正隆<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 酵素反応をトリガーとした活性酸素種発生化合物の開発

第25回日本フリーラジカル学会(2003.6)

<sup>\*1</sup> 共立薬科大学

袴田 航, 室井 誠<sup>\*1</sup>, 中村友里子<sup>\*2</sup>, 斎藤慎一<sup>\*2</sup>, 奥田晴宏, 福原 潔: カテキンのコンフォーメーション制御によるグルコシダーゼ阻害活性の増強

第52回日本応用糖質科学会(2003.9)

<sup>\*1</sup> 理化学研究所

<sup>\*2</sup> 東京理科大学理学部化学科

袴田 航, 山本恵美子<sup>\*1</sup>, 望月正隆<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏, 福原 潔: 小胞体ストレス応答を利用した新規抗ガン剤の開発

第47回日本薬学会関東支部大会(2003.11)

<sup>\*1</sup> 共立薬科大学

袴田 航, 山本恵美子<sup>\*1</sup>, 室井 誠<sup>\*2</sup>, 望月正隆<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏: 小胞体ストレス誘起能とDNA損傷能を有する化合物の開発

日本環境変異原学会第32回大会(2003.11)

<sup>\*1</sup> 共立薬科大学

<sup>\*2</sup> 理化学研究所

袴田 航, 山本恵美子<sup>\*1</sup>, 中村友里子<sup>\*2</sup>, 室井 誠<sup>\*3</sup>, 斎藤慎一<sup>\*1</sup>, 望月正隆<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏, 福原 潔: 活性酸素および小胞体ストレスによるアポトーシス誘導薬の開発

日本フリーラジカル学会関東支部(2003.12)

<sup>\*1</sup> 共立薬科大学

<sup>\*2</sup> 東京理科大学理学部化学科

<sup>\*3</sup> 理化学研究所

増田 雄<sup>\*1</sup>, 袴田 航, 中村 友里子<sup>\*2</sup>, 斎藤慎一<sup>\*2</sup>, 西尾俊幸<sup>\*1</sup>, 奥 忠武<sup>\*1</sup>, 奥田晴宏, 福原 潔: 新規カテキン誘導体の抗酸化活性とグルコシダーゼ阻害活性の増強

日本農芸化学会2004年度大会(2004.3)

<sup>\*1</sup> 日本大学生物資源科学部

<sup>\*2</sup> 東京理科大学理学部

袴田 航, 山本恵美子<sup>\*</sup>, 望月正隆<sup>\*</sup>, 奥田晴宏, 福原 潔: グルコシダーゼ阻害とDNA損傷によるアポトーシス誘起化合物の開発

日本農芸化学会2004年度大会(2004.3)

<sup>\*</sup> 共立薬科大学

星野 重樹<sup>\*</sup>, 末吉 祐介<sup>\*</sup>, 小川 真弘<sup>\*</sup>, 松石 紫<sup>\*</sup>, 近藤 亮宏<sup>\*</sup>, 袴田 航, 河内 隆<sup>\*</sup>, 西尾 俊幸<sup>\*</sup>, 奥 忠武<sup>\*</sup>:  $\alpha$ -グリコシダーゼの基質糖構造に対する認識能の多様性解析

日本農芸化学会2004年度大会(2004.3)

<sup>\*</sup> 日本大学生物資源科学部

袴田 航, 室井 誠<sup>\*1</sup>, 増田 雄<sup>\*2</sup>, 樋口 創<sup>\*3</sup>, 浦野 四郎<sup>\*3</sup>, 奥 忠武<sup>\*2</sup>, 奥田 晴宏, 福原 潔: 簡便なタモキシフェンおよびそれら誘導体合成法の開発とそれらの生物活性

第124回日本薬学会(2004.3)

<sup>\*1</sup> 理化学研究所抗生物質

<sup>\*2</sup> 日本大学生物資源科学部

<sup>\*3</sup> 芝浦工業大学工学部

佐藤匡史<sup>\*</sup>, 糸賀章登<sup>\*</sup>, 磯貝泰弘<sup>\*</sup>, 栗原正明, 山田齊爾<sup>\*</sup>, 河内 隆<sup>\*</sup>, 荒平正緒美<sup>\*</sup>, 西尾俊幸<sup>\*</sup>, 深澤親房<sup>\*</sup>, 奥 忠武<sup>\*</sup>: c型シトクロムにおけるヘム軸配位位置換による構造安定性の向上

日本農芸化学会2003年大会(2003.4)

<sup>\*</sup> 日大生資料

本澤 忍<sup>\*</sup>, 橘高敦史<sup>\*</sup>, 山本康弘<sup>\*</sup>, 藤島利江<sup>\*</sup>, 齋藤 望<sup>\*</sup>, 須原義智<sup>\*</sup>, 平阪幸四郎<sup>\*</sup>, 栗原正明, 岸本成史<sup>\*</sup>, 杉浦隆之<sup>\*</sup>, 和久敬蔵<sup>\*</sup>, 高山浩明<sup>\*</sup>: 2 $\alpha$ 位置換活性型ビタミンD<sub>3</sub>誘導体の一般的合成法と生物活性評価

日本ビタミン学会第55回大会(2003.5)

<sup>\*</sup> 帝京大薬

Fujishima, T.<sup>\*</sup>; Kittaka, A.<sup>\*</sup>; Kurihara, M.; Saito, N.<sup>\*</sup>; Honzawa, S.<sup>\*</sup>; Kishimoto, S.<sup>\*</sup>; Sugiura, T.<sup>\*</sup>; Waku, K.<sup>\*</sup>; Takayama, H.<sup>\*</sup>: 2,2-Functionalized Analogues of 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, The Potent Inducers of Cell Differentiation

12th Workshop on Vitamin D(2003.7)

<sup>\*</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

出水庸介<sup>\*1</sup>, 田中正一<sup>\*1</sup>, 土井光暢<sup>\*2</sup>, 栗原正明, 末宗 洋<sup>\*1</sup>: 環状 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジ置換アミノ酸を用いたヘリカル構造の制御

第40回化学関連支部合同九州大会(2003.7)

<sup>\*1</sup> 九州大薬

<sup>\*2</sup> 大阪薬大

大庭 誠<sup>\*1</sup>, 田中正一<sup>\*1</sup>, 末宗 洋<sup>\*1</sup>, 佐藤由紀子, 栗原正明: N末プロリンによるAibペプチドのヘリックス二次講堂の制御

第40回化学関連支部合同九州大会(2003.7)

<sup>\*1</sup> 九州大薬

Honzawa, S.<sup>\*</sup>; Suhara, Y.<sup>\*</sup>; Saito, N.<sup>\*</sup>; Kishimoto, S.<sup>\*</sup>; Fujishima, T.<sup>\*</sup>; Kurihara, M.; Sugiura, T.<sup>\*</sup>; Waku, K.<sup>\*</sup>; Takayama, H.<sup>\*</sup>; A. Kittaka, A.<sup>\*</sup>: Syntheses and Biological Activities of 2 $\alpha$ -Substituted 20-epi-vitamin D<sub>3</sub> Derivatives

The ASBMR 25th Annual Meeting(2003.9)

<sup>\*</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

Honzawa, S.\*; Suhara, Y.\*; Saito, N.\*; Kishimoto, S.\*; Fujishima, T.\*; Kurihara, M.\*; Sugiura, T.\*; Waku, K.\*; Takayama, H.\*; A. Kittaka, A.\*: **Syntheses and Biological Activities of 2 $\alpha$ -Substituted 20-epi-vitamin D<sub>3</sub> Derivatives**

AIMECS 03 (2003.10)

\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

Kurihara, M.\*; Sato, Y.\*; Nomoto, S.\*; Okuda, H.\*; Honzawa, S.\*; Saito, N.\*; Suhara, Y.\*; Fujishima, T.\*; Takayama, H.\*; Kittaka, A.\*: **Design and Synthesis of Ligands for Nuclear Receptors; VDR and RAR**

AIMECS 03 (2003.10)

\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

大庭誠\*, 田中正一\*, 末宗 洋\*, 佐藤由紀子, 栗原正明: **N末プロリンによる Aib ペプチドの二次構造制御**

第40回ペプチド討論会 (2003.10)

\*九大薬

田中正一<sup>\*1</sup>, 出水庸介<sup>\*1</sup>, 土井光暢<sup>\*2</sup>, 栗原正明, 末宗 洋<sup>\*1</sup>: **キラルな環状 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジ置換アミノ酸によるヘリックス 2次構造の制御**

第40回ペプチド討論会 (2003.10)

<sup>\*1</sup> 九大薬

<sup>\*2</sup> 大阪薬大

栗原正明, 佐藤由紀子, 野本哲史, 奥田晴宏, 大庭 誠\*, 出水庸介\*, 田中正一\*, 末宗 洋\*: **不斉中心を有するアミノ酸を含むオリゴペプチドのヘリカル構造の予測**

第40回ペプチド討論会 (2003.10)

\*九大薬

田中正一\*, 出水庸介\*, 土井光暢\*, 栗原正明, 末宗 洋\*: **ペプチド鎖上での不斉中心のみによるヘリックス 2次構造の制御**

第29回反応と合成の進歩シンポジウム (2003.10)

\*九大薬

藤島利江\*, 堤 龍司\*, 齋藤 望\*, 本澤 忍\*, 高山浩明\*, 橘高敦史\*, 栗原正明, 岸本成史\*, 杉浦隆之\*, 和久敬蔵\*: **スピロ環構造を有する新規 2位修飾活性型ビタミンD誘導体の合成, 及びビタミンD受容体への結合様式解析**

天然有機化合物討論会 (2003.10)

\*帝京大薬

藤島利江\*, 堤 龍司\*, 栗原正明, 高山浩明\*, 橘高敦史\*: **2位にスピロ環構造を有する活性型ビタミンD誘導体の合成**

第47回日本薬学会関東支部大会 (2003.10)

\*帝京大薬

Tanaka, M.\*; Demizu, Y.\*; Doi, M.\*; Kurihara, M.\*; Suemune, H.\*: **3<sub>10</sub>-Helical Structure of Peptides Composed of Chiral Cyclic  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Disubstituted  $\alpha$ -Amino Acid**

IKCOC-9 (2003.11)

\* Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

栗原正明, 佐藤由紀子, 野本哲史, 藤島利江\*, 齋藤 望\*, 本澤 忍\*, 高山浩明\*, 橘高敦史\*: **ビタミンD誘導体のVDRおよびVDR変異体との結合モデル**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*帝京大薬

栗原正明, 野本哲史, 松崎亜香里, 佐藤由紀子, 奥田晴宏, 齋藤 望\*, 本澤 忍\*, 藤島利江\*, 杉浦隆之\*, 和久敬蔵\*, 橘高敦史\*: **VDRの新規リガンドの設計と合成**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*帝京大薬

栗原正明, 佐藤由紀子, 野本哲史, 奥田晴宏, 田中正一\*, 出水庸介\*, 大庭 誠\*, 末宗 洋\*: **キラルアミノ酸を含むオリゴペプチドのヘリカル構造の予測**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*九州大薬

藤島利江\*, 堤 龍司\*, 栗原正明, 高山浩明\*, 橘高敦史\*: **2位にシクロアルカンを有する活性型ビタミンD誘導体の合成, 及びビタミンD受容体への結合様式解析**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*帝京大薬

藤島利江\*, 堤 龍司\*, 栗原正明, 齋藤 望\*, 本澤 忍\*, 杉浦隆之\*, 和久敬蔵\*, 橘高敦史\*: **2位にスピロ環構造を有する新規活性型ビタミンD誘導体の合成と生物活性**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*帝京大薬

本澤 忍<sup>\*1</sup>, 山本康弘<sup>\*1</sup>, Sara Peleg<sup>\*2</sup>, 平阪幸四郎<sup>\*1</sup>, 藤島利江<sup>\*1</sup>, 齋藤 望<sup>\*1</sup>, 栗原正明, 岸本成史<sup>\*1</sup>, 杉浦隆之<sup>\*1</sup>, 和久敬蔵<sup>\*1</sup>, 高山浩明<sup>\*1</sup>, 橘高敦史<sup>\*1</sup>: **2 $\alpha$ 位に芳香環を有する活性型ビタミンD誘導体のくる病II型関連変異VDRへの結合活性**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

<sup>\*1</sup> 帝京大薬

<sup>\*2</sup> テキサス大

本澤 忍<sup>\*1</sup>, 山本康弘<sup>\*1</sup>, 藤島利江<sup>\*1</sup>, 齋藤 望<sup>\*1</sup>, 栗原正明, 岸本成史<sup>\*1</sup>, 杉浦隆之<sup>\*1</sup>, 和久敬蔵<sup>\*1</sup>, Sara Peleg<sup>\*2</sup>, 橘高敦史<sup>\*1</sup>: **1位に疎水性置換基を持つ活性型ビタミンD<sub>3</sub>誘導体の合成**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

<sup>\*1</sup> 帝京大薬

<sup>\*2</sup> テキサス大

齋藤 望\*, 本澤 忍\*, 藤島利江\*, 栗原正明, 須原義智\*, 小園敏郎\*, 松本雅彦\*, 大森正幸\*, 高山浩明\*, 橘高敦史\*: **2 $\alpha$ -( $\omega$ -ヒドロキシアルコキシ)-20-epi-1 $\alpha$ , 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の合成と細胞分化誘導能の評価**

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*帝京大薬

高野由紀子\*, 大庭 誠\*, 栗原正明, 田中正一\*, 末宗 洋\*: **光学活性含窒素環状 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジ置換アミノ酸とそのペプチドの合成**



日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*九州大薬

出水庸介<sup>\*1</sup>, 田中正一<sup>\*1</sup>, 土井光暢<sup>\*2</sup>, 栗原正明, 末宗 洋<sup>\*1</sup>:  
水溶性キラル環状 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジ置換アミノ酸よりなるオリゴペ  
プチドの二次構造

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup>九州大薬

\*<sup>2</sup>大阪薬大

阿南浩輔<sup>\*</sup>, 出水庸介<sup>\*</sup>, 田中正一<sup>\*</sup>, 栗原正明, 末宗 洋<sup>\*</sup>: キ  
ラル環状 $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジ置換アミノ酸誘導体とそのペプチドの合  
成

日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*九州大薬

丹野雅幸, 末吉祥子, 栗原正明, 山越葉子, 奥田晴宏: フェ  
ントン試薬を利用した一酸化窒素(NO)発生反応

日本薬学会第124年会 (2004.3)

山越葉子, 土屋利江: 生物活性を指向したC60誘導体の合成  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

手島玲子: 3歳児の食物並びに吸入アレルゲン特異的IgE抗  
体価の実態調査

第15回日本アレルギー学会春季臨床大会 (2003.5)

手島玲子: 食物アレルギーの実験モデルとアレルゲン性評価  
第10回免疫毒性学会学術大会 (2003.9)

金澤由基子<sup>\*</sup>, 新藤智子<sup>\*</sup>, 斎藤義明<sup>\*</sup>, 白見憲司<sup>\*</sup>, 小島幸一<sup>\*</sup>,  
手島玲子: 経口感作および経口惹起によるマウスの食物  
アレルギーモデル(1)

第10回免疫毒性学会学術大会 (2003.9)

\*食品薬品安全センター

新藤智子<sup>\*</sup>, 金澤由基子<sup>\*</sup>, 斎藤義明<sup>\*</sup>, 白見憲司<sup>\*</sup>, 小島幸一<sup>\*</sup>,  
手島玲子: 経口感作および経口惹起によるマウスの食物ア  
レルギーモデル(2)

第10回免疫毒性学会学術大会 (2003.9)

\*食品薬品安全センター

澤田純一: 医薬品に関する免疫毒性試験ガイドライン(案)と  
ICH

第10回免疫毒性学会学術大会 (2003.9)

手島玲子: 人工胃液によるタンパク質の消化性—ILSI-HESI  
リングスタディーの結果—

ILSI HESI/ILSI Japan タンパク質のアレルギー誘発性に関す  
るワークショップ (2003.9)

中村亮介, 高木加代子, 佐藤義隆<sup>\*1</sup>, 佐々木伸雄<sup>\*1</sup>, 澤田純一,  
木谷誠一<sup>\*2</sup>, 手島玲子: Dog mastocytoma CM-MC cells ex  
press functional high-affinity receptors for IgG

第76回日本生化学会大会 (2003.10)

\*<sup>1</sup>東京大学

\*<sup>2</sup>東京水産大学

斎藤嘉朗, 佐伯真弓, 前川京子, 小澤正吾, 澤田純一: Protein-  
adduct formation of mexiletine  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

斎藤嘉朗, 蜂須賀暁子, 佐伯真弓, 前川京子, 手島玲子, 澤  
田純一: Assessing covalent binding activity of drugs with  
MHC class II peptides  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

中島治, 蜂須賀暁子, 手島玲子, 澤田純一: Study on a method  
for delivering recombinant scFv antibody into CNS  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

高木加代子, 手島玲子, 奥貫晴代, 伊藤さつき, 川崎ナナ,  
川西徹, 早川堯夫, 澤田純一: Digestive stability and aller  
genic potential of chicken egg white ovomucoid and their pep  
sin-fragments  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

奥貫晴代, 手島玲子, 佐藤雄嗣, 穂山浩, 米谷民雄, 澤田純  
一: Oral sensitization of W/W<sup>v</sup> mice with ovalbumin and pos  
sible involvement of the decrease in TCR  $\gamma\delta$ -T cells  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

佐藤義隆<sup>\*1</sup>, 手島玲子, 中村亮介, 佐々木伸雄<sup>\*1</sup>, 澤田純一,  
木谷誠一<sup>\*2</sup>: Mast cell activation via substance P  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

\*<sup>1</sup>東京大学

\*<sup>2</sup>東京水産大学

手島玲子, 奥貫晴代, 澤田純一: W/W<sup>v</sup> マウスのOVA経口  
投与によるASA誘導と $\gamma\delta$ T細胞について  
第53回日本アレルギー学会 (2003.10)

Sawada, J.: SNPs and haplotypes of genes encoding drug-me  
tabolizing enzymes and transporters in a Japanese popula  
tion

The International Symposium "Pharmacogenomics and Pharma  
cogenetics: Impact on Clinical Trial"(2003.11)

手島玲子: 遺伝子組換え食品とアレルギー  
お茶の水女子大学生生活環境センター, 食の安全性に関するシ  
ンポジウム part 1 (2003.12)

手島玲子: 組換えDNA食品の安全性  
日本食品衛生協会シンポジウム—食品の安全研究をめぐっ  
て (2004.1)

手島玲子, 中村亮介, 中島治, 蜂須賀暁子, 澤田純一: 肥満  
細胞の転写活性化への含窒素系農薬の影響  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

奥貫晴代, 手島玲子, 佐藤雄嗣, 澤田純一: W/W<sup>v</sup> マウスに  
おける CpG Oligodeoxynucleotides-OVA 経口感作による影響

日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

高木加代子, 奥貫晴代, 手島玲子, 澤田純一: 組換え食品中の新規蛋白質と患者血清の反応性評価法に関する研究  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

齋藤嘉朗, 福島(上坂)浩美, 駒村和雄<sup>\*1</sup>, 北風政史<sup>\*1</sup>, 中島敏治<sup>\*2</sup>, 齋藤博久<sup>\*2</sup>, 後藤雄一<sup>\*3</sup>, 木村英雄<sup>\*3</sup>, 田村友秀<sup>\*4</sup>, 南博信<sup>\*4</sup>, 吉田輝彦<sup>\*4</sup>, 西條長宏<sup>\*4</sup>, 鎌谷直之<sup>\*5</sup>, 小澤正吾, 澤田純一: 日本人における CYP3A4 の遺伝子多型及びハプロタイプ解析と CYP3A5 ハプロタイプとの連鎖  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 国立循環器病センター

<sup>\*2</sup> 国立成育医療センター

<sup>\*3</sup> 国立精神・神経センター

<sup>\*4</sup> 国立がんセンター

<sup>\*5</sup> 東京女子医科大学

佐伯真弓, 齋藤嘉朗, 神野透人, 頭金正博, 黒瀬光一, 鹿庭なほ子, 駒村和雄<sup>\*</sup>, 上野和行<sup>\*</sup>, 鎌倉史郎<sup>\*</sup>, 北風政史<sup>\*</sup>, 小澤正吾, 澤田純一: UGT1A1 遺伝子多型の pyrosequencing 法による迅速検出法の開発  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*</sup> 国立循環器病センター

中村亮介, 奥貫晴代, 齋藤嘉朗, 手島玲子, 澤田純一: フタル酸エステル類の mast 細胞に及ぼす genetic および non-genetic な影響  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

前川京子, 齋藤嘉朗, 小澤正吾, 赤羽悟美<sup>\*1</sup>, 川本学<sup>\*2</sup>, 鎌谷直之<sup>\*2</sup>, 駒村和雄<sup>\*3</sup>, 清水 渉<sup>\*3</sup>, 上野和行<sup>\*3</sup>, 鎌倉史郎<sup>\*3</sup>, 北風政史<sup>\*3</sup>, 澤田純一: 日本人におけるナトリウムチャンネル 5 型  $\alpha$  サブユニット (SCN5A) の遺伝子多型の検出  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 東京大学

<sup>\*2</sup> 東京女子医科大学

<sup>\*3</sup> 国立循環器病センター

古野忠秀<sup>\*1</sup>, 森尚子<sup>\*1</sup>, 鈴木亮<sup>\*1</sup>, 手島玲子, John Bienenstock<sup>\*2</sup>, 中西守<sup>\*1</sup>: 免疫・神経クロストークの動的分子機構  
日本薬学会第 124 年会 (2004. 3)

<sup>\*1</sup> 名古屋市立大学薬学部

<sup>\*2</sup> McMaster University

中村亮介, 佐藤義隆<sup>\*1</sup>, 高木加代子, 佐々木伸雄<sup>\*1</sup>, 澤田純一, 木谷誠一<sup>\*2</sup>, 手島玲子: Canine mastocytoma CM-MC cells express two variants of high-affinity receptors for IgG  
60th AAAAI Annual Meeting (2004.3)

<sup>\*1</sup> 東京大学

<sup>\*2</sup> 東京水産大学

Inoue, K.: Chronic pain and microglia: the role of ATP receptor. The 4th International symposium on receptor mechanisms, signal transduction and drug effects. (2003.5)

Tsuda, M.: Role of ionotropic ATP receptors P2XRs in pain signaling.

痛み可塑性シンポジウム (2003. 5)

檜楨大介, 小泉修一, 溝腰朗人, 津田 誠, 重本- 最上由香里, 井上和秀: P2Y2 受容体刺激により惹起されるアロディニア.

生理学研究所研究会 (2003. 8)

藤下加代子, 小泉 修一, 井上かおり, 最上- 重本由香里, 井上 和秀: ヒト表皮ケラチノサイトで惹起された Ca<sup>2+</sup> wave は細胞外 ATP 及び P2Y2 受容体を介して知覚神経に伝達される.

生理学研究所研究会 (2003. 8)

檜楨大介, 小泉修一, 井上和秀: G タンパク共役型 ATP 受容体 P2Y2 によるアロディニア岡崎.

生理学研究所研究会「痛みの基礎と臨床」(2003. 9)

Inoue, K., Tsuda, M. and Koizumi, S.: A P2X receptor subtype in spinal cord causes tactile allodynia by peripheral nerve injury. The symposium, "Medicinal chemistry and pharmacology of purinergic receptors". (2003.9)

Inoue, K., Tsuda, M. and Koizumi, S.: Chronic pain and microglia: the role of ATP.

Novartis Foundation Symposium 261: Pathological pain: from molecular to clinical aspects. (2003.9)

井上和秀, 津田 誠, 小泉修一: 脊髄内ミクログリアの活性化と神経因性疼痛: ATP 受容体 P2X4 の関与.

第 8 回グリア研究会 (2003. 10)

井上和秀: 神経因性疼痛発症と脊髄内ミクログリア: ATP 受容体の関与

第 8 回神経科学領域における分子モニタリングシンポジウム(2003. 10)

Tsuda, M., Fam, S.R., Gallagher, C.J. and Salter, M.W.: PKC phosphorylation site in the carboxyl tail of P2Y1R is required for agonist-dependent rapid negative feedback

第 33 回北米神経科学学会 (2003. 11)

井上和秀: 神経因性疼痛発症と脊髄内ミクログリア: ATP 受容体の関与.

第 62 回千里神経懇話会 (新適塾) (2004. 1)

井上和秀, 津田 誠, 小泉修一: 行動薬理学によって初めてわかった ATP 受容体と痛みの関係.

第 13 回神経行動薬理若手研究者の集い・招待講演 (2004. 3)

井上和秀, 津田誠, 小泉修一: 痛覚系に關与する ATP 受容体. 第 77 回日本薬理学会年会・シンポジウム (2004. 3)

檜楨大介, 小泉修一, 溝腰朗人, 津田 誠, 重本-最上由香里, 井上和秀: UTP により惹起される異痛症発現機序の解明.

第77回日本薬理学会年会(2004.3)

藤下加世子, 小泉修一, 重本-最上由香里, 津田誠, 井上和秀: ヒト表皮ケラチノサイトにおいてレチノイン酸により誘導されるP2受容体発現の変化の検討.  
第77回日本薬理学会年会(2004.3)

井上かおり\*, 傳田光洋\*, 藤原重良, 戸崎秀俊, 藤下加世子, 小泉修一, 井上和秀: 皮膚におけるP2X受容体機能の解析.  
第77回日本薬理学会年会(2004.3)  
\* 資生堂ライフサイエンス研究センター

篠崎陽一, 石田誠一, 小泉修一, 井上和秀: ATPはP2Y1受容体を介して酸化ストレスによる細胞障害からアストロサイトを保護する  
第77回日本薬理学会年会(2004.3)

戸崎秀俊, 小泉修一, 井上和秀: レチノイン酸による初代培養ミクログリアのP2X4受容体発現増強  
第77回日本薬理学会年会(2004.3)

鈴木智久\*<sup>1</sup>, 松原明代\*<sup>1</sup>, 高坂新一\*<sup>2</sup>, 井上和秀, 秀和泉\*<sup>1</sup>, 仲田義啓\*<sup>1</sup>: P2X7受容体活性化ミクログリアの神経保護作用  
第77回日本薬理学会年会(2004.3)  
\*<sup>1</sup> 広島大学医歯薬総合研究科  
\*<sup>2</sup> 国立精神神経センター神経研究所

井上和秀: ATP受容体を介したミクログリアの機能調節: 痛み  
第43回日本定位・機能神経外科学会(2004.4)

Hirayama, A.\*<sup>1</sup>, Adachi, R., Mizuno, K.\*<sup>2</sup>, Kasahara, T.\*<sup>1</sup> and Suzuki, K.: Cofilin/LIM-kinase modulates chemotaxis of phagocytes  
第76回日本生化学会大会(2003.10)  
\*<sup>1</sup> 共立薬科大学  
\*<sup>2</sup> 東北大学

Watanabe, H.\*<sup>1</sup>, Adachi, R., Hirayama, A.\*<sup>1</sup>, Kasahara, T.\*<sup>1</sup> and Suzuki, K.: Effects of endocrine disruptors on gene expression during differentiation of leukocytes  
第33回日本免疫学会総会・学術集会(2003.12)  
\* 共立薬科大学

安達玲子, 鈴木和博, 武内恒成\*: マクロファージの反応性に対するコフィリンアンチセンスの効果  
第4回Pharmaco-Hematologyシンポジウム(2003.6)  
\* 名古屋大学

Takeya, T., Fujino, T., Yokoyama, S.\*<sup>1</sup>, Inoue, K. and Nishimaki-Mogami, T.: ACAT inhibitor induces ABCA1 expression and enhances formation of HDL with endogenous apoA-I in rat hepatoma McA-RH7777 cells  
第76回日本生化学会大会(2003.10)  
\* 名古屋市立大学大学院医学研究科

Fujino, T., Sato, Y., Une, M.\*<sup>1</sup>, Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi,

T., Shudo, K., Inoue, K. and Nishimaki-Mogami, T.: In vitro FXR ligand sensor assay using surface plasmon resonance and based on ligand-induced coactivator association  
第76回日本生化学会大会(2003.10)  
\* 広島大学大学院医歯薬総合研究科

Fujino, T., Une, M.\*<sup>1</sup>, Sato, Y., Tohkin, M., Inoue, K., Nishimaki-Mogami, T.: Identification of bile acid precursors as endogenous ligands for FXR that mediate the negative feedback regulation of bile acid synthesis  
第76回日本生化学会大会(2003.10)  
\* 広島大学大学院医歯薬総合研究科

Une, M.\*<sup>1</sup>, Fujino, T., Sato, Y., Inoue, K., Imanaka, T.\*<sup>2</sup> and Nishimaki-Mogami, T.: Structure-activity relationship of bile acids and bile acid analogs in regard to FXR activation  
第76回日本生化学会大会(2003.10)  
\*<sup>1</sup> 広島大学大学院医歯薬総合研究科  
\*<sup>2</sup> 富山医科薬科大学薬学部

Nishimaki-Mogami, T., Fujino, T., Une, M.\*<sup>1</sup>, Sato, Y., Tohkin, M. and Inoue, K.: Bile acid precursors are endogenous ligands for FXR and mediate the negative feedback regulation of bile acid synthesis  
XIIIth International Symposium on Atherosclerosis(2003.10)  
\* 広島大学大学院医歯薬総合研究科

宇根瑞穂\*<sup>1</sup>, 藤野智史, 佐藤陽治, 井上和秀, 最上(西巻)知子: 胆汁酸生成中間体もFXRリガンドとして機能している?  
第25回胆汁酸研究会(2003.11)  
\*<sup>1</sup> 広島大学大学院医歯薬総合研究科

最上(西巻)知子, 藤野智史, 佐藤陽治, 為広紀正, 影近弘之\*<sup>1</sup>, 堂前純子\*<sup>2</sup>, 横山信治\*<sup>2</sup>, 井上和秀: RXRアゴニストによるABCA1発現とHDL新生の促進  
日本レチノイド研究会第14回学術集会(2003.11)  
\*<sup>1</sup> 東京大学大学院薬学系研究科  
\*<sup>2</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科

藤野智史, 宇根瑞穂\*<sup>1</sup>, 佐藤陽治, 首藤紘一, 井上和秀, 最上(西巻)知子: 胆汁酸生成中間体はRXR二量体型核内レセプターFXRの内因性リガンドである  
日本レチノイド研究会第14回学術集会(2003.11)  
\*<sup>1</sup> 広島大学大学院医歯薬総合研究科

為広紀正, 佐藤陽治, 浅川義範\*<sup>1</sup>, 橋本敏博\*<sup>1</sup>, 横山信治\*<sup>2</sup>, 首藤紘一, 大野泰雄, 井上和秀, 最上(西巻)知子: ABCA1誘導とHDL新生を促進する新規LXRアゴニスト  
日本薬学会第124年会(2004.3)  
\*<sup>1</sup> 徳島文理大学薬学部  
\*<sup>2</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科

最上(西巻)知子, 藤野智史, 宇根瑞穂\*<sup>1</sup>, 佐藤陽治, 河原陽介, 首藤紘一, 井上和秀: 胆汁酸生成中間体は核内レセプターFXRの内因性リガンドである

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\* 広島大学大学院医歯薬総合研究科

河原陽介<sup>\*2</sup>, 宇根瑞穂<sup>\*1</sup>, 為広紀正, 吉田武美<sup>\*2</sup>, 井上和秀, 最上(西巻)知子: サメ肝油などに含まれる胆汁アルコールは FXR を活性化する

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 広島大学大学院医歯薬総合研究科\*<sup>2</sup> 昭和大学薬学部

Nishimaki-Mogami, T., Fujino, T., Une, M., Sato, Y., Shudo, K. and Inoue, K.: Identification of intermediates of Bile acid synthetic pathway as ligands for FXR

Keystone Symposia, Nuclear Receptors: Orphan Brothers (J7) (2004.3)

\* 広島大学大学院医歯薬総合研究科

Sai, K., Kaniwa, N., Itoda, M., Saito, Y., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Ozawa, S. and Sawada, J.: ABCB1/MDR1 haplotype - dependent renal clearance of irinotecan in a Japanese population

12th North American ISSX Meeting (2003. 10)

\* 国立がんセンター

山本美智子, 中野達也, 大塚文, 大屋幸江, 黒田伸子, 高橋薫, 竹村玲子<sup>\*1</sup>, 田崎武信<sup>\*2</sup>, 森川 馨: 海外規制機関による医薬品安全性情報の収集, 検討および提供 -COX2 阻害剤の安全性情報を中心に-

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 冲中記念成人病研究所\*<sup>2</sup> 塩野義製薬解析センター

森川 馨, 竹村玲子<sup>\*1</sup>, 田中知子, 大塚 文, 大屋幸江, 黒田伸子, 高橋 薫, 中野達也, 山本美智子, 田崎武信<sup>\*2</sup>: 2003年海外規制機関における精神神経薬の副作用に関する安全情報

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 冲中記念成人病研究所\*<sup>2</sup> 塩野義製薬(株)解析センター

竹村玲子<sup>\*1</sup>, 山本美智子, 森川 馨: ホルモン補充療法の副作用に関する米国大規模臨床試験と英国大規模コホート研究

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 冲中記念成人病研究所

中野達也, 大屋幸江, 高橋薫, 大塚文, 黒田伸子, 瀧明子, 辻澄子, 竹村玲子<sup>\*1</sup>, 山本美智子, 森川馨: 海外規制機関情報を中心とした医薬品安全性情報収集システムの構築

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 冲中記念成人病研究所

高橋宏次<sup>\*1</sup>, 田原 務<sup>\*1</sup>, Micael Hawley<sup>\*1</sup>, Gregory Amidon<sup>\*1</sup>, Jeffery Price<sup>\*1</sup>, Edward Cilkowski<sup>\*1</sup>, Alice Martino<sup>\*1</sup>, Sy-Juen Wu<sup>\*1</sup>, 檜山行雄, 森川 馨: 結晶多形の評価とその開発に関する影響および製剤化に適した結晶の粒子径についての研究

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> ファルマシア(株)

竹川恵弘<sup>\*1</sup>, 岩下茂樹<sup>\*1</sup>, 岡田 亮<sup>\*1</sup>, 中川隆義<sup>\*1</sup>, 白岩雅文<sup>\*1</sup>, 坂田純一<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 開発初期における不純物の制御に焦点を当てた原薬製造プロセスの設定

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 帝国臓器製薬(株)

森本 潤<sup>\*1</sup>, 池田正広<sup>\*1</sup>, 草井 章<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 変動因子を考慮した固定層吸着カラム精製の品質保証に関する研究

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 三共(株)

石橋信康<sup>\*1</sup>, 及川栄輝<sup>\*1</sup>, 向井浩二<sup>\*1</sup>, 池 和夫<sup>\*1</sup>, 下条芳敬<sup>\*1</sup>, 百永眞士<sup>\*1</sup>, 川上良一<sup>\*1</sup>, 加々良耕二<sup>\*1</sup>, 檜山行雄, 森川 馨: 原薬粒子径設計に及ぼす晶析操作因子の設定と種晶の影響

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 藤沢薬品工業(株)

中村晃敏<sup>\*1</sup>, 増井義之<sup>\*1</sup>, 樺木幹雄<sup>\*1</sup>, 芥子直義<sup>\*1</sup>, 尾張琢也<sup>\*1</sup>, 鴻池敏郎<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 原薬の開発初期における結晶多形または疑似結晶多形のスクリーニングに関する研究

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 塩野義製薬(株)

瀧川悌二<sup>\*1</sup>, 齋藤弘幸<sup>\*1</sup>, 久武義彦<sup>\*1</sup>, 左右田茂<sup>\*1</sup>, 森川馨: 溶媒蒸気乾燥法による残留溶媒除去

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> エーザイ(株)

犬飼和良<sup>\*1</sup>, 金澤あずさ<sup>\*1</sup>, 宮寺彰彦<sup>\*1</sup>, 檜山行雄, 森川 馨: マイクロバランス法による原薬吸脱湿性把握と含量測定法改良

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 第一製薬(株)

田野倉武己<sup>\*1</sup>, 小山嘉一郎<sup>\*1</sup>, 田村邦雄<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 原薬製造設備における洗浄性決定因子の特定と洗浄方法設定

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 中外製薬(株)

橋本霞人<sup>\*1</sup>, 平田 淳<sup>\*1</sup>, 前川宗則<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 還流による反応釜の洗浄と原薬設備における留意点

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 千代田化工建設(株)

原田恒樹<sup>\*1</sup>, 河野 剛<sup>\*1</sup>, 石川 聡<sup>\*1</sup>, 渡辺恵市郎<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 原薬構造設備における移送配管内の残液に影響する要素の特定と残液量の予測

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

\*<sup>1</sup> 日揮(株)

福井栄司<sup>\*1</sup>, 泉本真一<sup>\*1</sup>, 池田一史<sup>\*1</sup>, 林 公明<sup>\*1</sup>, 沼波憲一<sup>\*1</sup>, 森川 馨: 原薬に及ぼす包装材料添加剤の影響

## 日本薬学会第124年会 (2004.3)

## \*1 田辺製薬(株)

本田昌徳<sup>\*1</sup>, 日高由雄<sup>\*1</sup>, 森田広正<sup>\*1</sup>, 播磨 武<sup>\*1</sup>, Nveille Broad<sup>\*1</sup>, Maris Simon<sup>\*1</sup>, 檜山行雄, 森川 馨: 近赤外(NIR)分光法を用いる分析法のバリデーション  
日本薬学会第124年会(2004.3)

## \*1 ファイザー製薬(株)

春日文子: 微生物学的リスクマネジメントにおけるリスクアセスメントの利用 - Food Safety Objective の導入について  
第13回獣疫学会学術集会一般講演会(2003.4)

宇佐神美孝<sup>\*1</sup>, 藤井香予子<sup>\*1</sup>, 西島基弘<sup>\*1</sup>, 新井麻奈未<sup>\*2</sup>, 中川 弘<sup>\*2</sup>, 伊藤 武<sup>\*2</sup>, 広田雅光, 伊藤嘉典, 春日文子: 調理過程における *Vibrio parahaemolyticus* の動的動態について  
食品衛生学会第85回学術講演会(2003.5)

## \*1 実践女子大学

## \*2 財団法人東京顕微鏡院

岸本 満<sup>\*1</sup>, 日置祐一<sup>\*2</sup>, 岡野哲也<sup>\*2</sup>, 春日文子, 小沼博隆<sup>\*3</sup>, 高見澤一裕<sup>\*4</sup>: 調理施設より分離された *Staphylococcus aureus* のリポタイピングと伝播実態  
防菌防黴学会第30回年次大会, 2003年5月27日

## \*1 名古屋栄養専門学校

## \*2 花王株式会社

## \*3 東海大学

## \*4 岐阜大学

Ogden, I.D.<sup>\*1</sup>, Kasuga, F., Doyle, M.P.<sup>\*2</sup>, Pennington, T.H.<sup>\*1</sup> and Strachan, N.J.C.<sup>\*1</sup>: Dose response modelling of *E. coli* O157 as a tool in outbreak epidemiology VTEC 2003 (5th International Symposium on 'Shiga Toxin (Verocytotoxin) - Producing Escherichia coli Infections'), (2003.6)

## \*1 University of Aberdeen

## \*2 University of Georgia

Kasuga, F., Yamamoto, A.<sup>\*1</sup>, Iwahori, J.<sup>\*2</sup>, Vuddhakul, V.<sup>\*3</sup>, Jaroenjiratrakul, W.<sup>\*3</sup>, Kalnawakul, S.<sup>\*3</sup>, Chowdhury, A.<sup>\*4</sup>, Shigematsu, M.<sup>\*5</sup>, Osaka, K.<sup>\*5</sup>, Toyofuku, H.<sup>\*6</sup>, Yamamoto, S., Nishibuchi, M.<sup>\*4</sup>: Quantitative risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in Southern Thailand  
International Association for Food Protection 90th Annual Meeting (2003.8)

## \*1 兵庫県立健康環境科学研究センター

## \*2 高知医科大学

## \*3 Prince of Songkla University

## \*4 京都大学

## \*5 国立感染症研究所

## \*6 WHO

藤井香予子<sup>\*1</sup>, 宇佐神美孝<sup>\*1</sup>, 西島基弘<sup>\*1</sup>, 新井麻奈未<sup>\*2</sup>, 中川弘<sup>\*2</sup>, 伊藤武<sup>\*2</sup>, 広田雅光, 伊藤嘉典, 春日文子: *Salmonella Enteritidis* のスポンジを介した調理器具への移動動態  
食品衛生学会第86回学術講演会(2003.10)

## \*1 実践女子大学

## \*2 財団法人東京顕微鏡院

窪田邦宏, 春日文子, Vose, D.<sup>\*1</sup>, 森川馨: 微生物学的リスクアセスメントにおける調理中の二次汚染の確率論的解析  
日本薬学会第124年会, 大阪市, 2004年3月29日

## \*1 Vose Consulting Ltd

登田美桜, 畝山智香子, 山本 都, 森川 馨: 食品の安全に関する情報収集のあり方について - いわゆる健康食品による健康被害事例 -  
日本薬学会第124年会(2004.3)

奈女良 昭<sup>\*1</sup>, 屋敷幹雄<sup>\*1</sup>, 山本貴司<sup>\*2</sup>, 徳永雅彦<sup>\*2</sup>, 山本 都, 森川 馨: 薬毒物迅速検査法の集約および Web システムの構築

日本薬学会第124年会(2004.3)

## \*1 広島大学大学院

## \*2 (株) アドイン研究所

山本 都: ミニシンポ「国際化時代における食に関わる化学物質と安全性」: 国際的食品安全情報の収集と発信  
日本薬学会第124年会(2004.3)

森田 健, 横手規子, 石光 進, 森川 馨: 子供に対する化学物質の安全性評価に関する国際的取組み  
日本薬学会第124年会(2004.3)

森田 健: ハイスループット遺伝毒性試験  
第41回 JEMS・MMS (日本環境変異原学会哺乳動物試験研究会) 定例研究会(2003.6)

森田 健: ハイスループット細菌遺伝毒性試験  
JEMS・BMS (日本環境変異原学会微生物試験) 研究会(2003.7)

須井 哉<sup>\*</sup>, 原 巧<sup>\*</sup>, 川上久美子<sup>\*1</sup>, 大山徳子<sup>\*</sup>, 森田 健: ハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法の検討 2  
日本環境変異原学会第32回大会(2003.11)

## \*1 食品薬品安全センター

愛澤昌宏<sup>\*1</sup>, 小野寺賢司<sup>\*1</sup>, 張軍衛<sup>\*1</sup>, 甘利真司<sup>\*1</sup>, 岩澤義郎<sup>\*2</sup>, 中野達也, 中田琴子: KiBank: タンパク質-化学物質相互作用解析支援データベース  
日本薬学会第124回年会(2004.3)

## \*1 東京大学生産技術研究所

## \*2 アドバンスソフト(株)

Nakata, K., Momose, H. <sup>\*1</sup>, Tanaka, Y. <sup>\*1</sup>, Tanaka, H. <sup>\*2</sup> and Kaminuma, T. <sup>\*3</sup>: Extension of Receptor Database and Drug Targets.

