

ISSN 1343-4292
CODEN : KISHFC

国立医薬品食品衛生研究所報告

平成 21 年

Bulletin of
National Institute of
Health Sciences

No.127 2009



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 21 年

Bulletin of
National Institute of
Health Sciences

No.127 2009

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 127 号第一部

特論

- 重篤副作用の発症と関連する遺伝子マーカーの探索研究 鹿庭なほ子, 長谷川隆一 1
- 産業用ナノマテリアルの健康影響評価法開発における課題と慢性影響研究の重要性
..... 広瀬明彦, 西村哲治, 菅野 純 15

研究論文

- 抗マウスプリオンペプチドファーザー本鎖抗体の反応性
..... 蜂須賀暁子, 児矢野聡, 菊池 裕, 中島 治, 青笹正義, 松田治男, 澤田純一, 手島玲子 26
- 国内外におけるヒスタミン食中毒 登田美桜, 山本 都, 畝山智香子, 森川 馨 31

ノート

- V79 細胞および正常ヒトアストロサイトに対するフラーレンとカーボンナノチューブおよびその誘導体の細胞毒性
..... 山田貴史, 鄭 連淑, 土屋利江, 松岡厚子 39
- アレルギーデータベース Allergen Database for Food Safety (ADFS) のデータ改訂とアレルギー性予測ツールの信頼性評価
..... 中村亮介, 中村里香, 手島玲子 44
- 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中の防腐剤クロルフェネシンの定量
..... 五十嵐良明, 宮澤法政, 島村公雄, 佐藤信夫, 吉沢賢一, 林 正人, 高野勝弘,
宮本道子, 小島 尚, 坂口 洋, 藤井まき子 50
- アトピー性皮膚炎への効果をうたう化粧品のステロイド配合に関する一斉収去検査:
プロピオン酸クロベタゾールの検出
..... 五十嵐良明, 瀧田葉子, 内野 正, 西村哲治 54
- 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: 塩化ストロンチウム
..... 内野 正, 五十嵐良明, 西村哲治 62
- 高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法による生物試料中フラーレンの分析法の開発
..... 久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 杉本直樹, 広瀬明彦, 西村哲治 65

研究に関する資料

- 家庭用品に使用される化学物質による重大製品事故 (平成 19 年度及び 20 年度) 伊佐間和郎 69
- 日本, および諸外国における鶏卵・液卵の *Salmonella* 汚染状況 (文献調査) 鈴木穂高, 山本茂貴 74
- わが国及び各国における畜水産食品中の残留動物用医薬品の検出状況について
..... 山本 都, 登田美桜, 杉田たき子, 田中敬子, 畝山智香子, 森川 馨 84

特別研究報告

- 発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関する研究 (平成 18 ~ 20 年度) 93

国立医薬品食品衛生研究所報告第 127 号第二部

業務報告	107
平成 20 年度所外研究員等の受け入れ名簿	172
誌上発表（原著論文）	176
誌上発表（総説・解説等）	277
単行本	300
行政報告	303
学会発表	309
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	379
各審議会、委員会等について	392
専門分野を生かした職務関連の社会貢献等について	398
特別講演会	407
平成 20 年度に行なった主な研究課題	408
製品検査等の処理状況	419
国立医薬品食品衛生研究所報告第 127 号人名索引	421
国立医薬品食品衛生研究所報告第 127 号キーワード索引	429

CONTENTS
Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.127, Part 1
Special Report

Exploratory Studies on Genetic Biomarkers Related to Serious Drug Adverse Reactions

..... Nahoko Kaniwa, Ryuichi Hasegawa 1

 Research strategy for evaluation methods of the manufactured nanomaterials in NIHS and importance of the
 chronic health effects studies

..... Akihiko Hirose, Tetsuji Nishimura, Jun Kanno 15

Originals

Characterization of anti-mouse prion peptide single chain Fv antibody by phage display

 Akiko Hachisuka, Satoru Koyano, Yutaka Kikuchi, Osamu Nakajima, Masayoshi Aosasa,
 Haruo Matsuda, Jun-ichi Sawada and Reiko Teshima 26

Histamine food poisonings in Japan and other countries

..... Miou Toda, Miyako Yamamoto, Chikako Uneyama, Kaoru Morikawa 31

Notes

 Cytotoxicity of fullerene [60], carbon nanotube, and their derivatives in V79 cells and cultured normal
 human astrocytes

..... Takashi Yamada, Yeon-Suk Jung, Toshie Tsuchiya, and Atsuko Matsuoka 39

 Major revision of the Allergen Database for Food Safety (ADFS) and validation of the motif-based allergenicity
 prediction tool

..... Ryosuke Nakamura, Rika Nakamura, Reiko Teshima 44

Detection of the Preservative Chlorphenesin in Cosmetics by High-performance Liquid Chromatography

 Yoshiaki Ikarashi, Norimasa Miyazawa, Kimio Shimamura, Nobuo Sato, Ken-ichi Yoshizawa,
 Masahito Hayashi, Katsuhiko Takano, Michiko Miyamoto,
 Takashi Kojima, Hiroshi Sakaguchi and Makiko Fujii 50

Detection of clobetasol propionate in a cream advertised to be effective against atopic dermatitis

..... Yoshiaki Ikarashi, Yoko Takita, Tadashi Uchino, and Tetsuji Nishimura 54

Studies for the Analytical method of Prohibited Ingredient Strontium Dichloride in Cosmetics

..... Tadashi Uchino, Yoshiaki Ikarashi and Tetsuji Nishimura 62

 Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of fullerenes
 C₆₀ and C₇₀ in biological samples

 Reiji Kubota, Maiko Tahara, Kumiko Shimizu, Naoki Sugimoto,
 Akihiko Hirose, and Tetsuji Nishimura 65

Technical Data

Serious product accidents due to the chemical substances used in household products in fiscal years 2007 and 2008	Kazuo Isama	69
A Literature Survey of <i>Salmonella</i> Contamination in Shell Eggs and Liquid Eggs in the World	Hodaka Suzuki, Shigeki Yamamoto	74
Studies on the results of monitoring of veterinary drug residues in food products of animal origin in Japan and other countries	Miyako Yamamoto [#] , Miou Toda, Takiko Sugita, Keiko Tanaka, Chikako Uneyama, Kaoru Morikawa	84

Report of Collaborative Study

Evaluation of functional interaction of pharmaceuticals and chemicals with factors determining growth, development or differentiation		93
---	--	----

Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.127, Part 2

Annual Reports of Divisions	107
Researchers List in Fiscal Year 2008	172
Summaries of Papers Published in Other Journals (Original Papers)	176
Summaries of Papers Published in Other Journals (Review and Articles)	277
Title of Scientific Books	300
Scientific Reports to Governmental Agencies	303
Titles of Speeches at Scientific Meetings etc	309
Meeting Reports Related to Regulatory Science	379
Committee Members List in Fiscal Year 2008	392
Other Relative Activities	398
Special Seminars	407
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2008	408
Survey of the Results of National Tests	419
Author Index	421
Subject Index	429

重篤副作用の発症と関連する遺伝子マーカーの探索研究

鹿庭なほ子[#], 長谷川隆一

Exploratory Studies on Genetic Biomarkers Related to Serious Drug Adverse Reactions

Nahoko Kaniwa[#], Ryuichi Hasegawa

Serious adverse events (SAEs) induced by drugs occur rarely, but the symptoms are very critical and generally not related to their pharmacological activities. Although SAEs should be avoided wherever possible, their occurrence is unpredictable at this time. In this article, we describe the clinical condition, figures on reported occurrence in Japan and studies on genetic markers related to serious cutaneous adverse reactions (SCARs), drug induced liver injury (DILI) and rhabdomyolysis among SAEs. Then we introduce our last 3 years' approach of exploratory study on genetic markers for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis (SJS/TEN), two of SCARs, useful for Japanese patients, including construction of a new case collection system, study methodology and progress. As the result at this moment, no Japanese SJS/TEN patients including 12 carbamazepine-related and 23 aromatic anti-epileptic agent-related ones carried *HLA-B*1502* that was reported to have a strong association with carbamazepine-induced SJS/TEN in Han Chinese patients. On the other hand, 5 in 15 allopurinol-related SJS/TEN patients were found to have *HLA-B*5801* that was detected as a genetic marker for allopurinol-induced SCARs in Han Chinese and Caucasians. Hereafter, we have a plan to begin the new exploratory studies on genetic markers for DILI and rhabdomyolysis, in addition to SJS/TEN patients.

Keywords: Stevens-Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis, drug induced liver injuries, rhabdomyolysis, *HLA-B*1502*, *HLA-B*5801*, Japanese patient

はじめに

医薬品は、その特性上、副作用の発生を完全に回避することは難しい。ほとんどの有害事象は、併用薬との相互作用やover-doseによって薬理作用の延長上で発症するか(タイプA副作用)、又は、気管支拡張剤のβ2作用で心悸亢進が起きたりするように、薬理作用とは無縁であっても薬物の活性からその発生を予測できる(タイプC副作用)。しかし、中には、発生頻度は非常に稀であるが、薬物のターゲットとは全く別の臓器で、薬理作用からは類推できない重篤な副作用が発生することがあり、タイプBの副作用と分類される。タイプA及びCの副作用は、前臨床試験あるいは治験の段階から発生が予測でき、用量依存性であることから、投与量の調整、TDM(therapeutic drug monitoring)による血中濃度の調整等により、患者個人においてもリスクとベネフィットを考慮しながらコントロールが可能である。一方、タイプBの副作用は患者の特異体質によって発症すると考えられており、発生頻度が少ないことから、市販後に、多くの患者に投与さ

れてから初めて経験されることが多く、これまでは発症の予防は不可能であるとされてきた。

ICHガイドラインE2Aでは、重篤な副作用を、死亡または生命を脅かす症状、永久的または顕著な機能不全に陥る障害、先天異常を来す状況、治療のために入院あるいは入院延長を要する状態、及びその他の医学的見地から重篤な症状と、定義している。タイプA又はCの副作用も重篤化することはもちろんあるが、タイプBの副作用はほとんどが重篤副作用である。厚生労働省では平成17年度から、従来の安全対策に加え、医薬品の使用により発生する副作用疾患に着目した対策整備を行うとともに、副作用発生機序解明研究等を推進することにより、「予測・予防型」の安全対策への転換を図ることを目的として、「重篤副作用総合対策事業」を開始した。事業の一環として、副作用の早期発見・早期対応を目指して、副作用の概要、初期症状、早期発見・早期対応、療法・判別法等をとりまとめた疾患別対応マニュアルを作成してきており、現在までに29種の副作用のマニュアルが完成している。医薬安全科学部では、重篤副作用の予測・予防に資するために、重篤な副作用の発症と関連する遺伝子マーカーの探索研究を開始した。本稿では、重症薬疹、薬物性肝障害、横紋筋融解

[#] To whom correspondence should be addressed:

Nahoko Kaniwa; 1-18-1 kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501
Tel: +81-3-3700-9653; Fax: +81-3-3700-9788; E-mail: nkaniwa@nihs.go.jp

症を中心として、我が国における統計、遺伝子マーカー探索に関する最近の研究、医薬安全科学部における取り組みについて紹介する。

1. 日本における重篤副作用の発症に関する情報

日本においては、医薬品を適正に使用したにも関わらず重篤副作用が生じた場合には、その健康被害について救済給付を行う独立行政法人医薬品医療機器総合機構

(総合機構)が運用している医薬品副作用被害救済制度がある。表1に2004～2006年度の医薬品副作用被害救済状況の集計結果を示した。申請症例数は640～1060件の範囲で、救済率はいずれの年も約80%であった。その内訳を見ると、重症薬疹に分類されるものが最も症例数が多く、救済例の30%超を占めており、続いて薬物性肝障害の救済例が多かった。横紋筋融解症の救済例はやや少なく、年間12～18例であった。

表 1 医薬品副作用被害救済制度適用例 (2004～2006年度)
(医薬品の適正使用下で発症した重篤な副作用)

副作用の種類	2004年度 例数 (%)	2005年度 例数 (%)	2006年度 例数 (%)
救済症例数 / 申請症例数	529/642	869/1061	676/845
重症薬疹	185 (35.0)	288 (33.1)	243(36.0)
薬物性肝障害	182 (34.4)	176 (20.3)	127(18.8)
アナフィラキシー様ショック	87 (16.4)	83 (9.6)	77(11.4)
骨髄機能抑制	33 (6.2)	79 (9.1)	66(9.8)
腎障害	20 (3.8)	24 (2.8)	14(2.1)
呼吸器障害	14 (2.6)	56 (6.4)	37(5.5)
横紋筋融解症	14 (2.6)	18 (2.1)	12 (1.8)
その他	215 (40.6)	149 (17.1)	319 (47.2)

(総合機構ホームページの資料を基に作成)

1. 1 重症薬疹

重症薬疹の中でも、スティーブンス・ジョンソン症候群(Stevens-Johnson syndrome: 以下SJS)、中毒性表皮壊死融解症(Toxic epidermal necrolysis: 以下TEN)及び薬剤性過敏症症候群(Drug-induced hypersensitivity syndrome: 以下DIHS)は予後が悪い。いずれも原因薬物を服用後数日から数週間後に発症し、高熱を伴い、しばしば肝機能障害などの内臓の障害を伴う。SJSは別名皮膚粘膜眼症候群で、TENと比べ皮膚の剥離する範囲が少し狭く(10%>) 予後も多少良いが、眼や口唇などの粘膜症状が強く、とくに眼の粘膜の症状が強い場合には、しばしば失明などの後遺症を残すことがある。TENは別名ライエル症候群で、全身の皮膚が紅くなり、擦るだけでズルズルと剥離し、まるでヤケドのようになる。TENによる

死亡率は20～30%に達し、薬疹の中では最も重症である。現在では、TENはSJSの進展したものであるとの考え方が受け入れられている。DIHSは、発熱と痒みのある紅い斑で発症することが多く、リンパ腺が腫れ、白血球が増え、殆どの場合、原因となった薬を中止しても、良くなるどころか、どんどん悪くなる。DIHSでは必ず腎機能低下や肝障害等の内臓の障害を伴うが、粘膜の障害は弱く、また、ヘルペス・ウィルスの関与が示唆されている。

原因薬物については、DIHSは抗てんかん薬、メキシレチン、アロプリノールなどある程度限定された薬剤で発症することが知られているが、SJS/TENは広範な薬剤によって発症する。SJS/TENの被擬薬について、表2に示した。これは、2005～2007年度の総合機構ホームペー

表 2 2005～2007年度のSJS/TENの症例報告数推移

年度 薬剤名	2005			2006			2007		
	SJS	TEN	小計	SJS	TEN	小計	SJS	TEN	小計
アロプリノール	14	12	26	22	8	30	16	11	27
カルバマゼピン	17	5	22	17	4	21	24	6	30
ジクロフェナク	9	5	14	8	2	10	6	1	7
ロキソプロフェン	9	2	11	11	5	16	7	7	14
フェノバルビタール	5	5	10	2	4	6	6	0	6
非ピリン系感冒剤(4)	6	4	10	2	4	6	1	9	10
ゾニサミド	9	1	10	3	2	5	1	4	5
アセトアミノフェン	1	4	5	1	5	6	1	12	13
死亡数 (%)	13(6)	41(27)		14(5)	41(27)		13(4)	23(15)	
年度総数	223	151	374	305	151	456	298	157	455

(総合機構ホームページの資料を基に作成)

ジに掲載されたSJS/TENの情報から、個別症例ごとに原疾患、性別、年齢、転帰、併用被疑薬の記載があることから、それらの情報に基づいて明らかな重複症例は症例数としては整理したものである。原因薬剤としては、アロプリノール及びカルバマゼピンがやや多く、これ以外の薬物では、ジクロフェナク、ロキソプロフェンなどのNSAIDs、あるいは、芳香族系の抗てんかん薬が多いことがわかる。日本においては、年間の医薬品の使用量に関する統計がないので、各医薬品の服用者あたりの発症率は不明である。表2にリストされた医薬品の中には、発症率自体が高いものと使用量の多いものが混在していると思われる。SJS/TENの年間報告総数は約370件から470件で、両者の比率は概ね2対1であった。

1. 2 薬物性肝障害

薬物性肝障害は非常に広範な種類の医薬品によって発症する。米国においては、急性の肝障害の半分以上を薬物性肝障害が占めており、医薬品が市場から撤退するときの断トツ第一位の理由である¹⁾。薬物性肝障害は、メカニズム的には、薬物又は代謝物自体が肝毒性を示す「中

毒性」、代謝酵素活性の異常で毒性のある薬物又は代謝物が蓄積する「代謝酵素特異体質性」と、特異体質によって発症する「アレルギー性特異体質性」とに大別され、他に脂肪化や腫瘍形成などを伴う「特殊型」などがある。「中毒性」と「代謝酵素特異体質性」肝障害は用量依存的に発症するが、「アレルギー性特異体質性」肝障害は用量には依存しない。障害の起る部位からは、肝細胞障害型、胆汁うっ滞型、混合型に分けられる。症状としては、発熱、倦怠感などの全身症状や、食欲不振、嘔吐、嘔気などの消化器症状が表れ、アレルギー性では、かゆみ、発疹などの皮膚症状、胆汁うっ滞を高発して黄疸が表れることが多い。多くの場合、薬物の投与を中止することにより回復するが、起因薬物の服用を継続すると、肝不全や高度の黄疸・胆汁性肝硬変を来すこともある²⁾。

2007年度の我が国における肝毒性に分類される症例の報告数は合計2,473例で、重症薬疹よりはかなり多い(表3)。原因薬物として多いのは、塩酸テルビナフィン、カルバマゼピン、塩酸チクロピジンの他に、HMG-CoA還元酵素阻害剤を含む高脂血症剤、ロキソプロフェンなどであった。

表3 2007年度の肝毒性症例報告数(総数2,473)

薬剤名	肝機能異常	肝障害	黄疸	急性肝炎	劇症肝炎
塩酸テルビナフィン	37	36	2	4	0
カルバマゼピン	15	27	1	1	1
塩酸チクロピジン	12	23	3	0	1
ロキソプロフェン Na	13	21	2	0	3
アトルバスタチン Ca	15	12	3	0	1
フルバスタチン Na	11	19	0	0	0
フェノフィブラート	13	10	4	2	0
ロスバスタチン Ca	15	6	3	1	0
塩酸セフカベンピボキシル	12	9	3	0	0
アカルボース	0	20	0	2	0
テガフル・ウラシル	16	4	0	0	1
ボグリボース	8	9	1	0	3
イトラコナゾール	8	8	3	1	1
非ピリン系感冒剤(4)	6	11	2	1	1
ゲフィチニブ	10	10	0	0	0
トラニラスト	11	4	4	1	0
テモゾロミド	18	1	0	0	0
シクロスポリン	10	8	1	0	0
アスピリン	3	15	0	0	0
総合計数	991	837	121	66	58

なお、肝機能異常と肝障害の違いは不明であるが、少なくとも1つの症例について両方が記載されていることはない。

その他の肝毒性関連症例報告数(10症例以上)

肝炎:49, 静脈閉塞性肝疾患:48, 胆汁うっ血:43, 肝不全:39, 肝細胞障害:33, 高ビリルビン血症:20, 急性肝不全:19, 胆管炎:18, 胆石症:15, 脂肪肝:15, 急性胆嚢炎:12, 自己免疫性肝炎:11, 胆嚢炎:11

(総合機構ホームページの資料を基に作成)

1. 3 横紋筋融解症

横紋筋融解症は、骨格筋の細胞が融解・壊死することにより、筋肉の痛みや脱力感が生じる副作用で、血液中に溶解した筋肉の成分であるミオグロビンが腎臓の尿細管にダメージを与え、急性腎不全を起こす。クレアチンキナーゼ活性の上昇や、尿中や血漿中のミオグロビンの上昇などから診断される³⁾。スタチン類の服用によって、横紋筋融解症の前段階であると考えられるミオパシーを発症するが、その発症はある程度スタチンの用量に依存する。すなわち、欧米における通常の投与量（例えばシンバスタチンでは20～40 mg/day）ではミオパシーの発症頻度は年間1万人の服用者に一人程度であるが、投与量を上げると効果も高くなるが発症率も上昇すると言わ

れている⁴⁾。

表4に2004年から2008年度までの、横紋筋融解症の厚生労働省への報告を集計した。報告数は重症薬疹と同程度かやや下回る程度である。原因薬物としては、HMG-CoA還元酵素阻害剤であるスタチン類及びフィブラート系薬剤が圧倒的に多いが、合成抗菌剤のレボフロキサシン、プロトンポンプ阻害剤のオメプラゾール、全身麻酔薬のプロポフォール等によっても発症する。なお、プラバスタチン、シンバスタチンの使用量は減少傾向にあり、反面、新規に承認されたロスバスタチンの使用量は増加中であり、これらの薬物による横紋筋融解症の発症数にはある程度使用量が反映していると思われる。

表 4 横紋筋融解症例報告数

薬剤名	年度	2004	2005	2006	2007	2008*
アトルバスタチン		51	41	47	31	21
ベザフィブラート		16	22	17	17	10
プラバスタチン		21	24	19	9	8
シンバスタチン		21	15	5	8	1
レボフロキサシン		9	10	10	9	2
フルバスタチン		13	8	7	4	6
オメプラゾール		10	8	10	3	3
プロポフォール		8	14	2	5	7
ロスバスタチン		—	—	4	15	13
リスペリドン		7	5	5	5	4
フェノフィブラート		10	9	3	1	4
ピタバスタチン		5	3	10	3	3
年度実質総計 **		389	351	359	291	234

*4-11月, ** 重複報告を補正した総報告数

(総合機構ホームページの資料を基に作成)

2. 重篤副作用発症と関連する遺伝子マーカーに関する最近の報告

2. 1 重症薬疹とHLA型

抗てんかん薬によるSJS/TENの発症とHLA (Human Leukocyte Antigen: ヒト白血球抗原) 型とに関する報告を表5にまとめた。最初の報告は2004年に台湾で漢民族

を対象として行われた研究で⁵⁾、カルバマゼピンによるSJS/TEN発症患者44人の全員がHLA-B*1502を有していたのに対し、未発症患者では101人中3人が、健常人93人中では8人が同型を有するのみであった(未発症患者とのオッズ比は2507)。このとき、薬物代謝関連遺伝子の多型157種との相関は見られなかった。2006年には、

表 5 抗てんかん薬による SJS/TEN と HLA-B*1502 との相関解析に関する報告

薬物名	民族	疾病名	陽性者数 / 全症例数		オッズ比	文献
			発症群	コントロール群		
カルバマゼピン	漢民族 (台湾)	SJS/TEN	59/60	6/144	1357	6
	アジア人 (欧州)	SJS/TEN	4/4	—	—	7
	漢民族 (香港)	SJS/TEN	4/4	—	— *	8
	タイ人	SJS	6/6	0/4	25.5	9
	白人	SJS/TEN	0/8	—	—	7
フェニトイン	漢民族 (香港)	SJS/TEN	1/1	—	— *	8
	タイ人	SJS	4/4	0/7	18.5	9
ラモトリジン	漢民族 (香港)	SJS/TEN	1/1	—	— *	8

* カルバマゼピン、フェニトイン、ラモトリジンのデータを合わせて7人の陽性者を含む48人のコントロールと比較した場合オッズ比は71.9。

同じグループが症例を追加し、症例陽性率は59/60、非発症群陽性率は6/144、オッズ比は1357であると報告した⁶⁾。その後、欧州在住のアジア人⁷⁾、香港の漢民族⁸⁾やタイ人⁹⁾でもHLA-B*1502の陽性結果が報告される一方で、白人⁷⁾では調べられた8人のSJS/TEN患者では全て陰性であった。芳香族系抗てんかん薬であるフェニトインやラモトリジンが原因のSJS/TENについても、漢民族及びタイ人では、全員がHLA-B*1502を保有していたという結果が得られている^{8, 9)}。

アロプリノールによる重症薬疹に関しては、状況が少し異なる(表6)。2005年に、台湾漢民族のアロプリノールによる重症薬疹患者を遺伝子解析した結果、発症群51人全員がHLA-B*5801を有し、未発症患者では135人中20人(15%)の保有に過ぎないことが報告された(オッ

ズ比580)¹⁰⁾。一方、アロプリノールによりSJS/TENを発症した欧州起源の白人では、HLA-B*5801の症例陽性率が15/27(55%)でオッズ比は80であった¹¹⁾。また、日本人を対象とした解析では、アロプリノールによりSJS又はTEN発症患者各1例については、HLA-B*5801がいずれも陽性であったことが報告されている¹²⁾。

このほかに、SJS/TENを対象とした研究報告には、原因薬剤によって層別化されていないものの、日本人で眼障害を伴ったSJS/TEN患者の2007年の報告がある¹³⁾。眼の障害のため眼科を受診したSJS/TEN患者40人からは、HLA-B*1502及びHLA-B*5801保有者は検出されなかった。しかし、HLA-A*0206陽性者が19人おり、コントロール群における陽性率17/113よりも有意に高く、オッズ比は5.5であったと報告されている。

表6 アロプリノールによる重症薬疹とHLA-B*5801との相関解析に関する報告

民族	疾病名	陽性者数 / 全症例数		オッズ比	文献
		発症群	コントロール群		
漢民族(台湾)	重症薬疹	51/51	20/135	580	10
白人(欧州)	SJS/TEN	アレル頻度(27.8%)	アレル頻度(0.8%)	80	11
日本人	SJS/TEN	2/2	—	—	12

DIHSとHLA型に関する情報を表7にまとめた。アバカビル誘因性DIHSは、HLA型との相関性が報告された最初の重症薬疹である。抗HIV薬であるアバカビルは、白人では、服用を開始してから6週間以内に服用者の5~10%でDIHSを発症すると言われている。2002年の報告では、白人のDIHS患者のHLA-B*57保有率は55%、黒人のDIHS患者のHLA-B*57保有率は22%、と民族差を認め

ている¹⁴⁾。また、白人DIHS患者を対象とした別の報告では、HLA-B*5701の保有率は78%あるいは94%で、非発症群におけるHLA-B*5701の保有率に比較し有意に高く、オッズ比はそれぞれ117あるいは960であった^{15, 16)}。別のDIHS研究では、130人の白人患者中57人(44%)が、69人の黒人患者中10人(14%)がHLA-B*5701陽性であった¹⁷⁾。アバカビルを原因とするDIHSにおいても、白人と

表7 薬剤性過敏症候群(DIHS)とHLA型との相関解析に関する報告

薬物名	HLA型	民族	陽性者数 / 全症例数		オッズ比	文献
			発症群	コントロール群		
アバカビル	HLA-B*57	白人	36/65	2/80	明示なし	14
	HLA-B*57	黒人	2/9	1/18	明示なし	14
	HLA-B*5701	白人	14/18	4/167	117	15
	HLA-B*5701	白人	17/18	4/230	960	16
	HLA-B*5701	白人	57/130	8/202	19	17
	HLA-B*5701	黒人	10/69	2/206	17	17
カルバマゼピン	HLA-B*1502	白人	0/56	—	—	18
	HLA-B*1502	漢民族(台湾)	0/13	—	—	6
アロプリノール	HLA-B*5801	日本人	1/1	—	—	12

黒人では、*HLA-B*5701*との関連の強さには民族差があるように見受けられるが、DIHS発症者のうちアバカビルに対するパッチテストで陽性の患者だけに限って見ると、白人では42人中42人が、黒人では5例中5例の患者が*HLA-B*5701*陽性であり¹⁷⁾、黒人の症例数が少ないきらいはあるが、関連の強さに民族差はないと結論づけられよう。アバカビルは他の抗HIV薬と併用されることが多く、併用される抗HIVもまたDIHSを発症しやすいことから、解析対象の患者群に必ずしもアバカビルが原因薬ではない症例も含まれていると思われ、試験ごとに白人DIHS患者における*HLA-B*5701*の保有率が異なるのも、このようなことに由来していると考えられる。パッチテストを行うと、原因薬を特定することができる。

カルバマゼピンによるDIHS発症患者の遺伝子解析では、白人56人¹⁸⁾あるいは台湾漢民族13人⁶⁾のいずれでも*HLA-B*1502*は陰性であった。一方、アロプリノールによりDIHSを発症した1人の日本人では*HLA-B*5801*の陽性の結果が得られており¹²⁾、また、表6の台湾人を対象としたアロプリノール誘因性重症薬疹の研究においては、*HLA-B*5801*の保有者にはDIHSの症例も含まれる¹⁰⁾。

このように見てくると、重症薬疹とHLAとの関連は一通りではないことが分かる。すなわち、原因の薬物が異なると関連のあるHLAの型が異なり、また、重症薬疹とHLAとの関連の強さには、民族特異性が見られる。抗てんかん薬を原因とする場合には、SJS/TENの発症と関連があるとして検出された*HLA-B*1502*は、抗てんかん薬の種類は問わないが、DIHS患者では検出されず、民族特異的ばかりではなく副作用特異的でもある。一方、アロプリノール誘因性の重症薬疹で検出されたマーカー*HLA-B*5801*は、関連の強さは民族ごとに異なるが、漢民族、白人及び日本人のどの民族でも検出され、また、SJS/TENからDIHSをまたいで検出されている。*HLA-B*5701*についてのアジア人のデータ及びSJS/TEN患者のデータは報告されていないが、アバカビルが原因であることがはっきりしている症例では、白人と黒人との民族差はないようである。なお、民族差が生じる要因の一つとしては、表8に示すように、重症薬疹と関連すると報告されたHLA型の各民族の母集団における頻度の違いが挙げられる。

表 8 重症薬疹と関連すると報告された HLA 型の各民族における頻度

原因薬物	アレル頻度 (%)		
	<i>HLA-B*1502</i>	<i>HLA-B*5801</i>	<i>HLA-B*5701</i>
	カルバマゼピン	アロプリノール	アバカビル
日本人	極希	0.6	0.1
漢民族 東南アジア人	4.7 ~ 11.1	20.4	0.3
白人	0.1 以下	2 - 7	1.7

(<http://www.allelefreqencies.net/> のデータベースより作成)

なお、SJS/TEN、DIHSはT細胞障害性の遅延型アレルギー反応で発症することが知られている。現在では、これらの重症薬疹の発症は、次のように考えられている¹⁹⁾。HLA-DRB1、-DRB5、-DQB1などHLAクラスII分子は、抗原提示細胞の表面に発現しており、薬物由来の抗原はHLAクラスII分子に付加する。皮膚ではランゲルハンス細胞が抗原提示細胞にあたる。この薬物由来の抗原とHLAクラスII分子の付加物をヘルパーT細胞のレセプターが認識することにより、抗原の提示と感作が成立する。一方、HLAクラスI分子に属するHLA-A、HLA-B及びHLA-Cwは、体のいたるところの細胞に発現しており、薬物由来の抗原が付加したHLAクラスI分子が感作