Biophysical Society 48th Annual Meeting (2004.2)

## \*1 東京医科歯科大学大学院

## \*2 東京医科歯科大学難治疾患研究所

## \*3 広島大学

Zhang, J. <sup>\*1</sup>, Aizawa, M. <sup>\*1</sup>, Onodera K. <sup>\*1</sup>, Amari S. <sup>\*1</sup>, Iwasawa Y. <sup>\*2</sup>, Nakata K.: KiBank: A Database for Molecular Interac-

**tion Analysis between Proteins and Chemicals.**

CBI学会第4回年会(2003.9)

\*1 東京大学生産技術研究所

\*2 アドバンスソフト(株)

Nakata, K., Tokunaga, M. \*1, Komiyama, N. \*2 and Kaminuma, T. \*3:  
**From Drug Target to Pathways.**New Horizons in Molecular Sciences and Systems: An Integrated  
Approach. (2003.10)

\*1 アドイン研究所

\*2 CBI学会

\*3 広島大学

百瀬大樹\*1, 神沼二真\*2, 田中義智\*1, 中田琴子, 田中博\*3: 核  
内受容体 PPAR の標的遺伝子の探索

CBI学会第4回年会(2003.9)

\*1 東京医科歯科大学大学院

\*2 広島大学

\*3 東京医科歯科大学難治疾患研究所

田中義智\*1, 神沼二真\*2, 百瀬大樹\*1, 中田琴子, 田中博\*3:  
医薬品の相互作用に関連した核内受容体の標的遺伝子の探索

CBI学会第4回年会(2003.9)

\*1 東京医科歯科大学大学院

\*2 広島大学

\*3 東京医科歯科大学難治疾患研究所

Nakata, K., Saithoh, R. \*1, Tokunaga, M. \*2: **A Transporter Data-  
base as a Drug Target Database.**The 4th International Symposium on Receptor Mechanisms, Sig-  
nal Transduction and Drug Effects. (2003.5)

\*1 早稲田大学理工学部

\*2 アドイン研究所

小谷明\*1, 岩上猛\*2, 植田泰輔\*2, 木村良夫\*2, 林 譲, 松田り  
え子, 楠文代\*1: 電位規制ボルタンメトリー用測定システム  
の FUMI 理論を利用したノイズ評価

第64回分析化学討論会(2003.5)

\*1 東京薬科大学

\*2 林純薬工業

林 譲, 松田りえ子, 今井一洋\*1, 西村和香\*2, 伊藤克敏\*2, 前  
田昌子\*2: ELISA の精度と検出限界 1. 精度の推定

免疫化学測定法研究会第8回学術集会(2003.6)

\*1 武蔵野大学薬学研究所

\*2 昭和大学薬学部

林 譲, 松田りえ子, 今井一洋\*1, 西村和香\*2, 伊藤克敏\*2, 前  
田昌子\*2: ELISA の精度と検出限界 2. 検出限界の定義と  
求め方

免疫化学測定法研究会第8回学術集会(2003.6)

\*1 武蔵野大学薬学研究所

\*2 昭和大学薬学部

林 譲, 松田りえ子: 定量分析の不確かさの推定  
第169回液体クロマトグラフィー研究懇談会(2003.7)林 譲, 松田りえ子, 今井一洋\*1, 西村和香\*2, 伊藤克敏\*2, 前  
田昌子\*2: イムノアッセイにおける検出限界の求め方の提案

第16回バイオメディカル分析科学シンポジウム(2003.8)

\*1 武蔵野大学薬学研究所

\*2 昭和大学薬学部

林 譲, 松田りえ子, 伊藤克敏\*1, 前田昌子\*: 競合法イムノ  
アッセイの検出限界について

第9回日本環境毒性学会・バイオアッセイ研究会(2003.8)

\*1 昭和大学薬学部

林 譲, 松田りえ子, 今井一洋\*1, 西村和香\*2, 伊藤克敏\*2, 前  
田昌子\*2: 競合法イムノアッセイにおける検出限界を B/B0  
曲線から求める方法

日本分析化学会第52年会(2003.9)

\*1 武蔵野大学薬学研究所

\*2 昭和大学薬学部

小谷明\*1, 林 譲, 松田りえ子, 楠文代\*: FUMI 理論を利用  
したセミマイクロ HPLC 用のアンペロメトリック型フローセ  
ルの最適化

第9回 LC テクノプラザ(2004.2)

\*1 東京薬科大学

小谷明\*1, 林 譲, 松田りえ子, 楠文代\*: 電気化学検出 HPLC  
システムの FUMI 理論を用いた最適化

フィジカルファーマフォーラム 2004(2004.3)

\*1 東京薬科大学

小谷明\*1, 林 譲, 松田りえ子, 楠文代\*: 電気化学検出 HPLC  
によるカテキン類の高感度定量のための電解セル

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 東京薬科大学

中野達也, 福澤 薫\*1, 原田隆範\*2, 阿部行伸\*3, 山口貴史\*3, 加  
藤昭史\*1, 佐藤智之\*1, 谷森奏一郎\*3, 雨宮克樹\*3, 北浦和夫\*4:  
非経験的フラグメント分子軌道法による巨大分子系の電子  
状態計算

第8回計算工学会講演会(2003.5)

\*1 (株)富士総合研究所

\*2 立教大学

\*3 アドバンスソフト(株)

\*4 産業技術総合研究所

原田隆範\*1, 中野達也, 常磐広明\*1: 亜鉛原子を含むタンパ  
ク質へのフラグメント分子軌道法の適用

第4回 CBI学会大会(2003.9)

\*1 立教大学

甘利真司\*1, 竹田一志鷹真由子\*2, 岩館満雄\*2, 山本典生\*3, 藤  
井信孝\*4, 山本直樹\*3, 梅山秀明\*2, 中野達也: SARS ウイル  
スプロテアーゼと阻害剤のフラグメント分子軌道法による  
相互作用解析

第4回 CBI学会大会(2003.9)

\*1 東京大学生産技術研究所

\*2 北里大学薬学部

\*3 東京医科歯科大学医学部

\*4 京都大学大学院薬学研究科

佐藤智之<sup>\*1</sup>, 大河内郁雄<sup>\*1</sup>, 福澤薫<sup>\*1</sup>, 青木孝造<sup>\*2</sup>, 小谷野和郎<sup>\*3</sup>, 甘利真司<sup>\*2</sup>, 雨宮克樹<sup>\*3</sup>, 中野達也: **In silico** リガンド探索システム **BioStation Dock** の開発  
第4回 CBI学会大会 (2003.9)

\*1 (株) 富士総合研究所

\*2 東京大学生産技術研究所

\*3 アドバンスソフト (株)

福澤薫<sup>\*1</sup>, 古明地勇人<sup>\*2</sup>, 仙石康雄<sup>\*3</sup>, 尾曲克己<sup>\*4</sup>, 高野光則<sup>\*4</sup>, 陶山明<sup>\*4</sup>, 田中成典<sup>\*5</sup>, 中野達也: フラグメント分子軌道法を用いた cAMP 受容タンパク質と DNA との相互作用解析  
第4回 CBI学会大会 (2003.9)

\*1 (株) 富士総合研究所

\*2 産業技術総合研究所

\*3 豊橋技術科学大学

\*4 東京大学

\*5 (株) 東芝

原田隆範<sup>\*1</sup>, 中野達也, 常磐広明<sup>\*1</sup>: フラグメント分子軌道法による亜鉛原子を含むタンパク質の計算分子構造総合討論会 2003 (2003.9)

\*1 立教大学

福澤薫<sup>\*1</sup>, 古明地勇人<sup>\*2</sup>, 仙石康雄<sup>\*3</sup>, 田中成典<sup>\*4</sup>, 中野達也: フラグメント分子軌道法を用いた cAMP 受容タンパク質と DNA との相互作用の理論的研究  
分子構造総合討論会 2003 (2003.9)

\*1 (株) 富士総合研究所

\*2 産業技術総合研究所

\*3 豊橋技術科学大学

\*4 (株) 東芝

古明地勇人<sup>\*1</sup>, 中野達也, Fedorov, D. <sup>\*1</sup>, 稲富雄一<sup>\*1</sup>, 北浦和夫<sup>\*1</sup>: FMO-MD 法: タンパク質・核酸に適用可能な量子分子動力学法  
分子構造総合討論会 2003 (2003.9)

\*1 産業技術総合研究所

本田久美子<sup>\*</sup>, 緒方英博<sup>\*</sup>, 古川浩美<sup>\*</sup>, 和泉宏幸<sup>\*</sup>, 小泉睦子, 鎌田栄一, 江馬 眞, 長谷川隆一: 2-クロロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

\* (株) パナファームラボラトリーズ

西村信雄<sup>\*</sup>, 池谷政道<sup>\*</sup>, 石田 茂<sup>\*</sup>, 小泉睦子, 鎌田栄一, 江馬 眞, 長谷川隆一: 3-エチルフェノールの新生児反復投与毒性および若齢動物毒性試験結果との比較  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

\* (株) ボゾリサーチセンター

Nahoko Kaniwa, Kimie Sai, Yoshiro Saito, Ryuichi Hasegawa,

Kuniaki Shirao<sup>\*</sup>, Hironobu Minami<sup>\*</sup>, Atsushi Ohtsu<sup>\*</sup>, Teruhiko Yoshida<sup>\*</sup>, Nagahiro Saijo<sup>\*</sup>, Shogo Ozawa, and Jun-ichi Sawada: **Pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites in Japanese cancer patients**

12th North American ISSX (International Society for the Study of Xenobiotics) Meeting (2003.10)

\* National Cancer Center

吉谷隆志, 香取典子, 鹿庭なほ子, 斎藤嘉朗, 小澤正吾, 小嶋茂雄, 長谷川隆一, 澤田純一, 大江裕一郎<sup>\*</sup>, 国頭英夫<sup>\*</sup>, 軒原浩<sup>\*</sup>, 山本 昇<sup>\*</sup>, 南 博信<sup>\*</sup>, 田村友秀<sup>\*</sup>, 西條長宏<sup>\*</sup>: パクリタキセル体内動態に及ぼす患者背景因子の検討  
第18回日本薬物動態学会年会 (2003.10)

\* 国立がんセンター

池田仁子, 黒瀬光一, 小澤正吾, 斎藤嘉朗, 澤田純一, 田村友秀<sup>\*1</sup>, 白尾国昭<sup>\*1</sup>, 西條長宏<sup>\*1</sup>, 南博信<sup>\*1</sup>, 後藤雄一<sup>\*2</sup>, 南成祐<sup>\*2</sup>, 中島敏治<sup>\*2</sup>, 斎藤博久<sup>\*2</sup>, 駒村和雄<sup>\*4</sup>, 北風政史<sup>\*4</sup>: 薬物動態関連遺伝子の発現制御に関わる転写因子 CAR の遺伝子多型  
第18回日本薬物動態学会年会 (2003.10)

\*1 国立がんセンター

\*2 国立精神神経センター

\*3 国立成育医療センター

\*4 国立循環器病センター

Nahoko Kaniwa: **Japanese perspective on pharmacokinetics, bioavailability and bioequivalence**

33rd Annual Meeting of the Korean Society of Pharmaceutics (KSP) (2003.11)

岡知宏<sup>\*1</sup>, 足立直樹<sup>\*2</sup>, 新海正<sup>\*3</sup>, 佐久間慶子<sup>\*1</sup>, 西村哲治, 黒瀬光一: ビスフェノール A で誘導されるアフリカツメガエル初期胚における発生異常と中枢神経組織のアポトーシス  
日本内分泌攪乱化学物質学会第6回研究発表会 (2003.12)

\*1 女子栄養大学

\*2 北里大学

\*3 東京都老人総合研究所

平田睦子, 松本真理子, 齋藤充生, 浦野勉, 長谷川隆一: 医薬品とグレープフルーツジュースの相互作用に関する添付文書中の記載状況についての調査研究  
日本薬学会 第124回年会 (2004.3)

長谷川隆一, 平田睦子, 齋藤充生, 浦野 勉: スタチン系薬剤と他剤との臨床薬物動態相互作用の非臨床データからの予測性について  
日本薬学会 第124回年会 (2004.3)

浦野 勉, 平田睦子, 齋藤充生, 長谷川隆一: 薬物代謝酵素チトクローム P-450 の医薬品添付文書中における記載状況  
日本薬学会 第124回年会 (2004.3)

鹿庭なほ子, 佐井君江, 斎藤嘉朗, 長谷川隆一, 白尾国昭<sup>\*</sup>, 南博信<sup>\*</sup>, 大津敦<sup>\*</sup>, 吉田輝彦<sup>\*</sup>, 西條長宏<sup>\*</sup>, 小澤正吾, 澤田純一: 日本人癌患者における塩酸イリノテカン及びその代謝物の母集団薬物動態

日本薬学会第124年会(2004.3)

\* 国立がんセンター

杉山永見子, 金秀良, 花尻瑠理, 斎藤嘉朗, 石田誠一, 長谷川隆一, 米盛勸\*, 上野秀樹\*, 奥坂拓志\*, 古瀬純司\*, 石井浩\*, 西條長宏\*, 小澤正吾, 鹿庭なほ子, 澤田純一: ゲムシタピン薬物動態に及ぼす CDA 遺伝子一塩基多型 (SNP) の影響

日本薬学会第124年会(2004.3)

\* 国立がんセンター

黒瀬光一, 頭金正博, 長谷川隆一, 佐伯真弓, 斎藤嘉朗, 越前宏俊\*, 家入一郎\*, 千葉寛\*, 鹿庭なほ子: UGT1A1 遺伝子多型の人種差

日本薬学会第124年会(2004.3)\*<sup>1</sup> 明治薬科大学\*<sup>2</sup> 鳥取大学\*<sup>3</sup> 千葉大学

井上 達: 化学物質リスク研究(評価)の将来課題.  
平成15年度厚生労働科学研究(化学物質リスク研究発表会)シンポジウム ダイオキシンと健康影響(2004.2.2004.3)

Inoue, T.: **Breakout Group 1 Predictive Models for Identifying Potential Human Health Hazards.**

IPCS Workshop on toxicogenomics and the risk assessment of chemicals for the protection of Human health (2003.11)

Inoue, T.: **Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue.**

Chemical Safety Assessment: Contribution of Toxicological Pathology and Mechanistic Investigations (2003.10)

Inoue, T.: **The Next Step of the TOXICIGENOMICS - From forward to reverse, a predicting genomics -.**

Toxicogenomics International Forum, Korea (2003.10)

菅野 純: 分子標的と全遺伝子トキシコゲノミクス  
がん分子標的治療研究会 (2003.9)

菅野 純: プロテオミクスとトキシコゲノミクスの現状と問題点  
トキシコゲノミクスの現状  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会ワークショップ (2003.7)

吉田陽子\*, 山崎佳波\*, 且慎吾\*, 中村知巳\*, 関万里子\*, 福井泰久\*, 菅野純, 矢守隆夫\*, 中津則之: ヒト癌細胞パネルによる化合物の分子薬理・分子毒性の評価および抗癌剤感受性関連

第62回日本癌学会総会(2003.9)\*<sup>1</sup> 癌研究会癌化学療法センター\*<sup>2</sup> 東海大学医学部\*<sup>3</sup> 東京大学農学生命科学研究科

菅野 純: トキシコゲノミクスの新展開

第26回日本学術会議トキシコロジー研究連絡委員会シンポジウム (2003.12)

菅野純: IGS ラットを用いたトキシコゲノミクス  
CD(SD)IGS 研究会 / 研究集会(2003.12)

Kanno, J.: Focusing on Toxicogenomics Research  
The 3rd International Congress of Asian Society of Toxicology(ASIATOX III) (2004.3)

Kanno, J. Aisaki, K., Ono, A. and Igarashi, K.: Toxicogenomics using "percellome" and "mille-feuille" data system  
The Joint International Meeting of The Japanese Society of Toxicologic Pathology (JSTP) and The International Federation of Societies of Toxicologic Pathology (IFSTP) including The International Academy of Toxicologic Pathology (IATP) (2004.2)

菅野 純: **Toxicogenomics の進捗**  
第240回CBI学会研究講演会(2004.3)

Igarashi, K. and Kanno, J.: **Inappropriate activation of estrogen receptor in utero affects neural stem cell differentiation**  
Keystone Symposia conference on Nuclear Receptors Steroid Sisters (2004.2)

小川幸男, 関田清司, 北嶋 聡, 斎藤 実, 内田雄幸, 松島裕子, 川崎 靖, 井上 達, 菅野 純: ガルシニア抽出物の安全性に関する研究I - ガルシニア抽出物のラットによる52週間投与毒性試験 -  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会(2003.7)

関田清司, 小川幸男, 北嶋 聡, 斎藤義明\*, 永田伴子\*, 井上 達, 菅野 純: ガルシニア抽出物の安全性に関する研究II - 主成分ヒドロキシクエン酸のラットにおける精巣毒性の検討 -  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

\* (財) 食品薬品安全センター秦野研究所

小川幸男, 斎藤 実, 菅野 純: N-ニトロソフェンフルラミンの毒性試験について  
第40回全国衛生化学技術協議会年会 (2003.11)

高橋芳樹: 薬物代謝酵素の誘導と分子機構  
第25回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (2003.11)

山本雅也, 松島裕子, 五十嵐勝秀, 井上達, 菅野純: 子宮におけるエストロゲン反応遺伝子の発現変化の継時的解析  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

相崎健一, 相沢 信\*, 濱田貴子\*, 岡田真一\*, 藤井寿一\*, 菅野 仁\*: 赤芽球型ピルビン酸キナーゼ(r-pk)過剰発現によるR-PK欠損フレンド細胞のアポトーシス誘導修飾  
第65回日本血液学会総会 (2003.8)

\*<sup>1</sup> 日本大学医学部\*<sup>2</sup> 東京女子医科大学



相崎健一, 菅野 純 : トキシコゲノミクスへの絶対量化手法の適用とその展望  
日本学術振興会「ゲノムテクノロジー第164委員会」第13回研究会講演(2003.11)

Kanno, H.<sup>\*</sup>, Aisaki, A., Kanno, J., Hamada, T.<sup>\*</sup> and Fujii H.<sup>\*</sup> : **cDNA Microarray Analysis for Searching Candidate Genes Responsible for Apoptosis of Pyruvate Kinase Deficient Erythroid Cells**

45th ASH Annual Meeting (2003.12)

<sup>\*</sup> Tokyo Women's Medical University

Hirabayashi, Y., Yoshida, K.<sup>1</sup>, Kodama, Y., Kanno, J., Kurokawa, Y., Yoshimura, I.<sup>2</sup>, Inoue, T : **Methyl nitrosourea induces leukemogenesis with practical threshold in wild type mice whereas nonthreshold in p53 deficient mice.**

Society of Toxicology 43rd Annual Meeting & ToxExpo (2004.3)

<sup>1</sup>National Institute of Radiological Sciences

<sup>2</sup>Tokyo Univ. of Science

Hirabayashi, Y., Li, G.X., Yoon, B.I., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Yodoi, J.<sup>\*</sup>, Kanno, J. and Inoue, T: **Leukemia-Prevention in vivo-Model: Attenuation of Spontaneous and Benzene-Induced Thymic Lymphoma by Absorption of Reactive Oxygen Species (ROS) using Thioredoxin Over-Expression Mouse.**

6th Joint conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association (2004.1)

<sup>\*</sup> Kyoto Univ.

平林容子, 李 光勲, 尹 秉一, 川崎 靖, 淀井淳司<sup>\*</sup>, 菅野 純, 井上 達 : **Thioredoxin/ADFによる発がんの分子抑制には p53 の発現が必要である .**

第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

<sup>\*</sup> 京都大学

Hirabayashi, Y., Li, G.X., Yoon, B.I., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Kaneko, T., Yodoi, J.<sup>\*</sup>, Kanno, J., Inoue, T: **Prevention of benzene-induced leukemogenesis by Trx/ADF requires of p53-expression.**

The 45th Annual Meeting of the American Society of Hematology (2003.12)

<sup>\*</sup> Kyoto Univ.

Miyajima, A.<sup>1</sup>, Minehata, K.-I.<sup>1</sup>, Takeuchi, M.<sup>1</sup>, Sekiguchi, T.<sup>2</sup>, Hirabayashi, Y., Donovan, P.J.<sup>3</sup>, Inoue, T., Hara, T.<sup>4</sup>: **Role of oncostatin M for homeostasis of bone marrow hematopoiesis.**

The 45th Annual Meeting of the American Society of Hematology (2003.12)

<sup>1</sup> IMCB, The University of Tokyo

<sup>2</sup> Kyoto University

<sup>3</sup> Thomas Jefferson University

<sup>4</sup> The Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

平林容子 : 生体異物応答と加齢研究 .

第31回老年者造血器疾患研究会 (2003.11)

平林容子, 壺井 功, 児玉幸夫, 菅野 純, 井上 達 : **コネクシン(Cx32)不全マウス : コネクシン欠失造血前駆細胞に見られる低い骨髄再建能について .**

第20回日本疾患モデル学会 (2003.11)

Yoon, B.I., Li, G.X., Kitada, K.<sup>1</sup>, Kawasaki, Y., Igarashi, K., Kodama, Y., Inoue, T.<sup>1</sup>, Kobayashi, K.<sup>1</sup>, Kanno, J., Kim, D.Y.<sup>2</sup>, Inoue, T., Hirabayashi, Y: **Exploration of the hematotoxic mechanism of benzene based on the cDNA microarray analyses in the mouse bone marrow tissue.**

Toxicogenomics International Forum 2003 (2003.10)

<sup>1</sup>Kamakura Research Labs, Chugai Pharmaceutical, Co., Ltd.

<sup>2</sup>Seoul National University

Hirabayashi, Y: **Connexin (Cx) 32 knockout mice elucidate a role of Cx32\*\* in the hemopoiesis: functions during the steady states, the recovery after chemical abrasion, and the leukemogenesis.**

The 3rd meeting on Pathology of Genetically Engineered Mice (2003.10)

李 光勲, 平林容子, 尹 秉一, 川崎 靖, 黒川雄二, 淀井淳司<sup>\*</sup>, 菅野 純, 井上 達 : **ワークショップ: Thioredoxin/ADF 過剰発現マウスにおける白血病頻度の低下とその発がん抑制分子機構**

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

<sup>\*</sup> 京都大学

平林容子, 川崎 靖, 淀井淳司<sup>\*</sup>, 李 光勲, 尹 秉一, 壺井功, 菅野 純, 井上 達 : **実験白血病の予防モデル: チオレドキシン過剰発現による ROS 消去を用いたベンゼン誘発白血病の抑制**

第65回日本血液学会総会 (2003.8)

<sup>\*</sup> 京都大学

Hirabayashi, Y., Li, G.X., Yoon, B.I., Fujii-Kuriyama, Y.<sup>\*</sup>, Kaneko, T., Kanno, J., Inoue, T: **AhR suppresses the hemopoiesis during the steady state but promotes acceleration of cell cycle as an early response: A study of AhR knockout mice.**

23rd International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2003) (2003.8)

<sup>\*</sup> TARA, Tsukuba Univ.

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Tsuboi, I., Huo, Y., Kodama, Y., Otto, T.<sup>1</sup>, Kanno, J., Willecke, K.<sup>1</sup>, Trosko, J.E.<sup>2</sup>, Inoue, T: **Function of connexin 32 on leukemogenesis-revisited: Dual function of connexin 32, promotive of and protective against MNU-leukemogenesis.**

International Gap Junction Conference 2003 (2003.8)

<sup>1</sup>Bonn Univ.,

<sup>2</sup>Michigan State Univ.

平林容子: **アリアルハイドロカーボン受容体 (AhR) と造血幹細胞のシグナルクロストーク**

第4回細胞病理談話会 (2003.8)

平林容子, 川崎 靖, 淀井淳司\*, 李 光勲, 尹 秉一, 金子  
豊蔵, 黒川雄二, 長尾 拓, 菅野 純, 井上 達: 発がんの  
分子抑制: 酸化的ストレス緩和モデルマウスによるベンゼ  
ン誘発白血病の抑制

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

\* 京都大学

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Kitada, K.<sup>1</sup>, Kawasaki, Y., Igarashi,  
K., Kodama, Y., Li, G.X., Kanno, J., Kim, D.Y.<sup>2</sup>, Inoue, T: **cDNA  
microarray analysis addressing the mechanisms of benzene-  
induced epigenetic and genotoxic changes.**

Gordon Research Conference "Toxicogenomics" (2003.6)

<sup>1</sup> Kamakura Research Labs, Chugai Pharmaceutical, Co., Ltd.

<sup>2</sup> Seoul National University

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Tsuboi, I., Huo, Y., Kodama, Y., Otto,  
T.<sup>1</sup>, Kanno, J., Willecke, K.<sup>1</sup>, Trosko, J.E.<sup>2</sup>, Inoue, T: An inter-  
cellular gap junctions, Connexin 32 (Cx32), and hemopoiesis: im-  
plication of MNU-induced leukemogenesis in the Cx32 knockout  
mice.

1st ISSCR annual meeting (2003.6)

<sup>1</sup> Bonn Univ.,

<sup>2</sup> Michigan State Univ.

Takagi A., Hirose A., Hirabayashi Y., Kaneko T., Ema M., and  
Kanno J. : **Assessment of the cleft palate induction by seven  
PCDD/F congeners in the mouse fetus**

The 23 rd International symposium on Halogenated Environmen-  
tal Organic Pollutants and POPs (2003.8)

Kitajima, S., Miyagawa-Tomita, S.<sup>1</sup>, Takahashi, Y., Inoue, T.,  
Kanno, J. and Saga, Y.<sup>2</sup>: MesP1 and MesP2 are essential for the  
cardiogenesis in mice.

The 1st International Symposium on Developmental Biology and  
Tissue Engineering (2003.3)

<sup>1</sup> 東京女子医大

<sup>2</sup> 国立遺伝学研究所

北嶋 聡, 富田幸子<sup>1</sup>, 高橋 雄, 井上 達, 菅野 純,  
相賀裕美子<sup>2</sup>: 転写因子 **MesP1** および **MesP2** の心臓中胚葉  
における役割

第36回日本発生生物学学会 (2003.6)

<sup>1</sup> 東京女子医大

<sup>2</sup> 国立遺伝学研究所

北嶋 聡, 富田幸子<sup>1</sup>, 菅野 純, 井上 達, 相賀裕美子  
<sup>2</sup>: シンポジウム「心臓大動脈を形づくる細胞の起源とその  
細胞分化」: マウス心臓中胚葉形成に必須な転写因子  
**MesP1, MesP2**

第26回日本分子生物学学会 (2003.12)

<sup>1</sup> 東京女子医大

<sup>2</sup> 国立遺伝学研究所

石川亜紀, 北嶋 聡, 小久保博樹<sup>1</sup>, 相賀裕美子<sup>1</sup>: マウス  
体節形成過程において機能する新規遺伝子の探索およびそ  
の発現解析

第26回日本分子生物学学会 (2003.12)

<sup>1</sup> 国立遺伝学研究所

Takahashi, Y., Inoue, T., Kanno, J. and Saga, Y.<sup>1</sup>: **Genetic dissec-  
tion of Notch signaling pathways in somite patterning**

The 1st International Symposium on Developmental Biology and  
Tissue Engineering (2003.3)

<sup>1</sup> 国立遺伝学研究所

高橋 雄, 北嶋 聡, 井上 達, 菅野 純, 相賀裕美子<sup>1</sup>:  
転写因子 **Mesp1**, **Mesp2** は体節中胚葉の上皮化に細胞自律  
的に関与する

第36回日本発生生物学学会 (2003.6)

<sup>1</sup> 国立遺伝学研究所

高橋 雄, 別所康全<sup>1</sup>, 影山龍一郎<sup>1</sup>, 菅野 純, 相賀裕美子  
<sup>2</sup>: 体節形成における分子時計の振動に対する **Notch** リガ  
ンド **Dll1**, **Dll3** の役割

第26回日本分子生物学学会 (2003.12)

<sup>1</sup> 京大・ウイルス研・増殖制御

<sup>2</sup> 国立遺伝学研究所

安彦行人, 原口 清輝<sup>1</sup>, 北嶋 聡, 菅野 純, 相賀裕美子  
<sup>2</sup>: 体節形成に関わる転写因子 **Mesp2** の発現制御機構の解析

第26回日本分子生物学学会 (2003.12)

<sup>1</sup> 滋賀医科大・微生物

<sup>2</sup> 国立遺伝学研究所

浅野和信\*, 立木里奈\*, 小野 敦, 橋本せつ子\*, 井上 達,  
菅野 純: 表面プラズモン共鳴センサーを用いる内分泌擾  
乱化学物質スクリーニング法

第30回日本トキシコロジー学会学術年会(2003.7)

\* ビアコア株式会社

Hashimoto, S.\* Tsuiki, R.\*, Asano, K.\* and Ono, A. : **Rapid in  
vitro screening assay for endocrine disruptors using SPR sensor**

第76回日本生化学会大会(2003.10)

\* Biacore K.K.

橋本せつ子\*, 浅野和信\*, 立木里奈\*, 小野 敦, 井上 達,  
菅野 純: 表面プラズモン共鳴センサーを用いた迅速内分泌  
かく乱物質スクリーニング法

環境ホルモン学会 第6回研究発表会 (2003.12)

\* ビアコア株式会社

Ono, A., Kanno, J. : The analysis of dynamics of ER at ligand  
dependent gene transcription using bio-sensor

Keystone symposia: Nuclear Receptors, Steroid systems (2004.2)

大野泰雄: 最近の非臨床試験ガイドラインの動向\_特に急性  
毒性試験と **in vitro** 代替法について

安全性評価研究会 2003年春のセミナー (2003.5)

大野泰雄: ヒト組織を用いた研究 (肝臓を中心に)

昭和大学特別講演 (2003.5)

大野泰雄：ヒト組織を利用した試験  
医薬品機構講演(2003.5)

大野泰雄：安全性試験の代替法としての *In vitro* 試験 - 特に  
医薬品開発における応用  
安全性評価研究会(2003.8)

大野泰雄，近年の代替試験法の開発とその受け入れ状況  
化学物質点検推進連絡協議会(2003.9)

上川雄一郎<sup>\*</sup>，渋川朝子<sup>\*</sup>，内田幸介<sup>\*</sup>，佐々木欣郎<sup>\*</sup>，砂川正勝<sup>\*</sup>，  
大野泰雄：手術摘出ヒト大腸平滑筋の薬理学的反応性を  
指標とした凍結保存方法の検討。

第45回日本平滑筋学会総会(2003.7)

<sup>\*</sup> 獨協医科大学

松本茂樹<sup>\*1</sup>，大西修平<sup>\*1</sup>，山田泰弘<sup>\*2</sup>，中村明生<sup>\*3</sup>，馬場隆彦<sup>\*4</sup>，  
桐田史朗<sup>\*4</sup>，嶋田薫<sup>\*5</sup>，村瀬茂夫<sup>\*5</sup>，名瀬義明<sup>\*6</sup>，中川俊人<sup>\*6</sup>，  
朝日知<sup>\*7</sup>，館林智子<sup>\*8</sup>，二宮真一<sup>\*9</sup>，酒見和枝，大野泰雄：代  
謝研究のためのヒト肝細胞のバリデーション(8)非凍結ヒ  
ト肝細胞を用いた CYP1A 酵素の誘導法の検討，

第18回薬物動態学会(2003.10.8)

- <sup>\*1</sup> 持田製薬
- <sup>\*2</sup> 田辺製薬
- <sup>\*3</sup> 日本新薬
- <sup>\*4</sup> 塩野義
- <sup>\*5</sup> ファイザー
- <sup>\*6</sup> 中外製薬
- <sup>\*7</sup> 武田薬品
- <sup>\*8</sup> 明治製菓
- <sup>\*9</sup> 第一化学

糸川健一<sup>\*1</sup>，岡崎 治<sup>\*1</sup>，嶋田 薫<sup>\*2</sup>，高島忠之<sup>\*3</sup>，山田泰弘<sup>\*3</sup>，  
森田繁道<sup>\*4</sup>，寺内嘉章<sup>\*5</sup>，中村明生<sup>\*6</sup>，安盛俊雄<sup>\*7</sup>，簾内桃子，  
大野泰雄：代謝研究のためのヒト肝細胞のバリデーション  
(9) CYP2D6 PM/EM 凍結ヒト肝細胞を用いたデキストロ  
メトルファン代謝評価

第18回薬物動態学会(2003.10.8)

- <sup>\*1</sup> 第一製薬，
- <sup>\*2</sup> ファイザー，
- <sup>\*3</sup> 田辺，
- <sup>\*4</sup> アベンティス ファーマ，
- <sup>\*5</sup> 大日本，
- <sup>\*6</sup> 日本新薬，
- <sup>\*7</sup> 萬有

大野泰雄：加速器質量分析(AMS)法によるヒトでのマスバ  
ランス試験実施にむけて，フォーラム2002のまとめ，第18  
回日本薬物動態学会(2003.10)

大野泰雄：リスクアセスメントの現状と展望：レギュラト  
リーサイエンスへの係わり，環境汚染物質の立場から一ダイ  
オキシン  
日本環境変異原学会(2003.11)

大野泰雄：動物実験代替法の国際情勢と我が国の取り組み

日本学会会議トキシコロジー研連講演会(2003.12)

大野泰雄：健康増進時代における健康食品の今後の展望に  
ついて，「健康食品」に求められる科学的根拠について  
健康食品フォーラム(2004.2)

Ohno, Y.: *In vitro drug metabolism and interaction evalua-  
tion: Drug administration prospects.*

2004 International Workshop on In Vitro Drug Metabolism and  
Interaction Evaluation(2004.3)

大野泰雄：「動物実験代替法研究の重要性とその問題点」日  
本薬理学会シンポジウム「薬理学における代替動物実験の  
展開」

第77回日本薬理学会総会(2004.3)

小泉修一，宮竹真由美<sup>\*</sup>，藤下加代子，井上和秀：アストロサ  
イトからの自発的 ATP による細胞内シグナル調節  
ATP 研究会(2003.8)

<sup>\*</sup> 星薬科大学

多田 薫，小泉修一，井上和秀：P2Y<sub>12</sub>受容体を介するミク  
ログリアのケモタキシスとインテグリンβ1集積  
ATP 研究会(2003.8)

Koizumi, S.: *Glia-to-neuron communication by ATP-mediated  
Ca<sup>2+</sup>-waves*

Ca<sup>2+</sup> symposium(2003.9)

Koizumi, S., and Inoue, K.: *Regulation by astrocytic ATP of  
synaptic transmission.*

Purinergic Meeting(2003.11)

Koizumi, S., and Inoue, K.: *Bi-directional regulation of neu-  
ronal activities by extracellular ATP.* (シンポジウム)

日本神経化学会(2003.9)

小泉修一：アストロサイトによるダイナミックなシナプス  
伝達制御 - 細胞外 ATP の関与 - (奨励賞受賞シンポジウム)  
日本神経化学会(2003.9)

小泉修一，津田誠，井上和秀：Investigation of mechanical  
allodynia - analysis by a DNA array and behavior - (シンポ  
ジウム)

日本生化学会(2003.10)

Koizumi, S., Miyatake, M.<sup>\*</sup>, Tsuda, M., and Inoue, K.: *Tonic  
regulation of glial intracellular signaling by ATP derived from  
astrocytes*

Society for Neuroscience 32nd Annual Meeting(2003.11)

<sup>\*</sup> 星薬科大学

小泉修一，藤下加代子，井上和秀：自発的 ATP 放出による，  
アストロサイトのシグナル伝達制御(シンポジウム)  
グリア研究会(2003.11)

小泉修一, 井上和秀: 自発的 ATP 放出によるアストロサイトのシグナル伝達制御  
クロマフィン研究会 (2004. 1)

Koizumi, S., Miyatake, M., Fujishita, K., Tsuda, M., Narita, M., Suzuki, T., and Inoue, K.: Spontaneous "gliotransmission" by ATP causes switching-over of intracellular signaling-cascades in cultured hippocampal astrocytes.  
日本薬理学会 (2004. 3)

\* 星薬科大学

Nasu-Tada, K., Koizumi, S., Himaki, D., Kunifusa, E., Inoue, K.: Two extracellular matrix molecules, fibronectin and laminin, are up-regulated following sciatic nerve injury and they increase P2X4 expression in microglia.  
日本薬理学会 (2004. 3)

Nakajima, R., Koizumi, K., Inoue, K., Kudo, Y.: Regulation of synaptic transmission in hippocampus by ATP from astrocyte.  
日本薬理学会 (2004. 3)

\* 東京薬科大学

中澤憲一: P2X 受容体の構造と機能  
第26回日本神経科学大会シンポジウム (2003. 7)

中澤憲一, 生島裕恵, 大野泰雄: アフリカツメガエル卵母細胞発現系を利用したヒトおよびラット受容体タンパク質の研究  
第17回日本動物実験代替法学会 (2003. 11)

Sato, K., Matsuki, N., Nakazawa, K., Ohno, Y.: Estrogens inhibit L-glutamate uptake activity of astrocytes via membrane estrogen receptor  $\alpha$  33rd Annual Meeting, Society for Neuroscience (2003.11)

\* 東京大学薬学部

中澤憲一, 山越葉子, 生島裕恵, 土屋利江, 大野泰雄: P2X2 受容体タンパク質の調製および原子間力顕微鏡による観察  
第77回日本薬理学会年会 (2004. 3)

佐藤 薫, 松木則夫\*, 中澤憲一, 大野泰雄: エストロゲンによるアストロサイトグルタミン酸トランスポーター阻害作用のメカニズム  
第77回日本薬理学会年会 (2004. 3)

\* 東京大学薬学部

生島裕恵, 中澤憲一, 野澤 (石井) 玲子\*, 竹内幸一\*, 大野泰雄: P2X2 受容体の ATP 反応性に対する細胞内システイン残基の役割  
第77回日本薬理学会年会 (2004. 3)

\* 明治薬科大学薬学部

赤石樹泰, 中澤憲一, 佐藤 薫, 齋藤洋\*, 大野泰雄, 伊藤芳久\*: 脂質過酸化由来物質 4-hydroxynonenal がラット歯状顆粒細胞のホールセル  $Ca^{2+}$  電流に及ぼす影響  
第77回日本薬理学会年会 (2004. 3)

\* 日本大学薬学部

篠内桃子, 酒見和枝, 窪田敬一\*, 上川雄一郎\*, 内田幸介\*, 繁原英治\*, 藤崎 浩\*, 大野泰雄: 代謝研究のためのヒト肝細胞のバリデーション (10) 手術摘出肝臓片からの遊離ヒト肝細胞調製の現状  
第18回日本薬物動態学会 (2003. 10)

\*<sup>1</sup> 獨協医科大学

\*<sup>2</sup> 三共株式会社 薬剤動態研究所

\*<sup>3</sup> 三菱ウェルファーマ 薬物動態研究所

小澤正吾: 日本人における疾病感受性遺伝子および薬物反応性遺伝子の多型  
第18回日本薬物動態学会 (2003. 10)

石田誠一, 重本-最上由香里, 篠崎陽一, 影近弘之\*, 首藤絃一, 小澤正吾, 澤田純一, 大野泰雄, 井上和秀: 網羅的遺伝子解析による all-trans Retinoic Acid と Am80 の差異の解析  
日本レチノイド研究会第14回学術集会 (2003. 11)

\* 東京大学大学院薬学系研究科

宮島敦子, 篠内桃子, 酒見和枝, 大野泰雄: 尿素系農薬 Linuron のヒト培養肝細胞における薬物代謝酵素に及ぼす影響  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

金秀良, 中村隆広, 齋藤嘉朗, 佐井君江, 中島敏治\*, 齋藤博久\*, 白尾国昭\*, 南博信\*, 大津敦\*, 吉田輝彦\*, 西條長宏\*, 小澤正吾, 澤田純一: 日本人における CES2 遺伝子の一塩基多型の同定  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\*<sup>1</sup> 国立成育医療センター

\*<sup>2</sup> 国立がんセンター

八幡紋子, 金秀良, 齋藤嘉朗, 久保崇, 中島由起子, 香取典子, 大野泰雄, 松本宜明\*, 小澤正吾, 澤田純一: チミジル酸合成酵素遺伝子の5'-非翻訳領域におけるくり返し配列多型  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\* 昭和薬科大学

本郷有克\*, 梶河真理子\*, 石田誠一, 小澤正吾, 大野泰雄, 澤田純一, 梅沢彰\*, 石川陽一\*: 高密度 3 次元培養時におけるヒト肝ガン由来細胞 HepG2 の機能評価  
第三回日本再生医療学会総会 (2004. 3)

\* エイブル株式会社

宇佐見誠, 大野泰雄: 培養ラット胚における補体成分 C3 の胚栄養因子活性と卵黄嚢膜への結合に関する研究  
第43回日本先天異常学会学術集会 (2003. 7)

酒見和枝, 篠内桃子, 宮島敦子, 大野泰雄: ゴム老化防止剤 2-Mercaptomethylbenzimidazole の非凍結ヒト肝細胞における薬物代謝酵素に及ぼす影響  
第18回日本薬物動態学会 (2003. 10)

紅林秀雄, 大野泰雄: 除草剤 prometryn および ametryn の

ヒト肝ミクロソームにおける代謝

日本薬学会第124年会 (2004.3)

広瀬雅雄, 今井俊夫: 臓器障害時における amitrole の DHPN

ラット甲状腺発がん修飾作用

第92回日本病理学会総会 (2003.4)

西川秋佳, 広瀬雅雄: レポーター遺伝子導入マウスによる

MeIQx の変異原性・発がん性検索

第92回日本病理学会総会 (2003.4)

渋谷 淳: マイクロダイセクション法によりパラフィン包埋組織切片から採取された微量組織での遺伝子解析について -メタカーン固定法の利用-

実験病理組織技術研究会・第10回記念総会 (2003.6)

広瀬雅雄: 発がん性の問題点: 実験的立場から

日本食品化学学会第9回総会・学術大会 (2003.6)

広瀬雅雄, 小野瀬淳一, 蓮村麻衣, 今井俊夫: 腫瘍性病変を指標としたラット中期発がん試験法の開発

第10回日本がん予防研究会 (2003.6)

西川秋佳, 小出彰宏\*, 梅村隆志, 広瀬雅雄, 森 幸雄\*: タバコ煙による CYP 分子種の誘導と変異原物質の活性化

第10回日本がん予防研究会 (2003.6)

\*岐阜薬科大学

北村泰樹, 山岸 恵, 岡崎和志, 神吉けい太, 梅村隆志, 今沢孝喜, 西川秋佳, 広瀬雅雄: PhIP 誘発ラット乳腺発がんに対する tracheloside の修飾効果

第10回日本がん予防研究会 (2003.6)

Hirose, M.: Japan's Reaction to the Acrylamide in Foods Issue and Key Research Effort on Prevention of Acrylamide-induced Neuro and Reproductive Toxicities in Rats.

The 1st International Symposium on Current Acrylamide Issue in Food. (2003.8)

Hirose, M., Imai T., Mitsumori, K., Kasai, H. and Wakabayashi, K.: Carcinogenicity of Kojic acid in Rodents.

International Symposium of Mycotoxicology in Kagawa 2003. (2003.11)

渋谷 淳, 井上弘子, 高木広憲, 加藤奈津美, 李 京烈, 有村卓朗, 畝山智香子, 瀧上 周, 広瀬雅雄: 非遺伝子傷害性肝発がん物質を長期間投与したラット肝臓での発現変動遺伝子のプロファイリング

文部科学省特定領域研究「発がんと防御」蓼科「個体レベル」若手ワークショップ (2004.1)

広瀬雅雄: 食品中化学物質の安全性評価をめぐる課題

厚生労働科学シンポジウム (2004.1.2)

Masao Hirose: Prevention of Acrylamide Induced Toxicity in Rats Joint International Meeting of the JSTP/IFSTP (IATP)(2004.2)

Nishikawa, A., Hirose, M.: Symposium S1-1-2 Analysis of reporter genes for the molecular mechanisms underlying chemical carcinogenesis

Joint International Meeting of the 20th JSTP and the 5th IFSTP (2004.2)

Kanki, K., Nishikawa, A., Masumura, K., Umemura, T., Imazawa, T., Kitamura, Y., Nohmi, T., Hirose, M.: Specific in vivo mutational spectra of genotoxic and non-genotoxic hepatocarcinogens in gpt delta transgenic rats

Joint International Meeting of the 20th JSTP and the 5th IFSTP (2004.2)

Kitamura, Y., Okazaki, K., Nishikawa, A., Kanki, K., Umemura, T., Imazawa, T., Hirose, M.: Enhancing effects of combined treatment with IQ and sodium nitrite on colon and liver carcinogenesis in rats

Joint International Meeting of the 20th JSTP and the 5th IFSTP (2004.2)

Umemura, T., Kodama, Y., Kanki, K., Kitamura, Y., Imazawa, T., Nishikawa, A., Hirose, M.: The mouse rasH2/BHT model as an in vivo rapid assay for lung carcinogens

Joint International Meeting of the 20th JSTP and the 5th IFSTP (2004.2)

Shibutani, M., Lee, K.-Y., Takagi, H., Kato, N., Takigami, S., Hirose, M.: Methacarn, a versatile fixation tool for quantitative mRNA expression analysis in microdissected paraffin-embedded tissues using real-time RT-PCR and microarray systems.

IFSTP-JSTP Joint Meeting (2004.2)

Lee, K.-Y., Shibutani, M., Takagi, H., Kato, N., Takigami, S., Hirose, M.: Region-specific global gene expression analysis in the microdissected hypothalamic medial preoptic area of rat neonates exposed perinatally to di(2-ethylhexyl)phthalate.

IFSTP-JSTP Joint Meeting (2004.2)

Imai, T., Hasumura, M., Onose, J., Ueda, M., Takizawa, T., Cho, Y.M., Hirose, M.: Constitutive expression of cox-2 in thyroid follicular epithelial cells and its significant reduction during DHPN-induced carcinogenesis in rats

Joint International Meeting of the 20th JSTP and the 5th IFSTP (2004.2)

Cho, Y.M., Onose, J., Imai, T., Hasumura, M., Ueda, M., Hirose, M.: A new medium-term bioassay system for the detection of colon carcinogenesis modifiers

Joint International Meeting of the 20th JSTP and the 5th IFSTP (2004.2)

広瀬雅雄: 組換え DNA 食品遺伝子産物の慢性経口毒性評価モデルの確立

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業 (第II期) 研究成果発表会 (2004.3)

広瀬雅雄：発がん性化学物質のリスク評価上の問題点-発がん性の立場から-

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

梅村隆志, 神吉けい太, 北村泰樹, 今沢孝喜, 長谷川隆一, 西村哲治, 西川秋佳, 廣瀬雅雄: 臭素酸カリウムのラット腎発がん過程に対する酸化ストレスの関与

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

渋谷 淳, 井上弘子, 高木広憲, 加藤奈津美, 李 京烈, 有村卓朗, 畝山智香子, 瀧上 周, 広瀬雅雄: 非遺伝子傷害性肝発がん物質を長期間投与したラット肝臓での発現変動遺伝子のプロファイリング

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

瀧澤 保, 今井俊夫, 上田 誠, 小野瀬淳一, 蓮村麻衣, 広瀬雅雄: Amitroleによるラット甲状腺発がん促進作用に対する臓器障害の影響

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

小野瀬淳一, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 上田 誠, 瀧澤 保, 広瀬雅雄: 消化管障害モデルラットを用いたBt蛋白の経口投与毒性試験

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

梅村隆志, 北村泰樹, 神吉けい太, 今沢孝喜, 西川秋佳, 広瀬雅雄: 臭素酸カリウム(KBrO<sub>3</sub>)ラット腎発がん機構の解析

第18回発癌病理研究会 (2003.8)

北村泰樹, 岡崎和志, 西川秋佳, 神吉けい太, 梅村隆志, 今沢孝喜, 広瀬雅雄: IQ及び亜硝酸ナトリウム併用投与によるラット大腸・肝発がんの増強作用

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

今沢孝喜, 西川秋佳, 梅村隆志, 北村泰樹, 神吉けい太, 広瀬雅雄: D-xyloseによるF344ラット自然発生腫瘍の抑制

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

李 仁善\*, 金 賢貞\*, 朴 貞現\*, 李 智媛\*, 兪 美妃\*, 西川秋佳: 韓国産虎杖根による胃癌細胞における遺伝毒性の誘導

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

\* 韓国啓明大学

西川秋佳, 増村健一, 神吉けい太, 梅村隆志, 広瀬雅雄, 能美健彦: 自然およびDMN誘発の突然変異に及ぼす加齢の影響

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

梅村隆志, 児玉幸夫, 神吉けい太, 北村泰樹, 今沢孝喜, 西川秋佳, 広瀬雅雄, 黒川雄二\*: 遺伝毒性肺発がん物質早期検出系 (rasH2/BHTモデル) の確立-既知肺発がん物質を用いた検討

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

\* 佐々木研究所

神吉けい太, 西川秋佳, 増村健一, 梅村隆志, 今沢孝喜, 北村泰樹, 能美健彦, 広瀬雅雄: gpt deltaラットにおける肝発がん物質のin vivo変異原性の比較

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

小出彰宏\*, 森 幸雄\*, 古川文夫, 広瀬雅雄, 西川秋佳: シガレット煙 (CS) による代謝活性化の促進作用

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

\* 岐阜薬科大学

今井俊夫, 蓮村麻衣, 小野瀬淳一, 上田 誠, 瀧澤 保, 曹 永晩, 広瀬雅雄: DHPN誘発ラット甲状腺発がん過程におけるCOX-2の発現低下

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

曹 永晩, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 小野瀬淳一, 上田 誠, 広瀬雅雄: Ethinyl estradiolの乳幼児期投与によるラット甲状腺および乳腺発がん修飾作用

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

蓮村麻衣, 上田 誠, 小野瀬淳一, 曹 永晩, 今井俊夫, 広瀬雅雄: ArctinのDMBAラット乳腺発がんに対する修飾作用

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

小野瀬淳一, 蓮村麻衣, 曹 永晩, 瀧澤 保, 今井俊夫, 広瀬雅雄: 消化管障害時におけるAmitroleのDHPNラット甲状腺発がん修飾作用

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

Kim, H-J.<sup>1</sup>, Park, J-H.<sup>1</sup>, Chung, D-H.<sup>2</sup>, Nishikawa, A., Lee, I-S.<sup>1</sup>: Development of fluorescence polarization immunoassay based on monoclonal antibodies for the detection of ochratoxin A in medicinal herb

The 3rd International Conference on Food Factors (2003. 12)

<sup>1</sup> 韓国啓明大学

<sup>2</sup> 韓国慶尚大学

Lee, S.<sup>\*</sup>, Nishikawa, A., Im, H-G.<sup>\*</sup>, Lee, I-S.<sup>\*</sup>: Induction of the phase 2 anticarcinogenic maker enzymes in murine hepatoma cells by wild vegetables produced in Ullung Island, Korea

The 3rd International Conference on Food Factors (2003. 12)

\* 韓国啓明大学

Yu, M-H.<sup>\*</sup>, Lee, J-W.<sup>\*</sup>, Nishikawa, A., Lee, I-S.<sup>\*</sup>: Apoptosis induction by immature fruits of Prunus salicina, Beauty, in human breast cancer MDA-MB-231 cells

The 3rd International Conference on Food Factors (2003. 12)

\* 韓国啓明大学

Nishikawa, A.: Symposium 9. Risk assessment of food additives. JECFA evaluation of food additives

The 3rd International Congress of Asian Society of Toxicology (2004.2)

西川秋佳: 特別講演・食品中内分泌攪乱因子の発がんへの影響と研究の動向

金沢医科大学ハイテクリサーチセンター公開シンポジウム・生殖機能に及ぼすダイオキシン等の外因性内分泌攪乱因子の影響 (2004.3)

Nishikawa, A., Kanki, K., Umemura, T., Imazawa, T., Kitamura, Y., Masumura, K., Nohmi, T., Hirose, M.: **In vivo mutational spectrum of the hepatocarcinogens IQ, NPYR and DEHP**  
The 95th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (2004.3)

Shibutani, M., Lee, K.-Y., Takagi, H., Kato, N., Takigami, S., Hirose, M.: **Region-specific global gene expression analysis in the microdissected hypothalamic medial preoptic area of rat neonates injected with estradiol benzoate or flutamide.**  
43th Annual Meeting of Society of Toxicology (2004.3)

Lee, K.-Y., Shibutani, M., Takagi, H., Kato, N., Takigami, S., Hirose, M.: **Dose-dependent global gene expression analysis in the microdissected hypothalamic medial preoptic area of rat neonates exposed perinatally to ethinylestradiol.**  
43th Annual Meeting of Society of Toxicology (2004.3)

Imai, T., Hasumura, M., Onose, J., Ueda, M., Takizawa, T., Cho, Y.M., Hirose, M.: **Reduction of COX-2 expression in thyroid follicular epithelial cells during DHPN-induced carcinogenesis in rats**  
43rd Annual Meeting of Society of Toxicology (2004.3)

林 真: 発がん性化学物質のリスク評価上の問題点-遺伝毒性試験の立場から  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

Hayashi, M.: **Advantages and limitations of micro-nucleus assay-validation studies on *in vivo* micro-nucleus assay using other than haemopoietic cells-**  
6th International Symposium on Chromosomal Aberrations (2003.9)

Hayashi, M.: ***In vivo* micronucleus assay- historical review and current improvement -**  
Korean Society of Toxicology (2003.10)

Suzuki, H.<sup>\*1</sup>, Ikeda, N.<sup>\*2</sup>, Terashima, Y.<sup>\*3</sup>, Shimada, Y.<sup>\*4</sup>, Saito, Y.<sup>\*5</sup>, Tanaka, J.<sup>\*6</sup>, Hayashi, M.: **Hepatocyte micronucleus assay in young rats: Validation with rodent hepatocarcinogens (2)**  
日本環境変異原学会第32回大会 (2003.11)

\*<sup>1</sup> イナリサーチ (株)

\*<sup>2</sup> 花王株式会社

\*<sup>3</sup> キッセイ薬品工業株式会社

\*<sup>4</sup> 第一製薬株式会社

\*<sup>5</sup> 三菱化学安全科学研究所

\*<sup>6</sup> 食品農医薬品安全性評価センター

Ueda, T.<sup>\*1</sup>, Takase, K.<sup>\*1</sup>, Takai, A.<sup>\*2</sup>, Hayashi, M.: **Preliminary study of micronucleus test using zebra fish**  
日本環境変異原学会第32回大会 (2003.11)

\*<sup>1</sup> 宇都宮大学

\*<sup>2</sup> 大阪信愛女学院短期大学

林 真: 代替法開発の現状と今後の展望 - 小核試験  
第17回日本動物実験代替法学会 (2003.11)

Hayashi, M.: ***In vitro* and *in vivo* mutagenicity and cytotoxicity tests-Newly development of *in vivo* micronucleus assay ASIATOX III** (2004.2)

Hayashi, M.: **Strategy for safety assessment of food and related chemicals based on genotoxicity assay data**  
International Symposium on "Risk Assessment Strategy in Genotoxicity of Food and Related Substances" (2004.2)

Hayashi, M.: **Regulatory perspective on data gaps in Japan**  
HESI Workshop on DNA Adducts: Biological Consequences and Application to Risk Assessment (2004.4)

Honma, M., Izumi, M.<sup>\*</sup>, Sakuraba, M., Tadokoro, S., Sakamoto, H., Wang, W., Yatagai, F.<sup>\*</sup>, and Hayashi, M.: **Deletion, rearrangement, and gene conversion; the genetic consequences of chromosomal double-strand breaks in human cells.**  
European Environmental Mutagen Society 33rd Annual Meeting (2003.8)

\* 理化学研究所

Moore, M.M.<sup>\*</sup> and Honma, M.: **Measures of cytotoxicity in the Mouse Lymphoma Assay (MLA): Implications for data comparison with *in vitro* cytogenetic assays**  
European Environmental Mutagen Society 33rd Annual Meeting (2003.8)

\* NCTR, U.S. FDA

Honma, M.: **DNA double strand break repair and chromosomal instability in mammalian cells**  
46th Annual Meeting of Japan Radiation Research Society (2003.10)

本間正充, 泉 雅子<sup>\*</sup>, 桜庭真弓, 田所 聡, 坂本浩子, 王文晟, 谷田貝文夫<sup>\*</sup>, 林 真: **Targeted Mutagenesisによるヒトゲノム中のDNA2本鎖切断修復の解析**  
日本環境変異原学会第32回大会 (2003.11)

\* 理化学研究所

坂本浩子, 本間正充, 羽倉昌志<sup>\*</sup>: **ヒト細胞を基礎とした新しい*in vitro* 遺伝毒性評価系の構築: ヒトS9の適応 (JEMS/MMS 第2回ヒト細胞共同研究)**  
日本環境変異原学会第32回大会 (2003.11)

\* エーザイ (株)

Honma, M.: **The fate of DNA double strand break (DSBs) in human cells**  
11th Annual Meeting of Chinese Environmental Mutagen Society (2003.11)

本間正充：ほ乳類細胞における DNA2 本鎖切断と、遺伝的不安定性

第 26 回日本分子生物学会年会 (2003. 12)

本間正充：ヒト細胞における染色体 DNA2 本鎖切断の運命  
横浜市立大学木原生物学研究所セミナー「核機能とクロマチンダイナミクス」(2004. 3)

能美健彦：YファミリーDNAポリメラーゼの作る分子多様性  
第 5 回日本進化学会福岡大会 (2003. 8)

Masumura K., Hoshino M., Yatagai F.<sup>1</sup>, Ochiai M.<sup>2</sup>, Ueda O.<sup>3</sup>, Suzuki H.<sup>3,4</sup>, Nakagama H.<sup>2</sup>, Nohmi T.: **Non-homologous end-joining in X-ray-irradiated *scid/gpt delta* transgenic mouse**  
Gordon Research Conferences: Genetic toxicology (2003.8)

<sup>1</sup> 理化学研究所

<sup>2</sup> 国立がんセンター研究所

<sup>3</sup> 中外製薬

<sup>4</sup> 帯広畜産大学

Yamada, M., Kim, S.-R., Kokubo, K.<sup>1</sup>, Matsui, K., Yamada, N.<sup>2</sup>, Kanke, Y.<sup>1</sup>, Fukuoka, M.<sup>2</sup> and Nohmi, T.: **Light-dependent generation of reactive oxygen species from benzo[a]pyrene is mediated via its DNA adduct(s)**

European Environmental Mutagen Society, 33rd Annual Meeting (2003. 8)

<sup>1</sup> 大妻女子大・院

<sup>2</sup> 昭和薬科大学

柴田淳史<sup>1,2,3</sup>, 鎌田宣夫<sup>4</sup>, 増村健一, 能美健彦, 小林静子<sup>2</sup>, 寺岡弘文<sup>3</sup>, 中釜 齊<sup>1</sup>, 杉村 隆<sup>1</sup>, 鈴木宏志<sup>4,5</sup>, 益谷美都子<sup>1</sup>: **Parp-1 欠損マウスにおける *in vivo* 突然変異解析**  
日本癌学会 62 回総会 (2003. 9)

<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

<sup>2</sup> 共立薬科大学

<sup>3</sup> 東京医科歯科大学

<sup>4</sup> 中外製薬

<sup>5</sup> 帯広畜産大学

麻見安雄, 村上正弘<sup>1</sup>, 早田 勇<sup>1</sup>, Pisani F.M.<sup>1</sup>, 能美健彦: **原子力顕微鏡を用いた DNA ポリメラーゼによる損傷塩基認識機構の解析**

日本放射線影響学会第 46 回大会 (2003. 10)

<sup>1</sup> 放射線医学総合研究所

<sup>2</sup> イタリア CNR・蛋白質生化学研究所

橋本顯子\*, 天沼喜美子\*, 田村憲治\*, 増村健一, 能美健彦, 青木康展\*: **ディーゼル曝露 *gpt delta* トランスジェニックマウスの肺に生じた突然変異スペクトルの解析**

フォーラム 2003: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2003. 10)

\* 国立環境研究所

Nohmi, T.: **Y-family DNA polymerases and their roles in oxidative mutagenesis**

Istituto Superiore di Sanita, Italy (2003.10)

Kim, S.-R., Matsui, K., Yamada, M., Kohno, T.<sup>1</sup>, Kasai, K.<sup>2</sup>, Yokota, J.<sup>1</sup> and Nohmi, T.: **Suppression of chemically-induced oxidative mutagenesis by three alleles of human *OGG1* gene encoding 8-hydroxyguanine DNA glycosylase**

8th International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (2003.10)

<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

<sup>2</sup> 産業医科大学・産業生態科学研究所

Nohmi, T.: **Oxidative mutagenesis and Y-family DNA polymerases**

Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR, Italy (2003.10)

落合雅子<sup>1</sup>, 瀬尾友子<sup>1</sup>, 上田乙也<sup>2</sup>, 鈴木宏志<sup>2</sup>, 増村健一, 能美健彦, 杉村 隆<sup>1</sup>, 中釜 齊<sup>1</sup>: **自然発生及び azoxymethane 誘発の欠失型突然変異に *scid* 変異が及ぼす影響**

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

<sup>2</sup> 中外製薬

橋本顯子<sup>1</sup>, 天沼喜美子<sup>1</sup>, 日吉孝子<sup>1,2</sup>, 高野裕久<sup>1</sup>, 増村健一, 能美健彦, 青木康展<sup>1</sup>: **Benzo[a]pyrene および 1,6-dinitropyrene 投与 *gpt delta* トランスジェニックマウスの肺に生じた突然変異スペクトルの解析**

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

<sup>1</sup> 国立環境研究所

<sup>2</sup> 筑波大学

竹入章\*, 三島雅之\*, 田中健司\*, 原田麻子\*, 新倉博文\*, 麻生良典\*, 増村健一, 能美健彦: ***gpt delta* L1 細胞において mitomycin C により誘発された変異の解析**

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

\* 中外製薬

増村健一, 松井恵子, 山田雅巳, 能美健彦: **アルキル化 DNA 損傷修復欠損サルモネラ株を用いたニトロソ化合物の突然変異誘発機構の解析**

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

山田雅巳, 松井恵子, 金 秀良, 小久保清子<sup>1</sup>, 菅家祐輔<sup>1</sup>, 山田典代<sup>2</sup>, 福岡正道<sup>2</sup>, 能美健彦: **Benzo[a]pyrene の DNA 付加体が可視光により活性化されて活性酸素を生じる機構について**

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

<sup>1</sup> 大妻女子大・院

<sup>2</sup> 昭和薬科大学

小久保清子\*, 山田雅巳, 松井恵子, 菅家祐輔\*, 能美健彦: **Ames 試験菌株における DNA ポリメラーゼ破壊株の各種変異原に対する感受性**

日本環境変異原学会第 32 回大会 (2003. 11)

\* 大妻女子大・院

Nakae D.<sup>1</sup>, Takahashi M.<sup>1</sup>, Masumura K., Umemura T.<sup>1</sup>, Uematsu F.<sup>1</sup>, Yoshida M.<sup>1</sup>, Igarashi M.<sup>1</sup>, Watanabe N.<sup>1</sup>, Maekawa A.<sup>2</sup>, Nishikawa A.<sup>2</sup>, Hirose M.<sup>2</sup>, Nohmi T.: **Profile of somatic mu-**



**tation induced *in vivo* in *gpt* delta transgenic rat fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet**

International Joint Meeting on Food Factors and Free Radicals (2003.12)

\*<sup>1</sup> (財) 佐々木研究所

\*<sup>2</sup> 病理部

増村健一, 宇多洋美\*<sup>1</sup>, 西川秋佳\*<sup>2</sup>, 岡崎和志\*<sup>2</sup>, 梅村隆志\*<sup>2</sup>, 広瀬雅雄\*<sup>2</sup>, 能美健彦: 酸化的 DNA 損傷によりラット個体に誘発される突然変異スペクトルの解析  
第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

\*<sup>1</sup> 昭和薬科大学

\*<sup>2</sup> 病理部

麻見安雄\*<sup>1</sup>, 村上正弘\*<sup>2</sup>, 早田 勇\*<sup>2</sup>, Pisani Francesca\*<sup>3</sup>, 能美健彦: 原子間力顕微鏡を用いた DNA ポリメラーゼによる損傷塩基認識機構の解析  
第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

\*<sup>1</sup> 現広島大学・院

\*<sup>2</sup> 放射線医学総合研究所

\*<sup>3</sup> イタリア CNR・蛋白質生化学研究所

山田雅巳, 金秀良, 松井恵子, 能美健彦: YファミリーDNAポリメラーゼが乗り越える損傷の違いについて  
第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

清水雅富\*<sup>1</sup>, ピーター・グルーズ, 紙谷浩之\*<sup>2</sup>, 益谷央豪\*<sup>3,4</sup>, 徐 岩\*<sup>5</sup>, 杉山 弘\*<sup>5</sup>, 原島秀吉\*<sup>2</sup>, 花岡文雄\*<sup>3,4</sup>, 能美健彦: ヒトYファミリーDNAポリメラーゼによる酸化的損傷ヌクレオチドの取り込み  
第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

\*<sup>1</sup> 現青葉学園短期大学・食物

\*<sup>2</sup> 北海道大学・院・薬

\*<sup>3</sup> 大阪大学・生命機能

\*<sup>4</sup> CREST

\*<sup>5</sup> 京都大学・理, 東京医歯大

増村健一, 戸塚ゆ加里\*, 若林敬二\*, 能美健彦: トランスジェニックマウス *gpt* delta を用いた aminophenylnorharman の *in vivo* 変異原性の検索  
「個体レベル」若手ワークショップ (2004.1)

\* 国立がんセンター研究所

Nohmi, T.: *gpt* delta transgenic mice and rats: a novel approach to dissect species specific mutagenesis and carcinogenesis  
Health Canada (2004.2)

Nohmi, T.: Y-family DNA polymerases: their roles in mutagenesis  
University of Nebraska (2004.2)

Yamada, M., Shimizu, M., Gruz, P., Matsui, K., Nunoshiba, T.\*<sup>1</sup>, Kamiya, H.\*<sup>2</sup>, Harashima, H.\*<sup>2</sup> and Nohmi, T.: SOS-inducible DNA polymerases and their roles in genome instability  
Keystone Symposia, Bacterial Chromosome (2004.2)

\*<sup>1</sup> 東北大学・院・理

\*<sup>2</sup> 北海道大学・院・薬

Yamada, M.: Y-family of DNA polymerases for translesion synthesis and erroneous incorporation of oxidative nucleotides - Sso DNA pol Y1 -

Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR, Italy (2004.2)

Yamada, M.: Y-family of DNA polymerases for translesion synthesis and erroneous incorporation of oxidative nucleotides - Sso DNA pol Y1 -

Darmstadt University of Technology, Germany (2004.2)

小山秀機\*, 増井 徹: テクニカルセミナー: siRNA を用いた研究

日本組織培養学会第77回大会 (2003.5)

\* 横浜市立大学, 木原生物学研究所.

増井 徹: わが国におけるヒト組織の利用に関する技術的・社会的課題

動物実験代替法シンポジウム: 動物実験代替法・削減とヒト組織の利用 (2003.6)

田辺秀之: 染色体テリトリーの核内配置からみた構造ゲノミクスとしてのゲノム進化

第5回日本進化学会福岡大会 (2003.8)

Tanabe, H., Hayashi, M., Mizusawa, H.: Application of pooled chromosome paint probes with specific combinations for detecting the abnormality on the interphase radial chromosome positioning

The 6th International Symposium on Chromosomal Aberrations (2003.9)

吉田恵一\*<sup>1,2</sup>, 田辺秀之, 黒田雅彦\*<sup>1,2</sup>, 石田 剛\*<sup>1</sup>, 斎藤 彰\*<sup>3</sup>, 喜友名朝春\*<sup>3</sup>, 佐藤 均\*<sup>4</sup>, 水沢 博, 向井 清\*<sup>1</sup>: 粘液型脂肪肉腫腫瘍発生における染色体テリトリーの関与  
第62回日本癌学会総会 (2003.9)

\*<sup>1</sup> 東京医科大学

\*<sup>2</sup> 科学技術振興事業団 CREST

\*<sup>3</sup> 日本電気株式会社

\*<sup>4</sup> 東京大学・医科学研究所

増井 徹, 高田容子, 田辺秀之, 林 真, 水澤 博: 英国バイオバンクと日本の細胞バンクにおける人資料収集

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

増井 徹: ゲノム情報の利用と社会-アイランド, 英国, そして日本-

科学・技術と社会の会 2003 ワークショップ (2003.11)

田辺秀之\*, 北條麻紀, 林 真, 水沢 博: 染色体テリトリーの放射状核内配置: 遺伝子密度と染色体サイズによる核中心部I領域と核周辺部P領域の識別とその応用

第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

\* 総合研究大学院大学・先導科学研究科

吉田恵一\*<sup>1,2</sup>, 田辺秀之\*<sup>3</sup>, 喜友名朝春\*<sup>4</sup>, 斎藤 彰\*<sup>4</sup>, 水沢

博, 黒田雅彦<sup>\*1,2</sup>, 向井 清<sup>\*1</sup>: 粘液型脂肪肉腫腫瘍発生における染色体テロリーの関与  
第26回日本分子生物学会年会 (2003.12)

<sup>\*1</sup> 東京医科大学

<sup>\*2</sup> 科学技術振興事業団 CREST

<sup>\*3</sup> 総合研究大学院大学・先端科学研究科

<sup>\*4</sup> 日本電気株式会社

Masui, T.: **Genome Research and humanity** ヒトゲノム研究と人)

国際シンポジウム, Gene, Body, Female and Politics Gender (遺伝子, 身体, 女と政治)(2004.1)

Masui, T.: **Use of human for biomedical research in Japan** (日本における「人」を用いた医学生物学研究)

US-Japan Cancer Meeting Large Cohort for Molecular Epidemiology (日米がん会議, 分子疫学の大規模コホート研究 (2004.2)

水澤 博, 高田容子, 榎松美治<sup>\*</sup>, 北條麻紀, 安田留菜, 増井徹, 田辺秀之: 培養細胞で発生しているクロスカルチャーコンタミネーションに関する JCRB 細胞バンクにおける国内調査

日本組織培養学会第77回大会(2004.5)

<sup>\*</sup> ヒューマンサイエンス振興財団

Mizusawa, H., Tanabe, H., Takada, Y., Kurematsu, M.<sup>\*</sup>, Hojoh, M., Yasuda, R., and Masui, T.: **Cross culture contamination of culture cell lines in Japan: JCRB case report and the use of DNA profiling for the sample control frame**

World Congress on In Vitro Biology (Symposium) Mammalian Cell contamination (2004.5)

<sup>\*</sup> Japan Health Sciences Foundation

絵野沢伸<sup>\*</sup>, 増井 徹: ヒト組織利用と再生医療  
第11回HAB研究機構学術年会(2004.5)

<sup>\*</sup> 国立成育医療センター研究所

江馬眞, 原園景, 広瀬明彦, 鎌田栄一: ジブチルスズによるラットにおける着床阻害に対するプロゲステロンの効果  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

広瀬明彦, 江馬 眞, 鎌田栄一, 小泉睦子, 長谷川隆一: ビスフェノール A による内分泌かく乱作用のリスクアセスメント  
第30回日本トキシコロジー学会学術年会 (2003.7)

江馬 眞, 宮脇英美子, 広瀬明彦, 鎌田栄一: モノブチルフラレートによるラット雄胎児における肛門生殖突起間距離の短縮及び精巣下降不全  
第43回日本先天異常学会学術集会 (2003.7)

Sekizawa, J., Miyairi, S. and Ema, M.: **Possible modification of dioxin risk in the presence of endogenous ligands for arylhydrocarbone receptor.**

23rd International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2003) (2003.8)

Ema, M., Harazono, A., Fujii, S. and Kawashima, K.: **Developmental toxicity of  $\beta$ -thujaplicin (TP) in rats.**

Society of Toxicology, 43th Annual Meeting (2004.3)

谷本 剛: 日本薬局方第15改正に向けての動向  
第40回全国薬事指導協議会総会 (2003.10)

齊藤博幸, 谷本 剛, S. Lund-Katz, S.<sup>\*</sup>, Phillips, M.C.<sup>\*\*</sup>: 血中脂質転送タンパク質アポA-Iのドメイン構造と脂質膜結合  
第25回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (2003.11)

<sup>\*</sup> The Children's Hospital of Philadelphia, USA

大石なみき<sup>\*</sup>, 森久保聡一<sup>\*</sup>, 高村佳弘<sup>\*</sup>, 久保江理<sup>\*</sup>, 都筑昌哉<sup>\*</sup>, 谷本 剛, 赤木好男<sup>\*</sup>: ヒト糖尿病白内障と赤血球中 aldose reductase (AR) との関係  
第10回日本糖尿病眼学会総会 (2004.3)