を受け活性化した細胞障害性T細胞のレセプターに認識されると、細胞が細胞障害性T細胞の攻撃対象となる。何故、特定の薬物が特定のHLA型と親和性が高いのか、あるいは、何故、特定の組み合わせの薬物とHLAの型とがT細胞レセプターに認識されやすいのかは分からないが、近年の関連解析で遺伝子マーカーとしてHLAの型が検出されたのは、納得のいくところである。

2. 2 薬物性肝障害と遺伝子マーカー

中毒性肝障害あるいは代謝酵素特異体質性肝障害では、毒性物質の濃度依存性に障害が起きることから、毒性物質の解毒や生成において重要な役割を果たすPhase I

の代謝酵素，とりわけ機能が低下する多型が存在することで有名なCYP2C9, CYP2C19, CYP2D6等の遺伝子多型との関連が調べられてきた。しかし，幾つかの薬物で症例報告がある程度で，今のところ，CYP関連の遺伝子多型と薬物性肝障害の発症との相関を示す大規模なケース・コントロール研究の結果は報告されていない²⁰⁾。一方，Phase II代謝酵素であるN-acetyltransferase 2 (NAT2)は，イソニアジド，サルファ剤，プロカインアミド，ヒドララジンなど多くの薬物をアセチル化するが，NAT2の遺伝子多型が，これらの薬物の肝障害の発症と関連していることはよく知られている²⁰⁾。NAT2では，*5, *6, *7と称される多型では代謝活性能が落ち，これらのアレルを2本保有する場合にはslow acetylator (SA)となる。例えば，イソニアジドは代謝によってヒドララジン及びアセチルヒドララジンが生成し，これらの代謝物は最終的には無毒なジアセチルヒドララジンに代謝される。SAの場合には，ヒドララジン及びアセチルヒドララジンが蓄積し，肝毒性を有する活性代謝物が生じやすいと言われている。SAの比率は，白人では約50%，アジア人では20%強であり，白人の方が多い²¹⁾。同じくPhase IIに属する代謝酵素にglutathione S-transferase (GSTs)があり，薬物の解毒化に関与している。GSTsにはGSTP, GSTAなど幾つかの分子種があるが，*GSTM1*及び*GSTT1*には，酵素全体が欠如する全欠損型の多型が存在する。これらの両者あるいは一方が欠損すると，抗糖尿病薬のトログリタゾン，カルバマゼピンあるいはアルツハイマー病治療薬のタクリンによる肝毒性を発症しやすいという報告がある²²⁻²⁴⁾。トログリタゾンは特異体質による肝障害のために2000年に市場より撤退せざるをえなかったが，トログリタゾン服用後ALT及びASTの臨床検査値が上昇した25人のケース群と，肝障害を発症しなかった対照患者群85人について，51種類の候補遺伝子の68箇所の多型を解析した結果，*GSTM1*・*GSTT1*の多型以外には関連を見つけることができなかった。両遺伝子を欠損して

いる場合にはそうでない場合に対して，トログリタゾン服用後のALT/AST検査値の上昇に関するオッズ比は3.69 ($p=0.008$)と報告された²²⁾。日本人における*GSTT1*欠損の頻度は約40%，*GSTM1*欠損の頻度は約55%，ダブル欠損型の頻度は約20%である²³⁾。しかしながら，*GSTM1*，*GSTT1*あるいは両遺伝子の欠損型は，比較的頻度の高い多型であるのに対して，薬物性肝障害の発症頻度は非常に低いことから，これらの遺伝子の欠損は薬物性肝障害の発症の危険性を少し高めているに過ぎないと考えられる。

アレルギー型の肝毒性でも，重症薬疹の場合と同じく，その発症にはHLAの特定のタイプやハプロタイプと強い相関があると，幾つかの薬物で報告されている(表9)。ベルギーにおけるアモキシシリン・クラブラン酸K合剤による黄疸を伴った肝障害に関する研究では，HLAクラスII分子のハプロタイプ(複数の遺伝子多型の組み合わせ)，*DRB1*1501-DRB5*0101-DQB1*0602*の患者における頻度57.1%は，健常人における頻度11.7%より有意に高かった(オッズ比 10.1, $p<0.0002$)²⁵⁾。なお，このハプロタイプの日本人における頻度は5%程度である²⁶⁾。抗血小板剤であるチクロピジンは，うっ滞型の肝障害を引き起こすが，その頻度は日本人の方が白人より高い。日本人を対象にした研究では，チクロピジンによる肝障害を発症した群における*HLA-A*3303*の保有者率は68%であるのに対し，非発症群では14%であった。*HLA-A*3303*の北米白人における頻度は0.53%と報告されており，日本人母集団における頻度(9.7%)に比較し低く²⁷⁾，このことが，チクロピジンによる肝障害の発生率における民族差となって表れていると考えられる。日本では発売されていないが，欧州とオーストラリアで広く使われているフルクロキサシンは，同じくうっ滞型の肝障害を引き起こすことが知られている。後述する英国の薬物性肝障害のネットワーク・グループ(DILIGEN)によって，DNAマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子多型解析による，

表9 アレルギー性肝障害とHLAとの相関性に関する報告

原因薬物	人種又は研究地域	マーカー	陽性者数/全症例数		オッズ比	文献
			発症群	コントロール群		
アモキシシリン・クラブラン酸K合剤	ベルギー	<i>DRB1*1501-DRB5*0101-DQB1*0602</i>	20/35	40/300	10.1	28
チクロピジン	日本人	<i>HLA-A*3303</i>	15/22	12/85	13.0	29
フルクロキサシン	英国	<i>HLA-B*5701</i>	43/51	4/64	80.6	30
			20/23*		100.0	

*Replication studyの結果

51人のケース群と282人の健常人を比較するケース・コントロール研究が行われた。マイクロアレイ解析からは、6番染色体のHLA座位付近に有意に肝障害と関連する一連の多型が検出され、そのうちのひとつの多型が *HLA-B*5701* と完全に連鎖していることが突き止められた。改めて、フルクロキサシンを服用しても肝障害を発症しなかったコントロール患者64人との比較が行われたが、表9にはその結果と再試験の結果とを示してある。最初の試験では、*HLA-B*5701* のケース群における保有者率は84.3%であるのに対し、コントロール群では6.3%で、オッズ比は80.6であった。この高いオッズ比は、再試験でも追認された²⁸⁾。アレルギー型の肝毒性の一部は、重症薬疹と同じく、T細胞が関与する遅延型のアレルギーとされる。アレルギー性肝障害においても、重症薬疹と同じくHLAとの関連が強く示唆され、しかも、アバカビル誘因性のDIHSの遺伝子マーカーである *HLA-B*5701* が、フルクロキサシン誘因性の肝障害でも遺伝子マーカーとして検出されたことは、非常に興味深い。

2.3 ミオパシーと遺伝子マーカー

横紋筋融解症と関連する遺伝子マーカーについてはまだ報告されていない。おそらく、症例が非常に少ないので研究が進まないためと考えられる。ミオパシー（筋障害）は横紋筋融解症の前段階と考えられるが、スタチンが原因で発症したミオパシーについては、日本及び英国の研究者から、それぞれ別々に、スタチンの肝取込に関与するトランスポーター *SLCO1B1* (*OATP-C*) をコードする *SLCO1B1* の遺伝子タイプが関与すると報告された。すなわち、日本人では、ハプロタイプ *SLCO1B1*15* が²⁹⁾、また、2008年の英国の研究では、DNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子多型解析で、ミオパシーと関連するイントロンSNP (single nucleotide polymorphism) が検出された⁴⁾。日本人の場合、*SLCO1B1*15* を1個以上有するとそのオッズ比は11.3と高くなり、英国人ではイントロンSNP1個につきオッズ比は4.5ずつ高くなるという。また、日本人においては、*SLCO1B1*15* を有しないミオパシーを発症した患者から、*SLCO1B1* の新規SNP、*SLCO1B1* 1628T>G (*Leu543Trp*) も検出された³⁰⁾。

前述したように、ミオパシーの発症には、ある程度のスタチン用量依存性が見られる。*SLCO1B1* はスタチンの標的臓器である肝への取り込みを担っているトランスポーターで、**15* はトランスポーター機能の低下をもたらす。その結果、**15* 保有者の血中スタチン濃度は、正常の機能を持つトランスポーター発現者よりも高くなる³¹⁾。おそらく、このことが **15* 保有者でミオパシーの発症のリスクを高めているのではないかと考えられる。

2.4 遺伝子マーカーの臨床適用

これまでの研究により *HLA-B*5701* はアバカビル誘因性のDIHSのバイオマーカーであることが示唆されたが、このバイオマーカーを用いてスクリーニング試験を行うことの意義を検証するために、19カ国の1956名のHIV患者が参加した大規模なコホート研究が組まれた³²⁾。この試験では、患者を、アバカビルによる治療（アバカビル単独投与あるいは他のHIV剤との併用投与）を開始する前に *HLA-B*5701* の検査を行い陽性患者にはアバカビルを投与しなかった群（予備検査群）と、予備検査をせずに全員にアバカビルを投与した群（対照群）との2群に分け、投与開始から6週間後のDIHSの発症率が比較された。参加人数の最も多かった白人の結果では、対照群 ($n=718$) の発症率7.8%に対して予備検査群 ($n=679$) の発症率は3.4%と有意に低かった。さらに、アバカビルに対するパッチテスト陽性者のみを比較した場合には、予備検査群では発症者0であったのに対し、対照群では3.1%であった。アバカビルでは、白人の場合、約5%の服用者でDIHSを発症するとされているが、この結果は、アバカビルによる治療において、*HLA-B*5701* によるスクリーニングを行うと、発症者は半分以下に減らすことができ、有用であることを示している。この試験における *HLA-B*5701* の選択性 (selectivity, 症例陽性率) と特異性 (specificity, 対照群陰性率) は、それぞれ、0.48及び0.97、positive predictive value (陽性的中率) と陰性的中率 (negative predictive value) は、それぞれ、0.60と0.95であった。

この結果を受けて、FDA (Food Drug Administration, 米国食品医薬品局) 及びEMA (European Medicines Evaluation Agency, 欧州医薬品審査庁) は、2008年にアバカビルを含有する製剤の添付文書の改訂を承認した。例えば、米国のアバカビル製剤であるザイアゲンの改訂された添付文書には、*HLA-B*5701* の保有者はアバカビルによるDIHSを発症しやすいので、アバカビルの投与を開始する前に *HLA-B*5701* のスクリーニングを行うことを推奨すると書かれている。

2007年にFDAにおいては、アバカビル製剤と同様に、カルバマゼピン製剤の添付文書の改訂を認めた。米国におけるテグレトールの添付文書では、SJS/TENと *HLA-B*1502* との関係が示されており、SJS/TENを含む重篤な皮膚反応のリスクは、白人に比べアジアの一部の国においては約10倍高いと推定されること、中国系の祖先をもつ患者において、SJS/TENの発現のリスクと *HLA-B*1502* との間に強い関連性が認められたこと、遺伝子的にリスクのある祖先を持つ患者は、テグレトールによる治療開始前に *HLA-B*1502* の存在を検査すべきで、対立遺伝子が陽性であった患者は、治療上の有益性が危険

性を明らかに上回らない限り投与すべきではないことが、冒頭の警告文に示されている。添付文書をよく読むと、HLA-B*1502の保有率には地域間で大きなばらつきがあり、日本と韓国では1%未満と保有率が低いことも、きちんと示されている。

2007年あたりから、医薬品による副作用を回避するために、ワルファリンやイリノテカンで薬物応答性の遺伝子マーカーを用いた薬物治療の個別化が始まったが、時を同じくして、特異体質による重篤副作用を回避するために、遺伝子多型マーカーのスクリーニング試験の適用も始まったことになる。

3. 重篤副作用の遺伝子マーカー探索における医薬安全科学部の取り組み

2005年までのSJS/TENに関する情報から、重症薬疹の発症に関連すると推定される遺伝子マーカーがHLAに存在し、それは薬剤により、民族により、あるいは副作用の種類により異なっている可能性が高いと考えられた。これらの情報から、重症薬疹を発症しやすい日本人患者を識別できる遺伝子マーカーは、日本人患者を対象とした研究において探索する必要があると判断し、医薬安全科学部として本研究を実施することにした。

3.1 SJS/TEN発症と遺伝子バイオマーカーとの関連性解析に関する研究体制

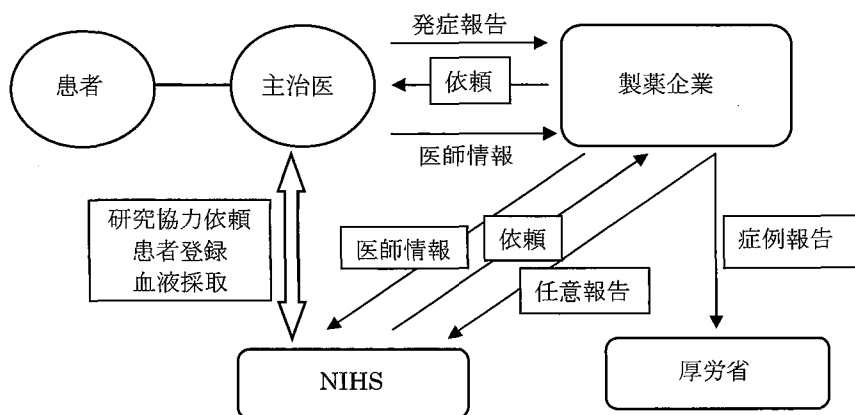
医薬安全科学部では、日本人に有用な遺伝子マーカーの検出、予測キットの開発、さらには薬物治療の個別化への応用を目指して、SJS/TENの発症に関わる遺伝子マーカーの探索研究のために、2006年度に厚生労働科学研究班（研究代表者：鹿庭なほ子）を設立した。研究班は、国立衛研の薬理ゲノム学の専門家が主体となり、

皮膚科医、眼科医、精神科医など10名の分担研究者に7名の協力研究者を加え、日本製薬団体連合会（日薬連）、多くの研究協力病院並びに日本皮膚科学会の支援のもとで、当初は3年間の予定で研究を開始した³³⁾。研究手法は、主として、HLA等の免疫関連遺伝子及びアポトーシス関連の遺伝子をターゲットとした遺伝子多型解析、及び、DNAマイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子多型解析を行い、多型頻度をケース・コントロール研究で比較するものである。なお、研究班はSJS/TEN遺伝子解析研究班と名付けられ、英語の名称はJSAR Research Groupであり、この名前で学会発表や論文発表を行っている。

3.2 全国を網羅する症例集積システム

本研究を実施するに当たり、最も重要かつ困難な点は、如何に多くの患者から血液を入手出来るかということにあった。上述したように、日本におけるSJS/TENの発症数は年間約350～450件と非常に少なく、一方で、死亡率もTENでは約15～30%とかなり高い。実際に、以前の研究では、共同研究者の関係者からだけでは十分な患者数が獲得できず、研究が不調に終わった例がある。こうしたことから、本研究班では、研究分担者が所属する病院からだけでなく、日本全国から症例を集積することとし、厚生労働省医薬食品局安全対策課（安対課）及び日薬連の協力を得て、重篤副作用報告制度を利用して、図1に示したNIHS症例集積システムを構築した³⁰⁾。通常、医薬品による重篤な副作用が発症した際には、主治医は推定される原因薬剤を販売している製薬企業に連絡し、さらに製薬企業はその詳細を厚生労働省に報告する義務がある。そこで、国立衛研医薬安全科学部は安対課から日薬連会長宛に通知（課長名）を発出して頂いた³¹⁾。通知では、製薬企業が症例報告としてSJS/TENの発症を把