<sup>\*</sup> 福井医科大学

Oishi, N.<sup>\*</sup>, Morikubo, S.<sup>\*</sup>, Kubo, E.<sup>\*</sup>, Takamura, Y.<sup>\*</sup>, Tukushi, M.<sup>\*</sup>, Tanimoto, T., Akagi, Y.<sup>\*</sup>: **The Correlation Between Erythrocyte Aldose Reductase Level And Human Diabetic Cataract**  
ARVO 2004 Annual Meeting (2004.4)

<sup>\*</sup> 福井医科大学

Tanimoto, T.: **What's New. The Japanese Pharmacopoeia**  
PDA 2004 Pharmaceutical & Biopharmaceutical Manufacturing Science & Technology Congress (2004.5)

Yoshii, K., Tsumura, Y.<sup>\*</sup>, Ishimitsu, S., Tonogai, Y.: **Simultaneous Determination of Emamectin, Its metabolites, Milbemectin, Ivermectin and Abamectin in Crops by LC/MS**

3rd Pan Pacific Conference on Pesticide Science (2003.6)

<sup>\*</sup> 近畿厚生局麻薬取締部

古川みづき, 辻 澄子, 中野真希, 外海泰秀: 薄層クロマトグラフィー用色素標準品フラビアン酸について  
第40回全国衛生化学協議会年会 (2003.11)

Urushidani T., Kanno J., Miyagishima T., and Nagao T.: **Toxicogenomics project in Japan - Objective and proposal** 43rd Annual Meeting of Society of Toxicology (2004.3)

堤 康央: プロテオーム創薬に叶う DDS 基盤技術の開発  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*1</sup>: 抗体療法の最適化を目指した創薬基盤テクノロジーの開発  
日本薬学会第124年会 (2004.3)

<sup>\*1</sup> 大阪大学薬学研究科

<sup>\*2</sup> 神戸学院大学薬学研究科

向 洋平<sup>\*1</sup>, 吉岡靖雄, 柴田寛子<sup>\*1</sup>, 阿部康弘<sup>\*1</sup>, 岡本貴行<sup>\*1</sup>, 清水智絵<sup>\*1</sup>, 川村真紀<sup>\*1</sup>, 鎌田春彦<sup>\*2</sup>, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*2</sup>, 真弓忠範<sup>\*3</sup>: 蛋白療法の最適化に向けた腎ターゲティングキャリアの開発

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 三重大学医学部

\*3 神戸学院大学薬学研究科

川村真紀<sup>\*1</sup>, 岡本貴行<sup>\*1</sup>, 吉岡靖雄, 柴田寛子<sup>\*1</sup>, 清水智絵<sup>\*1</sup>, 向 洋平<sup>\*1</sup>, 阿部康弘<sup>\*1</sup>, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>: 医薬価値に優れた新規機能性ペプチドの網羅的探索システムの構築

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

柴田寛子<sup>\*1</sup>, 吉岡靖雄, 向 洋平<sup>\*1</sup>, 阿部康弘<sup>\*1</sup>, 岡本貴行<sup>\*1</sup>, 清水智絵<sup>\*1</sup>, 川村真紀<sup>\*1</sup>, 鎌田春彦<sup>\*2</sup>, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*3</sup>: 新規腎ターゲットキャリアーの腎疾患治療への応用

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 三重大学医学部

\*3 神戸学院大学薬学研究科

岡本貴行<sup>\*1</sup>, 川村真紀<sup>\*1</sup>, 吉岡靖雄, 柴田寛子<sup>\*1</sup>, 清水智絵<sup>\*1</sup>, 向 洋平<sup>\*1</sup>, 阿部康弘<sup>\*1</sup>, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>: 細胞内移行ペプチドを利用した細胞内薬物送達に関する基礎的検討

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央: 医薬価値に優れた機能性人工蛋白質の創製とDDSへの展開

創剤フォーラム第9回若手研究会(2003.11)

吉岡靖雄, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>: 医薬価値に優れた機能性変異蛋白質の網羅的創製とそのDDSへの応用

第53回日本薬学会近畿支部総会・大会(2003.11)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央, 真弓忠範<sup>\*1</sup>: Creation of lysine-deficient proteins with full bioactivities results in a novel PEGylation system

第76回日本生化学会大会(2003.10)

\*1 神戸学院大学薬学研究科

堤 康央, 真弓忠範<sup>\*1</sup>: 薬物の時空間的な体内挙動を制御できる高分子バイオコンジュゲーション法

第5回地域交流フォーラム(2003.9)

\*1 神戸学院大学薬学研究科

吉岡靖雄, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>: 医薬価値に優れた機能性人工蛋白質を迅速創製可能な創薬戦略の確立に向けて

第62回日本癌学会総会(2003.9)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

向 洋平<sup>\*1</sup>, 吉岡靖雄, 岡本貴行<sup>\*1</sup>, 吉川友章<sup>\*1</sup>, 柴田寛子<sup>\*1</sup>, 清水智絵<sup>\*1</sup>, 川村真紀<sup>\*1</sup>, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>: 癌ミサイル療法の最適化に向けたImmunotoxinの部位特異的バイオコンジュゲーションに関する検討

第19回日本DDS学会(2003.6)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

川村真紀<sup>\*1</sup>, 岡本貴行<sup>\*1</sup>, 吉岡靖雄, 向 洋平<sup>\*1</sup>, 清水智絵<sup>\*1</sup>, 柴田寛子<sup>\*1</sup>, 堤 康央, 中川晋作<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*2</sup>

: 抗TNF療法の最適化に向けた1本鎖抗体の部位特異的バイオコンジュゲーションに関する基礎的検討

第19回日本DDS学会(2003.6)

\*1 大阪大学薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学研究科

吉岡靖雄, 堤 康央, 山本陽子<sup>\*1</sup>, 小林恭子<sup>\*2</sup>, 柴田寛子<sup>\*2</sup>, 岡本貴行<sup>\*2</sup>, 吉川友章<sup>\*2</sup>, 清水はな<sup>\*2</sup>, 清水智絵<sup>\*2</sup>, 向 洋平<sup>\*2</sup>, 川村真紀<sup>\*2</sup>, 中川晋作<sup>\*2</sup>, 真弓忠範<sup>\*3</sup>: 目的とする生理活性を完全に保持した機能性変異蛋白質の迅速構築とそのDDSへの応用

日本薬剤学会第18年会(2003.4).

\*1 聖マリアンナ医科大学

\*2 大阪大学薬学研究科

\*3 神戸学院大学薬学研究科

杉田敏樹<sup>\*1</sup>, 高建青<sup>\*1</sup>, Alexandre Learth Soares<sup>\*1</sup>, 衛藤佑介<sup>\*1</sup>, 倉知慎之輔<sup>\*1</sup>, 中山隆志<sup>\*2</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 義江修<sup>\*2</sup>, 堤 康央<sup>\*1</sup>, 真弓忠範<sup>\*3</sup>, 中川晋作<sup>\*1</sup>: Cell Delivery Systemによる癌遺伝子治療の最適化

遺伝子・デリバリー研究会 第4回シンポジウム(2004.5)

\*1 大阪大学大学院薬学研究科

\*2 近畿大学大学院医学研究科

\*3 神戸学院大学薬学部

衛藤佑介<sup>\*1</sup>, 倉知慎之輔<sup>\*1</sup>, 高建青<sup>\*1</sup>, 堤 康央<sup>\*1</sup>, 水口裕之, 前田光子<sup>\*2</sup>, 川崎鉦一<sup>\*2</sup>, 早川堯夫, 真弓忠範<sup>\*1,2</sup>, 中川晋作<sup>\*1</sup>: 体内動態制御を目指したバイオコンジュゲート化アデノウイルスベクターの創製

遺伝子・デリバリー研究会 第4回シンポジウム(2004.5)

\*1 大阪大学大学院薬学研究科

\*2 神戸学院大学薬学部

櫻井文教: 新規アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入遺伝子・デリバリー研究会 第4回シンポジウム(2004.5)

小泉直也, 水口裕之, 櫻井文教, 近藤昌夫, 山口照英, 渡辺善照<sup>\*</sup>, 早川堯夫: CAR, インテグリン, ヘパラン硫酸との結合性を除去したアデノウイルスベクターの体内動態

日本薬学会124年会(2004.3)

\* 昭和薬科大学

櫻井文教, 水口裕之, 川端健二, 佐々木朋美, 福島敬, 山口照英, 早川堯夫: 35型アデノウイルスベクターによる遺伝子導入におけるCD46の関与

日本薬学会124年会(2004.3)

細野哲司, 水口裕之, 福島敬, 佐々木朋美, 石井(渡部)明子, 形山和史\*, 中川晋作\*, 山口照英, 真弓忠範\*, 早川堯夫:  
siRNA 発現アデノウイルスベクターによる RNAi 効果に関する検討

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

\* 大阪大学大学院薬学研究科

平田圭一\*, 宇都口直樹\*, 松山淳史\*, 水口裕之, 早川堯夫, 丸山一雄\*: トランスフェリン修飾リポソームを用いたアデノウイルスベクターの感染能制御に関する基礎検討

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

\* 帝京大学薬学部

岡田裕香<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>2</sup>, 水口裕之, 鈴木加恵<sup>1</sup>, 田中早紀<sup>1</sup>, 高橋幸一<sup>1</sup>, 早川堯夫, 真弓忠範<sup>3</sup>, 水野亘恭<sup>1</sup>: 腫瘍特異的プロモーターを搭載した RGD ファイバーミュータントアデノウイルスベクターのメラノーマ自殺遺伝子治療における有用性

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>2</sup> 京都薬科大学

<sup>3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

井上恵美子<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>1</sup>, 飯山さやか<sup>1</sup>, 松井あや<sup>1</sup>, 岡田裕香<sup>2</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 中川晋作<sup>3</sup>, 真弓忠範<sup>3</sup>, 藤田卓也<sup>1</sup>, 山本昌<sup>1</sup>: 抗原遺伝子と IL-12 遺伝子を共導入した樹状細胞の T 細胞感作・活性化能

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 京都薬科大学

<sup>2</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

森直樹<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>1</sup>, 是友良介<sup>1</sup>, 岡田裕香<sup>2</sup>, 中山隆志<sup>3</sup>, 義江修<sup>3</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 中川晋作<sup>4</sup>, 真弓忠範<sup>4</sup>, 藤田卓也<sup>1</sup>, 山本昌<sup>1</sup>: リンパ組織移行性を増強した樹状細胞ワクチンの創製

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 京都薬科大学

<sup>2</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>3</sup> 近畿大学医学部

<sup>4</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

佐々木明徳<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>1</sup>, 丹羽正和<sup>1</sup>, 岡田裕香<sup>2</sup>, 中山隆志<sup>3</sup>, 義江修<sup>3</sup>, 畑中豊<sup>4</sup>, 谷洋一<sup>4</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 中川晋作<sup>5</sup>, 真弓忠範<sup>5</sup>, 藤田卓也<sup>1</sup>, 山本昌<sup>1</sup>: ケモカイン発現ベクターの腫瘍内投与を併用した樹状細胞ワクチンの抗腫瘍効果

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 京都薬科大学

<sup>2</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>3</sup> 近畿大学医学部

<sup>4</sup> ダコ・サイトメーション

<sup>5</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

大橋興三<sup>1</sup>, 形山和史<sup>1</sup>, 和田孝一郎<sup>2</sup>, 三好浩之<sup>2</sup>, 水口裕之,

立花雅史<sup>1</sup>, 古木理恵<sup>1</sup>, 中島淳<sup>6</sup>, 門脇 孝<sup>6</sup>, 堤康央<sup>1</sup>, 中川晋作<sup>1</sup>, 早川堯夫, 真弓忠範<sup>1</sup>: shRNA 発現レンチウイルスベクターを用いた PPAR- $\gamma$  ノックダウン法の確立

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

<sup>2</sup> 大阪大学大学院歯学研究科

<sup>3</sup> 理化学研究所 BRC

<sup>4</sup> 横浜市立大学医学部

<sup>5</sup> 東京大学大学院医学研究科

形山和史<sup>1</sup>, 三好浩之<sup>2</sup>, 水口裕之, 立花雅史<sup>1</sup>, 大橋興三<sup>1</sup>, 古木理恵<sup>1</sup>, 川端健二, 堤康央<sup>1</sup>, 中川晋作<sup>1</sup>, 早川堯夫, 真弓忠範<sup>1</sup>: shRNA 発現レンチウイルスベクターの作製と機能評価

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

<sup>2</sup> 理化学研究所 BRC

衛藤佑介\*, 倉知慎之輔\*, 高建青\*, 形山和史\*, 堤康央\*, 水口裕之, 早川堯夫, 中川晋作\*, 真弓忠範\*: ポリエチレングリコール修飾アデノウイルスベクターの体内動態に関する検討

日本薬学会 124 年会 (2004. 3)

\* 大阪大学大学院薬学研究科

滝正樹<sup>1</sup>, 藤原俊義<sup>1</sup>, 川嶋健<sup>1</sup>, 藤原俊哉<sup>1</sup>, 岸本浩行<sup>1</sup>, 香川俊輔<sup>1</sup>, 西崎正彦<sup>1</sup>, 深澤拓也<sup>1</sup>, 水口裕之, 京哲<sup>2</sup>, 田中紀章<sup>1</sup>: RGD ファイバー変異を挿入した腫瘍特異的増殖可能アデノウイルス (TRAD) の抗腫瘍効果の増強

第 8 回遺伝子医療研究会 (2004. 3)

<sup>1</sup> 岡山大学医学部

<sup>2</sup> 金沢大学医学部

櫻井文教, 水口裕之, 川端健二, 佐々木朋美, 福島敬, 山口照英, 早川堯夫: 35 型アデノウイルスベクターによる遺伝子導入における CD46 の関与

第 8 回遺伝子医療研究会 (2004. 3)

水口裕之: 次世代アデノウイルスベクターの開発—遺伝子機能解析から遺伝子治療に向けた基盤技術開発—

文部科学省ハイテクリサーチセンター整備事業 高齢化社会における加齢性疾患の予防・治療薬の開発研究第 8 回研究成果発表会プログラム (2004. 2)

水口裕之, 早川堯夫: 遺伝子機能解析のための改良型アデノウイルスベクター—標的細胞特異性・発現制御から RNAi まで—

第 26 回日本分子生物学会 (2003. 12)

岡田裕香<sup>1</sup>, 鈴木加恵<sup>1</sup>, 田中早紀<sup>1</sup>, 高橋幸一<sup>1</sup>, 水野亘恭<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>2</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 真弓忠範<sup>3</sup>: 改良型アデノウイルスベクターを用いたメラノーマ遺伝子治療の最適化

第 53 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (2003. 11)

<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>2</sup> 京都薬科大学

<sup>3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

水口裕之, 櫻井文教, 山口照英, 早川堯夫: 35型アデノウイルスを基本骨格としたベクターの開発とその遺伝子導入特性  
第51回日本ウイルス学会学術集会・総会 (2003.10)

Hiroyuki Mizuguchi, Zhi-Li Xu, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Tadanori Mayumi, Takao Hayakawa: **Development of capsid-modified single adenovirus vectors displaying tight tetracycline-inducible gene expression and broader tropism**  
第76回日本生化学会大会 (2003.10)

\* 大阪大学大学院薬学研究科

萩山裕之\*, 上阪等\*, 水口裕之, 早川堯夫, 宮坂信之\*: アデノウイルスベクター発現カセット改変による滑膜線維芽細胞における導入遺伝子の発現効率の向上  
第31回日本臨床免疫学会総会 (2003.10)

\* 東京医科歯科大学大学院医学研究科

水口裕之, 櫻井文教, 渡辺善照\*, 早川堯夫: 感染能を欠損させたアデノウイルスベクターの開発 - ターゲティングベクターの開発に向けて -  
第62回日本癌学会総会 (2003.9)

\* 昭和薬科大学

滝正樹<sup>1</sup>, 藤原俊義<sup>1</sup>, 川嶋健<sup>1</sup>, 岸本浩行<sup>1</sup>, 藤原俊哉<sup>1</sup>, 水口裕之, 京哲<sup>2</sup>, 香川俊輔<sup>1</sup>, 西崎正彦<sup>1</sup>, 田中紀章<sup>1</sup>: RGDファイバー変異を挿入した腫瘍特異的増殖可能アデノウイルス (TRAD) の抗腫瘍効果の増強

第62回日本癌学会総会 (2003.9)

<sup>1</sup> 岡山大学医学部

<sup>2</sup> 金沢大学医学部

Zhi-Li Xu, Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Tadanori Mayumi, Takao Hayakawa: **Improved tetracycline-inducible regulation system by a single self-containing adenovirus vector**

第9回日本遺伝子治療学会 (2003.7)

\* 大阪大学大学院薬学研究科

Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa: **Characterization of In vivo Gene Transfer Property of an Adenovirus Serotype 35 Vector**

第9回日本遺伝子治療学会 (2003.7)

Naoya Koizumi, Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Yoshiteru Watanabe, Takao Hayakawa: **Reduced natural adenovirus (Ad) transduction to mouse liver by Ad vectors containing CAR-binding ablated Ad type 5 fiber knob, Ad type 35 fiber shaft, and Ad type 5 penton base with the deletion of RGD motif**

第9回日本遺伝子治療学会 (2003.7)

\* 昭和薬科大学

Jian-Qing Gao<sup>1</sup>, Yasuhiro Tsuda<sup>1</sup>, Kazufumi Katayama<sup>1</sup>, Takashi Nakayama<sup>2</sup>, Yutaka Hatanaka<sup>3</sup>, Yoichi Tani<sup>3</sup>, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Osamu Yoshie<sup>2</sup>, Yasuo

Tsutsumi<sup>1</sup>, Tadanori Mayumi<sup>1</sup>, Shinsaku Nakagawa<sup>1</sup>: **Anti-tumor effect by a CC chemokine, CCL27, introduced into tumor cells through a recombinant adenovirus vector.**

第9回日本遺伝子治療学会 (2003.7)

<sup>1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

<sup>2</sup> 近畿大学医学部

<sup>3</sup> ダコ・サイトメーション

Kazufumi Katayama<sup>1</sup>, Koichiro Wada<sup>2</sup>, Atsushi Nakajima<sup>3</sup>, Sachiko Yoshida<sup>3</sup>, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa, Masashi Tachibana<sup>1</sup>, Shinsaku Nakagawa<sup>1</sup>, Takashi Kadowaki<sup>4</sup>, Yoshinori Kamisaki<sup>2</sup>, Richard S. Blumberg<sup>5</sup>, Tadanori Mayumi<sup>1</sup>: **A novel direction for gene therapy of inflammatory bowel disease (IBD).**

30th Annual Meeting and Exposition, Controlled Release Society (2003.7)

<sup>1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

<sup>2</sup> 大阪大学大学院歯学研究科

<sup>3</sup> 横浜市立大学医学部

<sup>4</sup> 東京大学大学院医学研究科

<sup>5</sup> ハーバード大学医学部

佐々木明德<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>1</sup>, 大久保米起<sup>1</sup>, 岡田裕香<sup>2</sup>, 中山隆志<sup>3</sup>, 義江修<sup>3</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 中川晋作<sup>4</sup>, 真弓忠範<sup>4</sup>, 藤田卓也<sup>1</sup>, 山本昌<sup>1</sup>: 樹状細胞免疫療法の有効性改善を目指したケモカイン発現ベクターの併用

第19回日本DDS学会 (2003.6)

<sup>1</sup> 京都薬科大学

<sup>2</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>3</sup> 近畿大学医学部

<sup>4</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

飯山さやか<sup>1</sup>, 岡田直貴<sup>1</sup>, 舩永安繁<sup>1</sup>, 西田雅也<sup>1</sup>, 岡田裕香<sup>2</sup>, 水口裕之, 早川堯夫, 中川晋作<sup>3</sup>, 真弓忠範<sup>3</sup>, 藤田卓也<sup>1</sup>, 山本昌<sup>1</sup>: IL-12 遺伝子を導入した樹状細胞の表現型と腫瘍免疫誘導能の解析

第19回日本DDS学会 (2003.6)

<sup>1</sup> 京都薬科大学

<sup>2</sup> 武庫川女子大学薬学部

<sup>3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

細野哲司, 水口裕之, 石井(渡部)明子, 山口照英, 早川堯夫: siRNA 発現アデノウイルスベクターによる RNAi 効果に関する検討

第19回日本DDS学会 (2003.6)

櫻井文教, 水口裕之, 山口照英, 早川堯夫: 35型アデノウイルスベクターの in vivo 遺伝子発現及び体内動態に関する検討

第19回日本DDS学会 (2003.6)

古木理恵\*, 形山和史\*, 立花雅史\*, 大橋興三\*, 堤康央\*, 中川晋作\*, 水口裕之, 早川堯夫, 真弓忠範\*: 改良型アデノウイルスベクターを用いた胎盤への遺伝子導入

第19回日本DDS学会 (2003.6)

\* 大阪大学大学院薬学研究科

衛藤佑介\*, 関口文子\*, 高建青\*, 形山和史\*, 堤康央\*, 櫻井文教, 水口裕之, 早川堯夫, 真弓忠範\*, 中川晋作\*: 遺伝子治療の最適化を目指したポリエチレングリコール修飾アデノウイルスベクターの血中滞留性に関する検討  
第19回日本DDS学会 (2003. 6)

\* 大阪大学大学院薬学研究科

Hiroyuki Mizuguchi, Fuminori Sakurai, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa: Characterization of In Vivo Gene Transfer Property of an Adenovirus Serotype 35 Vector.  
American Society of Gene Therapy, 6th Annal Meeting (2003.6)

Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Takao Hayakawa: Efficient Gene Transfer into Human CD 34+ Cells and Cultured Blood Cell Lines by an Adenovirus Serotype 35 Vector.  
American Society of Gene Therapy, 6th Annal Meeting, (2003. 6)

山下 浩\*, 大久保綾子\*, 坂東英雄\*, 柴田敏郎, 畠山好雄  
\*2: ニシキギ科植物コマユミの成分研究 (3)  
日本生薬学会第50回年会 (2003. 9)

\*1 北海道薬科大学

\*2 ゆにガーデン

熊谷健夫, 柴田敏郎, 吉松嘉代: ケシの直接抽出法に関する研究(2) 外国導入系統のアヘンアルカロイド収量について  
日本生薬学会第50回年会 (2003. 9)

柴田敏郎: 生薬の国産栽培の重要性と現状及び課題ー野生薬用植物資源の枯渇という視点から  
第24回和漢薬研究所特別セミナー (2003. 10)

南 基泰\*, 李 鍵炯\*, 安 哉龍\*, 永井和夫\*, 禹 濟泰\*, 近藤誠三\*, 柴田敏郎: *Artemisia* 属植物の抗菌及び抗酸化活性の地理的変異について  
日本薬学会124年会 (2004. 3)

\*1 中部大学応用生物

\*2 小太郎漢方製薬(株)

内田太一\*, 清原寛章\*, 松本 司\*, 布目慎勇\*, 柴田敏郎, 山田陽城\*: オウギ地上部由来多糖成分の有用天然資源としての検討  
日本薬学会124年会 (2004. 3)

\*1 北里大院感染制御

\*2 北里大東洋医学総合研究所

柴田敏郎, 中西大樹: セリ科植物分果の形態と分果中にみられる油管の分布について (第1報)  
日本生薬学会北海道支部第27回例会 (2004. 5)

熊谷健夫, 柴田敏郎, 姉帯正樹\*: ヨロイグサの栽培に関する研究(1) 1年生栽培における栽植密度が生育, 収量及び成分含量に及ぼす影響  
日本生薬学会北海道支部第27回例会 (2004. 5)

\* 北海道立衛生研究所

Kiuchi, F.: Natural Products Effective for Parasitic Disease

Caused by Protozoa: Some Results in American Trypanosomiasis

Pak-Japan Workshop on Leishmaniasis - Present Status and Its Control (2004.1)

内山奈保子\*, 木内文之, 伊藤美千穂\*, 本多義昭\*, Kubata, B. K.\*<sup>2</sup>, Kabututu, K.\*<sup>3</sup>, 裏出良博\*<sup>3</sup>, 大久保 敬\*<sup>4</sup>, 福住俊一\*<sup>4</sup>, 嶋田淳子\*<sup>5</sup>, 坪内暁子\*<sup>5</sup>, 青木 孝\*<sup>5</sup>, Kodzhimatov, O. K.\*<sup>6</sup>, Ashurmetov, O.\*<sup>6</sup>: キノン型ジテルペンの抗トリパノソーマ作用機構  
第45回天然有機化合物討論会 (2003. 10)

\*1 京都大学大学院薬学研究科

\*2 US Army Medical Research Unit-Kenya

\*3 大阪バイオ研

\*4 大阪大学大学院工学研究科

\*5 順天堂大学医学部

\*6 Scientific Production Center, Uzbek Academy of Science

白木与弘\*, 矢倉 徹\*, 伊藤美千穂\*, 本多義昭\*, 木内文之\*: 沈香香氣成分の吸入投与による鎮静作用に関する研究  
第53回日本薬学近畿支部大会 (2003. 11)

\* 京都大学大学院薬学研究科

本宮知子\*, 伊藤美千穂\*, 木内文之, 本多義昭\*, 徳田春邦\*<sup>2</sup>, 西野輔翼\*, 飯田 彰\*<sup>1</sup>: *Helichrysum maracandicum* の抗がん活性成分の探索  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\*1 京都大学大学院薬学研究科

\*2 京都府立医大

矢倉 徹\*, 柴山奈央美\*, 伊藤美千穂\*, 本多義昭\*, 木内文之\*: シナジンコウ樹の傷害実験によるクロモン誘導体の生成  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\* 京都大学大学院薬学研究科

世取山守\*, 石原島栄二\*, 加藤洋子\*, 長門顕子\*, 関田節子: 長期保管における大麻油中のカンナビジオール含有量について  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\* 栃木県保健環境センター

小島尚\*, 宮澤真紀\*, 土井佳代\*, 関田節子: いわゆるケミカルドラッグ(ピペラジン化合物)のマウス行動に及ぼす作用について  
日本薬学会第124年会 (2004. 3)

\* 神奈川県衛生研究所

瀧野裕之, 高橋真理衣, 関田節子, 佐竹元吉\*<sup>1</sup>, 我妻 豊\*<sup>2</sup>: 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の探索(その6) ミャンマー産生薬の活性成分について  
日本生薬学会第50回年会 (2003.9)

\*1 お茶の水女子大学生活環境センター

\*2 MSMP プロジェクト

高橋真理衣, 瀧野裕之, 菱田敦之, 関田節子: ショウマ基原植物の成分比較について

日本生薬学会第50回年会(2003.9)

中根孝久, 瀧野裕之, 高橋真理衣, 飯田 修, 柴田敏郎, 香月茂樹, 関田節子, 佐竹元吉\*: マオウ科 *Ephedraceae* 植物のエフェドリン含量 IV- 国内栽培試験種及び国外野生種 -

日本生薬学会第50回年会(2003.9)

\* お茶の水女子大学生生活環境センター

黒柳正典\*, 加藤貴史\*, 叶 英樹\*, 瀧野裕之, 川原信夫: 4,5-Epoxy-1(10)-germacrene 型セスキテルペンの渡環反応

日本薬学会第124年会(2004.3)

\* 広島県立大学生物資源学部

瀧野裕之, 高橋真理衣, 川原信夫, 木内文之, 関田節子, 近藤誠三\*, 須藤雅夫\*, 政井久美\*, 有本恵子\*, 岡田 稔\*, 寺林 進\*, 滝 昌則\*, 藤田政雄\*, 川崎武志\*, 佐竹元吉\*: ブシ(加エブシ)の局方収載モノグラフへの検討

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 日本漢方生薬製剤協会

\*2 日本生薬連合会

\*3 東京生薬協会

\*4 お茶の水女子大学生生活環境センター

中根孝久\*, 山口真寿美\*, 高橋真理衣, 瀧野裕之, 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探索(その7) ミャンマー産重楼 *Paris mairei* の活性成分について

日本薬学会第124年会(2004.3)

\* お茶の水女子大学生生活環境センター

高橋真理衣, 瀧野裕之, 佐竹元吉\*, 我妻 豊\*, 関田節子: 抗リーシュマニア活性を有する薬用植物の探索(その8) ミャンマー産 *Millettia pendula* の材の活性成分について

日本薬学会第124年会(2004.3)

\*1 お茶の水女子大学生生活環境センター

\*2 MSMP プロジェクト

菱田敦之, 佐藤正幸\*, 姉帯正樹\*, 鈴木幸子\*, 安田一郎\*, 飯田 修, 関田節子, 柴田敏郎, 細川敬三\*: 葉緑体遺伝子 *rpl16* 及び *rpl16-rpl14 spacer* 領域の塩基配列解析に基づく *Asiasarum* 属植物の識別

日本生薬学会第50回年会(2003.9)

\*1 北海道立衛生研究所

\*2 東京都健康安全研究センター

\*3 兵庫大学健康科学部

森田ゆかり\*, 細川敬三\*, 森 一雄\*, 飯田 修, 香月茂樹, 菱田敦之: ウコン (*Curcuma*) 属植物の鑑別・同定法の開発研究(1) 精油成分をマーカーとした4種のウコン属植物の識別法

第18回日本香辛料研究会(2003.11)

\* 兵庫大学健康科学部

菱田敦之: DNA塩基配列とSNPsによる生薬基原植物の鑑別創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業成果発表会(2004.3)

菱田敦之, 細川敬三\*, 飯田 修, 香月茂樹, 柴田敏郎, 関田節子: DNA塩基配列とSNPsによる生薬基原植物の鑑別

日本薬学会第124回年会(2004.3)

\* 兵庫大学健康科学部

吉松嘉代, 土反伸和\*, 佐藤文彦\*, 矢崎一史\*: 物質輸送エンジニアリングによる新規有用植物の育種 1. 遺伝子組換えオウレンの作出

第21回日本植物細胞分子生物学会香川大会・シンポジウム(2003.8)

\*1 京都大学木質科学研究所

\*2 京都大学大学院生命科学研究所

土反伸和\*, 吉松嘉代, 佐藤文彦\*, 矢崎一史\*: オウレン形質転換体を用いた *CjMDR1* の機能解析

日本植物生理学会2004年度年会, 東京(2004.3)

\*1 京都大学木質科学研究所

\*2 京都大学大学院生命科学研究所

吉松嘉代, 柴田敏郎, 木内文之, 飯田 修, 関田節子, 牧野由紀子\*: ケシ属植物の形態とアルカロイド

日本薬学会第124年会(2004.3)

\* 関東信越厚生局麻薬取締部

香月茂樹: 種子島の多様な野生植物

日本植物園協会第38回大会(2003.5)

香月茂樹: 日本の暖地に育つ薬用植物 —種子島を例として—

第2回薬用植物を知らう in 熊本(2003.10)

香月茂樹: 日本文化の発展とブナ科植物

第6回ブナ林からの恵みシンポジウム(2004.5)

香月茂樹: 種子島で栽培可能な薬用植物

日本植物園協会第39回大会(2004.5)

会議名：第1回生薬・薬用植物に関する国際調和のための西太平洋地区討論会

出席者：生薬部 合田幸広，川原信夫，筑波薬用植物栽培試験場 関田節子

開催場所，期間：昆明（中国），2003年11月26～28日

参加者内訳，人数：日本，中国，韓国，ベトナム，シンガポール，オーストラリア，香港の生薬・薬用植物の担当者・専門家50名

会議内容：「生薬・薬用植物に関する国際調和のための西太平洋地区討論会」（FHH：Western Pacific Region Forum for the Harmonization of Herbal Medicines）は，西太平洋地区の6カ国7地域（日本，中国，韓国，ベトナム，シンガポール，オーストラリア，香港）の生薬・薬用植物の規制に関する関係者が，平成14年3月9日北京に集まり設立したフォーラムで，生薬・薬用植物の安全性，有効性及び品質に関する技術的な記録とコンセンサスを提供することを目的とする。本会議では各地域の現状に関する報告並びに東京及びソウルで開催された第1回，Nomenclature and Standardization 及びQuality Assurance and Informationに関するSub-Committee 会議の報告がなされた。さらに，日本が主催するNomenclature and Standardization のSub-Committee におけるExpert working groupの平成16年度の活動として，生薬の使用部位に関する比較表の作成，各国局方におけるTLC法を用いた確認試験法の展開溶媒，標準物質等に関する比較表の作成，各国局方におけるChemical Reference Standards (CRS) 並びに Reference of Medicinal Plant Materials (RMPM) に関する比較表の完成及びRMPM 保存条件についての調査，各国局方における定量法並びに純度試験のバリデーションに関する情報収集，各国の一般試験法の詳細についての情報収集及び比較表の作成を行うことが確認され，これらの成果を平成16年度中に開催予定の第2回FHH Standing Committee において報告することとされた。

会議名：第61回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会 (JECFA)

出席者：食品添加物部 河村葉子，病理部 西川秋佳

開催時期，場所：ローマ（イタリア），2003年6月10日～19日

参加者内訳，人数：毒性グループ27名，規格グループ15名，摂取評価グループ4名，事務局5名の合計51名

会議内容：アナトー抽出物，キラヤ抽出物，クルクミン，ネオテーム，ポリビニルアルコールなどの添加物，組換え等により得られた酵素，144種類の新規香料等の安全性評価を行った。また，それらを含む添加剤及び香料について規格の新規作成及び見直しを行った。また，カドミウム及びメチル水銀のリスク評価も行われ，メチル水銀のPTWIが1.6  $\mu\text{g}/\text{kgbw}$ に変更された。

会議名：第36回FAO/WHO合同食品規格委員会食品衛生部会 (CCFH)

出席者：食品衛生管理部 山本茂貴

開催場所，時期：ワシントンDC（アメリカ）2004年3月28日～4月3日（ワークショップ3月28日と3月31日まで出席）

参加者内訳，人数：45の加盟国政府，23の国際機関・団体等から約200名。日本からは厚生労働省，農林水産省，食品安全委員会など7名

会議内容：16の議題が討議された。今回，乳および乳製品の衛生的取り扱い規範がステップ7で議論され，承認された。10年以上にわたり討議されてきた事項であり，米国と欧州で未殺菌乳を原料とした乳製品の衛生的取り扱いについてようやく基本的取り扱い事項について合意が得られた。その他，食品の微生物学的リスクアナリシスに関連した議題が多く論議された。FAO/WHO合同の微生物学的リスクアセスメント結果の利用について討議され，規格基準や衛生的取り扱い規範へ反映していくことが確認された。会議に先立つワークショップでは，ALOP (Appropriate Level of Protection)，FSO (Food Safety Objective) など食品のリスクアナリシスにとって重要な概念について討議された。

会議名：第4回アジア食品安全と栄養の国際会議

出席者：食品衛生管理部 山本茂貴

開催場所，時期：バリ（インドネシア）2004年3月2-5日

参加者内訳，人数：アジア10数カ国，及びFAOやWHO関係者，ILSIなどから約200名の参加があった。日本からは大学及び企業関係者が数名参加した。

会議内容：シンポジウム形式で食品の安全性に関する各国や企業の取り組みについて講演された。山本は日本における食品安全研究の取り組み及び食品衛生行政に関して講演した。また，アジアにおける食品安全研究に関する発表が行われ，日本からはタイと共同研究した赤貝における *Vibrio parahaemolyticus* のリスクアセスメントのデータコレクションに関する発表が行われた。また，栄養に関するシンポジウムも同時に開催された。

会議名：UJNR天然資源の開発利用に関する日米会議 有毒微生物専門部会第38回日米合同部会，科学会議及びスタディーツアー

出席者：食品衛生管理部 山本茂貴，五十君静信，衛生微生物部 高鳥浩介，小西良子

開催場所，時期：東京，2003年11月10-15日

参加者内訳，人数：日本側7人，米国側4人，科学会議には部会員の他10名程度が参加した。

会議内容：マイコトキシンの汚染状況，Foodnetの食中毒発生状況，日本における食品衛生法の改正及び食品安全委員会の発足，農水省消費・安全局発足，食中毒発生状況，BSE に関して情報交換が行われた。11, 12日には科学会議が開催され，バクテリア，マリントキシン，マイコトキシンに関する研究発表及び行政関連プロジェクトについて報告された。

会議名：粉末調整乳中の *Enterobacter sakazakii* など微生物に関するFAO/WHO合同専門家会議

出席者：食品衛生管理部 五十君静信

開催時期，場所：ジュネーブ（スイス）2004年2月2日～5日

参加者内訳，人数：各国より招集された専門家16名，事務局8名，一般的な情報提供として企業



から2名

会議内容: *Enterobacter sakazakii*とサルモネラによる粉末調整乳汚染は乳児の感染及び疾患の原因となると結論された。

*E.sakazakii*はあらゆる年齢の小児に疾患を引き起こすが、新生児(生後4週まで)、特に早産、未熟児、免疫障害児に最も危険性が高い。また、HIV陽性の母親から生まれた小児も、特に調整乳を必要とするため危険である。粉末調整乳は、現在の技術では完全滅菌は不可能であり汚染の可能性が残る。*E.sakazakii*に特化した規格基準は現行のコーデックスコードには含まれていない。*E.sakazakii*汚染は低レベルであっても重大な危険因子と考えられ、予備的リスクアセスメントに基づき、保管時、調合時、授乳時において種々の介入手段によりリスクを効果的に減じることがなければならない。

会議名: ICH準備会議

①ブラッセル会議

出席者: 有機化学部 奥田晴宏, 薬品部 檜山行雄, 医薬品医療機器審査センター 鹿野真弓, 嶋澤るみ子  
開催場所・時期: ブラッセル(ベルギー) 2003年7月13日~17日

参加者内訳, 人数: 日米欧3極の医薬品規制当局及び製薬団体関係者など多数出席

②大阪会議

出席者: 有機化学部 奥田晴宏, 薬品部 檜山行雄, 医薬品医療機器審査センター 嶋澤るみ子, 松田嘉弘

開催場所・時期: 大阪(日本) 2003年11月8日~11日  
参加者内訳, 人数: 日米欧3極の医薬品規制当局及び製薬団体関係者など多数出席

③ロンドン中間会議

出席者: 有機化学部 奥田晴宏, 薬品部 檜山行雄, 医薬品医療機器審査センター 嶋澤るみ子, 松田嘉弘

開催場所・時期: ロンドン(英国) 2004年3月15日~21日

参加者内訳, 人数: 日米欧3極の医薬品規制当局及び製薬団体関係者など約30名出席

会議内容: 日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)において「医薬品の承認申請のための国際共通化資料コモンテクニカルドキュメント(CTD)-品質に関する文書の作成要領に関するガイドライン」(以下CTD-Qガイドライン)が2000年11月に合意し、各極で施行されつつある。CTD-Q implementation working group(IWG)はCTD-Qガイドラインを施行するに際して各極で生じる問題に対応することを目的として組織された専門家グループである。ブラッセル会議では、CTD-Q IWGは円滑なCTD-Qガイドラインの運用のために、下記に関して議論を行った。

①「コモン・テクニカル・ドキュメントCTD-品質に関する文書-Q&A/記載箇所に関する事項」の作成:

本文書の目的は、CTD-Qガイドラインに関しして一般的事項、異なる項目の多重リンク、及び原薬及び製剤の記載箇所に関する事項を明確にすることである。前年開催されたワシントン会議でstep2に達したが、本会議で最終的な合意(step4)に至った。

② 新規トピック「製剤開発」のconcept paper(案)の作成:

CTD-Qガイドラインの項目ではあるが、ICHガイドラインが作成されていない事項がいくつか存在する。「製剤開発」はその一つであり、前年のワシントン会議で作成が必要なガイドラインとして選択されていたトピックである。本トピックに関してGMP専門家を交えて議論を行い、concept paper(案)を作成した。

大阪会議では、「製剤開発」(Q8)およびQ8と密接な関係のあるリスク管理(Q9)に関する専門家作業グループ(EWG)が組織され、議論した。Q8についてはドラフト(案)をサブグループに分かれて作成した。

ロンドン中間会議においては、Q8EWGはドラフト(案)について論議し、draft2.0の作成に至った。Q9EWGは現在draftを作成中である。

会議名: ICH6会議およびその準備会議(S8部門)

出席者: 機能生化学部 澤田純一, 医薬品医療機器審査センター 楠博文, 笛木修

開催場所, 時期: ロンドン(英国), 2003年10月8日~9日, 大阪, 2003年11月10日~11日

参加者内訳, 人数: 日米欧の専門家約15名

会議内容: 欧州および米国においては、既に医薬品の承認に必要とされる免疫毒性データを得るための試験法のガイダンスが出されており、日本においてもガイダンス案が作成されていた。日米欧のガイダンス(案)には、かなり相違があり、国際調和が必要とされていた。このような医薬品の免疫毒性試験法ガイドラインの調和を目的に、日米欧の免疫毒性の専門家が集まり、議論を行った。ロンドン会議においては、製薬企業から収集された免疫毒性に関するデータを基に議論を行い、さらにICHの正式なワーキンググループとして検討を続けることが提案された。大阪のICH会議においては、S8部門として、正式なワーキンググループに認められ、免疫毒性のデータ収集および調和ガイドラインの案の作成を行うこととなった。

会議名: 国際食品微生物規格委員会(ICMSF)年次会議

出席者: 安全情報部 春日文子

開催場所, 時期: ルガーノ(スイス), 2003年10月9日~17日  
参加者内訳, 人数: ICMSFのメンバーおよびコンサルタント約25名

会議内容: Microorganisms in Foodsの改訂(第6巻の改訂, 第7巻簡略版の執筆計画), 2004年年次会議の計画, ポジションペーパーの執筆(リスクマネージメントにおける疫学手法の利用について, FSOとサンプリングプランについて), コーデックス食品衛生部会議への対応, FAO/WHO 専門家会議への準備など。

会議名: コーデックスと加盟各国への科学的助言の提供に関するFAO/WHO合同ワークショップ

出席者: 安全情報部 春日文子

開催場所, 時期: ジュネーブ(スイス), 2004年1月27~29日  
参加者内訳, 人数: 各地域及び専門分野から合計約30名  
会議内容: コーデックス委員会からの諮問により, FAO/WHO は科学的助言のあり方の見直しを進めている。2003年秋のE-Forum ならびに10のbackground papersをもとに, 科学的助言の一般原則, 必要な体制, 提言の手順の3部門に分かれて討議ならびに報告書作成を行なった。

**会議名：**微生物学的リスクアセスメントにおけるリスク  
 キャラクター化のガイドライン作成に  
 関する会議

**出席者：**安全情報部 春日文子

**開催場所、時期：**ジュネーブ（スイス），2004年1月30～31日

**参加者内訳、人数：**微生物学的リスクアセスメントの専門  
 家並びに事務局計12名

**会議内容：**リスクキャラクター化のガイドライン  
 の中で、定性的リスクキャラクター化ならびに半  
 定量的リスクキャラクター化をどう扱うかについ  
 ての議論及び作業分担を行なった。

**会議名：**国際新興感染症学会2004ならびにFoodNet様システ  
 ムに関する国際会議ならびに薬剤耐性菌に関する  
 学会

**出席者：**安全情報部 春日文子，窪田邦宏

**開催場所、時期：**アトランタ（アメリカ），2004年2月29日  
 ～3月5日

**参加者内訳、人数：**各国，WHO，FAO等約1000名

**会議内容：**各種新興再興感染症に関する最新知見の紹介，  
 食品由来感染症の実態推定のための情報収集システム構築  
 に関する討論，食品を介した薬剤耐性菌感染事例の紹介と  
 対策に関する討論等が行なわれた。

**会議名：**国際的な微生物学的リスクアセスメントのための  
 データ収集に関する諮問委員会（ILSI）

**出席者：**安全情報部 春日文子

**開催場所、時期：**ワシントンDC（アメリカ），2004年3月25  
 日～26日

**参加者内訳、人数：**各国，WHO，FAO等約20名

**会議内容：**微生物学的リスクアセスメントのために必要な  
 データとその収集のための体制について討論と報告書作成  
 を行なった。

**会議名：**IPCS国際化学物質安全性カード（ICSC）原案検討会議

**出席者：**安全情報部 山本 都

**開催場所、時期：**ヘルシンキ（フィンランド），2003年5月  
 5～9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25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，クロロ酢酸，クロロエタノール，メチルメルカプタ  
 ン，無水フタル酸など6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：**安全情報部 山本 都，森田 健

**開催場所、時期：**ブリュッセル（ベルギー），2003年11月  
 24日～28日

**参加者内訳、人数：**EU各国，カナダ，日本，IPCS，ILO，  
 IARCの担当者，EU委員会等約27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  
 データ等について約70物質のカード原案を検討した。日本  
 は，ピペリジン，ジコホル，臭素酸カリウムの3物質の原案  
 作成を分担した。

**会議名：**第11回国際簡潔評価文書（CICAD）最終検討会議

**出席者：**安全情報部 石光 進，森田 健

**開催場所、時期：**バルナ（ブルガリア），2003年9月8日～  
 11日

**参加者内訳、人数：**米国6名，日本・英国・ブルガリア各3  
 名，ドイツ・オーストラリア各2名，ハ  
 ンガリー・インド・カナダ・ケニア・  
 エジプト・EC各1名，IPCS事務局2名，  
 オブザーバー3名：計30名

**会議内容：**国際簡潔評価文書（Concise International Chemi-  
 cal Assessment Document：CICAD）は国際化学物質安全性  
 計画（IPCS）が作成する化学物質のリスク評価文書であ  
 り，第11回目の最終検討会議では，対象物質としてクロロ  
 ホルム，シアン化水素およびシアン化合物，クレオソ  
 ト，クロロベンゼン類，アスファルト，グリオキサール，  
 マンガンおよびマンガン化合物の7物質のリスク評価につ  
 いて審議が行われ，シアン関連化合物を除く6物質につ  
 いて，今回の会議での審議結果に基づく修正を行った上で最終採  
 択することが了承された。全般的な問題が議論され，Steer-  
 ing Groupに諮問すべき一般事項として，①子供の感受性  
 （高感受性時期）に関するガイドラインの必要性，② Peer-  
 reviewコメントに対する対応の発行（印刷）の進め方，③最  
 終検討会議前に著者と連絡を取る必要のあるdiscussion leader  
 達に関する特別なガイドラインの必要性，④"Evaluation"  
 の項の記載方法におけるオリジナルの試験の引用，⑤原資料  
 をアップデートするために実施した文献検索に関する記述  
 方法，が上げられた。

**会議名：**第4回政府間化学物質安全性フォーラム（IFCS  
 Forum IV）

**出席者：**安全情報部 森川 馨，森田 健

**開催場所、時期：**バンコク（タイ），2003年11月1日～7日

**参加者内訳、人数：**約130ヶ国/地域から約600名

**会議内容：**今回のフォーラムのテーマは，「途上国など影  
 響を受けやすい世界における化学物質の安全性」であり，  
 第3回フォーラムでの勧告（「2000年以降の優先行動計  
 画」）を受けてその進捗について評価し，今後の方策が各  
 国政府，国際機関や関連NGOによって検討され，その対応  
 の枠組みについて合意が図られた①子供と化学物質安  
 全，②労働安全衛生，③ハザードデータ整備と利用，④急  
 性毒性を有する農薬，⑤キャパシティ・ビルディング援  
 助，⑥化学物質安全政策を行う国々の間で拡大する格差へ  
 の対処，⑦国際化学物質管理のための戦略的アプローチ，  
 の7項目についての文書が最終的に採択された。

**会議名：**人の健康防御のためのトキシコジノミクスとリス  
 クアセスメントに関するIPCSワークショップ

WHO/IPCS Joint workshop meeting on Toxicogenomics and the Risk Assessment of chemicals for the protection of human health. Before the Workshop, to attend a small meeting and discussion at WHO headquarter in Geneva.

主催者：世界保健機構・化学物質安全計画運営委員会 (WHO/IPCS)

出席者：安全性生物試験研究センター長 井上 達

開催場所、時期：世界保健機関(WHO)本部, ジュネーブ, スイス03年11月16日(事前打合せ会議)  
国立化学物質安全研究所, ベルリン, ドイツ 2003年11月17~19日

参加者人数：32名(各国参加者)

会議内容：世界保健機構・化学物質安全計画運営委員会 (WHO/IPCS) はいわゆるトキシコジノミクス(遺伝子発現を指標とした化学物質の生体影響観察手法)が世界保健機構の化学物質安全施策の将来計画に及ぼす影響についての、専門家の意見を求め提言を発信するためのワークショップを、頭記ベルリン会議において開催しその集約文書を作成した。公式提言は5月末日をもって発表される見通しである。

会議名：毒性の評価法の原則とトキシコジノミクス手法ワークショップ

Joint Workshop on Validation Principles and Approaches for Toxicogenomics organized by European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)

主催者：欧州代替法評価センター (European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM))

出席者：安全性生物試験研究センター長 井上 達

開催場所、時期：欧州代替法評価センター (ECVAM) イスプラ, イタリア  
2003年12月07~14日

参加者人数：24名

会議内容：欧州代替法評価センターは様々な安全性試験を生体レベル試験から試験管内試験に移行させることや使用動物を低減させることを目的として欧州各国政府の共同運営で研究を進めている。このECVAMはいわゆるトキシコジノミクス(遺伝子発現を指標とした化学物質の生体影響観察手法)がその目的のために有効であると考え、その導入の可能性手順について確認した。会議ではトキシコジノミクスエキスパート(当出席者)の意見を代替法指導関係者が聞く形で進められた。5月15日現在その要旨がまとめられつつある。

会議名：世界保健機関・化学物質安全計画リスクアセスメント運営委員会

WHO/IPCS RASG (Risk Assessment Steering Group) meeting in Beijing

主催者：世界保健機関・化学物質安全計画リスクアセスメント運営委員会

出席者：安全性生物試験研究センター長 井上 達

開催場所、時期：前門建国飯店, 北京, 中国  
2004年02月17~20日

参加者人数：9名

会議内容：世界保健機関・化学物質安全計画リスクアセスメント運営委員会では毎月1回電話会議を行っている。この

電話会議を補填するため年2回のFace to face meetingを行っており、今回はメタキシエタノール及び、エトキシ、プロポキシ、ブトキシの各化合物についてそれぞれピアレビューの進展状況を確認した他、EHC (Environmental Health Criteria) 及びCICAD (Concise International Chemical Assessment Document) の今後の編集発行方針について、それぞれの出版物を照らして前者の簡潔な包括性、後者のガイドラインとしての性格を確認した。

会議名：WHO/IPCSトキシコゲノミクス及び人健康影響におけるリスクアセスメントに関する専門委員会

Participation for Toxicogenomics and the Risk Assessment of Chemicals for the Protection of Human Health at the Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, Berlin, Germany

出席者：毒性部 菅野 純

開催場所、時期：ベルリン(ドイツ), 2003年11月17日~19日

参加者内訳、人数：38名(各国政府代表等, うち日本から4名)

会議内容：連邦リスクアセスメント機関(ドイツ・ベルリン)にて開催されたWHO/IPCS主催のトキシコゲノミクスとリスク評価に関する会議に専門委員として出席し、トキシコゲノミクスデータを利用したヒト健康影響にかかる化学物質のリスクアセスメントについて、予測モデル、人暴露影響の改善のための尺度、化学物質に対する感受性、また化学物質のリスク評価における危険因子の確定等、国際的かつ科学的な公開討論を行った。会議の目的は、当研究領域における最新の情報の集約、当面の必要性の認識及び国際協力を高めるために必要な段階の統合、その際のトキシコゲノミクスや他の関連遺伝子データ利用法、これらの研究領域を推進についての国際的協調を生み出すことにある。

会議名：トキシコゲノミクスに関するWHO/IPCS運営委員会フォローアップ会議

Participation for follow-up meeting of Steering Group for IPCS Workshop on Toxicogenomics

出席者：毒性部 菅野 純

開催場所、時期：世界保健機関/国際化学物質安全計画(WHO/IPCS) ジュネーブ(スイス), 2004年02月9日~10日

参加者内訳、人数：16名(日米欧各国代表, うち日本から2名)

会議内容：2003年11月17~19日に開催されたWHO/IPCS主催のトキシコゲノミクスとリスク評価に関する会議のフォローアップ会議に出席した。当研究領域における最新の情報、また当面の必要性の認識及び国際協力を高めるために必要な段階を統合することにより、より科学的な観点から当該研究を進めることを目的として、成果報告の確認、今後の研究方針が討議された。

会議名：IPCS/環境省、内分泌かく乱化学物質研究にかかるワークショップ

Participation and presentation for Endocrine Disruptors: Research Needs and Future Directions

出席者：毒性部 菅野 純

開催場所、時期：東京

2003年12月7日~9日

参加者内訳、人数：24名（各国政府代表等，うち日本から9名）  
 会議内容：The WHO/IPCS “Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors”の出版後のFollow upとして、その後の成果のまとめを目的とした各国の当該研究の専門家会議に出席し、内分泌攪乱化学物質試験法の開発について国際的議論の場において提案を行うとともに討議に参加した。メカニズム等科学的知見の整理、分析、そして今後の方針決定に関する基盤整備のための議論がなされた。

会議名：化学物質暴露による人健康影響（特に癌）におけるWHO/IPCSリスクアセスメントに関する会議  
 Participation /the 1st Meeting of the Harmonization Project Cancer Working Group

出席者：毒性部 菅野 純

開催場所、時期：アーリントン（米国），2004年3月3日～5日

参加者内訳、人数：15名（各国政府代表等，うち日本から1名）

会議内容：専門委員として化学物質暴露による人健康影響（特に癌）におけるWHO/IPCSリスクアセスメントに関する会議に出席した。ILSI/HESI等における討議を基礎として、実験動物による発癌データをヒトリスクに適応する際のMOA(mode of action)の考え方と利用について討議された。

会議名：FAO/WHO合同残留農薬会議（JMPR）

出席者：毒性部 高木篤也

開催場所、時期：ジュネーブ（スイス），2003年9月16～25日

参加者内訳、人数：各国より約30人

会議内容：農薬のCyprodinil, Dimethoate, Famoxadone, Malathion, Methoxyfenozide, Paraquat, Phosmet, Pyraclostrobin, Pyrethrin, Tebufenozide, Terbufosについて毒性の評価を行い、ADI 並びにAcute reference dose (RfD)の設定を行った。会議の結果は、JMPRのホームページ（<http://www.who.int/pcs/jmpr/jmpr.htm>）に掲載され、また、Pesticide residues in food-2003, FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPER 176（2003）として刊行された。

会議名：ICH会議（S7B部門）

出席者：薬理部 中澤憲一

開催場所（開催日）

ブリュッセル（平成15年7月15-18日）

大阪（平成15年11月9-11日）

参加者：S7B部門で日本から約5人，欧米より約10人

会議内容：日米欧の医薬品に関する規制の国際的協調（ICH）のS7B部門は、ヒト医薬品の再分極過程に関連した頻脈性心室不整脈評価に関して討議を行なう部門であり、非臨床試験においてヒトへのリスクを評価するためのガイドラインを作成することを目的としている。本年度の会議ではガイドライン案に盛り込まれた評価法の可否を定めるために行なわれた試験のデータの提出がなされた。評価法のうちイオン電流および心電図の解析については信頼性が高いという結果が得られたが、活動電位波形の解析についてはその信頼性について現在までに見解の一致をみていない。また、これと並行して行なわれている臨床試験部門（E14）との合同会議では、非臨床データの扱いについての見解に大きな差が見られ、後発であるE14の討議自体の遅れもあって一貫性のあるガイドライン作成にしばらくは時間がかかるものと予想される。

会議名：(Q)SARワークショップ準備会合

出席者：変異遺伝部 林 真

開催場所、時期：イスブ（イタリア），2003年3月31日～4月2日

参加者内訳、人数：オーストリア：2，カナダ：3，デンマーク：2，EC：5，フランス：2，ドイツ：2，ハンガリー：1，イタリア：2，日本：5，オランダ：2，スウェーデン：3，スイス：1，英国：1，米国：3，BIAC：4，ICAPO：3，IPCS：1，その他OECD事務局

会議内容：本準備会合は、平成14年11月の化学品合同会合中に実施された(Q)SAR特別セッションでの合意事項である。 (Q)SARの各国受け入れに向け技術的事項を検討するためのワークショップを開催に向けた準備会合である。ワークショップにおける議論の流れ、成果として何を求めるか等、ワークショップの設定とその結果の流れを検討した。(Q)SARの利用にあつては、従来の優先順位付けの域から、規制当局における有害性評価、リスク評価手法の1つとして位置づけられるようになっていくことが最終的な目標である。これを確保するために求められる条件を整理していくことが重要である。本準備会合での検討内容（特に政策的な判断が求められる事項）についてはWNTや化学品合同会合といった上位会合により方向付けされるべきものであり、各国で開発されているシステムが上記の目的を達するには、それぞれのデータ構成、モデルの妥当性等々、従来ブラックボックスとなっていた部分の開示と加盟国間が協調してモデルのバリデーション作業が必要である。その結果に応じ、OECDの枠組みの下、各国の法規制の枠組みへの受け入れが可能となるシステム開発がなされ、最終的にはテストガイドラインを策定していくことが理想である、との共通認識を得た。

会議名：第16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 江馬 真

開催場所：パリ（フランス）

時期：平成15年5月27日-30日

参加者内訳、人数：OECD加盟国の約70名

会議内容：再審議として2物質、新規審議として23物質、4カテゴリーとして14物質の計39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、25物質（2カテゴリーを含む）については、追加の対応は必要なしとされたが、3物質については追加の作業が必要との合意がなされた。9物質（2カテゴリーを含む）については、環境影響部分または健康影響部分について追加の作業が必要との合意がなされた。2物質については一部合意されずEDG（Electronic Discussion Group）で審議されることとなった。

日本政府としては再審議として2物質、新規審議として2物質を提出して合意された。またJP/ICCAが作成した初期評価文書が提出・審議された。日本からは5評価文書が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）による事前評価及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。5文書ともに合意が得られた。

【再審議物質】79005:1,1,2-Trichloroethane(日本), 98544:p-t-Butylphenol(日本)

【新規審議物質】78591:3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-one(ドイツ/ICCA),79389:Chlorotrifluoroethene(米国/ICCA),2837890:2-Chloro-1,1,1,2-tetrafluoroethane(米国/ICCA), 88448: m-Toluenesulfonic acid, 6-amino(日本/ICCA), 93685: o-Acetoacetotoluidide(日本/ICCA), 96333: Methylacrylate(米国/ICCA), 103117: 2-Ethylhexyl acrylate(ドイツ:eu), 2439352: 2-(Dimethylamino)ethyl acrylate(日本/ICCA), 95318: N-tert-butyl-2-benzothiazosulfenamide(日本/ICCA), 99047: m-Toluic acid(日本/ICCA), 115071: 1-Propene(英国/ICCA), 32536520: Diphenyl ether, octabromo derivative(フランス+英国:eu), 1163195 Bis(pentabromophenyl)ether(フランス+英国:eu), 122521: Triethyl phosphate(ドイツ/ICCA), 505328:1-Hexen-3-ol,3,7,11,15-tetramethyl(中国/ICCA), 556821:2-Buten-1-ol,3-methyl(ドイツ/ICCA),4016244:Hexadecanoic acid,2-sulfo-1-methylester, sodium salt(日本), 3323533: Adipic acid, compound with hexane-1,6-diamine(1:1)(ドイツ/ICCA), 7782505: Chlorine(IT:eu/ICCA), 4454051: 2H-Pyran, 3,4-dihydro-2-methoxy(ドイツ/ICCA), 150903: Butanedioic acid, disodium salt(日本), 106310: Butyric anhydride(米国/ICCA), 107926: Butyric acid(米国/ICCA)

【カテゴリー】Menthols(89781: D/L-Menthol,1490046: Menthol,2216515: L-Menthol,15356602: D-Menthol(fhfc/ICCA)),m-,p-Cresols(108394:m-Cresol,106445:p-Cresol,15831104: m-,p-Cresol(ドイツ/ICCA)), Diarylide Yellow pigments(5102830: Pigment Yellow 13,5567157: Pigment Yellow 83,6358856: Pigment Yellow 12(英国/ICCA)), Xylenes(95476:o-xylene,108383:m-xylene,106423:p-xylene,1330207: mixed xylene(米国/ICCA+ハンガリー))

今後の予定について、2003年11月11-14日にSIAM 17としてアロナ(イタリア)で、また2004年4月20-23日にSIAM 18としてパリ(フランス)で開催することとなった。

会議名: 第17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 江馬 真

開催場所: アロナ(イタリア)

時期: 平成15年11月11日-14日

参加者内訳, 人数: OECD加盟国の約90名

会議内容: 再審議として2物質, 新規審議として26物質, 3カテゴリーとして22物質の計50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, 27物質(1カテゴリーを含む)については, 追加の対応は必要なしとされたが, 13物質については追加の作業が必要との合意がなされた。1カテゴリーの10物質については環境影響部分の合意が得られず, のちの評議会でも再審議されることとなった。

日本政府としては新規審議として1物質を提出して合意された。またJP/ICCAが作成した5評価文書が提出・審議され, 政府各担当部署(健康影響部分については厚生省が担当)による事前評価及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。5文書ともに合意

が得られた。

【再審議物質】106467 1,4-Dichlorobenzene(フランス:eu)  
 【新規審議物質】4454051: 3,4-Dihydro-2-methoxy-2H-pyran(ドイツ/ICCA),78875: Propane, 1,2-dichloro-(中国/ICCA),87569: Mucocloric acid(ドイツ/ICCA),96297: 2-Butanone oxime(米国+日本/ICCA),461585: Cyanoguanidine JP/ICCA(日本/ICCA),96311: Urea, 1,3-dimethyl-(ドイツ/ICCA), 98599: Benzenesulfonyl chloride, 4-methyl-(韓国),99547: 4-Nitrobenzene, 1,2-dichloro-(ドイツ/ICCA), 110190: Isobutyl acetate(米国/ICCA), 79312: Isobutyl acid(米国/ICCA),97723: Isobutyric anhydride(米国/ICCA),118796: Phenol, 2,4,6-tribromo-JP/ICCA,99990: Toluene, p-nitro-(ドイツ/ICCA),115117: iso-Butylene 2-Methylpropene FR/ICCA,107868: 2-Butenal, 3-methyl-(ドイツ/ICCA),3268493: Propanal, 3-(methylthio)- DE/ICCA,6422862: Terephthalic acid, bis(2-ethylhexyl) ester(米国/ICCA),611198: Benzene,1-chloro-2-(chloromethyl)-JP/ICCA,919302: 1-Propylamine, 3-(triethoxysilyl)-(米国/ICCA),1760243: 1,2-Ethanediamine, N-[3-(trimethoxysilyl)propyl]- (米国/ICCA),110930: Hept-5-en-2-one, 6-methyl-(ドイツ/ICCA),120809: Pyrocatechol FR/ICCA,288324: 1H-Imidazole(ドイツ/ICCA),947046: Dodecane-12-lactam(ドイツ/ICCA),6165511: Benzene, 1,4-dimethyl-2-(1-phenylethyl)-JP,10101414: Calcium sulfate, dihydrate KO,12125029: Ammonium chloride JP/ICCA

【カテゴリー】Linear Alkylbenzene Sulfonates(1322981: Benzenesulfonic acid, decyl-, Na salt,25155300: Benzenesulfonic acid, dodecyl-, Na salt,26248248: Benzenesulfonic acid, tridecyl-, Na salt,27636755: Benzenesulfonic acid, undecyl-, Na salt,68081812: Benzenesulfonic acid, mono-C10-16-alkyl,68411303: Benzenesulfonic acid, C10-13-alkyl derivs.,69669449: C10-14 Alkyl deriv benzene sulfonic acid, sodium salt,85117506: Benzenesulfonic acid, mono-C10-14-alkyl,90194459: Benzenesulfonic acid, mono-C10-13-alkyl derivs., sodium salts,127184525: 4-C10-13-sec Alkyl deriv benzene sulfonic acid,sodium salt(米国/ICCA)),Methylenediphenyldiisocyanates(101688:4,4'-M.D.I.,2536052: 2,2'-M.D.I., 5873541:2,4'-M.D.I.,9016879: (polymeric) M.D.I.(ベルギー+米国), 26447405: Benzene, 1,1'-methylenebis(isocyanato-(ベルギー+米国:eu)), Propylene Glycol Ethers(5131668: 2-Propanol, 1-butoxy-,20324338: 2-Propanol, 1-[2-(2-methoxy-1-methylethoxy)-1-methylethoxy-,24083032: Dipropylene Glycol n-Butyl Ether,25498491: 2-(2-methoxymethylethoxy)methylethoxy propanol,29387868: 1-Propanol, butoxy-,29911282: 1-(2-butoxy-1-methylethoxy)propan-2-ol,88917220: Propanol, (2-methoxymethylethoxy)-, acetate(米国/ICCA))

今後の予定について、2004年4月20-23日にSIAM 18としてパリ(フランス)で、また2004年10月19-22日にSIAM 19としてベルリン(ドイツ)で開催することとなった。

会議名: 第18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 江馬真, 松本真理子

開催場所: パリ(フランス)

時期: 平成16年4月20日-24日

参加者内訳, 人数: OECD加盟国, EC, IPCS, NGO, 産業界からの約90名

会議内容：再審議として7物質，新規審議として76物質(10カテゴリーを含む)の計83物質が審議された。再審議物質についてはEDG (Electronic Discussion Group) 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SIAP(SIDS Initial Assessment Profile)の内容を紹介したのち，再審議物質と同様に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。再審議の全7物質及び新規審議71物質(9カテゴリーを含む)の計77物質のSIAPが本会議で合意された。英国/ICCAの提出したPhosphonic acidの3カテゴリーのSIAPは合意が得られたものの，引用されたIBL (Industrial Bio-test Laboratories) の文献の信頼性をどう判断すべきか，という新たな問題を提起した。本件はSIAM19で協議される予定だが，1976年のIBLの実験データ捏造事件を背景に，どの実験報告を信頼すべきか判断するためには更なる情報の収集が必要とされる。

N-phenyl-p-phenylenediamine (CAS:101542) については変異原性の追加情報が必要とされ，また2-Phenoxyethanol (CAS:122996) 及びPhenoxypropanolカテゴリー(3物質) については，スポンサー国(米国) と産業共同体との間に協議が必要とされ，本会議では合意に至らなかった。これら5物質については，スポンサー国からの追加報告を待ちEDGにより審議される。日本政府としては再審議として1物質，新規審議として1物質の評価文書を提出したほか，日本政府の試験データをもとに独国/ICCAが作成した1物質の評価文書を提出しすべて合意された。日本/ICCAの作成した1物質のSIAPについては，政府各担当部署(健康影響部分については厚労省が担当) 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。日本/ICCAからは米国またはベルギーと共同で作成した2物質の文書も提出され，同様にすべて合意された。

【再審議物質】 120616:米国/IT Dimethyl terephthalate,99547 :独国/ICCA 4-Nitrobenzene, 1,2-dichloro-,79118 :オランダ:eu Chloroacetic acid, 110656 :独国:eu 2-Butyne-1,4-diol, 4979322: 日本N,N-Dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamides,60004 :独国:eu EDTA, 64028独国:eu Tetrasodium EDTA

【新規審議物質】 86885 : 独国/ICCA Dimethyl phosphonate, カテゴリー Amino tris(methylenephosphonic acid) とそのNa塩: 英国/ICCA (8 物質), カテゴリー 1-ethane-diphosphonic acid とそのNa・K塩: 英国/ICCA 1-Hydroxy-1,(13 物質), カテゴリー Diethylene triamine penta(methylene phosphonic acid) とそのNa塩: 英国/ICCA (12物質), 75105: 仏国/ICCA Difluoromethane, 96184 : 米国/ICCA 1,2,3-Trichloropropane, 98077 : 独国/ICCA Benzene,(trichloromethyl)-,110850 : スウェーデン:eu Piperazine, 101542\* : 独国/ICCA N-Phenyl-p-phenylenediamine, 793248 : 日本+独国/ICCA N-(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-1,4-benzene diamine, カテゴリー Ethylene glycols1 : カナダ/ICCA (i107211 :Ethyleneglycol, 111466:Diethyleneglycol, 112276 :Triethyleneglycol,4792158 :Pentaethyleneglycol) , 56539663 : 3日本 -Methoxy-3-methyl-1-butanol, 22996\* : 米国/ICCA 12-Phenoxyethanol, カテゴリー\* Phenoxypropanol : 米国/ICCA (770354 :1-Phenoxypropan-2-ol, 4169044 :2-Phenoxypropan-1-ol, 41593388 :Mixed isomers) , 124049 : 独国/ICCA Adipic acid, 141106 : スイス/ICCA Pseudoionone, 7778543日本/ICCA Calcium hypochlorite, カテゴリー Cadmium & cadmium oxide : ベルギー:eu (74440439:Cadmium,1306190:Cadmium oxide), 2855132 :独国/

ICCA Cyclohexylamine 3-aminomethyl-3,5,5-trimethyl-, 31570044 :英国/ICCA Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-, phosphite (3:1), 25321146 : 独国/ICCA Benzene, methylidinitro, 140885 : 米国/ICCA Ethylacrylate, カテゴリー Short chain alkyl methacrylates esters : 米国+日本/ICCA (97632:Methacrylic acid,ethyl ester, 97869:iso-Butyl methacrylate, 97881:Butylmethacrylate, 688846:2-Ethylhexyl methacrylate), カテゴリー Gluconates: ベルギー+日本/ICCA (90802:D-Glucono-1,5-lactone, 299274:Potassium gluconate,299285:Calcium gluconate, 526954:D-Gluconic acid, 527071:Gluconic acid monosodium salt, 18016245:Calcium gluconate), カテゴリー Maleic Anhydride and Acid : 米国/ICCA (110167:Maleic acid, 108316:Maleic anhydride), カテゴリー Soluble Silicates : 独国/ICCA (1312761:Potassium silicate, 1344098:Sodium silicate, 6834920:Disodium metasilicate, 10213793:Disodium silicate pentahydrate, 13517243:Silicic acid, disodium salt, nonahydrate)

\* 本会議で合意されなかった物質

OECD事務局からGeneral Issuesとして，下記4文書が報告され協議された。

1. Further guidance on the use of reliability scores : ENV/JM/EXCH/SIAM(2004)1

SIAM17で協議し修正された信頼性のスコアに関する文書が合意された。本文書は既存化学物質のタスクフォースに提出後，高生産量物質の調査マニュアルに加えられる予定である。

2. Hazards of concern for human health and the environment in the context of the OECD HPV Chemicals Programme : ENV/JM/EXCH/SIAM(2004)2

SIAM17で協議し修正された健康影響・環境影響のハザードに関する文書について日本とBIACから意見が述べられた。それらの意見を反映した修正版が既存化学物質のタスクフォース用に準備される予定である。

3. Recommendations for chemicals assessed under the OECD HPV Chemicals Programme : ENV/JM/EXCH/SIAM(2004)3

暴露情報及びリコメンデーションについて定めた文書の不透明性について日本，BIAC，カナダ，英国，米国，濠洲，NGOから意見が述べられた。文書改善の必要性については同意されたものの，具体的な改善方法の合意には至らなかった。また，限られた暴露情報をもとにリコメンデーションを定めるのが困難とされる現状問題を解決するために，リコメンデーションの表記をやめる，といった新たな提案もなされた。これらの問題については後のタスクフォースで協議される予定である。

4. Further proposal for robust study summary templates : ENV/JM/EXCH/SIAM(2004)4

魚に対する慢性毒性及び生物濃縮のRSSテンプレートについて合意が得られたが，神経毒性及び免疫毒性についてはタスクフォースで協議されることになった。神経毒性及び免疫毒性のエンドポイントについてはOECDのテストガイドラインが存在しないが，もしタスクフォースがテンプレートの作成を要求した場合は，それらのテンプレートをRSSに加えることが望まれる。

今後の予定について，2004年10月19-22日にSIAM 19としてベルリン(独国)で開催する，また2005年4月19-22日にSIAM20としてパリ(フランス)で開催することとなった。

会議名：OECD高生産量化学物質のカテゴリ設定と使用に関するワークショップ

出席者：総合評価研究室 江馬 真

開催場所：ブリュッセル（ベルギー）

時期：平成16年1月29日-30日

参加者内訳、人数：OECD加盟国、産業界の約70名

会議内容：動物福祉、評価作業負担の軽減等の観点から化学物質をカテゴリとして評価することが今後不可欠であることから、本ワークショップにおいては代表的なカテゴリ評価の実例について討議し、カテゴリ毎に異なるカテゴリ構築の概念、評価に関する考え方を明らかにすることにより、カテゴリ評価に対する関係者の理解を深めるとともに、カテゴリ評価の推進に資することを目的として討議された。代謝経路（Propyl seriesの例について）、鎖長（Ethylene glycols及びAliphatic alcoholの例について）、異性体と混合物（Butonesの例について）、金属及び化合物（Nickel and nickel compoundsの例について）、最終製品中の各種混合物（Hydrocarbone solventの例について）、製造過程中の各種混合物（Low 1, 3-butadiene C4の例について）、データの取り扱い、その他の一般的事項について討議された。

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4回医薬品安全性評価学術シンポジウム（生殖発生毒性試験）

出席者：総合評価研究室 江馬 真

開催場所：北京（中国）

時期：平成15年10月16日-17日

参加者内訳、人数：日本側12名（講師4名、長期専門家5名、JICA事務所2名、大使館1名）、中国側10名、聴講生56名

会議内容：日本国際協力機構（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」プロジェクトの一貫として第4回医薬品安全性評価学術シンポジウム「生殖発生毒性試験」を開催した。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、日本大使館からの挨拶に引き続きシンポジウムが開催された。シンポジウムは2日間にわたって開催され、日本側講師4名、中国側講師4名が各専門分野について講演した。「中国におけるGLP発展の現状、問題点とその対策」、「生殖発生毒性学概論」、「生殖発生毒性試験」、「生殖発生毒性試験の実施及び毒性評価、データ解析」、「可塑剤butyl benzyl phthalate (BBP)及びmonobenzyl phthalate (MBEP)のラットにおける生殖発生毒性」、「温浴による奇形発現」、「生殖発生毒性とICH技術要求」、「カニクイザルを用いた生殖発生毒性試験」、「禁忌医薬物の生殖発生毒性」の演題が講演された。日本側講師は一人2演題を講演し、生殖発生毒性試験に関してほぼ全体を網羅するシンポジウムとなり、活発な討論が行われた。

会議名：第4回IUCLIDユーザーグループ専門家会議

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15年7月1日-2日

参加者内訳、人数：OECD加盟国、化学工業界、IPCSおよ

## び事務局の35名

会議内容：

1. ロバスト・サマリ(RSS)・テンプレートに関する提案事務局より、第3回会合において作成することが了承された魚に対する慢性毒性試験及び生物濃縮試験や神経毒性試験及び免疫毒性試験の修正案についてのロバスト・サマリ・テンプレート案の提案があった。

2. IUCLIDダイダンス文書の改訂

IUCLIDガイド文書の作成を委託されている独のコンサルタントより、IUCLIDダイダンス文書の改訂に係る背景や提案内容について説明がなされた。事務局より、今後のスケジュールについて、ガイド文書案へのコメントを7月31日まで受け付けた後、10月末までに最終案を作成するとの案が提案された。

3. 既存化学物質に関する単一グローバルハザードデータソースについて

事務局及びBIACより、既存化学物質に関する単一グローバルハザードデータソースについての提案の概要説明がなされた。EUより、データの交換、提供についてはOECDとは協力する用意があることが示された。各専門家からのコメントは、CBI(秘密企業情報)、データ所有権、使用言語と翻訳を考慮すべきとの指摘があった。

4. 新規化学物質の標準届出様式のプロトタイプの実現

OECD新規化学物質タスクフォースの標準届出様式のワーキンググループメンバー及びBIACより、経緯、活動の概要、等についての説明とプロトタイプの実現のデモンストレーションが行われた。プロトタイプでは、届出情報をXML形式のデータの変換可能であり、これは、IUCLID5を開発する際に検討が可能であること、試験データの記述についてはRSSでの検討と関連することが述べられた。その結果、本パネルが新規化学物質タスクフォースとの共同活動を調整していくことが承認された。

5. EUのREAC-ITの物質データベース部分の開発の現状議長より、REAC-ITの今後の全般的な方向性について紹介があった。これに関連して、IUCLIDの今後Version5の開発の方向性についての言及があり、更にユーザフレンドリーにするとともに、暴露情報、リスク評価への対応等、技術的な仕様について、今後5か月でまとめる予定であることであった。議長より、技術的な構想があれば、7月末までに事務局に提出し、その後6か月間で技術仕様を作成し、意見を求めたいとのことであった。なお、開発には2年を要するとの見通しであった。

6. データ交換フォーマット(XML)の調和

事務局より、データ交換フォーマットとしてXMLタグを検討していくことが、ITワークショップのまとめとして、第35回合同会合に提出・承認され、これに基づき、11月から12月にアンケート調査が実施される予定であることの説明があった。更に事務局は、新規化学物質タスクフォースやEUでのXMLタグでの検討結果に関心があり、工業化学品と農業、新規と既存のプログラム間でのより円滑な情報交換が必要であるとした。