図1 重篤副作用発症患者を集積するためのシステム（NIHS 症例集積システム）



握し厚生労働省に報告する際に、本研究の重要性を理解し、自主的に、発症した事実のみを国立衛研へ連絡頂くことを依頼した。

システムのあらまは、次の通りである。国立衛研では、製薬企業より連絡を受けた時は、直ちに担当製薬企業を介して主治医へ、本研究への参加を要請する研究協力依頼文及び簡単な協力方法を送付する。主治医が協力を申し出た場合には、製薬企業は主治医の個人情報（医療機関名、担当医、連絡方法等）を国立衛研へ連絡する。ここまでの国立衛研と製薬企業とのやりとりは、jscar@nihs.go.jpというメール・アドレスを取得して、概ね e-mailで行っている。医師の個人情報を入手した場合には、国立衛研は電話や e-mail, fax, 郵便などさまざまな方法で主治医と連絡を取り、具体的な研究内容や実施方法を説明し、研究への協力を依頼する。具体的には、主治医には、インフォームドコンセントの取得、採血、診療情報の収集を以てしている。主治医は、各医療機関のルールに従い、必要ならば、医療機関の倫理委員会の承認を得てから症例集積に協力いただいている。血液の回

収は業者に委託することにより主治医の負担を減らし、診療情報の配付と回収は宅配便を利用している。

上記NIHS症例集積システムにより、2006年6月15日（研究協力依頼開始日）から2009年1月末日までに、製薬企業70社から国立衛研へ報告された症例数は413件で、うち292件がSJS、121件がTENであった。このシステムによる国立衛研への連絡率は症例報告の約40%と推定された。また、医師の個人情報を連絡頂いた件数は131件と報告数の約32%で、そのうち37件が連絡時に終診・死亡等で協力が不可能か、医師の多忙や患者の非同意のために登録に至らず、3件が協力方法を検討中で、登録に至ったのは95件（報告数の23%）であった。また、登録95件のうち、81件が採血済み、3件が倫理申請中・患者来院待ち、11件が採血中止（死亡・非同意等）であった。表10に、2009年1月31日までに研究班に登録された採血終了済みの症例数の内訳を示した。研究班全体では、これまでに156例の採血を終了しているが、NIHS症例集積システムの寄与率は50%強である。

表 10 研究班全体の症例集積状況

(2009.1.31 現在)

患者血液サンプルの採取元	症例数
NIHS 症例集積システム	81
研究班の分担研究者	63
協力研究者 *	12
計	156

副作用名の確定状況	症例数
SJS/TEN (definite)	93
SJS/TEN (probable)	14
SJS/TEN 以外	26
判定待ち	23

*: NIHS・分担研究者への個人的紹介、医師からの通報等

本研究を始めるにあたり、国立衛研の研究代表者及び研究分担者は、それぞれが所属する機関の倫理委員会へ申請を行い、承認を得た。特徴的なことは、本研究が、国立衛研主体の臨床研究として、初めて、国立衛研の倫理委員会から承認を受けたことである。すなわち、本研究では研究分担者が所属する特定医療機関が生体試料の提供を受けるとともに、国立衛研を、全国で発生した患者が受診する医療機関から直接に生体試料の提供を受け

る機関として位置づけている。倫理申請を行った時点では、患者が発生する病院、すなわちNIHS症例集積システムで協力いただく医療機関は特定できないので、非特定協力医療機関という位置づけになり、主治医の先生にはインフォームドコンセントの取得、採血、診療情報の収集を補助履行していただいていることになる。患者個人情報の保護については、連結可能匿名化を行っている。患者が希望した場合には、HLAの結果については開示

行っている。

3. 3 診療情報の収集と確定診断

いかなる臨床研究においても、研究の質を維持する上で大切なことは、集積したサンプルの中に、解析対象以外の症例を持ち込まないことである。そのためには、可能な限り詳細な診療情報を入手することが重要と考えられる。SJS/TENは、一般の医師にとっては一生に一回遭遇するかどうかというほど非常に希な副作用であることから、例えば皮膚科の医師でも必ずしも正確に診断できない場合がある。本研究では、症例の登録時点においては主治医の診断を尊重しているが、登録後に、ケースカードに基づいて研究班の皮膚科の専門家にSJS/TENの確定診断を依頼している。ケースカードには、性別、年齢などの基本情報の他に、投薬歴、症状の程度と経過、合併症の有無、治療法、転帰が記入できるようになっており、差し支えない範囲で退院サマリーを添付してもらっている。皮膚科医の分担研究者は、主治医から提出いただいたケースカード・退院サマリーに基づいて、「Stevens-Johnson症候群診断基準2005」及び「Toxic epidermal necrolysis (TEN)診断基準2005」(厚生労働科学研究補助金 難治性疾患克服研究事業 橋本公二研究班)に照らし合わせてSJS/TENの確定診断を行っている。

表10に示すごとく、2009年1月末までに、133症例の確定診断が終わり、93例がSJS/TENと確定診断され、14例は非典型例としてSJS/TENを否定できず、26例がSJS/TEN以外と診断された。非典型例も含めたSJS/TEN症例の診断率は80%に及び、かなり高いと判断でき、この数値は上記NIHS症例集積システムの信頼性を示すものである。本研究班の当初の目標症例数は100例としていたが、2009年6月現在、この目標を達している。これらのサンプルの中で、症例が服用していた薬物として多く上げられるのは、カルバマゼピン、そのほかの芳香族抗てんかん薬、アロプリノール、マクロライド系抗生物質、セフェム系抗生物質、キノロン系合成抗菌剤、ロキソプロフェンを含む非ステロイド性抗炎症薬、アセトアミノ

フェンなどであった。現時点では研究費支援が確定していないものの、今後、原因薬剤別に解析を推し進めるために、さらに症例150例を引き続き集積する予定にしている。

3. 4 日本人のSJS/TENと遺伝子マーカー

これまで、SJS/TENと確定診断された症例のうち90症例について、シーケンシングによるHLA型のタイピングが終了し、その結果を日本組織適合性学会のホームページに掲載されている健常日本人のアレル頻度と比較した。健常人をコントロール群としたのは、SJS/TENのように発生頻度の低い副作用のケース・コントロール研究では、コントロールとしてのノイズ(将来SJS/TENを発症する可能性)が非常に低いと考えられるからである。

芳香族抗てんかん薬服用患者23名並びにカルバマゼピン服用患者12名の解析では、漢民族あるいは南アジア人においてSJS/TENの発症と非常に強い関連が認められたHLA-B*1502は全く検出されなかった。このように、これまでのところ、日本人においてはカルバマゼピンを含む抗てんかん薬によるSJS/TENの発症とHLA-B*1502との関連は全く認められていない。そのひとつの原因としては、日本人のHLA-B*1502の保有率が非常に低いことが上げられる。私どものこの結果を受けて、現在、厚生労働省は日本人に対しては、カルバマゼピンによる治療の開始にあたって、HLA-B*1502のスクリーニングは必要なしと判断しており、2008年4月に改訂されたカルバマゼピンの添付文書の中では、漢民族におけるカルバマゼピン誘因性のSJS/TENとHLA-B*1502との関連についての情報を提供するに止めた。

一方、同じく漢民族で、アロプリノール誘因性の重症薬疹と強い関連の見られたHLA-B*5801について検討を行ったところ、アロプリノール服用15症例のうちHLA-B*5801保有患者が5名検出され、日本人母集団における同アレルの頻度0.6%に皮脂、患者群のアレル頻度は16.7%と有意に高く、オッズ比は32.8であった(表11)。アロプリノール誘因性重症薬疹とHLA-B*5801との関連

表 11 SJS/TEN を発症した日本人患者と HLA-B*5801 との相関解析

服用薬剤名	患者数	HLA-B*5801 保有患者数	患者のアレル頻度	アレル頻度のオッズ比	Pc
アロプリノール	15	5	16.7 (%)	32.8	0.0031
他の薬剤	75	3**			

日本人の HLA-B*5801 のアレル頻度は 0.6% である。

**：一人はレフルノミド、他の二人はエトドラクを服用。

は、日本人においては白人よりはやや弱い（白人患者におけるアレル頻度は27.8%¹¹⁾），日本人においてもアロプリノール誘因性のSJS/TENにあっては、*HLA-B*5801*は遺伝子マーカーのひとつであることが改めて確認された。これらの研究結果の一部はすでに専門誌に掲載されている³⁴⁾。

網羅的遺伝子多型データを用いてSJS/TEN発症との関連解析を行った結果については、多重性の補正後も有意に関連性のあるSNPが、カルバマゼピンが起因薬と思われるSJS/TEN発症群で5個、ロキソプロフェンが起因薬と思われる発症群で3個見いだされた。今後はこれらのSNPsを対象に検証研究を実施の予定である。

なお、本研究は研究班を維持し、SJS/TEN症例の集積を継続している。

3. 5 今後の計画

前述したように、NIHS症例集積システムは、全国で発症する発症頻度は稀であるが非常に重篤な副作用の症例を集積する方法として、比較的良好に機能している。発生頻度が重症薬疹よりもさらに低い横紋筋融解症の研究では、現時点では、本システムを利用する以外に効率よく症例を集積することは不可能と考えられる。一方、横紋筋融解症の前段階と考えられるミオパシーについては、発生頻度が横紋筋融解症よりは高いことから、拠点病院方式で症例を集積することが可能である。医薬安全

科学部では、平成21年度から、ミオパシーと横紋筋融解症を対象に、その発症と関連する遺伝子マーカーの探索研究を、金沢医科大学の梶波康二教授、東京大学薬学部の杉山雄一教授と協力して開始することにした。また、患者数の多い薬物性肝障害についても、帝京大学医学部の滝川一教授、東京大学薬学部の杉山雄一教授と協力して、その発症と関連する遺伝子マーカーの探索研究を開始することにした。いずれの研究においても、候補遺伝子の多型の他に、DNAマイクロアレイを用いて、網羅的遺伝子多型解析を行う予定にしている。

おわりに

特異体質による重篤な副作用の研究は、発生頻度が非常に稀であるために、一製薬企業あるいは一大学の講座や研究室における研究では、解析に耐えうる症例が集積できず、成果を上げることが非常に難しい。また、重篤副作用は、活性とは無関係に、非常に広範な薬物が同一の重篤副作用を引き起こすにもかかわらず、仮に、ひとつの製薬企業が成果を上げたとしても、それを他の企業が共有することができず、ひいては国民の共通の財産として知見が生かされない。そこで、重篤な副作用に関する遺伝子マーカーの探索、治療法や診断法の開発などの研究は、国をあげて、あるいは、グローバルな組織やネットワークを立ち上げて、症例を広く募るとともに、その成果を全体で共有することが望ましいと考えら

表 12 主に重篤副作用を対象とした遺伝子解析の主な研究組織

名称	主たる地域	主体・支援組織	対象副作用等
DILIN	米国	National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases: NIDDKD (http://dilin.dcri.duke.edu/)	薬物性肝障害
DILIGEN	英国	UK Department of Health の支援の下、主としてニューカッスル大学の Daly 教授によって運営されている	薬物性肝障害
RegiSCAR	欧州	6 カ国の皮膚科医 (http://regiscar.uni-freiburg.de/)	重症薬疹
Eudragene	欧州	European Commission (https://www.eudragene.org/)	横紋筋融解症 QT 延長 薬物性肝障害等 6 つの重篤副作用
SAEC	米国	International Serious Adverse Event Consortium: SAEC 製薬会社、大学で構成する NPO (http://www.saeconsortium.org/index.php)	重症薬疹 薬物性肝障害
JPDSC	日本	Japan Pharmacogenetics Data Science Consortium 日本の製薬 6 社で構成するコンソーシアム	健常日本人

れる。表12に、そのような目的で設立された、国内外の組織を示した。DILINは、米国NIHの一つであるNIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases) がスポンサーになっており、全米の拠点病院を中心に、薬物性肝障害の原因究明を行うために設立された。これとよく似た名前のネットワークDILIGENは、英国のニューカッスル大学のDaly教授によって組織された、薬物性肝障害の遺伝子的背景を研究するネットワークである。DILIGENは、既に紹介したように、最近、後述するSAECと協力して、フルクロキサシンによる肝障害の遺伝子マーカーに関して、目覚ましい成果を上げた²⁸⁾。重症薬疹に特化した組織としては、フランスやドイツなどヨーロッパの6カ国の皮膚科医のネットワーク、RegiSCARがあり、EUの支援を受けて、SJS, TEN, DIHSなどの重症薬疹を対象にして、症例の集積、診断方法や治療法の確立、遺伝子マーカーの探索を行っている。カルバマゼピン及びアロプリノール誘因性のSJS/TENに関する、白人及び欧州在住のアジア人のデータは、RegiSCARのものである^{7, 11)}。欧州委員会が設立したEUDRAGENEは、横紋筋融解症、QT延長など6種類の重篤副作用について、原因薬剤をかなり絞って症例を集積している。EUDRAGENEは英国を中心に運営されており、症例集積にあたっては、NIHS症例集積システムと同様に、重篤副作用報告制度を利用している。SAECは、FDAとEMAの支援を受けて、大手製薬企業10社(2009年9月時点)が出資して、コロンビア大学などがメンバーに入っている非営利団体で、2007年に設立された。当初は、SJS/TENと薬物性肝障害を対象としていたが、現在、他の副作用にも手を広げている。この団体の特徴は、非常に多くの団体と協力関係にあり、また、SAECが精査し、解析が終了したデータについては公開することを前提にしていることである。重篤副作用の研究は、ケース・コントロール的アプローチで攻めることが多い。重篤副作用の発症頻度は極めて低いので、コントロール群に健常人をあてても、ノイズは無視できる程度である。また、コントロール群の人数が多いほど、研究の検出力はあがる。このようなことから、1000～2000人規模の日本人健常人のDNAマイクロアレイによる多型頻度のデータベースを構築するために、日本の製薬企業6社(2009年6月時点)が集まって、コンソーシアムJPDS (Japan Pharmacogenetics Data Science Consortium)が組織された。

医薬安全科学部では、NIHS症例集積システムを構築することで重篤副作用症例を日本全国の医療機関から集積することを可能とし、拠点病院方式も合わせて利用しながら、現在3つのプロジェクトを進行させているところである。得られた生体試料を有効に活用するためには、上記の組織やネットワークと連携を取りながら関連解析

研究などを進めて行くことが必要と考えている。少しでも多くの患者が重篤副作用を回避できるように、将来的には、全国の医療機関において患者の生体試料と診療情報を取得できる制度的なものを設立すると共に、それを実施・維持する事業費も必要であると考えられる。