## 特別講演会

## 平成15年度 特別講演会 開催状況

No.	開催年月日	講演者	所属	講演名	経費
1	8月21日(木)	岩崎 恵美子	仙台検疫所 所長	B/Cテロにおける危機管理	所予算
2	10月23日(木)	今泉 美佳	杏林大学医学部生化学教室 講師	目で見るインシュリン分泌	"
3	11月25日(火)	持田 澄子	東京医科大学生理学教室 教授	神経終末でのシナプス小胞輸送に関 わるミオシン	"
4	12月11日(木)	橋本 祐一	東京大学分子細胞生物学研 究所 教授	レチノイドとサリドマイドを基盤にした 生物応答調節剤の創製研究	"
5	1月14日(月)	Shiew-Mei Huang, P.H.D.	FDA(米国食品医薬品局) 薬物評価研究センター 臨床 薬理・生物薬剤部 科学担当 副部長	新薬の評価における薬理遺伝学	"



## 平成15年度に行った主な研究課題

## Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2003

## 特別研究(厚生労働省)

1. 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(生物, 遺細, 療品, 機能, 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. 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
2. 放射線照射を受けた天然医療材料の組織再生に及ぼす影響評価に関する研究(療品)  
Study on the effects of the gamma-ray irradiated natural biomaterials on the tissue regeneration
3. 細胞周期特異的に応答する放射線トキシコゲノム手法による低線量放射線検知システム(毒性)  
Radiation-toxicogenomics on low-dose ionizing radiation particularly in response to cell cycle specific gene-expression
4. 電子線照射新鮮食品等の検知に関する研究(食品)  
Study on detection procedures for electron-beam-irradiated foods
5. 超短半減期核種の新規導入反応の開発及びPET用イメージング剤への応用(有機)  
Design and synthesis of new drugs for clinical PET
6.  $\gamma$ 線照射を利用したナノキャビティをもつハイドロゲルの調製とタンパク質製剤への応用に関する研究(薬品)  
Preparation of hydrogel nano cavity by  $\gamma$ -irradiation and its application to protein formulations
7. 細胞治療, 再生医療における放射線照射ストローマ細胞の有用性確保に関する研究(遺細)  
Evaluation of gamma-irradiated stromal cells for applications to cell therapy and regenerative medicine
8. 超低線量放射線により誘発されるDNA2本鎖切断モデル細胞の構築と, それを用いたDNA修復の研究(変異)  
Construction of model cell for DNA double strand breaks induced by ultra low-dose irradiation and study of its DNA repair

科学技術振興調整費(文部科学省)  
(総合研究)

1. 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  
(生活・社会基盤研究のうち生活者ニーズ対応研究)
2. 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
3. 科学技術政策提言: 生命倫理の社会的リスクマネジメント研究(変異)  
Studies on social risk management of bioethics

## 地球環境保全等試験研究費(環境省)

1. 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
2. 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 infections disease
3. 水道水源水域等における親水性難分解有害物質の動態と水道リスク評価ならびに制御に関する研究(環境)  
Research on behavior of hydrophilic hazardous chemicals with recalcitrance in the waters of drinking water source and on their risk assessment and control in water supply
4. 環境中の内分泌障害性物質が生体防御系に与える影響に関する研究(代謝)  
Studies on the effects of endocrine disruptors on immune system
5. ノリ加工海水の浄化・再生に関する研究(衛微)  
Purification and reuse of seawater for sea weed processing
6. 環境中の酸化ストレス誘起性化学物質が免疫系に与える影響に関する研究(代謝)  
Studies on the effect of environmental oxidative stress-inducing chemicals on the immune system
7. 化学物質等の環境リスク対策の基盤整備としてのトキシコゲノミクス研究(毒性)  
Toxicogenomics research -construction of the basic system to support for risk assessment of environmental chemicals

## 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. 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(支生)  
Assessment and control of risks to progeny from exposure to complex chemicals in the environment

## 厚生労働科学研究費補助金(厚生労働省)

1. 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
2. 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
3. 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
4. 医薬安全総合研究の企画と評価に関する研究(副所長)
5. 生活安全総合研究の企画及び評価に関する研究(所長)

6. 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)  
Studies on the establishment of methodology for prion disease
7. 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
8. 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
9. 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)  
Uncertainty analysis on health risks from exposure to environmental chemicals including endocrine disruptors
10. 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
11. 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(情報,支生)  
Studies on test methods for evaluation of health effects by endocrine disruptors
12. 甲状腺障害物質の in vivo 相互作用予測に関するトキシコキネティクス研究(薬理)  
Drug interaction of thyroid toxic substances (Toxicokinetic studies)
13. 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
14. 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,療薬,遺細)  
Fundamental studies on quality and safety of cellular and tissue-based products
15. 次世代遺伝子治療薬の開発基盤研究(遺細)  
Fundamental Studie, "on the development of new generation gene therapy products
16. 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,薬品,審査センター)  
Studies on the evaluation of quality and safety assurance of therapeutic products based on the international trends.
17. 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 ensure the reliability
18. 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 monitoring of food allergy
19. 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,機能,毒性)  
Studies on the safety of the foods developed by biotechnology and development of highly functional foods
20. 照射食品の安全性について(食品)  
Study on safety of irradiated foods
21. 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
22. 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
23. 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)  
Comprehensive assessment study on health effects by dioxins
24. 分子運動性パラメーターの活用による次世代医薬品の安定性評価法の開発研究(薬品)  
Stability evaluation of novel pharmaceuticals based on molecular mobility
25. 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究(薬品)  
Study on sources of variation in dissolution testing and their control
26. 癌への特異的標的化を可能とするアデノウィルスベクターシステムの開発(遺細)  
Development of targeting adenovirus vector for tumor
27. 医療用具の有効性・安全性評価手法の開発に関する研究(療薬)  
Studies on the evaluating method of effectiveness and quality of medical devices
28. 医療用具の有効性,安全性評価手法に関する国際ハーモナイゼーション研究(療薬)  
Studies on the international harmonization for evaluating the effectiveness and quality of medical devices
29. WHO飲料水水質ガイドライン改訂に対応する水道における化学物質等に関する研究(環境)  
Research on the chemical substance in water supply in proportion to the WHO drinking water quality guideline revision
30. 食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究(食品,食添)  
Studies on chemically ensuring the safety of food flavorings and natural food additives
31. 異常型プリオン蛋白質汚染のインビトロ高感度検出法の開発(食添,衛微)  
Development of sensitive in vitro detection methods for infectious prion proteins
32. 食品用器具・容器包装等の安全性確保に関する研究(食添)  
Studies on the safety of utensils and packages for food contact use
33. 無菌医薬品製造に関する国際規格の国内導入に関する研究(食添)  
Studies on the production process of sterilized drugs referring to the international specifications
34. 内分泌かく乱化学物質の生体影響に関する研究—特に低用量効果・複合効果・作用機構について—(センター長,毒性,病理)  
Studies on biological effect of endocrine disrupting chemicals with special emphasis on low dose effects, combined effects and their mechanism of action
35. ダイオキシン類の健康影響とくにTEFを中心としたリスク評価のための実験的研究(毒性,評価室,センター長)  
Experimental studies on the health effect of dioxins, focus-

- ing on the evaluation of TEF in the process of risk assessment
36. 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による内分泌攪乱性の優先順位付けに関する研究(毒性, センター長)  
Studies for prioritization of chemicals on endocrine disrupting potentials with the novel mechanism based high throughput screening.
  37. 化学物質の内分泌かく乱性を確認する試験法の確立に関する研究(毒性, センター長)  
Development of Testing strategy on the detection of Endocrine disrupting effects in chemicals
  38. 食品中化学物質の毒性評価に及ぼす諸要因に関する調査研究(病理, 毒性, 薬理, 食品)  
Studies for modifying factors on toxicological evaluations of chemicals in food
  39. 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  
Studies on establishing an infrastructural system of cell culture research resources
  40. 残留農薬分析の効率化と精度向上に関する研究(食品, 支食)  
Studies on the improvements of efficiency and precision in pesticide residue analysis
  41. 1998年度(平成10年度)の食品中の食品添加物の行政検査結果を基にした防かび剤, 無機塩類, 酸化防止剤の摂取量の推定(食添, 支生)  
Estimation of the daialy intake of antifungal agents inorganic food additives and antioxidants based on the official inspection in fiscal year 1998
  42. 生産統計を基にした食品添加物の摂取量の推定(食添, 支生)  
Estimation of the daialy intakes of food additives based on the production amount
  43. 医薬品の最新の品質管理システムのあり方・手法に関する研究(薬品, 有機, 情報)  
Studies on Modern Quality Assurance System for Pharmaceutical Products
  44. 肝細胞・内皮細胞等のマルチカラーイメージングによる分子機能解析(生物)  
Analysis of molecular function using multicolour imaging in hepatocyte, endothelial cell, etc
  45. ナノレベルイメージングによる医療材料/細胞界面分子の機能と構造解析(療品)  
Function and configuration analysis of biomaterials/cell interface molecules by nano level imaging
  46. 適用する医薬品の脂溶性等とプラスチック製医療器具に使用される可塑剤の溶出度の相関性に関する研究(療品)  
Study on the relationship between elution amounts of plasticizer from plastic medical devices and liposolubility of medicines applied to the devices
  47. 家庭用品における製品表示と理解度との関連及び誤使用・被害事故との関連の検証に関する研究: 家庭用ゴムに起因するアレルギー性接触皮膚炎等の慢性的な健康被害に関する原因究明及び発生防止のための情報提供手段としての製品表示の評価に関する研究(療品)  
Studies with household products on verification on relationship of consumer understanding of product indication to incidence of misuse and/or hazardous accidents: Studies with household rubber products on cause elucidation on chronic health damages such as allergic contact dermatitis, and on evaluation of product indication as preventive information as preventive information delivery measure against health damages
  48. 水道におけるフタル酸ジ-2-エチルヘキシルの濃縮機構等に関する研究(環境)  
Research of diphtalate-2-ethylhexyl on the concentration mechanism in water supply
  49. 動物実験代替法の開発と利用に関する調査研究(環境, 薬理)  
Studies on development and utilization for alternatives to animal testing and experimentation
  50. 食物アレルギー表示に伴う特定原材料の検出法の開発に関する研究(食品)  
Studies on the development of analytical methods for allergic substances in foods
  51. ダイオキシンの汚染実態の把握及び摂取低減化に関する研究(食品)  
Studies on dioxin levels in foods and reduction method of dioxin intake
  52. 既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究(生薬, 食添, 変異)  
Studies on quality problems in ensuring safety of existing food additives in Japan
  53. エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究(食添)  
Preliminary screening for antiviral AIDS drugs
  54. 食品に付着・汚染する真菌の調査研究(衛微)  
Studies on fungous flora and contamination in foods
  55. プライマリーヒト肝・腎細胞を用いた薬剤暴露・遺伝子発現に関する研究(遺細, 有機)  
Study on gene expression in human primary hepatocytes and renal cells exposed to chemicals
  56. 紫外線照射による健康影響とその予防に関する研究(有機)  
Studies on the biological effect of UV irradiation and its prevention
  57. 反復投与毒性や発がん性試験等の実施による既存添加物の安全性評価に関する研究(病理)  
Safety assessment of existing food additives by means of repeated dose toxicity and carcinogenicity studies
  58. フタル酸/アジピン酸エステル類の生殖器障害に関する調査研究-発達期ないし有病時暴露による影響評価- (病理, 評価)  
Assessment of the exposure effect of phthalate/adipate ester, 's on the reproductive system.-Evaluation of the exposure effects during development or with organ dysfunction conditions
  59. 遺伝子解析研究, 再生医療等分野において用いられるヒト由来資料に関する法的・論理的研究 その体系的あり方から適正な実施の制度まで(変異)  
Legal and Ethical issues on Human materials in the use of genome and stem cell research-Its systematic regulatory frame

- and appropriate code of practice
60. 医薬品の最新品質管理技法の導入及び薬事法改正への対応等による日本薬局方の質的向並びに信頼性確保に関する研究 (支薬)  
Studies on Qualitative improvement and reliability assurance the Japanese Pharmacopoeia by introduction of the latest quality control technique of medicine and correspondence to revision of the Pharmaceutical Affairs Law
61. 食品中の微生物のリスク評価に関する研究 (食管)  
Study for microbiological risk assessment in foods
62. ビブリオバフニフィカスによる重篤な疾病に関する研究 (食管)  
Study for severe acute disease by *Vibrio vulnificus*
63. 食品由来のリステリア菌の健康被害に関する研究 (食管)  
Active surveillance of food-borne *Listeria monocytogenes* infection
64. 食品製造の高度衛生管理に関する研究 (衛微)  
Studies on developed food control of food manufacture
65. 生薬中の農薬分析に関する研究 (生薬)  
Studies on pesticide analyses in crude drugs
66. 不正流通薬物対策に関する研究 (生薬・筑波)  
Studies on illegal drugs control
67. 一般用漢方処方に見直しに資するための有用性評価 (EBM確保) 手法及び安全性確保等に関する研究 (生薬)  
Studies on evaluating the effectiveness, ensuring the safety and reconsideration of the 210 Kampo formulations for OTC drugs
68. 専ら医薬品として使用される成分本質 (原材料) の有効性および安全性等の評価に関する研究 (生薬・食添)  
Studies on evaluation of efficacy and safety on the raw materials which are exclusively used as pharmaceuticals
69. 国際的動向を踏まえた医薬品等の品質・安全性確保に関する研究 (遺細)  
Quality and safety evaluation of pharmaceutical products, based on scientific international standards
70. 抗菌加工製品における安全性評価及び製品情報の伝達に関する調査研究 (療品, 変異, 衛微)  
Studies on safety assessment of antimicrobial-treated products and their product information delivery system
71. 動物実験代替法の開発と利用に関する調査研究 (薬理, 環境)  
Studies on development and utilization for alternatives to animal testing and experimentation.
72. 担子菌類中の有害物質の評価に関する研究 (食品)  
Study on evaluation of toxic substances in the basidiomycetes
73. 食中毒菌の薬剤耐性に関する疫学的・遺伝学的研究 (食管)  
Epidemiological and genetical studies on non-human antimicrobial usage and antimicrobial resistance.
74. 医薬品の製造方法等の変更に伴う品質比較に関する研究 (有機, 支薬, 生物, 薬品, 審査セ)  
Studies on effect of manufacturing change on quality of drug substances and products.
75. 薬物代謝酵素が関与する医薬品相互作用の添付文書等による適正な情報提供に関する研究 (医安)  
Studies on proper distribution of drug interaction information mediated by drug metabolic enzyme though the package insert
76. トキシコゲノミクス手法を用いた医薬品安全性評価予測システムの構築とその基盤に関する研究 (所長, 毒性)  
Construction of safety prediction system for drug development by toxicogenomics technology and related basic research
77. 化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究 (毒性部, センター長, 変異, 評価)  
Basic Research on Toxicogenomics for the Risk Assessment of Chemicals
78. 内因性リガンドの存在を前提とするダイオキシンリスクの再評価に関する研究 (毒性)  
Re-evaluation of Dioxin Risks assuming the presence of intrinsic AhR ligand.
79. 既存添加物の発がん性等に関する研究 (毒性)  
Safety assessments of existing food additives in rat chronic toxicity and/or carcinogenicity studies
80. アクリルアミドの生成抑制及び毒性抑制に関する研究 (病理, 薬理, 変異)  
Experimental studies for reduction of acrylamide formation in foods and prevention of toxic effects of acrylamide
81. 既存添加物における遺伝毒性評価のための戦略構築に関する研究 (変異)  
Study on construction of a strategy for genotoxic evaluation on existing food additives
82. 化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究 (変異)  
Study on quantitative structure-activity relationship for chemical risk assessment
83. ファーマコゲノミクスの合理的使用のための医薬品開発と医薬品行政のあり方に関する研究 (変異)  
Studies on the meaning of drug development and pharmaceutical regulation with a view to rational usage of pharmacogenomics
84. 薬用植物資源の確保と遺伝子組換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究 (筑波)  
Studies on medicinal plant resources and the influence of genetically modified medicinal plants to the environment
85. ナノイメージングによる受容体タンパク質の構造解析 (薬理)  
Nano-imaging structure analysis of receptor protein
86. 心毒性非臨床試験ガイドラインに関する調査研究 (薬理)  
Studies on guidelines for preclinical cardiotoxic evaluation
87. 医薬品の環境影響評価法に関する研究 (センター長)  
Study on the effect of environment in pharmaceuticals
- 科学研究費補助金 (文部科学省)  
(特定 A)
1. 体節の繰り返し構造を生み出す分子機構 (毒性)  
Molecular mechanism of the metameric pattern formation in somitogenesis
2. 食品用器具・容器包装関連化学物質の内分泌攪乱作用の検索と残存実態の解明 (食添)  
Estrogenic activities of chemicals related with food contact articles and their residual levels

- (特定 B)**
3. 分子時計が刻む脊椎動物の分節パターン (毒性)  
Segmental patterning controlled by a molecular clock
- (特定 C)**
4. ヒトがんの環境・宿主要因に関する疫学的研究 (変異)  
Epidemiological study on environmental and host factors of human cancer
- (奨励 A)**
5. 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 occurrence
6. 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
7. 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 (支葉)  
Studies on the binding mechanism of apolipoproteins and lipid-membrane
8. 難治性疼痛発現における ATP 受容体を介するグリアニューロン相互作用の役割 (代謝)  
The function of glia-neuron interaction through ATP receptors in intractable pain
- (若手研究 B)**
9. 心筋細胞の分化に対する細胞外環境の影響に関する研究 (遺細)  
Effects of extracellular factors on cardiomyocyte differentiation
10. クロマチン構造の変化に由来する CYP の性特異的発現調節 (毒性)  
Gender-related regulation of the CYP gene expression by chromatin structure
11. エストロゲン及び内分泌攪乱物質への発達期曝露が中枢神経系機能に及ぼす影響に関する研究 (薬理)  
Studies on effects of estrogens and other endocrine disruptors on the central nervous system treated during developmental stages
12. バイオイメージングのためのチロシンリン酸化プローブの開発 (生物)  
Fluorescent indicator for tyrosine phosphorylation
13. 感染症に対する内分泌かく乱物質の影響についての研究 (衛微)  
Effects of endocrine disruptors on infectious diseases
14. 細胞外 ATP を介したアストログリアニューロン相互作用機構の解明 (代謝)  
astrocyte-neuron interaction via ATP receptors  
科学研究費補助金 (日本学術振興会)
- (基盤 A)**
1. 遺伝子欠損マウスを用いた大気からの変異原物質暴露の鋭敏な検出と影響評価 (変異)  
The evaluation of influence and sensitive detection of mutagens in the air using gene knock-out mice
- (基盤 B)**
2. 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
3. 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)**
4. 単離心筋細胞を用いたエンドセリンA受容体脱感作機序の解明 (代謝)  
Electrophysiological and pharmacological study on the mechanism for desensitization of ETA endothelin receptor, by using isolated single cardiomyocytes
5. 光照射をトリガーとするエンジン分子の設計と合成 (有機)  
Molecular design and synthesis of a new class of triggerd endyne
6. 多因子乗算論に基づく薬物障害検知モデルとしての遺伝子改変促進加齢動物の作出と解析 (毒性)  
Establish of biotechnology-derived recombinant mice expressing accelerated aging-a sensitive model for drug-induced epigenetic damages
7. サルモネラリポド A のマクロファージ活性化における種特異性を支配する分子機構の解明 (食添)  
Elucidation of the molecular mechanism for species-specificity of the macrophage activation by Salmonellalipid A
8. 形質転換実験系における発がんプロモーターによる遺伝子発現変化の解析 (衛微)  
Analysis of altered gene expression by tumor promoters in cell transformation
9. 次世代型フラボノイド系抗酸化剤の開発 (有機)  
Studies on the flavonoid derivative as a new type of synthetic antioxidant
10. 導入遺伝子を生体内探索子とする内的発がん分子機構の解明 (病理)  
Analysis of endogenous molecular mechanisms on carcinogenesis using reporter genes
11. ズーノシス原因真菌の住環境生息性と分布拡大 (衛微)  
Habitat of zoonotic fungi in dwelling environment
12. ナノフロー LC/MS を用いた GPI アンカー型タンパク質の糖鎖の構造と機能解析 (生物)  
Structural and functional analysis of carbohydrates of GPI-anchored protein by nano LC/MS
13. 顆粒球コロニー刺激因子に関する研究 (遺細)  
Studies on granulocyte colony-stimulating factor
14. 遺伝子治療用ウイルスベクターに混入する増殖性ウイルスの迅速・高感度検出法の開発 (遺細)  
Development of methods for rapid and sensitive detection of replication-competent virus contamination in replication-deficient virus vectors for gene therapy
15. 温度応答性ポリマーを用いた環境汚染物質曝露評価 (環境)  
The evaluation of the environmental pollutants exposure using the temperature-response polymer.
16. 肥満細胞の高親和性 IgG 受容体を介する情報伝達系への環境化学物質の影響 (機能)  
Study of the effect of environmental chemicals on the high-

- affinity IgG receptor-mediated signal transduction of mast cells.
17. 食細胞の走化性運動におけるコフィリン・LIM キナーゼ系の役割 (代謝)  
Studies on the roles of cofilin/LIM-kinase on chemotaxis of phagocytes
18. アリールヒドロカーボン受容体 (AhR) を介したベンゼンの造血毒性発現機構 (センター長)  
Mechanism of benzene-induced hematopoietic disturbances mediated by arylhydrocarbon receptors
19. グリア細胞由来 ATP による即時的シナプス伝達制御に関する研究 (薬理)  
Studies on dynamic regulation by glia-derived ATP of synaptic transmission
20. 原子間力顕微鏡を利用した ATP 受容体の分子薬理学 (薬理)  
Molecular pharmacology of purinoceptor using atomic force microscopy
- がん研究助成金 (厚生労働省)
1. *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*
2. 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
3. 国際的動向を踏まえた医薬品等の新たな有効性及び安全性の評価に関する研究 (変異)  
Studies on efficacy and safety of pharmaceutical drugs based on international movement
4. 個体レベルで見る遺伝子再編成と発がん (変異)  
Genetic rearrangement and carcinogenicity in whole animals
5. 突然変異を指標とした変異原・がん原性の検索系の開発に関する研究 (変異)  
Development of experimental systems for evaluation of the mutagenicity and carcinogenicity by mutational analysis
6. ラット中期大腸発がん試験法の開発と応用 (病理)  
Development and application of a rat medium-term colon bioassay for detection of carcinogenesis modifiers
- その他
- 喫煙科学研究財団研究助成金
1. 喫煙による発がんの修飾に関する実験的研究 (病理)  
Experimental studies on modifying effects of cigarette smoke on carcinogenesis
- 食品等試験検査費
1. 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
2. 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
3. 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 seafoods
4. 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)
5. 食品等の規格基準の設定等に係る試験検査 (食品, 衛微)  
Studies for establishment of standards and specifications on foods.
6. 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
7. 食品添加物規格策定費・食品添加物の規格基準及び試験法の設定, 改良 (食添, 支食)  
Establishment and improvement of specifications and standards of food additives
8. 食品添加物基準策定費・食品中の添加物分析法の設定 (食添)  
Establishment of analytical methods for food additives in foods
9. 食品添加物一日摂取量調査費・マーケットバスケット法による食品添加物の一日摂取量調査 (食添)  
Estimation of daily intake of food additives by the market basket method
10. 食品添加物規格策定費・既存添加物の規格基準の設定 (食添)  
Establishment of specifications and standards of natural food additives
11. 器具・容器包装の規格試験法の改良 (食添)  
Improvement of test methods for specifications of utilities and packages
12. アガリスク中の有害物質であるアガリチンの実態調査 (食品)  
Actual survey for agaritine concentration of *Agaricus blazei* Murill
13. 遺伝子組換え食品の検査法の外部精度管理について (食品)  
Proficiency test for the detection methods of genetically modified foods
14. 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, N-アセチルグルコサミン, セイヨウワサビ抽出物) (病理)  
Chronic toxicity and carcinogenicity tests in rats (Paprika colour, Madder colour, N-acetylglucosamine, Horseradish extract)
15. 食品添加物安全性再評価費・90日間投与試験 (ラット) (デュナリエラカロテン, シアナット色素, カテキン) (病理)  
Ninety-days toxicity studies of natural food additives (Dunaliella carotene, Shea nut colour, Catechin)
16. 2002年度対EU輸出ホタテガイ貝毒検査機関における貝毒検査の比較試験及びverification実施報告 (食管)  
Report on the results of comparative tests and verification of

- the performance in the laboratory which tests marine biotoxins in scallops for exportation to the EU countries (financial year 2002)
17. 残留農薬分析法開発費・食品中残留農薬公定分析法検討 (食品)  
Study on development of official analytical method for pesticide residue
  18. 健康食品アマメシバの有害成分の研究 (生薬, 食品)  
Study on toxic substances in *Sauropus androgynus*
  19. 大豆およびトウモロコシ加工食品中に含まれる遺伝子組換え食品の定量法の開発検討 (食品)  
Studies on the development of detection methods of GM foods for processed foods
  20. スタック品種遺伝子組換えトウモロコシの実態調査 (食品)  
Actual survey for stack GM varieties
  21. 国際的に汎用されている添加物 (香料) の指定に向けた試験 (90 日間反復投与毒性試験) (毒性)  
Rat 90-day toxicity studies to evaluate the safety of flavoring substances in use in Europe and USA
  22. 健康食品の中期多臓器発癌性試験 (毒性)  
Safety assessments of health food in rat multiorgan carcinogenesis model.
  23. 健康食品の品質 (安全性) 確保のための調査分析 (生薬)  
Analysis and survey of health foods for their quality and safety
- 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
  3. 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
  4. 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
  5. 構造活性相関に関する調査  
Studies on the structure activity relationships (SAR)
  6. 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
  7. 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
  8. 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. 医薬品迅速分析法作成のための研究 (生薬)  
Studies on rapid examination method of drugs
  2. アカゲザルの薬物自己投与試験法を用いた薬物依存性の基礎的研究 (毒性)  
Studies on drug dependence using drug self-administration techniques in rhesus monkeys
3. 向精神薬の分析法に関する研究 (生薬)  
Standardization of analytical methods for psychotropic drugs
  4. 生体試料中におけるマジックマッシュルームの成分及び代謝物の分析法に関する研究 (生薬)  
Development of analytical methods for components of magic mushroom and their metabolites in biological samples
  5. 鑑識用麻薬等の標準品製造に関する研究 (生薬)  
Preparation of the reference standards of psychotropic drugs for the criminate identification
  6. 内分泌かく乱化学物質のリスク評価のための分子発生毒性学的手法開発研究 (毒性)  
Molecular Toxicology-base Test method development for the Risk Assessment of EDCs
- 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)
  5. 毒物劇物指定調査のための毒性試験の実施 (毒性)  
Acute Toxicology studies for chemicals
- 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 (第三次) (北植, 筑植, 種植)  
Study on direct extract method for opium alkaloid from *papaver somniferum*
- 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
- 日米医学協力研究会 (厚生労働省)
- 環境ゲノミックス・発がん専門部会
1. Yファミリー DNA ポリメラーゼによる酸化損傷ヌクレオチドの取り込みとゲノム不安定性 (変異)  
Genomic instability related to oxidized nucleotide-incorpo-

ration caused by Y family DNA polymerases

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)  
Andlysis of function of ATP receptors in CNS and its application to medication
2. 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
3. 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
4. 創薬における毒性回避のための戦略：cDNA マイクロアレイ解析による関連因子の探索と毒作用予見技術の確立 (センター長, 毒性)  
Toxico-pharmaco-genetics for safety predicting system to identify the toxicogenes by cDNA microarray technique

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

ヒューマンサイエンス振興財団創薬科学総合研究事業  
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)

1. Function of P2-purinoceptors on synaptic transmission
2. 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
3. ハイ・スループット遺伝毒性試験系の開発 (変異)  
Development of high-throughput genotoxicity test
4. 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 evaluating efficacy and safety of pharmaceutical drugs using human derived liver cell lines with extra function

ヒューマンサイエンス振興財団国際研究グラント事業  
好熱性誤りがち DNA ポリメラーゼの結晶構造解析に関する基礎的研究 (変異)

1. Study on the analysis for crystal structure of error-prone hyper-thermophilic DNA polymerase
2. 天然薬物からのリーシュマニア治療薬リード化合物の探索と生体機能の解明  
Studies on antileishmanial compounds from natural resources

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業

1. ATP 受容体を介した痛み情報伝達機序の解明と医療への

の応用

Elucidation of mechanisms underlying the P2 receptor mediated nociceptine transmission and its practical application

2. 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
3. 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
4. 非晶質の特異性を活かしたバイテク薬物及び超難溶性薬物の製剤化とその評価 (薬品)  
Preparation and evaluation of amorphous dosage forms for unstable proteins and highly hydrophobic pharmaceuticals
5. DNA-カオチン性脂質複合体製剤の保存安定性の評価法に関する研究 (薬品)  
Storage Stability of Lyophilized DNA-Cationic Liposome Complex
6. 医薬品の分析法に関する研究 (薬品)  
Development of analytical methods for medicines
7. ハイスループットスクリーニングを指向した細胞機能解析法の開発研究 (生物)  
Development of methods analyzing cellular functions oriented towards high-throughput screening
8. バイオテクノロジー応用医薬品等の評価技術の開発 (生物)  
Studies on the quality control of biotechnology products
9. 外来遺伝子の発現調節能を有した高効率遺伝子導入・発現系の開発 (遺細)  
Development of efficient and regulated gene expression system
10. 低酸素センサーを介する虚血性及び変性性神経疾患の機序解明と新規治療薬開発 (生物)  
Drug discovery on oxygen sensing mechanisms in ischemic and degenerative neuronal Diseases
11. 医薬品等における汚染菌および汚染菌成分検出のための正当な評価と新試験法の開発に関する研究 (食添)  
Development of a new test method for properly evaluating contaminations of pharmaceuticals with bacteria and their products
12. 新しい白血球の制御方法を適用したガン細胞の浸潤・転移抑制方法の開発研究 (代謝)  
Application of new regulating methods for leukocytes to suppression of the metastasis of tumor cells
13. 白血球機能制御を目的とするアンチセンス医薬品の開発と有効性評価に関する研究 (代謝)  
Studies on development and evaluation of antisense drugs to regulate leukocyte functions
14. 細胞内脂質輸送系に着目した血清脂質改善薬の開発のための基礎的研究 (代謝)  
Role of cellular lipid transport systems in assembly and secretion of serum lipoproteins
15. 覚せい剤再燃性に関連する大脈辺縁系可塑性におけ



- るチャンネルの分子薬理学解析 (代謝)  
Molecular pharmacological analysis of ion channels involved in functional plasticity of limbic system responsible for sensitization antihypnotics
16. 生体適合性・機能性に優れた材料と評価技術の開発に関する研究 (療品)  
Development of the material and evaluation technology excellent biocompatibility and functionality
17. Toll-like receptor 4 結合分子MD-2 の機能解析と創薬への応用 (衛微)  
Functional analysis of MD-2, a novel accessory molecule for Toll-like receptor 4, and its application to pharmaceutical developments
18. 組換え DNA 食品遺伝子産物の慢性経口毒性評価モデルの確立 (病理)  
Establishment of animal models for safety evaluation of genetically modified organism products by their chronic oral administration
19. ヒト組織の創薬研究資源化に関する研究 (変異)  
Studies on the use of human tissues for research and development
20. 食品および環境中の食中毒原因菌の病原因子に対する高感度検出法に関する研究 (食管)  
High sensitive detection methods for food-borne pathogens in food and environment
21. 健康被害をもたらす有害生物の制御・処理技術に関する研究 (衛微)  
Studies on the biological control of harmful organisms
22. 新機能素材の食品化学的評価と分析に関する研究 (生薬・食品)  
Evaluation on functional activity of new food materials and their analyses
23. 新規心不全治療薬としての核内受容体作動性遺伝子制御薬剤の開発に関する研究 (遺細)  
Development of novel nuclear receptor ligands for treatment of heart failure
24. 難治性疼痛に関与する ATP 受容体の機能解析と医療への応用 (代謝)  
The function of ATP receptors in intractable pain and its application to medical care
25. 医薬品の適正使用に向けたヒト薬物代謝特性の解析・予測支援システムの構築とハイスループット試験系についての研究: ヒト薬物代謝特性の個人間変動を評価する測定系の確立 (医安)  
Analysis and prediction of human drug metabolism for proper use of medicine to evaluate inter-individual variations of human drug metabolism
- 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. 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
2. 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
3. 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
4. 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
5. 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, 薬品, 環境, 代謝, 医安)  
Pharmacogenetic studies on drug-responsive molecules and their clinical applications
- 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
- 国際協力事業団調査研究費
1. 不正医薬品対策に関する研究 (薬品)  
Studies on measures for counterfeit and substandard drugs
- 薬学研究奨励財団研究助成金
1. アポリポ蛋白質 E の構造と生理機能 (支薬)  
Structure and Function of Apolipoprotein E
- メディカルフロンティア
1. 核内受容体リガンド候補化合物に対する転写活性作用の検定法の開発 (生物)  
Development of screening methods using GFPs of ligands for nuclear receptors
- 産学官連携イノベーション創出事業費補助金 (独創的革新技術開発研究提案公募制度)
1. DNA チップを用いた環境汚染化学物質の遺伝子多型の検索と環境リスク評価に関する研究 (環境)  
Risk Assessment for Environmental Chemicals using method of single nucleotide polymorphisms(SNPs)

## 部名略称

薬品部	薬品
生物薬品部	生物
生薬部	生薬
遺伝子細胞医薬部	遺細
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
食品衛生管理部	食管
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
安全情報部	情報
医薬安全科学部	医安
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
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

## 製品検査等の処理状況

## Survey of the Results of Food Tar Colors

平成15年度の製品検査等の処理状況は次のとおりである。

区 分	平成15年度処理件数			対前年度	対前年度
	東 京	大 阪	合 計	増 減 数	増 減 率
	件	件	件	件	%
製 品 検 査	( 0) 0	( 156) 199	( 156) 199	43	127.56
特 別 審 査 試 験	( 65) 48	( 0) 0	( 65) 48	△ 17	73.85
一 斉 取 締 試 験	( 254) 196	( 19) 0	( 273) 196	△ 77	71.79
輸 入 食 品 検 査	( 0) 0	( 0) 0	( 0) 0	0	-
合 計	( 319) 244	( 175) 199	( 494) 443	△ 51	

( ) 内数字は平成14年度処理件数

製品検査等の処理実績(次頁以下に掲載)は  
次のとおりである。

- 平成15年度製品検査月別判定別件数実績表 --- 頁    ○平成15年度特別審査試験月別件数実績表 --- 頁  
○平成15年度一斉取締試験判定別件数実績表 --- 頁

## 平成15年度製品検査品目別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
大 阪	16	-	16	13	2	15	15	-	15	12	-	12	13	-	13	8	-	8
計	16	-	16	13	2	15	15	-	15	12	-	12	13	-	13	8	-	8

## 平成15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	1	-	7	-	5	10	-	1	8	-	3	3	38
生 物 薬 品 部	-	-	6	2	-	-	-	-	2	-	-	-	10
衛 生 微 生 物 部	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	13	2	5	10	-	1	10	-	3	3	48

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
9	-	9	20	-	20	20	-	20	5	-	5	28	-	28	38	-	38	197	2	199
9	-	9	20	-	20	20	-	20	5	-	5	28	-	28	38	-	38	197	2	199

平成 15 年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分		合 格	不 合 格	無 判 定	計
東 京	大 阪	196	0	0	196
		0	0	0	0
合 計		196	0	0	196

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15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 <sup>円</sup>	・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	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
5	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
6	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
7	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
8	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
9	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
10	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
11	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
12	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
13	酢酸レチノール	10,000単位入 5カ7°セリ	18,500	・酢酸レチノールおよびその製剤の定量法
14	ジキタリス	1g入り 3本	18,900	・ジキタリス, 同末の定量法

## 日本薬局方標準品

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
15	シュウ酸カルシウム一水和物	100mg入り 1本	22,000 <sup>円</sup>	・熱分析法・熱重量測定法における質量スケールの校正
16	シヨ糖オクタ硫酸エステル カリウム	1g入り 1本	18,000	・スクラルファートの定量法
17	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
18	セクレチン	100単位入り	38,400	・セクレチンの定量法
19	センノシドA	20mg入り 1本	32,800	・センナおよびセンナ末の定量法
20	センノシドB	20mg入り 1本	31,600	・センナおよびセンナ末の定量法
21	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
22	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
23	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
24	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
25	トロンピン	500単位入り 2本	43,900	・トロンピンの定量法
26	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
27	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
28	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
29	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
30	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
31	パルミチン酸レチノール	10,000単位入り 5カプセル	17,500	・パルミチン酸レチノールおよびその製剤の定量法
32	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
33	ブエラリン	20mg入り 1本	34,800	・カッコンの定量法
34	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
35	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
36	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
37	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
38	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
39	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
40	リゾチーム	500mg入り 1本	33,000	・リゾチーム製品の定量法
41	硫酸プロタミン	100mg入り 1本	34,300	・イソフェニンスリン水性懸濁注射液の純度試験

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15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	・インドシアニンググリーンおよびその製剤の定量法
2	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
3	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
4	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
5	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
6	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
7	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
8	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
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	テオブロミン	100mg入り 1本	13,900	・ベントキシフィリンの純度試験
15	ヒアルロニダーゼ	500mg入り 1本	22,700	・注射用ヒアルロニダーゼの定量法
16	ヒト成長ホルモン	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
17	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
18	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
19	融点測定用 アセトニトリ、アセトフェネチン、カフェイン、 スルファニルアミド、スルファピリジン、ラニリン	各1g入り 6本	60,700	・融点測定用温度計、同装置の補正
20	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
21	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
22	リン酸ヒスタミン	50mg入り 1本	16,000	・ヒスタミン試験
23	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15年4月1日現在)

番号	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	アシッドバイオレット6B	1g入り 1本	3,850 <sup>円</sup>	・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sein	1g入り 1本	3,550	・外用医薬品,化粧品および製剤中のテトラクロルテトラブロムフルオレseinの確認試験
20	テトラブロムフルオレsein	1g入り 1本	3,650	・外用医薬品,化粧品および製剤中のテトラブロムフルオレseinの確認試験