参考文献

- 1) Lee, W.M.: *Semin Liver Dis.*, 23, 217-26 (2003)
- 2) 重篤副作用疾患別対応マニュアル, 第2集, pp 82-4, (財)日本医薬情報センター, 東京, 2008
- 3) 重篤副作用疾患別対応マニュアル, 第1集, pp 52-5, (財)日本医薬情報センター, 東京, 2007
- 4) Vladutiu, G.D., Isackson, P.J.: *N. Engl. J. Med.*, 359, 789-99 (2008)
- 5) Chung, W.H., Hung, S.I., Hong, H.S., Hsieh, M.S., Yang, L.C., Ho, H.C., Wu, J.Y., Chen, Y.T.: *Nature*, 428, 486 (2004)
- 6) Hung, S.I., Chung, W.H., Jee, S.H., Chen, W.C., Chang, Y.T., Lee, W.R., Hu, S.L., Wu, M.T., Chen, G.S., Wong, T.W., Hsiao, P.F., Chen, W.H., Shih, H.Y., Fang, W.H., Wei, C.Y., Lou, Y.H., Huang, Y.L., Lin, J.J., Chen Y.T.: *Pharmacogenet. Genomics*, 16, 297-306 (2006).
- 7) Lonjou, C., Thomas, L., Borot, N., Ledger, N., de Toma, C., Lelouet, H., Graf, E., Schumacher, M., Hovnanian, A., Mockenhaupt, M., Roujeau, J.C.: *Pharmacogenomics J*, 6, 265-268 (2006)
- 8) Man, C.B., Kwan, P., Baum, L., Yu, E., Lau, K.M., Cheng, A.S., Ng, M.H.: *Epilepsia*, 48, 1015-1018 (2007)
- 9) Lochareernkul, C., Loplumlert, J., Limotai, C., Korkij, W., Desudchit, T., Tongkobpetch, S., Kangwanshiratada, O., Hirankarn, N., Suphapeetiporn, K., Shotelersuk, V.: *Epilepsia*, 49, 2087-2091 (2008)
- 10) Hung, S.I., Chung, W.H., Liou, L.B., Chu, C.C., Lin, M., Huang, H.P., Lin, Y.L., Lan, J.L., Yang, L.C., Hong, H.S., Chen, M.J., Lai, P.C., Wu, M.S., Chu, C.Y., Wang, K.H., Chen, C.H., Fann, C.S., Wu, J.Y., Chen, Y.T.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 4134-9 (2005)
- 11) Lonjou, C., Borot, N., Sekula, P., Ledger, N., Thomas, L., Halevy, S., Naldi, L., Bouwes-Bavinck, J.N., Sidoroff, A., de Toma, C., Schumacher, M., Roujeau, J.C., Hovnanian, A., Mockenhaupt, M.; for the RegiSCAR study group: *Pharmacogenet. Genomics*, 18, 99-107 (2008)
- 12) Dainichi, T., Uchi, H., Moroi, Y., Furue, M.: *Dermatology*, 215, 86-8 (2007)

- 13) Ueta, M., Sotozono, C., Tokunaga, K., Yabe, T., Kinoshita, S.: *Am. J. Ophthalmol.*, 143, 367-8 (2007)
- 14) Hetherington, S., Hughes, A.R., Mosteller, M., Shortino, D., Baker, K.L., Spreen, W., Lai, E., Davies, K., Handley, A., Dow, D.J., Fling, M.E., Stocum, M., Bowman, C., Thurmond, L.M., Roses, A.D.: *Lancet*, 359, 1121-2 (2002)
- 15) Mallal, S., Nolan, D., Witt, C., Masel, G., Martin, A.M., Moore, C., Sayer, D., Castley, A., Mamotte, C., Maxwell, D., James, I., Christiansen, F.T.: *Lancet*, 359, 727-32 (2002)
- 16) Martin, A.M., Nolan, D., Gaudieri, S., Almeida, C.A., Nolan, R., James, I., Carvalho, F., Phillips, E., Christiansen, F.T., Purcell, A.W., McCluskey, J., Mallal, S.: *Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 4180-5 (2004)
- 17) Saag, M., Balu, R., Phillips, E., Brachman, P., Martorell, C., Burman, W., Stancil, B., Mosteller, M., Brothers, C., Wannamaker, P., Hughes, A., Sutherland-Phillips, D., Mallal, S., Shafer, M.: *Clin. Infect. Diseases*, 46, 1111-8 (2008)
- 18) Alfirevic, A., Jorgensen, A.L., Williamson, P.R., Chadwick, D.W., Park, B.K., Pirmohamed, M.: *Pharmacogenomics*, 7, 813-818 (2006)
- 19) 中川武正, 高橋繁, 池澤善郎著, 「薬物アレルギーとその対処法」, pp66-73, *メディカル・サイエンス・インターナショナル*, 東京, 2001
- 20) Pachkoria, K., Lucena, M.I., Molokhia, M., Cueto, R., Carballo, A.S., Carvajal, A., Andrade, R.J.: *Curr. Drug Saf.* 2, 97-112 (2007)
- 21) 澤田康文編, 「薬物動態・作用と遺伝子多型-薬物治療の患者個別化を目指した21世紀の新展開」, pp195-205, 大阪, 2001
- 22) Watanabe, I., Tomita, A., Shimizu, M., Sugawara, M., Yasuno, H., Koishi, R., Takahashi, T., Miyoshi, K., Nakamura, K., Izumi, T., Matsushita, Y., Furukawa, H., Haruyama, H., Koga, T.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 73, 435-55 (2003)
- 23) Ueda, K., Ishitsu, T., Seo, T., Ueda, N., Murata, T., Hori, M., Nakagawa, K.: *Pharmacogenomics*, 8, 435-42 (2007)
- 24) Simon, T., Becquemont, L., Mary-Krause, M., de Waziers, I., Beaune, P., Funck-Brentano, C., Jaillon, P.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 67, 432-7 (2000)
- 25) Hautekeete, M.L., Horsmans, Y., Van Waeyenberge, C., Demanet, C., Henrion, J., Verbist, L., Brenard, R., Sempoux, C., Michielsen, P.P., Yap, P.S., Rahier, J., Geubel, A.P.: *Gastroenterology*, 117, 1181-6 (1999)
- 26) 日本組織適合性学会ホームページ・データベース (http://jshi.umin.ac.jp/mhc/mhc_vol06-10/v08nakajima_all.pdf)
- 27) Hirata, K., Takagi, H., Yamamoto, M., Matsumoto, T., Nishiya, T., Mori, K., Shimizu, S., Masumoto, H., Okutani, Y.: *Pharmacogenomics J.*, 8, 29-33 (2008)
- 28) Daly, A.K., Donaldson, P.T., Bhatnagar, P., Shen, Y., Pe'er, I., Floratos, A., Daly, M.J., Goldstein, D.B., John, S., Nelson, M.R., Graham, J., Park, B.K., Dillon, J.F., Bernal, W., Cordell, H.J., Pirmohamed, M., Aithal, G.P., Day, C.P.; for the DILIGEN study; International SAE Consortium: *Nat. Genet.* 2009 May 31. [Epub ahead of print]
- 29) Morimoto, K., Ueda, S., Seki, N., Igawa, Y., Kameyama, Y., Shimizu, A., Oishi, T., Hosokawa, M., Iesato, K., Mori, S., Saito, Y., Chiba, K.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, 77, P21 (2004)
- 30) Morimoto, K., Oishi, T., Ueda, S., Ueda, M., Hosokawa, M., Chiba, K.: *Drug Metab. Pharmacokinet.* 19, 453-5 (2004)
- 31) Ho, R.H., Choi, L., Lee, W., Mayo, G., Schwarz, U.I., Tirona, R.G., Bailey, D.G., Michael Stein, C., Kim, R.B.: *Pharmacogenet. Genomics*, 7, 647-56 (2007)
- 32) Mallal, S., Phillips, E., Carosi, G., Molina, J.M., Workman, C., Tomazic, J., Jägel-Guedes, E., Rugina, S., Kozyrev, O., Cid, J.F., Hay, P., Nolan, D., Hughes, S., Hughes, A., Ryan, S., Fitch, N., Thorborn, D., Benbow, A.; PREDICT-1 Study Team: *N. Engl. J. Med.*, 358, 568-79 (2008)
- 33) 平成18-20年度厚生労働科学研究費補助金:創薬基盤推進研究事業総合研究報告書:重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究
- 34) Kaniwa, N., Saito, Y., Aihara, M., Matsunaga, K., Tohkin, M., Kurose, K., Sawada, J., Furuya, H., Takahashi, Y., Muramatsu, M., Kinoshita, S., Abe, M., Ikeda, H., Kashiwagi, M., Song, Y., Ueta, M., Sotozono, C., Ikezawa, Z., Hasegawa, R., (for the JSAR research group): *Pharmacogenomics*, 9, 1617-22 (2008)

産業用ナノマテリアルの健康影響評価法開発における課題と慢性影響研究の重要性

広瀬明彦[#], 西村哲治, 菅野 純

Research strategy for evaluation methods of the manufactured nanomaterials in NIHS and importance of the chronic health effects studies

Akihiko Hirose[#], Tetsuji Nishimura, Jun Kanno

Manufactured nanomaterials are one of the most important substances for the nanotechnology. The nanomaterials possess different physicochemical properties from bulk materials. The new properties may lead to novel biological effects and also may or may not cause unknown adverse effects. However, the toxicological evidences are very limited, and there are no standardized evaluation methods at present. Some domestic and international activities are ongoing, in order to share the information or to standardize the methods. In 2005, our institute launched the research on the establishment of health risk assessment methodology of manufactured nanomaterials by funding from the research grants of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare. The project contains four themes. The first is development of measurement methods of nanomaterials from biological samples. The second is development of dispersion methods in *in vitro* systems. The third is development of inhalation exposure systems. And the last is development of *in vivo* systems for evaluating long-term health effects. As evaluation materials, fullerene, titanium oxide and multi-walled carbon nanotubes were chosen because of their high production volumes.

In the course of the research project, we revealed that the nanomaterials were competent to cause chronic effects, by analyzing intraperitoneal administration studies and carcinogenic promotion studies. These studies suggested that even aggregated nanomaterials were crumbled into nano-sized particles inside the body during the long-term, and the particles were transferred to other organs. Additionally, long lasting particles/fibers in the particular tissues may cause chronic adverse effects. The physico-chemical properties or toxicity mechanism related with these chronic effects were considered to be different from those properties or mechanism related to acute toxicity. Therefore, we suggested that the toxicological characterization of chronic effects by nanomaterials would be important for the future research. Also, investigations of the toxicokinetic properties and biological interaction with nanomaterials are important to predict the chronically targeted tissues after exposure.

Keywords: manufactured nanomaterials, fullerene, titanium oxide, multi-walled carbon nanotube, chronic effects

はじめに

ナノテクノロジーは、「ナノメートルサイズのスケールで物質の構造・配列を制御することで、新機能や優れた特性を持つ物質を作り出す技術」とされ、国家戦略としてその技術開発が進められており、ナノ物質（ナノマテリアル）として定義される新規物質・材料は、このナノテクノロジーの中心的な役割を担っている。産業用として生産されるナノマテリアルは、一般に少なくとも大きさの一次元が100ナノメートル以下である物質として定義されているが、このような化合物は典型的にナノ構造依存的な性状（化学的、機械的、電気的、光学的、磁

氣的、生物学的）を有している。これらの特徴によりナノマテリアルは、商業的あるいは医学的な有益性あるいは効率化の目的のために、電磁光学、構造材料を中心としてとして一般家庭用品から食品にいたるまでの新しい応用の展望が期待され、薬物輸送を含む医療への展開も期待されている。このように様々な分野に応用が見込まれるため、ナノマテリアルも様々な種類のものが開発されてきており、その分類法も様々ではあるが、基となる化学物質の種類から以下のように分類できると考えられる。

- ・酸化金属・金属:二酸化珪素(SiO₂), 二酸化チタン(TiO₂), アルミナ(Al₂O₃), 酸化鉄(Fe₃O₄, Fe₂O₃), 酸化亜鉛(ZnO), 酸化インジウム-スズ (ITO) など
- ・炭素系:フラーレン, カーボンナノチューブ (CNT), カーボンファイバーなど

[#] To whom correspondence should be addressed:

Akihiko HIROSE; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9878; Fax: 03-3700-1408; E-mail: hirose@nihs.go.jp

- ・ナノクレイ:特殊な層構造を持たせたケイ酸塩
- ・有機ナノ粒子:ナノ粒子化された薬品・化合物(医薬品, ビタミン, 色素など) ポリマー, 高分子, ミセル, リポソームなど

その他, ナノコンポジットとして, ナノ粒子を特殊な役割のために構成成分としてポリマーやセラミック, 金属マトリックス製品中に再配合することもある。

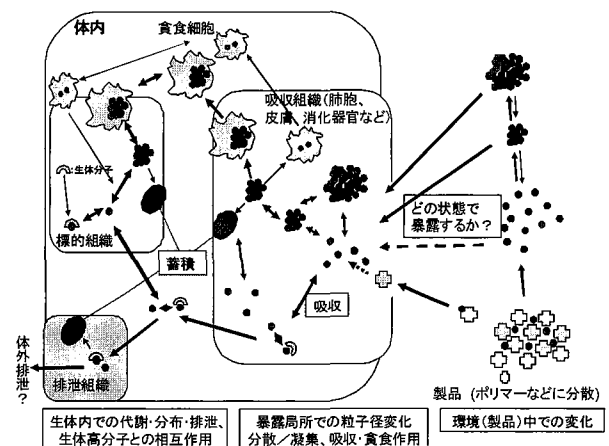
このようなナノマテリアルの多方面にわたる利用拡大は, 我々がこれらの物質に直接, あるいは商品を通して間接的に接する機会が増えてくることを意味している。そうなると, 本来の目的や使用方法以外による接触や暴露も増える可能性が高くなる他, 本来の使用方法でも想定外の長期間暴露, さらには物質, 商品等が廃棄された後の環境経路による暴露の機会も増すことが想定される。しかし, これらの特定の機能を意図して合成された純粋な単体としてのナノ物質が生体に及ぼす影響については多くの点で未知である。従って, ナノマテリアルが本格的にその使用が拡大する前に, ナノマテリアルの有用性だけでなく安全性に関する知見も十分に蓄積し, ナノマテリアルの利用が安心して進められるように対応することが求められている。

体内動態 (ADME) 情報の重要性

一般的に, 化学物質の健康影響評価(リスクアセスメント)の基本的なフレームは, 有害性評価と暴露評価, および各々の評価内容を比較・統合化する過程のリスク判定のコンポーネントから成り立っている。さらに有害性評価は, 有害性の確認(hazard identification)と用量反応評価(dose-response assessment)に分けられる。この基本フレーム自体は, ナノマテリアルの健康影響評価に適用できるものと考えられる¹⁻⁵⁾が, ナノマテリアルに特徴的な新たな物理化学的性質を鑑みると, 体内動態(吸収absorption, 分布distribution, 代謝metabolism, 排泄excretion (ADME) 情報は, 一般の化学物質より重要な意味を持つと考えられる。例えば, 粒子サイズの微小化はそれまでその大きさのために生体内に侵入することはないと考えられていた物質が, 生体内に侵入が可能になり生体組織との新たな反応性を示すようになる。重量あるいは1粒子あたりの表面積が増大することにより相対的に増加した表面活性のため, それまで反応性が乏しいために無害であると考えられた粒子であっても, 生理学的反応を示すようになることなどが推測される。また, 用量反応評価や暴露評価においては, 従来使われてきている重量よりも表面積や表面活性の強さなどの別のスケールを用いて記述した方が適切な定量的評価が可能になることも指摘されている。このことは, ナノマテリアルによる生体影響はその構成成分である化学物質特

有の性質として一義的に決定されるものではなく, 粒子の大きさや形状にも依存することを示している。また, 暴露時における暴露環境(分散状態であるか凝集状態であるか)や暴露経路(吸入, 経口, 経皮など)との組み合わせによって生体侵入時あるいは侵入後の粒子の体内挙動は異なってくるのが想定され(図1), 有害性影響評価では一般の化学物質に比べて, 粉体毒性を含む多くの要因を考慮しなければならないこと意味している。また, ナノマテリアルの凝集しやすい性質は, 分布される組織によって蓄積性の動態を示すことが予想される。したがって, ナノマテリアルの場合はADMEの性質の違いにより毒性(生体影響)の質や強さも大きく変える可能性を持っており, これらの情報は, 一般の化学物質より大きな意味合いを持つようになると考えられる。