国立医薬品食品衛生研究所標準品（色素試験用標準品）

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 <sup>円</sup>	・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	フロキシシン	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ンの確認試験
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15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
	個	個	個	個	個	
アルプロスタジル	48	50	89	9	0	
インスリン	19	0	0	19	0	
インドシアニングリーン	20	20	36	4	0	
ウリナスタチン	32	0	10	22	0	
ウロキナーゼ	98	0	2	96	0	
エストラジオール	42	70	90	22	0	
エストロン	42	0	16	26	0	
エルカトニン	31	20	49	2	0	
エルゴカルシフェロール	103	100	198	5	0	
塩酸チアミン液	17	0	8	9	0	
下垂体性性腺刺激ホルモン	89	0	45	44	0	
カリジノゲナーゼ	43	25	53	15	0	
吉草酸ジフルコルトロン	13	0	6	7	0	
グリチルリチン酸	33	490	488	35	0	
血清性性腺刺激ホルモン	72	0	2	70	0	
高分子量ウロキナーゼ	26	0	24	2	0	
コハク酸トコフェロール	38	25	41	22	0	
コレカルシフェロール	26	200	223	3	0	
酢酸デキサメタゾン	8	0	3	5	0	
酢酸トコフェロール	70	350	255	165	0	
酢酸レチノール	30	40	66	4	0	
ジギタリス	15	0	0	15	0	
シクランデラート	10	0	0	10	0	
シュウ酸カルシウム一水和物	15	20	20	15	0	
ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	16	0	14	2	0	
G-ストロファンチン	24	0	0	24	0	
スウェルチアマリン	17	10	20	7	0	
セクレチン	24	0	6	18	0	
センノシド	22	0	1	21	0	
センノシドA	24	20	20	24	0	
センノシドB	23	20	17	26	0	
組織培養ウロキナーゼ	41	0	1	40	0	
胎盤性性腺刺激ホルモン	62	0	3	59	0	
低分子量ヘパリン	9	100	69	40	0	
テオプロミン	19	0	0	19	0	
トコフェロール	53	80	74	59	0	
トリアムシロン	26	0	0	26	0	
トリアムシロンアセトニド	22	0	5	17	0	
トロンピン	19	0	8	11	0	
ニコチン酸トコフェロール	16	0	5	11	0	
脳下垂体後葉	24	9	12	21	0	
バイカリン	33	0	16	17	0	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	36	0	14	22	0	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	34	50	34	50	0	
パルミチン酸レチノール	56	80	102	34	0	
ヒアルロニダーゼ	41	39	67	13	0	
ヒトインスリン	17	0	3	14	0	
ヒト成長ホルモン	132	0	8	124	0	

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
ブエラリン	26	0	7	19	0	
フルオシノニド	23	0	0	23	0	
フルオシノロンアセトニド	13	0	2	11	0	
フルオロメトロン	11	0	6	5	0	
フルドロキシコルチド	24	0	2	22	0	
ベオニフロリン	34	80	113	1	0	
ヘパリンナトリウム	33	44	69	8	0	
マレイン酸メチルエルゴメ リン	4	10	13	1	0	
メシル酸ジヒドロエルゴトキ シン	28	0	5	23	0	
融点測定用 [アセトアニリド, アセトフ エネチン, カフェイン, スルファニルアミド, スル ファピリジン, ワニリン]	18	47	65	0	0	
酪酸ヒドロコルチゾン	15	0	0	15	0	
リゾチーム	63	0	63	0	0	
硫酸プロタミン	30	0	0	30	0	
リン酸デキサメタゾンナトリ ウム	9	5	11	3	0	
リン酸ヒスタミン	14	10	17	7	0	
リン酸ブレドニゾロンナトリ ウム	10	0	10	0	0	
計	2,085	2,014	2,606	1,493	0	

(色素試験用標準品)

標 準 品 名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数 量	年 度 末 在庫数量	備 考
	個	個	個	個	個	
アシッドバイオレット6B	62	0	2	60	0	
アシッドレッド	424	0	16	408	0	
アゾルピンエキストラ	58	0	2	56	0	
アマランス	249	0	28	221	0	
アルラレッドAC	267	0	12	255	0	
インジゴ	117	0	0	117	0	
インジゴカルミン	468	0	23	445	0	
エオシン	100	0	2	98	0	
エリスロシン	405	0	21	384	0	
オイルエローAB	155	0	0	155	0	
オイルエローOB	162	0	0	162	0	
オイルオレンジSS	214	0	0	214	0	
オイルレッドXO	139	0	0	139	0	
オレンジI	259	0	3	256	0	
オレンジII	138	0	4	134	0	
ギネアグリーンB	45	0	3	42	0	
サンセットエローFCF	410	0	34	376	0	
タートラジン	379	0	26	353	0	
テトラクロルテトラプロムフル ルオレセイン	138	0	0	138	0	
テトラプロムフルオレセイン	98	0	0	98	0	
トルイジンレッド	15	0	0	15	0	
ナフトールエローS	116	0	6	110	0	
ニューコクシン	414	0	22	392	0	
パーマネントオレンジ	3	0	3	0	0	
ハンサエロー	12	0	4	8	0	
ファストグリーンFCF	323	0	15	308	0	
ファストレッドS	184	0	1	183	0	
ブリリアントブルーFCF	331	0	27	304	0	
フルオレセイン	174	0	0	174	0	
フロキシシン	247	0	12	235	0	
ボンソーR	234	0	3	231	0	
ボンソーSX	83	0	4	79	0	
ボンソー3R	143	0	4	139	0	
リソールルピンBCA	340	0	1	339	0	
レーキレッドC	373	0	0	373	0	
レーキレッドCBA	109	0	1	108	0	
レーキレッドDBA	151	0	0	151	0	
ローズベンガル	380	0	13	367	0	
計	7,919	0	292	7,627	0	

## 国立医薬品食品衛生研究所報告第122号人名索引(アルファベット順)

## A

- Abe-Onishi, Yukiko (大西(阿部)有希子) 150, 230, 231, 249, 250  
 Adachi, Reiko (安達玲子) 215, 262  
 Ahmed, Saifuddin (アーメドシャイフディン) 76, 242, 243  
 Aihara, Maki (相原真紀) 89, 154, 213, 214, 252  
 Aisaki, Kenichi (相崎健一) 267, 268  
 Akaishi, Tatsuhiro (赤石樹泰) 271  
 Akiyama, Hiroshi (穠山 浩) 83, 148, 212, 227, 229, 230, 247, 248, 249, 260  
 Akiyama, Takumi (秋山卓美) 86, 230, 250  
 Amakura, Yoshiaki (天倉吉章) 83, 246  
 Amano, Hiroo (天野博夫) 94, 115, 117  
 Ando, Masanori (安藤正典) 26, 30, 64, 79, 144, 229, 244, 245  
 Aoyagi, Nobuo (青柳伸男) 129, 205, 206, 217, 234, 235  
 Arimura, Takuro (有村卓朗) 272, 273  
 Asakura, Hiroshi (朝倉 宏) 88, 251  
 Asami, Yasuo (麻見安雄) 275, 276  
 Aso, Yukio (阿曾幸男) 206, 226, 235  
 Ayano, Eri (綾野絵理) 229, 244, 245

## B

- Banu, Nasreen (バヌー・ナスリン) 242, 243

## C

- Cho, Young-Man (曹 永晩) 233, 272, 273, 274

## E

- Ema, Makoto (江馬 眞) 37, 56, 111, 223, 233, 237, 266, 277, 278, 290  
 Ezaki, Katsushi (江崎勝司) 239

## F

- Fuchino, Hiroyuki (渕野裕之) 119, 281, 282  
 Fujino, Tomofumi (藤野智史) 262  
 Fujishita, Kayoko (藤下加代子) 261, 262, 270  
 Fukuhara, Kiyoshi (福原潔) 10, 255, 256, 257, 258  
 Fukushima-Uesaka, Hiromi (福島(上坂)浩実) 234, 261  
 Furukawa, Fumio (古川文夫) 273  
 Furukawa, Mizuki (古川みづき) 47, 115, 116, 233, 277

## G

- Goda, Yukihiro (合田幸広) 134, 148, 207, 229, 230, 238, 239, 247, 248, 283  
 Gruz, Petr (グルーズピーター) 189, 276

## H

- Hachisuka, Akiko (蜂須賀暁子) 236, 260  
 Haishima, Yuji (葩島由二) 76, 208, 226, 241, 242  
 Hakamata, Wataru (袴田 航) 256, 257, 258  
 Hanajiri-Kikura, Ruri(花尻(木倉)瑠理) 133, 229, 239, 267  
 Harashima, Mizuho (原島 瑞) 237  
 Harazono, Akira (原園 景) 236, 237, 277  
 Hasagawa, Chie (長谷川千恵) 241, 242  
 Hasegawa, Ryuichi (長谷川隆一) 37, 96, 217, 223, 234, 266, 267, 273, 277  
 Hashii, Noritaka (橋井則貴) 69, 236  
 Hasumura, Mai (蓮村麻衣) 232, 233, 272, 273  
 Hatao, Humihiko (畑尾史彦) 253  
 Hayakawa, Takao (早川堯夫) 127, 234, 236, 240, 260, 278, 279, 280, 281  
 Hayashi Makoto (林 眞) 228, 240, 274, 276, 287  
 Hayashi, Yuzuru (林 譲) 34, 148, 150, 249, 265  
 Higuchi, Hajime (樋口 創) 91, 257, 258  
 Himaki, Daisuke (檜楨大介) 261, 271  
 Hirabayashi, Yoko (平林容子) 100, 228, 268, 269  
 Hirata-Koizumi, Mutsuko(平田(小泉)睦子) 37, 223, 263, 266, 277, 279  
 Hirayama, Akiko (平山明子) 166, 262  
 Hirose, Akihiko (広瀬明彦) 37, 56, 223, 233, 277, 290  
 Hirose, Masao (広瀬雅雄) 106, 232, 233, 272, 273, 276  
 Hishida, Atsuyuki (菱田敦之) 119, 204, 281, 282  
 Hiyama, Yukio (檜山行雄) 127, 128, 130, 206, 235, 236, 263, 264, 284  
 Hojoh, Maki (北條麻紀) 276, 277  
 Honma, Masamitsu (本間正充) 220, 228, 240, 274, 275  
 Hoshino, Makiko (星野真紀子) 275  
 Hyuga, Masashi (日向昌司) 69, 236, 237  
 Hyuga, Sumiko (日向須美子) 237
- I
- Igarashi, Katsuhide (五十嵐勝秀) 228, 267  
 Igimi, Shizunobu (五十君静信) 88, 213, 227, 231, 251, 283  
 Iida, Osamu (飯田 修) 16, 282  
 Ikarashi, Yoshiaki (五十嵐良明) 21, 226, 229, 241, 242, 267  
 Ikeda, Shinobu (池田仁子) 266

Imai, Toshio (今井俊夫) 106, 232, 233, 272, 273  
 Imazawa, Takayoshi (今沢孝喜) 232, 272, 273  
 Inoue Tohru (井上達) 267, 268, 269, 286  
 Inoue, Kaori (井上かおり) 250, 261, 262  
 Inoue, Kaoru (井上薫) 106, 232  
 Inoue, Kazuhide (井上和秀) 177, 215, 216, 227, 238, 261, 262, 263, 270, 271  
 Isama, Kazuo (伊佐間和郎) 226, 242  
 Ishida, Seiichi (石田誠一) 208, 245, 262, 266, 267, 271, 276  
 Ishii-Watabe, Akiko (石井(渡部)明子) 205, 207, 236, 279, 280  
 Ishimitsu, Susumu (石光進) 94, 193, 228, 232, 264, 285  
 Ito, Tomomi (伊藤友実) 242  
 Itoda, Masaya (井戸田昌也) 234, 235, 245  
 Itoh, Satsuki (伊藤さつき) 236, 260  
 Itoh, Yoshinori (伊藤嘉典) 251, 252, 264  
 Izutsu, Kenichi (伊豆津健一) 129, 206, 234

## J

Jinno, Hideto (神野透人) 79, 219, 229, 245, 261

## K

Kaihara, Akiko (開原亜樹子) 193  
 Kajikawa, Akinobu (梶川揚申) 152  
 Takeya Tomoshi (掛谷知志) 254  
 Kamakura, Hiroyuki (鎌倉浩之) 229, 239  
 Kamata, Eiichi (鎌田栄一) 37, 111, 223, 233, 266, 277  
 Kanayasu-Toyoda, Toshie (金安(豊田)淑江) 136, 167, 240, 262  
 Kaniwa, Masa-aki (鹿庭正昭) 21, 209, 229, 241, 242  
 Kaniwa, Nahoko (鹿庭なほ子) 96, 217, 228, 234, 235, 245, 261, 266, 267  
 Kanki, Keita (神吉けい太) 272, 273  
 Kanno, Jun (菅野 純) 267, 268, 269, 286, 287  
 Kasuga, Fumiko (春日文子) 94, 95, 216, 217, 227, 231, 264, 284, 285  
 Kato, Natsumi (加藤奈津美) 272, 273  
 Katori, Noriko (香取典子) 234, 235, 266, 271  
 Katsuki, Shigeki (香月茂樹) 225, 282  
 Kawahara, Yosuke (河原陽介) 262, 263  
 Kawahara, Nobuo (川原信夫) 229, 230, 238, 239, 282, 283  
 Kawai, Hiroshi (河合 洋) 69, 207, 237, 238  
 Kawamura, Yoko (河村葉子) 86, 151, 227, 231, 250, 251, 283  
 Kawasaki, Nana (川崎ナナ) 236, 260  
 Kawasaki, Yasushi (川崎 靖) 99, 100, 101, 173, 268, 269  
 Kawasaki, Yoko (川崎洋子) 230, 249  
 Kawasishi, Toru (川西 徹) 207, 236, 237, 238, 260  
 Kikuchi, Hiroyuki (菊地博之) 83, 247  
 Kikuchi, Yutaka (菊池 裕) 238, 254  
 Kim, Su-Ryang (金 秀良) 267, 271, 275, 276  
 Kinoshita, Hirotaka (木下博貴) 47, 114, 115, 116, 233

Kitajima, Satoshi (北嶋 聡) 232, 267, 269  
 Kitamura, Yasuki (北村泰樹) 272, 273  
 Kitazawa, Takashi (北澤 尚) 16  
 Kiuchi, Fumiyuki (木内文之) 16, 64, 119, 121, 134, 281, 282  
 Kobayashi, Kazuo (小林一夫) 254, 255  
 Kobayashi, Tetsu (小林 哲) 237, 238  
 Kodama, Yukio (児玉幸夫) 99, 268, 273  
 Kohara, Arihiro (小原有弘) 240  
 Koizumi, Schuichi (小泉修一) 104, 177, 178, 216, 261, 262, 270, 271  
 Kojima, Shigeo (小嶋茂雄) 64, 66, 67, 68, 127, 128, 129, 130, 234, 235, 266  
 Kokubo, Kiyoko (小久保清子) 125, 275  
 Kondo, Kazunari (近藤一成) 230, 247, 249  
 Konishi, Yoshiko (小西良子) 227, 250, 254, 255, 283  
 Konuma, Hirotaka (小沼博隆) 89, 155, 156, 226, 227, 253, 254, 264  
 Koujitani, Takatoshi (糀谷高敏) 187  
 Koyano, Satoru (児矢野聡) 234  
 Kubo, Takashi (久保 崇) 104, 271  
 Kubota, Hiroki (久保田浩樹) 150, 230, 231, 249, 250  
 Kubota, Kunihiro (窪田邦宏) 94, 95, 264, 285  
 Kudoh, Yukiko (工藤由起子) 214, 227, 230, 231, 244, 253, 254  
 Kumagai, Takeo (熊谷健夫) 281  
 Kurebayashi, Hideo (紅林秀雄) 248, 271  
 Kurematsu, Miharu (樽松美治) 277  
 Kurihara, Masaaki (栗原正明) 215, 258, 259, 260  
 Kuroda, Nobuko (黒田伸子) 263  
 Kurose, Kouichi (黒瀬光一) 234, 235, 261, 266, 267

## L

Lee, Dong Hee (李 東熙) 154, 252, 153  
 Lee, In-Seon (李 仁善) 154, 182, 184, 273  
 Lee, Kyoung-youll (李 京烈) 182, 183, 272, 274, 232, 273  
 Li, Guang-xun (李 光勳) 100, 268, 269

## M

Machii, Kenji (町井研二) 88, 231  
 Maeda, Machiko (前田真智子) 232  
 Maekawa, Keiko (前川京子) 260, 261  
 Maitani, Tamio (米谷民雄) 82, 83, 146, 150, 211, 212, 226, 229, 230, 246, 247, 248, 249, 250, 260  
 Maruyama, Takuro (丸山卓郎) 207, 229, 239  
 Mastutani, Sachiko (松谷佐知子) 253  
 Masuda, Yu (増田雄) 91, 257, 258  
 Masui, Tohru (増井徹) 191, 222, 228, 276, 277  
 Masumura, Ken-ichi (増村健一) 273, 275, 276  
 Masutomi, Naoya (槇富直哉) 186  
 Matsuda, Rieko (松田りえ子) 83, 148, 150, 229, 230, 242, 249, 265

Matsuda, Yoshie (松田良枝) 242  
 Matsui, Keiko (松井恵子) 275, 276  
 Matsumoto, Mariko (松本真理子) 37, 111, 266, 288  
 Matsuoka, Atsuko (松岡厚子) 76, 226, 242  
 Matsushima, Erika (松島江里香) 229, 244, 245  
 Matsushima, Yuko (松島裕子) 173, 232, 267  
 Mitsui, Masayuki (三井雅之) 181  
 Mitsumori, Kunitoshi (三森国敏) 233  
 Miyahara, Makoto (宮原誠) 83, 146, 155, 211, 212, 230, 246, 247  
 Miyahara, Michiko (宮原美知子) 155, 156, 227, 253  
 Miyajima, Atsuko (宮島敦子) 271  
 Miyazaki, Tamaki (宮崎玉樹) 235  
 Miyazawa, Hiroshi (宮澤宏) 74, 239  
 Mizokoshi, Akito (溝腰朗人) 261  
 Mizusawa, Hiroshi (水澤博) 222, 228, 276, 277  
 Mori, Satoko (森聡子) 239  
 Morikawa, Kaoru (森川馨) 51, 55, 64, 94, 231, 232, 236, 263, 264, 285  
 Morikawa, Tomomi (森川朋美) 232  
 Morita, Takeshi (森田健) 94, 95, 169, 232, 264, 285  
 Murai, Toshimi (村井敏美) 193  
 Murayama, Norie (村山典恵) 160, 161, 179  
 Murayama, Mitunori (村山三徳) 227, 247  
 Muroi, Masashi (室井正志) 214, 253  
 Mutsuga, Motoh (六鹿元雄) 151, 231, 238, 250, 251

## N

Nagahata, Misao (長幡 操) 242, 243  
 Nagano, Michiyo (長野美千代) 161  
 Nagao, Taku (長尾 拓) 226, 227, 228, 231, 269  
 Nagaoka, Megumi (長岡 恵) 83, 229  
 Nagata, Ryuji (永田龍二) 74, 205, 226, 236  
 Nagira, Tsutomu (柳楽 勤) 226, 242, 243  
 Nakagawa, Yukari (中川ゆかり) 193  
 Nakajima, Osamu (中島 治) 260  
 Nakajima, Yukiko (中島由起子) 66, 234, 235, 271  
 Nakamura, Hideaki (中村英明) 182  
 Nakamura, Ryo (中村 亮) 162, 163, 239  
 Nakamura, Ryosuke (中村亮介) 260, 261  
 Nakamura, Takahiro (中村隆広) 271  
 Nakamura, Takatoshi (中村高敏) 160, 161, 179, 196  
 Nakamura, Yuriko (中村友里子) 257, 258  
 Nakane, Takahisa (中根孝久) 119, 238, 239, 282  
 Nakanishi, Hiroki (中西大樹) 281  
 Nakanishi, Ikuo (中西郁夫) 90, 255, 256, 257, 258  
 Nakano, Maki (中野真希) 47, 114, 116, 277  
 Nakano, Tatsuya (中野達也) 34, 217, 263, 264, 265, 266  
 Nakaoka, Ryusuke (中岡竜介) 76, 226  
 Nakata, Kotoko (中田琴子) 34, 94, 217, 264, 265  
 Nakatsu, Noriyuki (中津則之) 267  
 Nakazawa, Kenichi (中澤憲一) 271, 287  
 Nasu-Tada, Kaoru (多田 薫) 104, 270  
 Nemoto, Satoru (根本 了) 230, 246  
 Niho, Naoko (仁保直子) 187

Niimi, Shingo (新見伸吾) 237  
 Nishikawa, Akiyoshi (西川秋佳) 272, 273, 276, 283  
 Nishimaki-Mogami, Tomoko (最上(西巻)知子) 238, 262, 263, 283  
 Nishimura, Tetsuji (西村哲治) 211, 229, 244, 245, 246, 266, 273  
 Nishiyama, Satoshi (西山 聡) 249  
 Nohmi, Takehiko (能美健彦) 221, 273, 275, 276  
 Nomoto, Satoshi (野本哲史) 91, 259

## O

Ogawa, Yukio (小川幸男) 173, 232, 267  
 Ogawa, Yuko (小川裕子) 151  
 Ohkado, Yuka (大門由佳) 250  
 Ohnishi, Takahiro (大西貴弘) 214, 253  
 Ohno, Yasuo (大野泰雄) 1, 8, 9, 176, 228, 262, 269, 270, 271  
 Ohta, Masanori (大田昌紀) 150, 207  
 Ojima, Hiroe (生島裕恵) 271  
 Okada, Yumiko (岡田由美子) 251  
 Okazaki, Kazushi (岡崎和志) 272, 273, 276  
 Okuda, Haruhiro (奥田晴宏) 10, 215, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 284  
 Okunuki, Haruyo (奥貫晴代) 260, 261  
 Okutani, Akiko (奥谷晶子) 88, 213, 251  
 Ono, Atsushi (小野 敦) 100, 173, 269  
 Onodera, Hiroshi (小野寺博志) 106, 232  
 Onose, Jun-ichi (小野瀬淳一) 124, 232, 233, 272, 273  
 Ootsuka, Aya (大塚 文) 263  
 Oshizawa, Tadashi (押澤 正) 237  
 Oya, Yukie (大屋幸江) 263  
 Ozawa, Shogo (小澤正吾) 219, 220, 228, 234, 235, 245, 260, 261, 266, 267, 271

## P

Palanisamy, Rajaguru (パラニサミーラジャグル) 240  
 Park, Bong Joo (朴 奉柱) 153, 154, 252

## S

Saeki, Mayumi (佐伯真弓) 245, 260, 261, 267  
 Sai, Kimie (佐井君江) 245, 266, 271  
 Saisho, Kazuhiro (最所和宏) 229, 239  
 Saito, Hiroyuki (斎藤博幸) 115, 277  
 Saito, Mitsuo (齋藤充生) 96, 266  
 Saito, Yoshiro (斎藤嘉朗) 219, 234, 235, 245, 260, 261, 266, 267, 271  
 Saitoh, Minoru (斎藤 実) 232, 267  
 Sakai, Ayako (酒井綾子) 254  
 Sakamoto, Hiroko (坂本浩子) 274  
 Sakamoto, Tomoaki (坂本知昭) 130, 235  
 Sakemi, Kazue (酒見和枝) 270, 271



- Sakuraba, Mayumi (櫻庭真弓) 274  
 Sakurai, Haruna (桜井晴菜) 237, 238  
 Sasaki, Kumiko (佐々木久美子) 226, 227, 230, 246  
 Sato, Kaoru (佐藤 薫) 271  
 Sato, Kyoko (佐藤恭子) 151, 230, 239, 250, 271  
 Sato, Michio (佐藤道夫) 75, 226, 242  
 Sato, Yoji (佐藤陽治) 208, 238, 262  
 Sato, Yuji (佐藤雄嗣) 247, 248, 260  
 Sato, Yukiko (佐藤由紀子) 257, 258, 259  
 Sawada Jun-ichi (澤田純一) 92, 219, 227, 234, 235, 236, 245, 254, 260, 261, 266, 267, 271, 284  
 Sawada, Rumi (澤田留美) 76, 242  
 Segawa, Katsunori (瀬川 勝智) 34, 94  
 Sekine, Tsutomu (関根勉) 16  
 Sekita, Kiyoshi (関田清司) 173, 232, 267  
 Sekita, Setsuko (関田節子) 64, 119, 121, 204, 238, 281, 282, 283  
 Shibata, Toshiro (柴田敏郎) 281, 282  
 Shibutani, Makoto (渋谷 淳) 232, 272, 273  
 Shigemoto-Mogami, Yukari (最上(重本)由香里) 261, 262, 271  
 Shimazawa, Rumiko (嶋澤るみ子) 255, 284  
 Shimizu, Masatomi (清水雅富) 276  
 Shimizu, Mihumi (志水美文) 253  
 Shimizu, Takehiko (清水健彦) 91, 256, 257  
 Shimomura, Hiroko (下村裕子) 70, 238, 239  
 Shinozaki, Youichi (篠崎 陽一) 262, 271  
 Shintani, Hideharu (新谷英晴) 209, 210, 226, 242  
 Shiseki, Kisyo (始関紀彰) 234  
 Shudo, Koichi (首藤紘一) 238, 262, 271  
 Son, Hwa-Young (孫 和永) 182, 183, 185  
 Soyama, Akiko (祖山晃子) 234, 245  
 Sugimoto, Naoki (杉本直樹) 151, 212, 230, 250  
 Sugita, Takiko (杉田たき子) 150  
 Sugiyama, Emiko (杉山永見子) 267  
 Sugiyama, Keiichi (杉山圭一) 253  
 Sunouchi, Momoko (簾内桃子) 270, 271  
 Susan, Matthew (スーザン マチュー) 76, 243  
 Suzuki, Hodaka (鈴木穂高) 88  
 Suzuki, Kazuhiro (鈴木和博) 215, 262  
 Suzuki, Takayoshi (鈴木孝昌) 208, 240  
 Suzuki, Takuo (鈴木琢雄) 237, 238
- T**
- Tada, Atsuko (多田敦子) 86, 230  
 Tadokoro, Satoshi (田所 聡) 274  
 Takada, Yoko (高田容子) 276, 277  
 Takagi, Atsuya (高木篤也) 101, 287  
 Takagi, Hironori (高木広憲) 272, 273  
 Takagi, Kayoko (高木加代子) 260, 261  
 Takahashi, Kaoru (高橋 薫) 263  
 Takahashi, Marii (高橋真理衣) 281, 282  
 Takahashi, Noriyuki (高橋則行) 186  
 Takahashi, Tomomi (高橋智美) 151  
 Takahashi, Yoshiki (高橋芳樹) 76, 219, 267  
 Takahashi, Yu (高橋 雄) 269  
 Takatori, Kousuke (高鳥浩介) 154, 213, 214, 231, 250, 252, 253, 254, 255, 283  
 Takatsuki, Satoshi (高附 巧) 227  
 Takemura, Reiko (竹村玲子) 263  
 Takeuchi, Ori (竹内織恵) 26, 30, 245  
 Taki, Haruko (瀧 明子) 263  
 Takigami, Syu (瀧上 周) 106, 272, 273  
 Takizawa, Tamotsu (瀧澤 保) 233, 273  
 Tamehiro, Norimasa (為広紀正) 262, 263  
 Tamura, Toru (田村 啓) 141, 161, 171, 186  
 Tanabe, Hideyuki (田辺秀之) 276, 277  
 Tanaka, Rie (田中理恵) 70, 238  
 Tanaka-Kagawa, Toshiko (香川(田中)聡子) 229, 245  
 Tanamoto, Kenichi (棚元憲一) 150, 151, 214, 230, 231, 239, 249, 250, 253, 254  
 Tanimoto, Tsuyoshi (谷本 剛) 115, 192, 193, 228, 277  
 Tannno, Masayuki (丹野雅幸) 10, 256, 257, 260  
 Teshima, Reiko (手島玲子) 215, 227, 236, 260, 261  
 Toda, Kyoko (戸田恭子) 250  
 Toda, Miou (登田美桜) 94, 264  
 Tohkin, Masahiro (頭金正博) 261, 267  
 Tojima, Takahiro (戸島貴浩) 250  
 Tokumoto, Hiroko (徳本廣子) 238  
 Tokunaga, Hiroshi (徳永裕司) 26, 30, 43, 144, 245  
 Tonogai, Yasuhide (外海泰秀) 47, 63, 64, 115, 116, 193, 233, 246, 277  
 Toyoda, Kazuhiro (豊田和弘) 181  
 Toyoda, Toshie (豊田淑江) 240  
 Toyoshima, Satoshi (豊島 聡) 64, 114, 255  
 Tozaki, Hidetoshi (戸崎秀俊) 262  
 Tsuchiya, Toshie (土屋利江) 21, 208, 210, 226, 229, 241, 242, 243, 260, 271  
 Tsuda, Makoto (津田 誠) 216, 261, 262, 270  
 Tsuji, Sumiko (辻 澄子) 47, 94, 233, 263, 277  
 Tsutsumi, Tomoaki (堤 智昭) 83, 246  
 Tuboi, Isao (壺井 功) 268
- U**
- Uchida, Eriko (内田恵理子) 236, 239  
 Uchida, Osayuki (内田雄幸) 173, 232, 267  
 Uchino, Tadashi (内野 正) 26, 30, 144, 245  
 Uchiyama, Nahoko (内山奈穂子) 70, 134, 281  
 Uchiyama, Shigehisa (内山茂久) 79, 244  
 Ueda, Makoto (上田 誠) 233, 273  
 Umemura, Takashi (梅村隆志) 232, 272, 273, 276  
 Uneyama, Chikako (畝山智香子) 94, 231, 232, 264, 272, 273  
 Urano, Tsutomu (浦野 勉) 96, 266  
 Urusidani, Tetsuro (漆谷徹郎) 100, 101  
 Usami, Makoto (宇佐見誠) 271  
 Uta, Hiromi (宇多洋美) 276

## W

- Wakui, Chiseko (和久井千世子) 150, 247, 248  
 Wang, Wenshen (王文晟) 274  
 Watanabe, Hidemi (渡辺秀実) 234  
 Watanabe, Takahiro (渡邊敬浩) 83, 212, 230, 247, 248, 249

## Y

- Yabune, Chiaki (藪根ちあき) 252  
 Yagami, Takeshi (矢上 健) 208, 209, 226, 241  
 Yamada, Katsuya (山田勉也) 240  
 Yamada, Masami (山田雅巳) 221, 275, 276  
 Yamada, Noriyo (山田典代) 275  
 Yamada, Takashi (山田 隆) 151  
 Yamagishi, Megumi (山岸 恵) 272  
 Yamaguchi, Teruhide (山口照英) 236, 237, 239, 240, 278, 279, 280, 281  
 Yamakosi, Yoko (山越葉子) 90, 243, 260, 271  
 Yamamoto, Michiko (山本美智子) 94, 227, 263  
 Yamamoto, Miyako (山本 都) 51, 55, 94, 95, 217, 228, 231, 232, 264, 285  
 Yamamoto, Shigeki (山本茂貴) 88, 212, 213, 227, 228, 230, 231, 251, 254, 283  
 Yamasaki, Manabu (山崎 学) 88, 251  
 Yamazaki, Takeshi (山崎 壮) 151, 230, 250, 254  
 Yamoto, Masaaya (山本雅也) 267  
 Yang, Jun (楊 軍) 76, 124  
 Yasuda, Runa (安田留菜) 277  
 Yasuhara, Kazuo (安原加壽雄) 233  
 Yasuhiko, Yukuto (安彦行人) 100, 269  
 Yawata, Ayako (八幡紋子) 271  
 Yokote, Noriko (横手規子) 264  
 Yomota, Chikako (四方田千佳子) 150, 230, 231, 249, 250  
 Yoshii, Kimihiko (吉井公彦) 47, 115, 116, 233  
 Yoshimatsu, Kayo (吉松嘉代) 16, 281, 282  
 Yoshioka, Sumie (吉岡澄江) 206, 226, 235  
 Yoshioka, Yasuo (吉岡靖雄) 83, 196, 224, 249, 277, 278  
 Yoshitani Takashi (吉谷隆志) 96, 234, 235, 266

## Z

- Zhan, Li (詹 立) 136, 188

## 国立医薬品食品衛生研究所報告第122号キーワード索引(アルファベット順)

## A

*a priori* probability test 179  
ABCA1 168  
ABCB1 168  
ABINIT-MP 217  
acetaldehyde 151  
acid secretion 176  
acid-stable carmine 212  
acrylamide 145, 211  
actin cytoskeleton 215  
actin 176  
active ingredient 192  
adenovirus vector 131, 194, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 224, 225  
adenovirus 176  
adhesion 154  
ADP-ribosylation factor 6 176  
affinity purification 207  
aflatoxins 140  
aggregation 129  
*Agrobacterium rhizogenes* 203  
Ah-immunoassay 146  
AhR-knockout mice 219  
Ainu 204  
air sampler 141, 210  
airborne microorganism 141  
airborne microorganisms 209, 210  
allergen 208, 212  
allergenicity 208  
allergenomics 208  
allergic contact dermatitis 138  
allergic inflammation 215  
allergic substances 147  
allergy 163  
all-gene database 218, 219  
ALOP 217  
alternating-current treatment 154  
alternative splice variants 144  
aluminum lake 47  
amino acid alteration 171, 172, 180  
aminophenylnorharman 190  
amorphous 128  
analysis 211  
angiogenesis 195, 196  
anti-allergic agent 215  
antiandrogenic effect 192  
antibody therapy 223  
anti-cancer agents 220  
antioxidant 151  
Antioxidant 158  
antitumor-promoting constituent 134

antiviral effect 135  
APA microcapsule 149  
APA(Ba) microbeads 149  
apoptosis 153, 171, 174, 175  
apple polyphenol 133  
Aristolochic Acid II 203  
arsenic species 144  
arsenic 144  
arsenicals 143  
artificial ion-channel 137  
aryl hydrocarbon receptor 146, 219  
aseptic procedure 210  
asparagine 145  
Aspirin 204  
astrocyte 178  
astrocytes 177, 178  
ataxia telangiectasia 190  
ATC classification 207  
ATM 189  
atmospheric pressure 154  
ATP 177, 178  
atrazine 182  
autumn sage 134  
aza-substitution 135, 136

## B

bacteria 154, 213  
BALB/3T3 transformation 139  
benzene 174, 175  
benzophenone derivatives 151  
benzoyl peroxide 150  
benzyl isothiocyanate 181  
bias 148  
*Bifidobacterium longum* 173  
bile acids 168  
Binding affinity 162  
Bioartificial liver 142  
biobank 191  
bioconjugation 194, 195, 223, 224  
biodistribution 199  
bioequivalence 206  
bioequivalent study 217  
Bioimaging 132  
biological plausibility 218  
biological product 210  
biologics 205  
biomaterial 210  
bio-medical research 192  
biomolecular-functional network 179  
bio-sensor 175  
BioStation 217  
biotechnology products 205

biotechnology-derived products 207  
bisphenol A 171, 223  
Bisphenol A 166  
bisphenol S 140  
bladder carcinogenesis 181  
bladder tumorigenesis 184  
BLM 189  
blood-brain barrier 162  
bone marrow niche 202  
borate 128  
brain sexual differentiation 186  
Brazilian medicinal plant 134  
breast cancer resistance protein 180  
butyl benzyl phthalate 192

## C

C60 159  
cacao liquor 184  
Caco-2 158  
caffeine 183  
Calcium 132  
calibrator 206  
*Caltha palustris* 204  
*Campylobacter jejuni* 153  
cancer formation 141  
cancer 197, 198, 200, 201, 202  
Cannabaceae 16  
*Cannabis sativa* 16  
capillary gas chromatography 147  
capsaicin 139  
carbonyl compounds 142  
carcinogenicity bioassay 172  
cardiomyocyte 132  
carrageenan 158  
carrier material 141  
carthamin 150  
*Carthamus tinctorius* 150  
Cartilage 186  
carvedilol 145  
casein kinase II peptide 163  
caspase 207  
Catechin 158  
*Catharanthus roseus* 151  
catuaba 144  
CBDA 16  
CCFH 217  
CD14 214  
CD94/NKG2A 167  
cDNA microarray 175  
cell differentiation 159  
cell fusion 197  
cell therapy 196  
cellular therapy product 205  
central nervous system 171  
*Cephaelis ipecacuanha* 203  
CES2 180  
*Chaenomeles sinensis* 134  
change in pH 128  
changes to approved NAD 192  
CHCA 132  
chemical incident 51  
chemicals 219  
chemokine 202  
chemoprevention 181, 182  
chemotherapeutic drug 150  
chlornitrofen 163  
chlorpromazine hydrochloride tablet 128  
cholangiocellular tumor 184  
cholecystokinin 138  
chromatin 219  
chromosome territory 222  
cigarette smoke 185  
cII 135, 136, 208  
c-Jun 199  
class 2 food allergy 208, 209  
clean room 210  
cloning 221  
clustering 218  
c-Myc 137  
Codex 213  
Cofilin 167, 215  
Collaboration of people in industries 128  
collaborative evaluation 155  
collagen type II 186  
colon tumor 187  
comparability 207  
Complement 149  
complexation 128  
Concerns on applying PAT in Japan 127  
concise large-scale synthesis 133  
conformational search 160  
Connexin 32 142  
Connexin43 142  
constitutive androstane receptor 144  
contamination 157  
controlled release 194, 224  
coplanar PCB 146  
*Cordia multispicata* 134  
cosmetics 26, 30  
cream 43  
cross-reactivity 208  
Crude drug analysis 207  
*Cryptococcus neoformans* 167  
Crystallization 130  
CSGMT 188  
Curcumin 151  
cuttings 16  
Cx32 knockout mice 174  
cyclooxygenase-2 inhibitor 185  
CYP1A2 gene 179  
CYP1A2 135

CYP2B6 177  
 CYP2D6 161  
 CYP3A4 162  
 CYP3A4 177  
 CYP3A5 160  
 cysteine 178  
 cytochrome P450 2E1 143  
 Cytochrome P450 176  
 cytochrome P-450 185  
 Cytomedicine 149  
 Cytoskeleton 167  
 cytoskeleton 176  
 cytotoxicity 140, 144

## D

D value 209  
*Dalbergia cochinchinensis* 133  
 dammarane-type triterpenoid 134  
 DDS 195, 205  
 deamination 189  
 Decidual cell response 131  
 decimal reduction value 141  
 de-fatted soybeans 147  
 defense-related protein 208  
 DEHP 137  
 Dehydrocorydaline nitrate 204  
 deletion mutations 190  
 density 141  
 detection 152  
 detection method 147, 148  
 developmental toxicity 192  
 dextran sodium sulfate 187  
 D-glucose 159  
 diabetes 224  
 dialysis 210  
 Dibutyltin dichloride 131  
 diesel exhaust 136  
 dietary fat 139  
 dietary supplements 203  
 differentiation 166  
 digalactosylcurcumin 151  
 digestion 162  
 digestive stability 164  
 diglucoylcurcumin 151  
 diisononyl phthalate 186  
 dioxin 56, 146  
 dioxins 146  
 dissolution test 128, 206  
 dissolution 206  
 diterpene 134, 203  
 divalent cation 135  
 DMSO 195  
 DNA adduct 136  
 DNA micro array analysis 139  
 DNA micro array 139  
 DNA microarray analysis 180