図 1. 想定される暴露状態と吸収後の体内動態



生体試料中の検出法の開発の必要性

ADME情報を取得するためには, 影響発現部位もしくは作用を及ぼすと想定される部位にナノマテリアルの存在することを示すことが必要であり, まず生体試料中で検出, 同定・定量できる方法を確立しなくてはならない。存在の検出には, 存在量を定量する目的と, 生体内の存在状態を同定する目的がある。存在量を定量する目的として, 対象物質を生体試料から分離・単離し, 検出する方法をとることができる。たとえば, 金属ナノ粒子は生体試料を硝酸加熱分解後, 燃焼灰化した試料中の金属元素の量を誘導結合プラズマ-質量分析計で分析する方法を採ることができ, フラーレンの場合は, 生体試料から抽出後, 液体クロマトグラフィー-質量分析計で分析する方法が有用である。しかし, これらの方法では, ナノマテリアルの存在やその量を評価することは可能であるが, 生体内でも実際にナノの状態が存在しているのか, あるいは再凝集などはしていないかなど, 標的組織にお

ける最終的な生体内反応に影響を及ぼすと考えられる実際のナノマテリアルの存在状態を把握することはできない。最終的には、組織標本の電顕などによる確認が必要である。一方、カーボンナノチューブでは、機器による定量測定が困難であり、測定組織を硝酸加熱分解と加熱灰化で処理し、透過型電子顕微鏡で本数や形態を、手で計測する方法以外に確実に測定する方法はない状況である。将来的には、生体内に取り込んだ後、感度良く、精度高く検出できる方法を開発するために、対象物質に標識を付けて分析する方法の開発も有効であると考えられるが、標識化することによりナノマテリアルの吸収性や生体反応に影響を及ぼす可能性を考慮しなければならない。

影響評価法確立の必要性

粒子のナノサイズ化による表面活性の増大は、一般的に粒子の凝集性を増強することが知られており、この凝集性は上記の体内動態を大きく左右する因子であるだけでなく、生体影響を評価するための試験系開発においても重要な制御因子である。*in vitro*試験系では、水系の培養液を用いた試験法になるため、水難溶性で凝集しやすいナノマテリアルを培養液中に凝集することなく、均一に分散させることが最も重要な課題となる。分散剤として、界面活性剤や親水・疎水両領域をもつ媒体となる物質の共存が必要となるが、評価対象の物質以外に共存する物質や溶媒が生体に影響を及ぼす可能性を考慮して、生体影響の少ない物質を使用するか、もしくは影響の出にくい量（濃度）の使用を考えなければならない。例えば、フラーレンはトルエンにある程度まで容易に溶解するが、有機溶媒の毒性や溶媒自身の溶解性のためにトルエン溶液の暴露において量的な制限がかかる。分散剤として有効な界面活性剤も、高濃度では細胞溶解性があるため制限があり、細胞の生理作用や検出する測定系に影響を与えない適切な濃度の選択が必要である。一方、生体成分に近い分散剤としては、血液中脂質やリポタンパク質がある。これらは、細胞毒性等の影響を及ぼす可能性が低く、培養の重要成分として添加されていることから優れた分散剤と言えるが、培養液当たりの添加濃度には制限がある。また、人工脂質二重膜構造のリポソームも有用な分散剤であると考えられるが、リポソーム自身にも使用する細胞によっては毒性を示すことがある。しかし、リポソーム膜と細胞膜の相互作用により、ナノマテリアルを細胞膜中に導入して、評価する手法としては有用性が高いと考えられる。また、水系への分散性をあまり考慮しなくてもよい*in vitro*系として、経皮暴露の三次元皮膚モデルの系が皮膚透過性や細胞内分布、細胞レベルの作用機構を解明するために有力な手段となると

期待される。

最終的な生体影響評価をするためには*in vivo*の実験動物を用いた研究が必要である。しかし、投与時の溶媒や分散状態が吸収性や生体反応にも影響を及ぼすと考えられ、*in vivo*系でも適切に分散した投与方法の検討が必要である。経口暴露媒体としては、消化管系へ過度な刺激を与えることは望ましくないため、可能な限り、通常使用している溶媒を用いての分散が検討される。溶剤の候補として、食品中油脂、スクアラン、膜構成脂質成分、血清中脂質、リポタンパク質、リポソーム、低刺激の有機溶媒等の使用が検討される。水溶液として投与するためには、界面活性剤（Tween20やTriton X-100等）、 γ -シクロデキストリン等の包接体を用いて水に分散させる方法もある。フラーレンでは、コーン油に溶解して経口投与することが可能であることが知られている。経皮暴露の場合は、経口暴露の場合と異なり対象が皮膚であるため、溶剤の種類が異なる。溶媒として、揮発性の高いトルエンやキシレン等の有機溶媒と揮発性の低い有機溶媒、もしくは界面活性剤などの分散剤を用いた水溶液が検討されるが、塗布時あるいは塗布後の皮膚表面での凝集性や、ナノマテリアルの残留性や浸透性が変化することを考慮しなくてはならない。

吸入暴露試験系の開発の必要性

現在のところ、生体内吸収の観点から最も可能性の高い暴露経路は吸入暴露であると考えられている。これまで、ナノマテリアルに限らず微粒子の吸入暴露研究は、金属、鉱物粒子、排ガス粒子などを中心に数多く行われているところであり、生体影響についても、これらの過去の知見が有用であることは明らかである。しかし、実験的検証を行う際には、先に述べたナノマテリアルに特有の凝集しやすい性質をどのように扱うかについての検討が必要となる。特に凝集体が大きいままであると、肺組織中の細気管支等を詰まらせることによる物理的な二次影響を見ることになり、少なくとも肺胞まで到達可能な分散技術は必要であると思われる。実験的暴露方法には、一個体ずつ暴露する吸引法や気管内投与方法と、吸入設備を用いる吸入暴露法がある。どちらを採用するにしても、ナノマテリアルの吸入暴露試験系として、特に凝集しやすい特有の性状のため新たな分散法の開発が必要である。特に吸引・気管内投与の場合には、投与溶媒の選択、エアロゾル化するための技術と分散媒体の選択が必要である。分散媒体としてTween等の界面活性剤や肺サーファクタントの使用が見込まれている。吸入設備の開発においても、粉体をより微細にする方法やエアロゾル化による粒子発生装置の開発が必要である。

一方、繊維状粒子については、これまでアスベストや

アスベスト代替物である人工繊維による研究で蓄積された情報が有益であると考えられる。アスベスト様繊維については、肺がんや中皮腫、肺線維症の誘発は重要な影響であり、これらも吸入暴露実験による実験的検証が可能であるが、中皮腫誘発性に関して腹腔内投与による試験も有用で感受性の高い試験であるとされている。その強さを規定している最も重要な因子は、特有の繊維の径と長さに加えて、数〜数十年にわたる生体内における残留性であると考えられている。そのため、現時点では*in vitro*試験系や短期動物試験により実証することが困難であり、長期の動物試験が必須となるが、この問題に関する詳細な議論は後述する。

ナノマテリアルに関する有害影響情報の現状

非常に多岐にわたる工業用ナノ粒子を一括して生体影響を検討することは実質的には不可能であると考えられ、そのため安全性評価を念頭においた各ナノマテリアルの国際的な標準化作業も進んでいる。将来的には、これらの標準化されたナノマテリアルに関する評価が進んでいくものと考えられるが、現時点では、個別の物質についての断片的な生体影響に関する情報しか得られていない。しかも、生産量や使用量を反映して、二酸化チタンやフラーレン、カーボンナノチューブといった物質に関する情報に限られているというのが状況である。

二酸化チタン:酸化チタン自体は、古くから白色顔料として使われてきており、着色の目的で食品添加物としても使用されてきている。顔料としては、一次粒径は2〜300ナノメートルぐらいであるが、通常大きな凝集・集合体を形成している。近年は、紫外線防御や光触媒活性を目的としたより一次粒径の小さいナノ粒子(1.50ナノメートル)が使用されるようになってきた。工業的製品の多くは粒子の形状としてルチル型とアナターゼ型に分類され、アナターゼ型の光触媒作用がより強いと考えられている。顔料としての使用が主流であった1989年のIARCの発がん性評価では、ラットへの吸入実験で高用量群においてのみ肺線維腫の増加が認められる⁶⁾ものの、経口、皮下、気管内および腹腔内投与のいずれにおいても動物実験において催腫瘍性が認められず、不十分な疫学データのためグループ3に分類された⁷⁾。しかし、その後、顔料タイプおよびナノ粒子の両方において、吸入および気管内投与によるラットでの肺がん発生率の増加を示す報告を考慮し、2006年2月のIARCの評価では、Group2Bに変更された⁸⁾。ナノサイズの粒子(*ultrafine particle*)とサブミクロンサイズの粒子(*fine particle*)の吸入暴露による炎症性を比較した研究からは、ナノサイズ粒子による炎症反応の方が強いとする研究が報告されている⁹⁾が、二酸化チタンを気管内滴下した研究では、

顔料系のサイズとナノサイズの粒子で炎症反応に違いのないことも報告されている¹¹⁾。しかし、ルチル型とアナターゼ型を比較した研究では、粒子サイズが同等でもアナターゼ型の方が、炎症反応が強く、表面活性の違いが重要な因子であることも示唆されている¹²⁾。一方酸化チタンは、日焼け止め剤の中に紫外線防護の目的で使用され、近年は使用時の透明性を高める等の目的でナノサイズ化されたものが使用されており、ナノサイズ粒子の皮膚暴露による影響は、検討すべき暴露経路の一つである。しかし、局所刺激や感作性、全身影響に関してサイズの違いによる影響を検討した報告はなく、吸収性に関して行われた小数の研究がある。日焼け止め剤中の二酸化チタンが、角質層や毛嚢の中に浸透していることを示した報告があるが、この毛嚢への浸透部分は角質層に覆われている部分のみであった¹³⁾。また別の報告では、二酸化チタンナノ粒子による皮膚への透過性はほとんど示されていない¹⁴⁾。しかし、5-20nmというような超微細二酸化チタンが皮膚を透過し、皮内の免疫系と相互作用する可能性は指摘されており¹⁵⁾、今後、慢性暴露による影響を考慮した研究が必要であると考えられる。

フラーレン:フラーレンは、空気から分子酸素を容易に吸着させることができ、光照射により得た余分な励起エネルギーを近くの酸素分子に渡し、反応性の高い一重項酸素を生成することが知られている。遺伝子突然変異誘発性に関しては、可視光線照射時と代謝活性化系存在時にいくつかのサルモネラ菌種で変異原性が示された¹⁶⁾。発生した一重項酸素から間接的にラット肝臓ミクロゾームの作用により生成した過酸化脂質が酸化了的DNAを引き起こしたことが示唆されている。しかし、マクロファージを用いた初期の実験では、フラーレンによる活性酸素生成に対する影響はほとんど認められていない¹⁷⁾。フラーレンの毒性に関する報告は、ほとんどが修飾されたフラーレンに関するもので、未修飾のフラーレンに関する情報は少ない。未修飾のフラーレンと水酸化フラーレンの*in vitro*での細胞障害性に関する研究では、未修飾のフラーレンの方が細胞毒性の強いことが示されている¹⁸⁾、¹⁹⁾が、両フラーレンに関して3mg/kgまでのラットへ気管内滴下による*in vivo*単回投与実験では、どちらも一過性の炎症反応を示し、その反応性には違いが認められなかった²⁰⁾。経口投与した未修飾のフラーレンの毒性影響を調べた報告はないが、フラーレンはマウスの皮膚塗布に対しての局所炎症作用や発がん促進作用を示さないことが報告されている²¹⁾。また、UVA照射下でC60フラーレンのトルエン溶液をマウスの皮膚に反復投与した実験では、紅斑はみられたが、皮膚がんはみられなかった²²⁾。未修飾フラーレンについては、溶媒や培地への分散化が極めて困難であり、*in vitro*系では使用した

溶媒や分散剤の影響を受ける他、*in vivo*系における情報も少なく、系統だった毒性研究の進展が望まれる。

カーボンナノチューブ(CNT):CNTは単層または複層の形状を持ち、それぞれSWCNTおよびMWCNTとして分類されるが、その製法により層の数や構造、繊維の長さ、使用する触媒金属などが異なる様々な種類が存在する。また、ある種のMWCNTの形状がアスベストに類似していることから、その潜在的な懸念について関心が持たれている。まず、SWCNTについて、ラット及びマウスに気管内投与し、肺への影響を検討した実験において、肉芽腫形成と間質性炎症を引き起こすことが報告された^{23, 24)}。Warheitらのラットの実験では多発性肉芽腫が観察され、高倍率の検査によりナノチューブの固まりの周りを覆う単核性の肉芽腫が認められた。この変化は用量非依存的で生体の単なる異物反応と捉えることができ、生理学的関連性を持たないかもしれないと考えられている。また、Lamらのマウスを用いた気管内投与実験では、慢性暴露で傷害性のあるクォーツ粒子より炎症反応の強いことが示された。一方、SWCNTを咽頭吸引によりマウスに暴露させた実験では、BALの炎症細胞、炎症サイトカイン、蛋白質の迅速な増加により、SWCNTが急性炎症反応を起こすことを示したが、SWCNTのマクロファージとの反応性は一過性で、炎症性細胞浸潤を伴わない間質の線維化が認められている²⁵⁾。さらに、咽頭に滴下した実験では、大動脈ミトコンドリアのグルタチオン量、蛋白カルボニル化活性の変化を伴うミトコンドリアDNA障害が示され、ApoE-ノックアウトマウスで、アテローム性動脈硬化症の進行を増強することが示され、体循環に吸収されて、全身影響を示す可能性が示唆されている²⁶⁾。ラットに気管内投与したMWCNTは、投与後60日後にも肺に残存し、濃度依存性の炎症反応を起こしコラーゲンリッチな肉芽腫を形成した。この実験では、平均5.9 μ mと0.9 μ mに粉碎したMWCNTの投与による比較研究が行われ、粉碎前のMWCNTの多くが気道に蓄積し炎症を示していたが、粉碎した方は肺胞域に達し肺実質における肉芽腫を形成していた²⁷⁾。マウスにMWCNT (200-400 μ g) を気管内滴下した実験では、肺の炎症反応は一過性で弱かったが、投与に依存した血小板の活性化と凝固作用の活性化を促進している可能性が示唆された²⁸⁾。一方、アスベストとの形状の類似性から想定される吸入暴露による発がん性や中皮腫の誘発性の懸念については、最近腹腔内投与により中皮腫誘発性を示唆する3つの研究結果が報告された²⁹⁻³¹⁾。これらの腹腔内投与による研究は、過去に行われた一連の研究を参考として実施されているが、アスベスト様の繊維状粒子による中皮腫誘発性に特化した評価系であるので、その妥当性や結果の詳細については後述

する。

その他の工業用ナノマテリアルに関する研究は、さらに断片的な研究しか報告されていない。しかし、上記3種のナノマテリアルに関する報告を見る限りにおいても、粒子の大きさや表面積だけでなく、表面活性や形状に依存した毒性研究が必要であることが示されている。

健康影響評価法開発における課題

ナノマテリアルの直接的または間接的な暴露による生体影響や環境に対する研究情報は現在のところ上記のように限られており、影響を定量的に評価する指針も定まっていない。また、評価するための安全性試験法に関して、ナノマテリアルの物理化学的特長を考慮すると、試料の投与方法、投与形態、存在状態の要素がこれまでの化学物質の評価方法に比べて重要性が高いと考えられる他、物性に基いて基礎的な研究も必要であると思われる。また、ナノマテリアルの定義や応用分野の広さから、今後、対象となる物質は、多種多様の組成と構造を持つことが考えられ、全ての対象について標準的な生体影響試験法を策定することは困難で、実際にはケースバイケースの対応が必要になると考えられる。しかし、ナノマテリアルの物理化学的特長を考慮して、個別の生体影響試験において、その後の影響評価に適切に使用するために予め測定しておくべき項目や、分散法を主とした暴露法などにおける改良点や検討項目について整理しておくことは可能であると考えられ、標準的な毒性手法を適用する場合のガイダンスや最適化手法についての国際的な議論が進みつつある。この点に関しては、後述するようにOECDなど国際機関が中心となって、様々な形の情報共有や共同プロジェクトが進められている。

国立医薬品食品衛生研究所の厚生労働科学研究班における取り組み

このような状況の下、我々が所属する研究班では、評価法の確立のための総合的な基盤研究を行うことを目的とした研究を進めてきた。まずは、高生産量のナノマテリアルを検証物質として選び、*in vivo*生体影響評価手法の開発、ナノ粒子の吸入毒性評価手法の開発、暴露測定法および動態解析法の開発、*in vitro*試験系の開発および、国際動向調査の5部門による研究を行ってきた。その結果、*in vivo*試験法では、p53(+/-)マウスに多層カーボンナノチューブ(MWCNT)を腹腔内投与することにより、中皮腫が発生することを確認すると共に、経気管肺内噴霧法を用いた酸化チタンによるc-Ha-rasラットとフラレン(C60)による通常ラットへの発がんプロモーション作用を見いだした。吸入試験法では、MWCNTのTween20を用いたミスト状態での安定した暴露実験が可能なこと

を確認した。暴露測定法および動態解析では、フラーレンのラットへの強制単回経口投与と、MWCNTの気管内投与による生体試料での定量的な検出が可能であることを確認した。*in vitro*試験法の研究においては、リポソーム懸濁フラーレンの暴露により、小核誘発性、神経細胞機能蛋白質に対する影響、Caco-2細胞を使った細胞透過性、マクロファージ細胞からのサイトカイン放出に関して、特に強い影響が見られなかったことを確認してきた。国際動向調査においては、OECDに設置されたワーキンググループ内での討議で、加盟各国でのボランタリーな初期評価研究を進めることが合意されており、本研究班の成果も積極的に取り入れていくべきことが示された。

これらの研究成果をとおして、MWCNTの吸入暴露システムや生体内検出法や*in vitro*試験法のための基礎的技術を確認することを可能にすると共に、MWCNT腹腔内投与での繊維状粒子として観察された事象や気管内投与による発がんプロモーション作用の結果により、*in vivo*長期暴露研究の必要性を強く示すことができたと考えている。

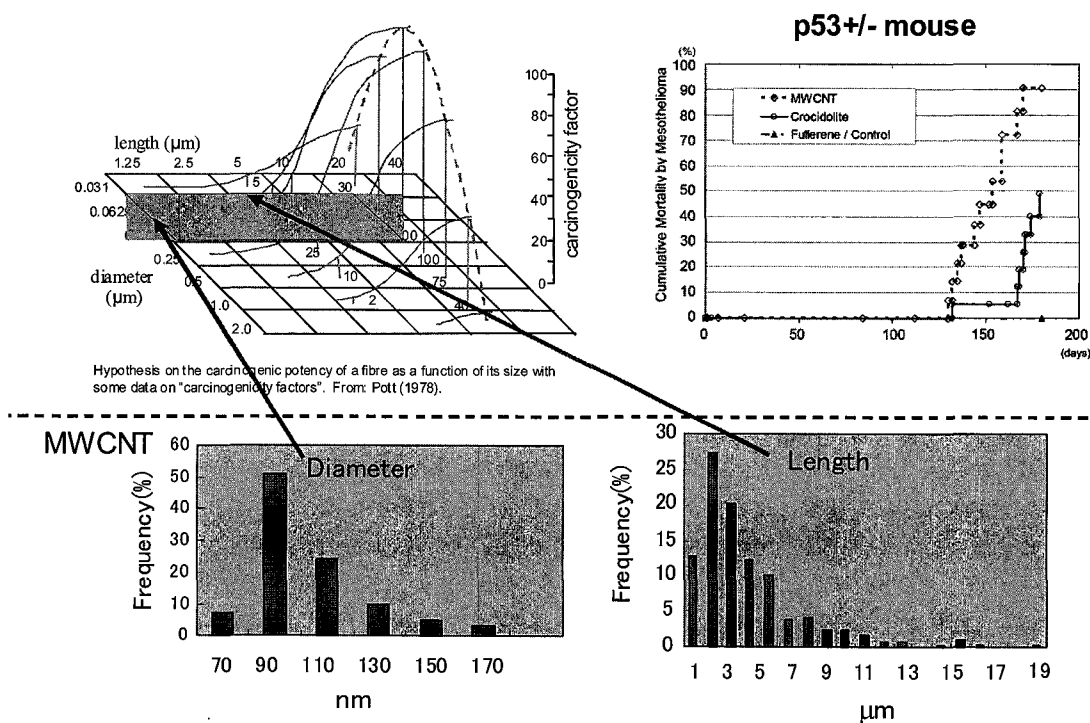
アスベスト様サイズの繊維状粒子の腹腔内投与試験の妥当性

我々のMWCNT腹腔内投与研究を含めて、最近報告されている様々な長さを持つカーボンナノチューブ類の中皮腫誘発性研究については、アスベスト様の繊維状粒子

に関する過去の研究を参考としてデザインされている。ここでは、これらの研究が行われた理由を説明するために、まず過去の経緯についての概説を行う。

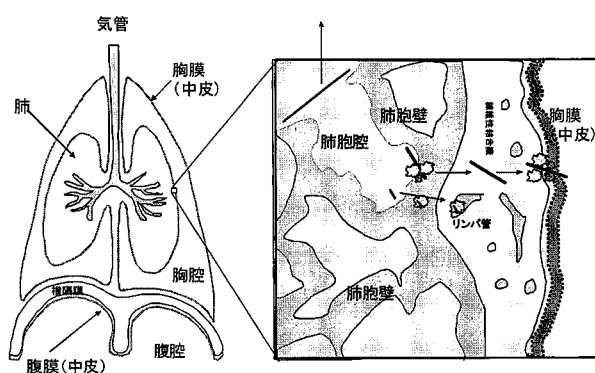
アスベストなどの繊維状粒子の吸入暴露による肺発がん性ポテンシャルは、繊維径と長さおよび体内残留性に依存することが知られている。Davis(1989)ら³²⁾のラットを使った吸入実験では、20 μm 以上の繊維数の多いクリソタイルでアスベスト線維症と発がん性が強くなる傾向が示唆された。それまでの様々な治験をもとにPott(1978)³³⁾は、繊維系と繊維長を関数として発がんポテンシャルの強さを示す仮説を提唱した(図2)。一方、アスベストによる実験動物による中皮腫の誘発は、最初にラットへの胸腔内へのアスベスト埋入実験によって、Wangerによって証明された。さらに、Stanton(1981)ら³⁴⁾による様々な径と長さの分布を持つアスベストを含む鉱物系繊維を胸膜に埋入した実験により、径が1.5 μm 以下で、長さが4 μm 以上の繊維の割合が多いものが、発がん性の強いことが示唆されている。これらの知見をもとに、WHO(1986)³⁵⁾では、繊維長、径および化学組成は体内での沈着、クリアランス、移動に重要な因子であり、胸腔内あるいは腹腔内へ直接投与して中皮腫を誘発させる一連の研究結果からは、繊維長と径が主要な因子であるとした。

図2. 腹腔内投与による中皮腫誘発作用の検討



この形状に依存した繊維性粒子の発がん性などの慢性影響は、肺の中での体内残留性に関連していると考えられている。WHOでは、PCOMサンプラーでカウント可能な、繊維長 $5\mu\text{m}$ 以上で、繊維径が $3\mu\text{m}$ 以下で且つ、繊維長:繊維径のアスペクト比3:1以上の粒子 (WHO fiber) を、職域環境でのモニター粒子として推奨してきた。これは、繊毛のある気道を通り抜けて、胚胞まで到達できる粒子 (respirable) は空気力学的な繊維径が $5 \sim 10\mu\text{m}$ 以下とされているが、繊維長は空気力学的な繊維径に影響を与えないことが示されている^{36, 37)}ことや、 $5\mu\text{m}$ 以上の大きさの繊維は、マクロファージで除去するには大きすぎることによるものであると解釈されている。その結果、これらの繊維状粒子の肺胞域への到達性と、生理学的な難除去性が、繊維長の長い繊維の有害性を示す根拠の一つであると考えられている (図3)。

図3. 繊維状粒子の肺胞域への到達性と生理学的難除去性



アスベストや鉱物系の繊維以外の人工的なガラス質繊維を用いた試験でも、繊維長に依存した発がんポテンシャルを示す結果が得られている。しかし、同じ形状を持つ繊維でもその化学組成の違いで、発がん・慢性影響に違いがあることが示された。また、アスベストの一種クリソタイル (白石綿) も不純物の少ないものは、クロシドライトやアモサイトよりも、繊維数あたりの催腫瘍性が弱いことが知られている³⁸⁾。化学組成の内、鉄原子が、活性酸素発生に強く関わっており、発がん機序の因子と考えられている。実際、クリソタイルを含めたアスベストや人工ガラス質繊維の不純物としても混在している。しかし、その混在量は、同じ物質でもサンプルごとに異なるほか、どのタイプの鉄原子が発がん性に関わっているかは依然不明であり、鉄の混在量と活性酸素の発生量に明らかな相関関係は認められていない³⁹⁾。鉄含量は中皮腫誘発の増強要因であるが、絶対要因ではない。

一方、体内残留性は慢性影響に関して、形状因子 (線維長と径) の以外に他に最も重要であると認識されてい

る因子としては、化学組成に基づく繊維の体内での耐久性 (durability) が知られている⁴⁰⁾。形状的には、体内残留性が高いと思われる形状の物質でも、長期間体内に残留している間に、粒子表面の収縮や侵食などにより、繊維が分解されたり短くなったりすることにより、物質の組成によっては、肺胞内から除去されていくメカニズムのあることが示唆されている。実際、肺内からの繊維 (特に繊維長の長い ($20\mu\text{m}$ 以上) 繊維) の排出半減期の長さが、肺への障害性と相関していることが、人工ガラス質繊維を用いた研究で示されている⁴¹⁾。一方、腹腔内投与による中皮腫の誘発の強さも、繊維長の長い繊維の肺からの排出半減期の長さによく相関していることが示されている⁴²⁾。1997年のECのガラス性繊維の有害性物質の分類、包装、表示に関する指定 (EC Commission directive 97/69/EC)⁴³⁾の中では、上記のような知見を受けて、腹腔内投与あるいは吸入試験での発がん性試験での知見に加えて、 $20\mu\text{m}$ 以上の繊維の肺からの消失半減期 (吸入の場合10日、気管内投与の場合40日より短い場合は発がん物質としての表示から除外している) を基準として採用している。

最近のアスベスト代替繊維の評価に関するWHO/IPCSの2005年のワークショップ (WHO Workshop on Mechanisms of Fibre Carcinogenesis and Assessment of Chrysotile Asbestos Substitutes. 8-12 November, 2005, Lyon, France) でもサマリーレポートのなかで、

「物理化学的性質として、化学組成は、繊維の構造と物理化学的性質 (表面積や表面活性) を決定する主要因子であり、繊維粒子成分から発生するフリーラジカルはDNA障害や変異原性を引き起こす。また、繊維表面の物理化学的性質は炎症反応を決定する因子となる。また、繊維の半径・長さや蓄積性に関しては、繊維の長さに依存して生体内残留性が大きくなれば、繊維粒子による発がん性が強くなる傾向にあるとされているが、これはガラス製の繊維によって確認されている事項であり、他の種類の繊維状粒子でも証明されている訳ではない。」

という有害性評価に関するコメントが参加者によるコンセンサスとしてまとめられている。

以上のようにこれまで繊維状粒子と中皮腫の誘発能に関しては、繊維の径と長さ、構成成分、生体内半減期等様々な因子を用いた数多くの研究がなされてきており、アスベストとガラス性繊維に関してはある程度のコンセンサスが得られているものの、繊維性粒子全体の評価としては、依然、明確な国際的コンセンサスは確立していない状況である。しかし、frustrated phagocytosisを仮説とし、組成に関わらず粒子のサイズと形状を重視する考

えも否定されていない。

合成有機繊維やカーボンナノチューブ等の新しい素材の繊維性粒子に関しては、上記のような知見が当てはまるかどうかについては確認の必要性が提言されていた⁴⁴⁾。そこで、我々の研究班では、炭素原子が主成分であるカーボンナノチューブについて、その形状（繊維長や径）から予想される中皮腫誘発能を検証することとした。

繊維長の長いタイプのMWCNTの腹腔内投与試験の結果

我々の研究で使用した多層カーボンナノチューブ(MWCNT)について、その繊維径と長さを測定したところ図2の結果を得ている。これらの大きさは、初期に提唱された発がんポテンシャルを示す大きさのレンジと重なることが示された。その発がん性を評価するにあたり、暴露経路を考慮すると吸入暴露による実験が適切であるとは考えられたが、カーボンナノチューブは、凝集しやすい性質を持っており、研究班がスタートした直後においては、液体等に分散するなどして気管内投与を行うことを念頭においても、適切に分散して投与/吸入暴露を行う手法が存在していなかった。また吸入暴露による検証の必要性についても、論議の分かれるところであり、過去の吸入暴露実験による齧歯類の発がん感受性が人のそれに対して著しく低く、発がんポテンシャルを過小評価する可能性、そして、むしろ齧歯類における腹腔内投与結果との対応の方が、人における発がんポテンシャルを正當に評価するのではないかとの指摘もあるため、上述した腹腔内投与法の妥当性に鑑み、最初の試験の暴露経路として検出力の高い腹腔内暴露を選定した。しかし、最も発がんポテンシャルの強いアスベスト(クロシドライト)を用いた腹腔内投与研究でも、中皮腫の誘発には、1年以上の期間が必要であることが知られていたため、より短期間での検出法を検討した。その結果、P53(+/-)ヘテロノックアウトマウスを使った腹腔内投与手法により、アスベストによる中皮腫誘発を約半年まで短縮できる研究が報告^{45, 46)}されており、この手法を用いてナノチューブとフラーレンを検討することとした。P53(+/-)マウスを用いたオリジナルの手法では、200 μ g(5.8 $\times 10^8$ fibre)を週に一回35週間腹腔内投与しているが、複数回投与による繊維長非依存的な毒性を回避するために単回投与で行うこととした。また、未だ最終化はされていないが、1997年にECのEuropean Chemical Bureauの合同研究センター(Joint Research Center)で作成されたManMadeMineralFibres(MMMF)試験法のドラフト案⁴⁷⁾では、繊維数として1 $\times 10^9$ WHO fiber/ratの単回投与を標準としている。また、Rollerら(1997)⁴⁸⁾の様々な繊維粒子を腹腔内投与した際の用量(繊維数)依存性からは、10⁹ fiber/animal程度を投与すれば、様々な繊維で