DNA microarray 208  
 DNA microarrays 180  
 DNA polymerase inhibition 202  
 DNA polymerase 189  
 DNA quantitative PCR 148  
 DNA technique authentication 207  
 DNA 217  
 DNA-cleaving activity 10  
 dogs 186  
 domestic and international issues 222  
 DON 158  
 dorsal horn 165  
 double standard 130  
 double-strand breaks (DSB) 188, 189  
*Dracocephalum komarovi* 134, 203  
*Dracocephalum kotschyi* 203  
 drug and toxic compound 51  
 drug delivery 162  
 drug interaction 218  
 drug metabolizing enzymes and transporters 219, 220  
 drug metabolizing enzymes 220  
 drug responsiveness 219  
 drug safety 218  
 drug targeting 195

## E

early stage of fungal growth 154  
 EC-coupling 132  
 ectokinase 163  
 effluent seawater 154  
 egg 147  
 EHEC O157 153  
 Electron Transfer 158  
 ELISA method 147  
 emamectin 194  
 embryo 147  
 endocrine disruptor 175  
 end-joining(EJ) 188  
 endocrine disruption effects 223  
 endocrine disruption 173, 186  
 endocrine disruptor 218  
 endotoxin 137  
 enzymatically hydrolyzed coix extract 212  
 enzyme-linked immunosorbent assay 203  
 enzymology 176  
 ephedra alkaloid 204  
*EPHX1* 161  
 epitope 209  
*Erysipelothrix rhusiopathiae* 152  
 erythropoiesis 174  
 estradiol 185  
 estriol 26  
 estrogen receptor 170  
 estrogen 173, 178  
 estrogenic activity 151

estrogens 26  
ethics 222  
ethnic difference 219  
ethylene oxide sterilization 209  
ethylnitrosourea 187  
ETT2 (*E. coli* type III secretion 2) 153  
expression 155  
extraction medium 138

## F

F value 209  
*F. solani* 157  
FAO 217  
fast food 146  
fate 157  
FDA science forum 212  
FDA 205  
fenoxaprop-ethyl 194  
ferrocyanide 150  
first-principles calculations 217  
flavonoid 203  
flora 225  
flour 150  
fluctuation Ames test 169  
fluorescent glucose 152  
fluorescent glycine 152  
fluorescent probe 207  
flux 144  
FMO-MD 171  
food additive 211  
food additives 150  
food allergen 162, 215  
food color 47  
food composites 144  
Food contamination 152  
food flavoring 211  
food hygiene 212, 213  
food microbiology 212, 213  
food safety 212, 213  
foodborne pathogen 152, 153  
foodborne pathogens 213  
formaldehyde 21, 151  
fragment molecular orbital method 170, 171, 217  
fragmentation 148  
freeze-drying 128, 129, 206  
fresh vegetable 146  
frozen vegetable 146  
FSO 217  
FUMI theory 150, 179  
function 161  
fungal 154  
Fusarenonn-X 157  
FXR 167, 168

## G

G-CSF 137  
gene disruption 221  
gene duplication 191  
gene expression 163  
gene mutation 221  
gene regulatory pathway 180  
gene therapy 194, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 224, 225  
GeneChip experiment 179  
generic drug 206, 217  
genetic polymorphisms 219, 220  
genetically modified foods 164  
genetically modified maize 148  
genetically modified papaya 147  
genetically modified potato 148  
genetically modified soybean 148  
genetically modified soybeans 147  
genistein 186, 187  
genome information 191  
genome research 191, 222  
genotoxic carcinogenesis 175  
genotoxic chemicals 172  
genotoxicity test 220  
genotoxicity 140, 220  
genotyping 161  
genus *Panaeolus* 133  
genus *Psilocybe* 133  
GFP 207  
GINC (Global Information Network on Chemicals) 170  
glass transition temperature 130  
glass transition 128, 129  
glia-to-synapse 178  
gliotransmission 178  
glucocorticoid receptor 161  
Glucosylation 151  
Glycoconjugates 132  
glycolysis 174  
glycosylation 214  
glycosylcurcuminoid 151  
GMP 192, 207  
good agricultural practice 207  
Good Manufacturing Practices(GMP) 131  
*gpt* delta transgenic mouse 190  
*gpt* delta 221  
*gpt*-delta transgenic mice 190  
green leafy vegetable 146  
green tea 184  
growth hormone 219  
growth 157  
guidance 169  
guideline 188, 205, 213  
Guideline 206  
GUS assay 147  
Gymnema Sylvestre leaf extract 173

## H

hair 134  
 hamster 185  
 haplotype 160, 162, 168  
 HDL 168  
 health food 173  
 health hazard information 209  
 health hazard 209  
 helical screw sense 160  
 Helsinki declaration 222  
 hematopoiesis 188  
 hematopoietic cell 200, 202  
 hematopoietic stem cells 202  
 hematotoxicity. 175  
 hemopoiesis 174, 219  
 Hep G2 142  
 hepatocarcinogenesis 184  
 HepG2 cells 139  
 heterocyclic amine 135  
 high throughput genotoxicity screening 169  
 High-resolution ICP-MS 148  
 hinokitiol 192  
 hippocampus 177  
 histone deacetylase 219  
 HIV 152  
 HL-60 166  
 HLA-E 167  
 H-NS 153  
 homologous recombination 138  
 hospital food 193  
 host defense 158  
 host resistance 158  
 household biocide-like product 209  
 household product 209  
 How to promote PAT in Japan 127  
 HPLC analysis 130  
 HPLC 148, 150, 194  
 HPLC-fluorescence 134  
 HPV program 37  
 human antibody 141  
 human experimentation 222  
 human health 218  
 human liver microsome 177  
 human neutrophils 136  
 human nicotinic receptor 179  
 human tissue 220, 222  
 humanity 192  
 humanized system 220  
 hydrocarbon detection method 147  
 Hydrogel 206  
 Hydrogen peroxide 189  
 hydrogen peroxide plasma sterilization 209  
 hyphenated technique 207

## I

ICH 205, 206, 207, 215  
 ICMSF 217  
 IgG 162  
 IL-6 165  
 immuno-chemistry 212  
 immunohistochemistry 164  
 implementation 215  
 Impurity in drug products 127  
 impurity profile 192  
 in vitro micronucleus 170  
 indoor environment 154  
 infection factor 210  
 infection 157  
 infectivity PCR 131  
 Information exchange 170  
 infrastructure 222  
 inhaled allergen 215  
 inhibitory receptor 167  
 initiator 208  
 injured bacteria 210  
 insulin 198  
 Integration method 148  
 inter-allelic recombination 188  
 interferon- $\beta$  197  
 Inter-Laboratory Evaluation Studies 147  
 interleukin-2 141  
 interleukin-4 141  
 internal standard 150  
 international standardization 211  
 interphase cell nucleus 222  
 Intestinal flora 173  
 intestine 135  
 Intrauterine position 173  
 ion-trap GC/MS/MS 193  
 IPCS (International Program on Chemical Safety) 170  
 ipecac 203  
 irinotecan 168  
 irradiated food detection 147  
 irradiated foods 211, 212  
 irradiation 151  
 isothiocyanates 181  
 Issues to be solved in Japan 128  
 IWGT meeting 221  
 IWGT workshop 170  
 IWGT 220

## J

J774.1 cells 158  
 Japanese Pharmaceutical Affairs Act 26, 30, 43  
 Japanese Pharmacopoeia 132, 150, 193, 204  
 Japanese 160, 161, 179  
 JB6 mouse epidermal cell 134

## K

Kampo medicine 207  
kinetic analysis 143  
kojic acid 187

## L

laboratory-performance study 148  
Lactic acid bacteria 152, 213  
Lactococcus lactis 152  
Lactose 132  
LAL test 137  
LAN 34  
large deletion 189, 190  
large scale cohort study 191  
LC/ESI-MS 145  
LC/MS 145, 194  
Legionella spp 210  
lentivirus vector 198  
Level up of quality assurance for pharmaceuticals 128  
L-glutamate transporter 178  
ligand binding 171  
ligand sensor assay 167  
ligand 168  
linkage disequilibrium 162  
lipopolysaccharide 155, 214  
*Listeria monocytogenes* 152, 213  
listeriosis 213  
liver tumor 187  
liver 186, 190  
local anesthetics 30  
loss of heterozygosity (LOH) 188  
lotion 43  
low amperage electric current 154  
low temperature NMR 133  
L-plastin 136  
LPS 158  
lung carcinogenesis 184  
lung metastasis 197  
lymphocytes 153  
lyophilized formulation 130

## M

macrophage 158  
made in JEMS 221  
magic mushroom 133  
MALDI 132  
mammary carcinogenesis 182  
mammary tumor 186, 187  
manufacturing 210, 211  
mass spectrometric detection 147  
Mast cells 162  
mast cells 163  
matrix 193

matrix-matched calibration 194  
MC3T3-E1 cells 139  
MD-2 214  
MDMA 134  
MDR1 158  
mechanical allodynia 165  
medical practice 192  
medical research 222  
medical-use polymer 209  
medicinal plants 207  
MeIQx 190  
mercaptobenzothiazole-type accelerator 138  
Mesp2 175  
metabolic activation 161  
metabolism 145, 219  
metagene models 180  
method validation 137  
Methoxychlor 186  
mexiletine 161  
mGluR1  $\alpha$  155  
MHC class I 167  
mice 157  
microarray experiment 179  
microbiological contamination 213  
microcystin-LR (MCLR) 188  
microglia 164, 165, 166  
micronucleus 188  
Microsatellite instability 189  
microwave-induced argon plasma 154  
migration 21  
minor change 192  
mitogen-activated protein kinases 165  
molecular dynamics simulation 130  
molecular dynamics 171  
molecular mobility 129, 130  
monobenzyl phthalate 192  
Monte Carlo method 160  
morbidity of human tissues 222  
mouse lymphoma assay (MLA) 188  
mouse 184, 187  
multi-layer silica gel column 146  
mushroom 182  
mutagenicity 169  
mutant 221  
mutation assay 221  
mutation research 208  
mutation spectrum 136, 190, 208  
mycotoxin 212

## N

NaCl-resistance 153  
NADPH oxidase 136  
natural food additive 211  
nature of scientific research 222  
neoquassin 151



neuron-to-astrocyte communication 177  
 neuropathic pain 164, 165  
 neuroprotection 165, 166  
 Neutrophil 166  
 new method 211  
 new topic 215  
 newborn rats 172  
 NIHS-NET 34  
 Nitroazaphenanthrenes 159  
 Nitro-orientation 159  
 nivalenol 153  
 Nivalenol 157  
 NK cell 167  
 NMDA 165  
 NMR 129  
*N*-nitrosourea 10  
 NO-donor 10  
 nomenclature 186  
 non-genomic actions 179  
 nonsynonymous single nucleotide polymorphism 179  
 normal human epidermal keratinocytes 143  
 nosocomial infection 209, 210  
 Notch signaling 175  
 novel SNP 171, 180  
 NR112 (PXR/SXR) 172  
 NR113 (CAR) 171

## O

OECD 37  
 official inspection 47  
 oncostatin M (OSM) 174  
 oral sensitization 163  
 oral vaccine 152  
 OSM receptor knockout mouse 174  
 osteoblast differentiation 139  
 Osteoblasts 142  
 OTC drug 207  
 Ovalbumin 147  
 oxidative stress 153, 184  
 oxytocin injection 193  
 oxytocin 193  
 Oyster 156  
 ozone gas sterilization 141

## P

P2X receptor 178  
 P2X2+3 165  
 P2X3 165  
 P2X4 164  
 P2Y1 164  
 P2Y12 164  
 P2Y2 receptors 177  
 p53 knockout mice 175  
 p53 KO mice 172

p70 S6 kinase 137  
 pain 164  
 pan-allergen 209  
 pancreas 182  
 pancreatic carcinogenesis 185  
*Papaver* 204  
 paprika color 183  
 parietal cell 176  
 parliamentary control 191  
 patent 222  
 pathogenic bacteria 156  
 PC12 165  
 PCR 135, 147, 148, 156  
 PDG 150  
 PEGylation 149, 194, 196, 224  
 pentachlorophenol 184  
 peptide thioester 138  
 peptide  $\alpha$  159  
 peptidoglycan 155  
 percutaneous absorption 144  
 Permeability 149  
 permeability 150  
 Peroxyl Radical 158  
 pesticide 193, 194  
 PFGE 156  
 P-glycoprotein 158  
 pH 157  
 phage display system 149, 196, 223, 224  
 phagocyte 215  
 Pharmaceutical Affair Law 131, 207  
 Pharmaceutical Development 206  
 Pharmaceutical 206  
 pharmacogenetics 218  
 phase II drug metabolizing enzymes 219  
 phenobarbital-responsible enhancer module 144  
 phenolics 133  
 phenotype-independent toxicology 219  
 phenylethanoid glucoside 202  
 phenylpyridyl-*N*-nitrosamine 10  
 photoaffinity labeling 159  
 photocatalyst 209  
 photoexcited fullerene 133  
 phthalate 193  
 phytoestrogen 179  
 Planar Catechin 158  
 plasticizer 150, 193  
 plastics 219  
 Plastid DNA 204  
 PLLA 139  
 pneumotoxicity 174  
 poisoning 51  
 poliovirus 135  
 poly(L-lactide) 139  
 polyethylene terephthalate (PET) 151  
 polyethyleneimine 135  
 Polymer 149

polymer 151  
 Polyozellus multiplex 182  
 polyunsaturated fatty acid 139  
 polyurethane 141  
 polyvinyl chloride 150  
 posterior pituitary hormone 193  
 Postnatal growth 173  
 post-sequence era 222  
 PPARgamma 198  
 precision 148  
 preclinical evaluation 210  
 predictor gene 208  
 preparative LC/MS 150  
 preservative 43  
 personally imported dietary supplement 204  
 preventive measure 209  
 proanthocyanidin 184  
 process analytical technology (PAT) 127  
 Process analytical technology (PAT) 127  
 processed food 148, 211  
 processing 21  
 procyanidin tetramer 133  
 product information delivery system 209  
 production mechanism 211  
 production 47  
 proficiency test 193  
 proliferation 156  
 prolonged cell proliferation 127  
 promoter 201  
 Protecting American's Health 212  
 protein allergenicity 164  
 Protein binding 176  
 protein engineering 196, 223, 224  
 protein formulation 129, 206  
 protein therapy 195, 224  
 protein 132  
 Protein 206  
 protein-ligand interaction 137  
 proteome 224  
 proteomics 208, 224  
 proteomix 223  
 protocol 170  
 prussian blue reaction 150  
 pseudogene 191  
 psilocybin 133  
 PU.1 166  
 pulsed-light sterilization 209  
 PVC products 137  
 pyrosequencing 161

**Q**

Quality Assurance 131  
 Quality control of pharmaceuticals 127  
 quality evaluation 203, 204  
 quality risk management 130

Quality Risk Management 206  
 quality 205, 215  
*Quassia excelsa* SW 151  
 quassin 151

**R**

radiation mutagenesis 190  
 radiation resistance 209  
 rapid analytical method 51  
 rash2 mouse 187  
 rat liver 185  
 rat uterus 173  
 Rat 131  
 rat 181, 182, 183, 185, 186, 187, 188  
 RBL-2H3 cells 163  
 Rb-null mouse embryo fibroblast 180  
 real-time PCR method 147  
 recombinant DNA organisms 213  
 recombinant DNA 147, 152  
 recombination 221  
 reference standard 193  
 regulation 200, 210  
 regulatory pathway 180  
 Regulatory protein 149  
 regulatory sides and academies 128  
 Relaxation time 130  
 relaxed evolution 191  
 Release rate 206  
 renal targeting 195, 224  
 repair 210  
 replication-competent adenovirus 131  
 reproductive and developmental toxicity 56  
 reproductive system 186  
 research ethics 223  
 research policy 223  
 retinoids 208  
 Revision of ICH Guideline Q3B 127  
 Revision of rounding rule 127  
 Rho 176  
 ribonucleotide reductase 138  
 risk assessment 137, 208, 212, 213, 220, 223  
 risk 144  
 rodent 163  
*rpl16-rpl14* spacer region 204  
 rRNA large subunit 133  
 rubber knee belt 138  
 rubber 138

**S**

*Saccharomyces cerevisiae* 155  
 safety 210  
 Salmonella infection 158  
*Salmonella* mutagenicity 159  
*Salmonella* Oranienburg 153

salt 150  
*Salvia greggii* 134  
 salvigresin 134  
 sanitation standard operating program 213  
 SARS 215  
 SARS-CoV 215  
 SCDALP culture medium 210  
 SCID 157  
 science 192  
 screening 190, 193  
 SDF-1 202  
 seafood 156  
 seawater 154  
 security audit 34  
 seed 157  
 senescence 142  
 sensitization potency 138  
 serum 148, 176  
 server machines 34  
 sesamin 139  
 sex 188  
 Sexual maturation 173  
 shea nut color 183  
*Shigella sonnei* 155, 156  
 SIAM 37  
 SIDS Initial Assessment Meeting 37  
 signal transduction 143  
 silk fibroin 132  
 simulated gastric fluid 162  
 SINET 34  
 single nucleotide polymorphism 143, 160, 161  
 singlet oxygen 133  
 sister chromatid exchange 138  
 site-directed mutagenesis 178  
 skin-sensory interaction 177  
 SN-38 glucuronidation 143  
 SNP 172  
 sodium benzoate 43  
 somitogenesis 175  
*Sophora flavescens* 203  
 SOS/umu assay 169  
 Southern blot hybridization 189, 190  
 soybean casein digest agar 141  
 soybean paste 140  
 species differences 220  
 Spi- mutant assay 189  
 spiro lactone 134  
 sprout 157  
 SQOOH 144  
 ssafety 211  
 Stability 130, 206  
 stabilization 129, 206  
 stable isotope labeling 207  
 standard for chromatographic identification and quantification 203  
 starch 204

stereoisomerism 142  
 sterilization 140, 154, 209  
 stomach cancer 182  
 storage temperature 155  
 strain construction 221  
 strategies for countering terrorism 212  
 strategy 220  
 subchronic toxicity 183  
 sulfated hyaluronan 142  
 sulfated peptide 138  
*Sulfolobus solfataricus* 189  
 Sulfonylurea herbicides 145  
 superoxide anion radical 133  
 superoxide 166  
 Surface plasmon resonance 167  
 surface plasmon resonance 175  
 surveillance 213  
 synthetic peptide 137  
 synthetic retinoid 181

## T

T cell development 202  
 Tanegashima 225  
 TaqMan PCR 133  
 tar color 47  
 targeting 199  
 TDH 156  
 telomere integrity 127  
 telomere repeat binding factor 127  
 telomere shortening 142  
 tenryocha extract 212  
 testosterone 5 $\alpha$ -reductase inhibition 133  
 tetrabromobisphenol A 172  
 tetracaine hydrochloride 30  
 textile 21  
 TGF- $\beta$  142  
 THCA 16  
 the 210 Kampo formulations 207  
 Three-dimensional skin 144  
 threshold and nonthreshold 175  
 thymidine kinase (TK) gene mutation 188  
 thyroid carcinogenesis 182, 183  
 thyroid tumorigenesis 185  
 Thyroxine 203  
 tissue engineered medical product 210, 211  
 TNF 166  
 TOF MS 132  
 Tofu 148  
 tolerable daily intake 56  
 Toll-like receptor 2 155  
 Toll-like receptor 4 214  
 TonB 189  
 topical drug 217  
 total alkaloids 132  
 total diet 144

toxicogenomics 218, 219  
 toy 150  
 tracheloside 182  
 transactivator of transcription 162  
 Transferrin 148  
 transgene mutation 187  
 transgenic mouse mutation assay 208  
 transgenic mouse 221  
 transgenic rodent 221  
 transient receptor potential V1 164  
 tributyltin 158  
 tripartite synapse 178  
 Triphenyltin 166  
 trypanocidal activity 134, 203  
*Trypanosoma cruzi* 134  
 tubewell water 144  
 tumor endothelial cell 150  
 tumor killing 167  
 tumor necrosis factor-alpha 149, 150  
 tumor necrosis factor- $\alpha$  165  
 tumor targeting 194  
 tumor vascular targeting 223

## U

U-937 cell line 158  
 UDP-glucuronosyltransferase 1A9 143  
 UGT 145  
*UGT1A1* 161  
*UGT1A9* 160  
 UK COM 169  
 Ulcerative colitis 173  
 Uncaria Thorn 132  
 unexpected nephrotoxicity 172  
 upper and lower airways 215  
 Urea herbicides 145  
 urinary bladder 181  
 urine 144  
 US congress reports 211  
 uterotrophic 173  
 UV sterilization 210

## V

Vaccine 152  
 vaccine 152  
 validation 206, 210  
 Vanadium 148  
 variants 161  
 vegetable constituent 146  
 vegetable 146  
 vegetables 156  
 verapamil 168  
*Verbascum songaricum* 202  
*Vibrio parahaemolyticus* 154  
 vibrio 156, 157

Virus 135  
 virus 135  
 vitamin D 159

## W

Water for pharmaceutical use 150  
 web system 51  
 WHO 217  
 wild plant 225  
 workshop 188

## X

Xenobiotic 158

## Y

Yeast two-hybrid assay 151

## Z

Z value 209

@psilocin 133  
 1,4-dioxane 144  
 1'-acetoxychavicol acetate 181  
 2,4-dinitrophenylhydrazones derivatives 142  
 2-mercaptoethane sulfonate 184  
 310-helical 159  
 310-helix 160  
 3D-FISH (three dimensional-fluorescence in situ hybridization)  
 222  
 3-nitrobenzanthrone 136  
 3-year-old children 215  
 4-chloro-4'-hydroxy diphenyl sulfone 140  
 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide 182  
 52-week toxicity study 173  
 6-phenylhexyl isothiocyanate 184  
 8-ketotrichothecens 158  
 $\alpha$  160  
 $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid 160  
 $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -Amino Acids 159  
 $\beta$ -thujaplicin 192  
 $\Delta$  5 desaturase mRNA 139  
 アレルギー 214  
 グリア - ニューロン関連 177  
 ソフトコンタクトレンズ 154  
 タンパク質 - 化学物質相互作用解析 217  
 トキシコロジー 218  
 バイオ医薬品のコンパラビリティ 205  
 バイオ医薬品開発 205  
 バイオ医薬品評価 205  
 バイオ創薬 205  
 ファージ表面提示法 196

リスク 217  
レギュラトリーサイエンス 217  
安全性試験法 176  
安全性評価 214  
遺伝子治療 205  
疫学情報 217  
汚染 214  
化学物質 221  
化学物質安全性情報 217  
化粧品 176  
加齢 218  
家庭環境 213  
環境変異原研究 221  
機能性人口蛋白質 196  
居住環境 214  
計測 214  
建築環境 214  
国際調和 205  
疾患関連タンパク質解析 205  
住環境 214  
真菌 154, 214  
真菌アレルゲン 214  
人獣共通真菌症 213  
生体異物応答 218  
生物特性 214  
創薬 205  
蛋白療法 196  
低真空走査電子顕微鏡 154  
動物実験代替法 176  
微生物 214  
微生物汚染 213  
微生物学的リスクアセスメント 217  
防菌防黴 213

# 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で行った研究業務とする。
2. 種類：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。その他、必要に応じて編集委員会で認められたもの。
  - 特論：国立医薬品食品衛生研究所の研究業務に関連する主題について、ある特定の視点から系統的に整理・論述したもので、編集委員会が執筆を依頼する。
  - 総説：数年以上にわたって行われた著者自身の研究や調査を中心にして、特定の主題について包括的・系統的に総括したもので、投稿により受理する。
  - 研究論文：新見地を含むか、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。
  - ノート：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。
  - 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（ダブルスペースで日本語；26字×24行 英語；55字程度×24行）を用いる。原稿の長さは表、図、写真を含め刷り上がりページ数で下記の規定に従う（日本語及び英語の本文は、刷り上り1ページはA4用紙約4枚に相当する。また、表、図、写真は、約2枚が刷り上り1ページに相当する）
  - 特論：原稿を依頼するとき別に定める。
  - 総説：刷り上がり15ページ以内。
  - 研究論文：刷り上がり8ページ以内。
  - ノート及び資料：刷り上がり5ページ以内。
  - ステートメント：刷り上がり2ページ以内。
  - 業務報告：各部及び各薬用植物栽培試験場について刷り上がり2ページ以内。
  - 誌上发表：一題目についてダブルスペースで、日本語；26字×24行以内、英語；55字程度×24行以内。これを目安とする。
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、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。特論、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（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。
6. 著作権：本誌に掲載された論文等の著作権は、当研究所に帰属するものとする。

## 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かな用例集に従う。[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…）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\*<sup>1</sup>・東京子\*<sup>2</sup>  
Studies on the Identification of Drugs II  
Chromatographic Methods for the Analgesics  
Mamoru Yoga<sup>#</sup>, Ichiro Seta\*<sup>1</sup> and Kyoko Azuma\*<sup>2</sup>
 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400 words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。

8.6 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。（原則として、アルファベット、数字は、半角にしてください。）

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)

5) 齋藤博幸, 岩田美保, 北島 文, 谷本 剛, 岡敏史, 鎌倉浩之, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 横田洋一, 津野敏紀, 鈴木英世, 山岸恭子, 白砂勝也, 岩嶋 浄, 松浦敬一: *医薬品研究* 29, 725-729 (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、説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する）。

例：Fig.1. Influence of enzyme concentration on reductive suger production

図中の文章は、原則として英語で書き、明朝タイプの書体（70%縮小されたときにも読みやすい大きさの文字）を使用する。図に写真（カラー写真可）を用いる場合には、鮮明なものを使用する。用紙の裏には、論文のタイトル、著者名、図番号及び刷り上がり段数（一段又は二段）を黒鉛筆で記入する。また、本文の左側の空欄に図の挿入位置を記入する。

8.8 表：表 (Table) は、本文とは別に各々一つずつをA4用紙の上に作成する。表の作成に際しては刷り上がり一段（幅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「.」を付けない。また、説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する）。

例：Table 1. Classical transgenic mice and carcinogenicity

表中の文章は、原則として英語で書き、表中の項目に関する注は項目の右肩に<sup>a)</sup>, <sup>b)</sup>, .. 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くて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。表の中に構造式や数式が含まれていたり表の構成が複雑な場合には、そのまま掲載できるような原稿が提出されるのが好ましい。



用紙の裏には、論文のタイトル、著者名及び刷り上がり段数（一段又は二段）を黒鉛筆で記入する（活字の版組をしないでそのまま掲載されることを希望する場合には、その旨も書き加える）。また、本文の左側の空欄に表の挿入位置を記入する。

9. ステートメントの執筆上の注意：投稿内容が、レギュラトリーサイエンス関連学会などで既に発表したものである場合には、脚注に例として「本ステートメントは、日本薬学会第120回レギュラトリーサイエンス討論会（2000.3, 岐阜）にて発表した内容をまとめたものである」との説明を加える。
10. 誌上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16年4月30日

国立医薬品食品衛生研究所図書委員会

国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き(用語例)

注: 送りがなについて\_アンダーラインは注意して送るもの、□印は送らないもの。

\* 印は特定のもの指すときは漢字でよいもの。

分類	用語	使う字	使わない字 備考	分類	用語	使う字	使わない字 備考
ア	あかるい	明 <sup>る</sup> い	明い	カ	おそらく	恐らく	
	あきらかに	明 <sup>ら</sup> かに	明かに		おそれ	おそれ	恐れ、畏れ
	あげる	上 <sup>げ</sup> る	上る		おだやかに	穏やかに	おだやかに
	あたためる	一 <sup>加</sup> 温する			おとし	落とし	落とし
	あたる	当 <sup>た</sup> る	当る		おのおの	各々	おのおの
	あたらしい	新 <sup>し</sup> い	新 <sup>し</sup> い		おのずから	おのずから	自ら
	あてる	当 <sup>て</sup> る	当る		おびる	帯びる	
	あつかう	扱 <sup>う</sup>	扱 <sup>か</sup> う		おもな	主な	おもな
	あつめる	集 <sup>め</sup> る	集る		およそ	およそ	凡そ
	あらかじめ	あらかじめ	予め		および	及び	
あらたに	新 <sup>た</sup> に	新 <sup>た</sup> に	終わる	終 <sup>わ</sup> る	終る		
あらためる	改 <sup>め</sup> る		かえず	返す	返 <sup>え</sup> す		
あらわす	表(現)す	表(現)わす 表→表面に出し 示す。著わす 現→かくさずに 示す	表→表面に出し 示す。著わす 現→かくさずに 示す	かえって	かえって	却て	
				かかわらず	かかわらず	拘らず	
				かける	欠ける	欠る	
				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 <sup>ず</sup>	
	あわ	あわ	泡	かねる	兼ねる	兼る	
	あわす	合 <sup>わ</sup> 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 <sup>わ</sup> る	代る (代理・代人など)	
	いずれ	いずれ	何れ	かわる	変 <sup>わ</sup> る	変る(うつりかわ る, 変化)	
	いちじるしい	著 <sup>し</sup> い	著 <sup>し</sup> い	カ月	カ月	箇月	
	いっかねん	一 <sup>カ</sup> 年	1箇年, 一ケ年	10カ所	10カ所	10箇所	
	いっそう	一 <sup>層</sup>	いっそう				
	いったん	一 <sup>端</sup>	いったん				
	いって	いって	行 <sup>っ</sup> て				
	いる	いる	居る	キ	きしゃく	希釈	
	いる	入る	入る	きめる	決 <sup>め</sup> る	決る	
いれる	入 <sup>れ</sup> る	入る	きりあげ	切 <sup>上</sup> げ	切りあげ		
いわゆる	い <sup>わ</sup> ゆる	所請	きわめて	極 <sup>め</sup> て	きわめて		
ウ	うしなう	失 <sup>う</sup>		ク	くふう	工夫	
	うすい(物)	薄 <sup>い</sup>	薄 <sup>す</sup> い	くらい(助詞)	くらい	位	
	うすい(色)	うすい		くらべる	比 <sup>べ</sup> る	比る	
	うすめる	一 <sup>希</sup> 釈する	薄める	くりかえす	繰 <sup>り</sup> 返す	繰返 <sup>え</sup> す	
	うちに	う <sup>ち</sup> に	内に, 中に	くみあわせ	組 <sup>合</sup> せ(名詞)		
	うながす	促 <sup>す</sup>	促 <sup>か</sup> す		組 <sup>み</sup> 合せ(動詞)		
	うる	うる	得る(can or may)				
			一 <sup>え</sup> る				
	うるおす	潤 <sup>す</sup>	潤 <sup>お</sup> す	ケ	けんたく	懸濁	
						けんたく	
エ	えがく	描 <sup>く</sup>	画 <sup>く</sup>	コ	こえる	超 <sup>え</sup> る	
	えらぶ	選 <sup>ぶ</sup>		こげる	焦 <sup>げ</sup> る	焦る	
	える	得 <sup>る</sup>	(get)→うる	ここ	ここ	此処	
オ	おいて	お <sup>い</sup> て	於 <sup>い</sup> て	こころみる	試 <sup>み</sup> る	試る	
	おおう	覆 <sup>う</sup>	被 <sup>う</sup>	こたえ	答 <sup>え</sup>	答(表中)	
	おおきい	大 <sup>き</sup> い	大い	こたえる	こたえる	応 <sup>え</sup> る	
	おおむね	お <sup>お</sup> むね	概 <sup>ね</sup>	こと	こ <sup>と</sup>	事*	
	おこなう	行 <sup>う</sup>	行 <sup>な</sup> う	こと	こ <sup>と</sup>	毎	
	おこる	起 <sup>こ</sup> る	起 <sup>る</sup>	ことなる	異 <sup>な</sup> る	異なる	
				ことに	殊 <sup>に</sup>		
				この	この	此の	

分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考	分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考
コ	こまかい (洗い)こむ これ これら	細かい (洗い)込む これ これら	細い  之 此等, これ等	タ	たとえば ために	例えば ために	たとえば 為に
サ	さきに さける さげる さしこむ さしつかえない さまざま さら さらに	先に 避ける 下げる さし込む 差し支えない 様々 皿 更に	さきに 避る 下る 挿し込む(挿入) 差支えない  さら	チ	ちいさい ちかづく ちようど ちよつと	小さい 近づく ちようど ちよつと	小さい 近づく, 近づく 丁度 一寸
シ	しかし しがたい しげき したがう したがって  したのち(に) しばしば しぶい しまう しめす しめる しゃこう しやすい しゅうまつてん じゅうぶん しょうじる じょうりゆう じよじよに しらべる	しかし し難い 刺激 従う したがって(接続詞) 従って(動詞) したのち(に) しばしば 渋い しまう 示す 湿る 遮光 しやすい →終点 充分, 十分 生ずる 蒸溜 徐々に 調べる	然し, 併し, 而し  刺戟 したがう  屢々 しぶい 終う, 了う  湿める しゃ光 し易い, 仕易い 終末点 じゅうぶん 生ずる 蒸溜  調る	ツ	ついて ついで づつ つぎに つくる つける つめる つねに	ついて 次いで づつ 次に 作る 付ける 詰める 常に	就いて, 付いて  宛 つぎに
ス	すくない ずつ すてる すでに すなわち すべて すみやかに	少ない ずつ 捨てる 既に すなわち すべて 速やかに	少い 宛 捨る すでに 即ち 総て, 凡て, 全て すみやかに	テ	ていする できる	呈する できる	出来る
セ	せん せんじょう	栓 洗淨	せん, セン 洗蓑	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 <sup>う</sup>
ソ	そう そうにゆう そこ その そのほか それぞれ	沿う 挿入 そこ その そのほか それぞれ	そう入 其処 其の 其の他 夫々	ナ	ないし なお なかば ながら なづける など ならびに なるべく	ないし なお 半ば ながら 名付ける など 並びに なるべく	乃至 尚 中ば 乍ら 名づける 等  成べく, 成る可く
タ	だいたい たいてい たえず たがいに たしかめる だす ただ ただし ただちに	大体 大抵 絶えず 互いに 確かめる だす ただ ただし 直ちに	だいたい たいてい 絶えず たがいに 確める 出す 唯, 只 但し 直に	ニ	にかわじょう にごる にそう にゆうばち	にかわ状 濁る 二層 乳鉢	膠状 2層 乳ばち
				ヌ	ぬぐう ぬらす	ぬぐう ぬらす	拭う 濡らす
				ネ	ねんちゆう	粘稠	
				ノ	のぞく のちに のべる のり	除く 後に 述べる のり	のちに 述る 糊
				ハ	はかり はかる  はじめて はじめの はじめる	はかり 量る  初めて 初めの 始める	秤 測る, 計る→当用 漢字  初て

分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考	分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考
ハ	はやい	速い		ヨ	よい	よい	好い, 良い
ヒ	ひとしい ひとつ ひとつづつ	等しい 一つ 一つずつ			よいいに ようす ようだ(に) ようやく ようゆう よほど よる より	容易に 様子 ようだ(に) ようやく 一融解 よほど よる 比較するときに用いる. 例: ○○より△△が大きい	ようす 様だ(に) 漸く 熔融 余程 依る, 因る
フ	ふきん ふくざつ ふたたび ふりまぜる ふれる	付近 複雑 再び 振り混ぜる 触れる	附近  振混ぜる 触る	ラ	ら	ら	等
ホ	ほか ほど ほとんど ほぼ	ほか ほど ほとんど ほぼ	他, 外 程 殆んど 略々, 略ぼ	リ	りゅうぶん りんぱ	留分 リンパ	溜分 淋巴, りんぱ
マ	ますます まぜあわせ  まぜる また または まだ まったく まで まま	ますます 混合せ(名詞) 混ぜ合せ(動詞) 混ぜる また 又は まだ 全く まで まま	益々  混る 又, 亦, 復  未だ  迄 俛	ロ	ろう ろうと ろかする	ろう 漏斗 ろ過する	輟(正名はロウ)
ミ	みたす みとめる みなす	満たす 認める みなす	満す, 充たす 認る 見なす, 見做す	ワ	わかる わかる わずかに わたって	わかる 分ける わずかに わたって	分る, 判る, 解る 分る 僅かに 互って
ム	むしろ むずかしい むすぶ	むしろ 難しい 結ぶ	寧ろ 六ヶ敷しい 結すぶ				
メ	めずらしい	珍しい	珍しい				
モ	もうしこみ  もえる もし もしくは もちいる もちろん もって もつとも もつぱら もどす もとに もとづく もの もる	申し込み (申込み, 申込) 燃える もし 若しくは 用いる もちろん もって 最も 専ら 戻す(もどす) 下に 基づく もの 漏る	燃る 若し  用る 勿論 以て  もつぱら  許に 基く 物*, 者*				
ヤ	やすい やはり やむをえず やや やわらかい	やすい やはり やむを得ず やや 柔らかない	易い 矢張り 止むを得ず 稍々 柔い, 軟かい				
ユ	ゆえ ゆく	ゆえ 行く	故				

## 国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き(単位, 記号, 略号)

### 1. SI基本単位の名称と記号

量	単位の名称	単位記号	量	単位の名称	単位記号
長さ	メートル	m	熱力学温度	ケルビン	K
質量	キログラム	kg	物質質量	モル	mol
時間	秒	s	光度	カンデラ	cd
電流	アンペア	A			

従来用いられてきた重量はほぼ質量に置き換えられるが、当面は用語を併用できる。

### 2. SI接頭語

SI単位の10の整数乗倍を表すために、SI接頭語が使われる。それらの名称と記号は次のとおりである。

倍数	接頭語	記号	倍数	接頭語	記号
10	デカ(deca)	da	$10^{-1}$	デシ(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)	$\mu$
$10^9$	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 $\mu$ 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 $\mu$ 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	$\Omega$
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	$\alpha$	静脈投与	i.v.	施光分散	ORD
吸光度	$A$	腹腔投与	i.p.	円偏光二色性	CD
水素イオン指数	pH	皮下投与	s.c.	マスペクトル	MS
pK値	pK	筋肉投与	i.m.		

平成16年度図書委員

早川 堯夫 森川 馨 \*合田 幸広 \*宮崎 玉樹  
原 園 景 \*江崎 勝司 \*佐藤 陽治 \*五十嵐 良明  
西村 哲治 \*宮原 誠 \*秋山 卓美 岡田 由美子  
宮原 美知子 福原 潔 \*斎藤 嘉朗 \*佐井 君江  
中野 達也 齋藤 充生 関田 清司 小泉 修一  
\*今井 俊夫 山田 雅巳 \*鎌田 栄一 \*谷本 剛  
飯田 修 \*大橋 正広 (\*印は編集委員)

国立医薬品食品衛生研究所報告 第122号

平成16年10月21日 印刷

平成16年10月28日 発行

発行所 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部  
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