の中皮腫の発生を捉え得ることが示されている。研究結果としては、p53のヘテロノックアウトマウスに3mg/miceを腹腔内単回投与した場合に、投与後半年までの間に、ほとんどのマウスに中皮腫の発生が認められた³⁰⁾。(尚、現在解析中の追加試験では、1000分の一の用量である3 μ g/mouseの腹腔内投与でも、中皮腫の発生することを確認している)。同時に投与したクロシドライト(3mg/mice)においても、ほとんどのマウスに中皮腫を誘発したが、未修飾フラーレンを同用量(3mg/mouse)投与した場合は、対象群と同様に中皮腫の発生を認めなかった。

ほぼ同時期に発表された別の研究では、長さの違う4種類のMWCNTを50 μ g/kgの用量で腹腔内単回投与して、7日後の中皮細胞の増殖性を検証したところ、長いタイプの2種類について腹腔側にCNTを取り込んだ群においてのみ細胞が集合した肉芽の形成が認められた²⁹⁾。この結果は、我々の結果を支持する結果である⁴⁹⁾。さらに、我々が用いた長いタイプのMWCNTは、野生型のラットを用いた腹腔(陰嚢腔)内投与研究によっても、中皮腫を誘発する能力を持つことが明らかにされた³¹⁾。尚、短いタイプやその他の様々な形状のMWCNTにおける慢性毒性は別途検証する必要がある。

慢性影響研究の重要性

p53のヘテロノックアウトマウスにナノマテリアルを腹腔内投与した我々の研究では、分散したMWCNT繊維が食細胞によって貪食された像として認められ、繊維を含んだ細胞が腹膜の病変部のみならず肝臓洞内又は肝葉間の線維性中隔に沿って及び腸間膜リンパ節の中にも認められることが示されている。また、中皮腫誘発性を示さなかったフラーレンについては、腹膜において小さな暗褐色斑を漿膜表面に認めるのみであったが、この暗褐色斑は投与したフラーレン凝集塊のサイズと形が一致しており、その裂隙の辺縁が褐色に染まった像が捕らえられている。これは、食細胞によるフラーレン粒子の表面の生体による細分散の可能性を示唆しているものと推定された。この実験を再解析した結果、フラーレン投与群において、体重増加抑制、腎の巣状萎縮、組織学的に尿管上皮の空胞変性(PAS染色陰性、脂肪染色陰性)～尿管の萎縮と円柱形成によるネフロン萎縮ないし脱落が誘発されていることが示唆され、現在、追試による確認を進めている。少なくともフラーレン凝集体が貪食細胞等により細粒化され、全身に再分布して影響を引き起こした可能性が示唆された。

以上のことは、アスベスト様の繊維状粒子の慢性暴露による中皮腫誘発性だけではなく、体内に取り込まれ得るサイズのナノマテリアルの長期体内残留とそれに対

する生体反応の様式が、慢性的に身体に大きく影響することを示唆しており、ナノマテリアルの未知の生体影響を検索していくための慢性影響研究は、より重要な研究テーマとして取り上げるべきであると考えられる。

おわりに

産業用ナノマテリアルはナノテクノロジーの中心的新規物質として、近年急速にその種類や生産量が増加しつつあるが、産業用途として期待されている物理化学特性は、同一化学組成を持つ大きな構造体とは異なる生理活性やヒト健康影響に対する懸念をもたらす可能性を含んでいる。このような懸念に対して、ナノマテリアルの特性を考慮した有害性評価手法の開発と評価の実施が急務となっており、我々は、本問題に対処するための体内動態モニタリング法、*in vitro*及び*in vivo*の評価法開発の為に基礎的研究を進めてきたところである。ナノマテリアルによる健康影響評価法について論点の整理では、基本的な評価概念については、従来の化学物質と同様であると考えられるものの、ナノマテリアル特有の物理化学的性状のため、特に分散法や体内蓄積性といった観点で新しい技術の導入や手法開発が必要であることが示された。一方、ナノマテリアルの想定された体内動態に従い最も懸念された慢性影響として、繊維状粒子による中皮腫形成について、アスベスト同様の大きさや形の繊維を含むカーボンナノチューブが腹腔内投与試験よりそのポテンシャルを持つことを明らかにしてきた。加えて、この研究は短い繊維状のナノチューブやフラーレンが、細胞による貪食作用等を介して体内に再分布する可能性を示唆した。これらのことは、ナノマテリアルの長期体内残留とそれに対する生体反応の様式が、慢性影響に大きく影響することを示唆すると共に、表面活性の高いナノマテリアルと体内成分（細胞を含む）との基礎的な相互作用、体内残留様式、及び慢性有害性影響の同定が、ナノマテリアルの健康影響評価研究の中で最も重要な検討事項であることを示したものであると考えている。多くの点で未確定の部分が多いナノマテリアルの健康影響評価において、*in vitro*及び*in vivo*の評価などの様々なアプローチが必要であることに異論の余地はないところである。しかし、闇雲にあらゆるエンドポイントやスクリーニング手法の検証を進めることより、回り道のようにみえるかもしれないが、想定される重要な*in vivo*影響を同定し、その影響の発現メカニズムや検出マーカーを検索しながら評価手法を整備していくことの方が、より早く評価手法の確立に繋がるのではないかと考えている。

1) SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), The appropriateness

of existing methodologies to assess the potential risks with engineered and adventitious products of nanotechnologies. Adopted during the 10th plenary 26 March 2006 after public consultation. SCENIHR 002/05 (2006).

- 2) SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), Opinion On The Appropriateness Of The Risk Assessment Methodology In Accordance With The Technical Guidance Documents For New And Existing Substances For Assessing The Risks Of Nanomaterials. Adopted during the 19th plenary 21-22 June 2007 after public consultation (2007).
- 3) FSA (Food Safety Authority of Ireland), The Relevance for Food Safety of Applications of Nanotechnology in Food and Feed (2008).
- 4) COT, UK Committees on toxicity, mutagenicity and carcinogenicity of chemicals in food, consumer products and the environment (COT, COM, COC). Joint statement on nanomaterial toxicology (2005).
- 5) COT, UK Committee on toxicity, of chemicals in food, consumer products and the environment. COT Addendum to joint statement of the Committees on toxicity, mutagenicity and carcinogenicity of nanomaterial toxicology. COT Statement 2007/01, March 2007 (2007).
- 6) Lee, K.P. Trochimowicz, H.J. and Reinhardt, C.F.:Toxicol. Appl. Pharmacol. 79, 179-92 (1985)
- 7) IARC:IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 46, 1-458 (1989)
- 8) IARC. Summaries and Evaluation. Carbon Black, Titanium Dioxide and Non-Asbestiform Talc. 2006; Available from: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Meetings/93-titaniumdioxide.pdf>.
- 9) Donaldson, K. Stone, V. Clouter, A. Renwick, L. and MacNee, W.:Occup. Environ. Med. 58, 211-6, 199 (2001)
- 10) Oberdorster, G. Maynard, A. Donaldson, K. Castranova, V. Fitzpatrick, J. Ausman, K. Carter, J. Karn, B. Kreyling, W. Lai, D. Olin, S. Monteiro-Riviere, N. Warheit, D. and Yang, H.:Part Fibre Toxicol. 2, 8 (2005)
- 11) Warheit, D.B. Webb, T.R. Sayes, C.M. Colvin, V.L. and Reed, K.L.:Toxicol. Sci. 91, 227-36 (2006)
- 12) Warheit, D.B. Webb, T.R. Reed, K.L. Frerichs, S. and Sayes, C.M.:Toxicology. 230, 90-104 (2007)
- 13) Lademann, J. Weigmann, H. Rickmeyer, C.

- Barthelmes, H. Schaefer, H. Mueller, G. and Sterry, W.:*Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 12, 247-56 (1999)
- 14) Pflucker, F. Wendel, V. Hohenberg, H. Gartner, E. Will, T. Pfeiffer, S. Wepf, R. and Gers-Barlag, H.:*Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 14 Suppl. 1, 92-7 (2001)
- 15) Kreilgaard, M.:*Adv Drug Deliv Rev.* 54 Suppl. 1, S77-98 (2002)
- 16) Sera, N. Tokiwa, H. and Miyata, N.:*Carcinogenesis.* 17, 2163-9 (1996)
- 17) Baiertl, T. Drosselmeyer, E. Seidel, A. and Hippeli, S.:*Exp Toxicol. Pathol.* 48, 508-11 (1996)
- 18) Sayes, C. Fortner, J. Guo, W. Lyon, D. Boyd, A. Ausman, K. Tao, Y. Sitharaman, B. Wilson, L. Hughes, J. West, J. and Colvin, V.:*Nano Lett.* 4, 1881-1887 (2004)
- 19) Isakovic, A. Markovic, Z. Todorovic-Markovic, B. Nikolic, N. Vranjes-Djuric, S. Mirkovic, M. Dramicanin, M. Harhaji, L. Raicevic, N. Nikolic, Z. and Trajkovic, V.:*Toxicol. Sci.* 91, 173-83 (2006)
- 20) Sayes, C.M. Marchione, A.A. Reed, K.L. and Warheit, D.B.:*Nano Lett.* 7, 2399-406 (2007)
- 21) Moriguchi, T. Yano, K. Hokari, S. and Sonoda, M.:*Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures.* 7, 195 - 209 (1999)
- 22) Moriguchi, T. Yano, K. Hokar, S. and Sonda, M.:*Fullerene Science and Technology.* 7, 195-209 (1999)
- 23) Warheit, D.B. Laurence, B.R. Reed K, L. Roach, D.H. Reynolds, G.A.M. and Webb, T.R.:*Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology.* 77, 117-125 (2004)
- 24) Lam, C.-W. James, J.T. McCluskey, R. and Hunter, R.L.:*Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology.* 77, 126-134 (2004)
- 25) Shvedova, A.A. Kisin, E.R. Mercer, R. Murray, A.R. Johnson, V.J. Potapovich, A.I. Tyurina, Y.Y. Gorelik, O. Arepalli, S. Schwegler-Berry, D. Hubbs, A.F. Antonini, J. Evans, D.E. Ku, B.-K. Ramsey, D. Maynard, A. Kagan, V.E. Castranova, V. and Baron, P.:*American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology.* 289, L698-708 (2005)
- 26) Li, Z. Hulderman, T. Salmen, R. Chapman, R. Leonard, S.S. Young, S.-H. Shvedova, A. Luster, M.I. and Simeonova, P.P.:*Environmental health perspectives.* 115, 377-382 (2007)
- 27) Muller, J. Huaux, F. Moreau, N. Misson, P. Heilier, J.-F. Delos, M. Arras, M. Fonseca, A. Nagy, J.B. and Lison, D.:*Toxicology and applied pharmacology.* 207, 221-231 (2005)
- 28) Nemmar, A. Hoet, P.H.M. Vandervoort, P. Dinsdale, D. Nemery, B. and Hoylaerts, M.F.:*Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* 5, 1217-1226 (2007)
- 29.) Poland, C.A. Duffin, R. Kinloch, I. Maynard, A. Wallace, W.A. Seaton, A. Stone, V. Brown, S. Macnee, W. and Donaldson, K.:*Nat Nanotechnol.* 3, 423-8 (2008)
- 30) Takagi, A. Hirose, A. Nishimura, T. Fukumori, N. Ogata, A. Ohashi, N. Kitajima, S. and Kanno, J.:*J Toxicol. Sci.* 33, 105-16 (2008)
- 31) Sakamoto, Y. Nakae, D. Fukumori, N. Tayama, K. Maekawa, A. Imai, K. Hirose, A. Nishimura, T. Ohashi, N. and Ogata, A.:*J Toxicol. Sci.* 34, 65-76 (2009)
- 32) Davis, J.M.:*IARC Sci Publ.* 33-45 (1989)
- 33) Pott, F.:*Staub, Reinhaltung der Luft.* 38, 486-490 (1978)
- 34) Stanton, M.F. Layard, M. Tegeris, A. Miller, E. May, M. Morgan, E. and Smith, A.:*J Natl Cancer Inst.* 67, 965-75 (1981)
- 35) WHO, ASBESTOS AND OTHER NATURAL MINERAL FIBRES (ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 53) (1986).
- 36) Timbrell, V.:*J. Occup. Health Soc. Aust.* 3, 3-12 (1983)
- 37) HSE, An inventory of fibres to classify their potential hazard and risk (2006).
- 38) Bernstein, D.M. Rogers, R. and Smith, P.:*Inhal. Toxicol.* 15, 1247-74 (2003)
- 39) WHO, Consensus report of 'IARC Scientific publication No.140' (1999).
- 40) Bignon, J. Saracci, R. and Touray, J.C.:*Environ Health Perspect.* 102 Suppl. 5, 3-5 (1994)
- 41) Hesterberg, T.W. Chase, G. Axten, C. Miller, W.C. Musselman, R.P. Kamstrup, O. Hadley, J. Morscheidt, C. Bernstein, D.M. and Thevenaz, P.:*Toxicol. Appl. Pharmacol.* 151, 262-75 (1998)
- 42) Bernstein, D.M. Riego Sintes, J.M. Ersboell, B.K. and Kunert, J.:*Inhal. Toxicol.* 13, 823-49 (2001)
- 43) EC:Official Journal of the European Communities, (1997)
- 44) Donaldson, K. and Tran, C.L.:*Mutat Res.* 553, 5-9 (2004)

- 45) Marsella, J.M. Liu, B.L. Vaslet, C.A. and Kane, A.B.:*Environ. Health Perspect.* 105 Suppl 5, 1069-72 (1997)
- 46) Vaslet, C.A. Messier, N.J. and Kane, A.B.:*Toxicol. Sci.* 68, 331-8 (2002)
- 47) ECB, METHODS FOR THE DETERMINATION OF THE HAZARDOUS PROPERTIES FOR HUMAN HEALTH OF MAN MADE MINERAL FIBRES (MMMF) (1999).
- 48) Roller, M. Pott, F. Kamino, K. Althoff, G.H. and Bellmann, B.:*Environ. Health Perspect.* 105 Suppl. 5, 1253-6 (1997)
- 49) Kane, A.B. and Hurt, R.H.:*Nat. Nanotechnol.* 3, 378-9 (2008)

抗マウスプリオンペプチドファージ一本鎖抗体の反応性

蜂須賀暁子[#], 児矢野聡, 菊池 裕, 中島 治, 青笹正義*, 松田治男*, 澤田純一, 手島玲子

Characterization of anti-mouse prion peptide single chain Fv antibody by phage display

Akiko Hachisuka[#], Satoru Koyano, Yutaka Kikuchi, Osamu Nakajima,
Masayoshi Aosasa, Haruo Matsuda, Jun-ichi Sawada and Reiko Teshima

Antibodies can distinguish not only differences in amino acid sequences (primary structure), but also differences in three-dimensional structure and thus may be useful for detecting the conversion of prion proteins, especially *in vivo*. For diagnosis, we prepared chicken single chain variable fragment (scFv) antibodies that specifically recognized a prion protein using a phage display approach. As antigen, mouse prion protein (MoPrP) 138-153 containing YYR residues was conjugated with KLH. Total RNA was extracted from the splenocytes of an immunized chicken, and the cDNA of scFv was ligated in a phagemid vector. The phage display scFv library was panned against the peptide antigen four times. Twenty-three scFv phage clones that tested positive using ELISA with the peptide antigen were then reacted with recombinant mouse prion protein (23-231), mouse brain homogenate, mouse neuroblastoma Neuro-2a, recombinant human V129 and M129 prion proteins, and human glyoma T98G using ELISA, immunoblotting analysis, and immunocytochemistry. The results suggested that the scFv phage clones were useful for detecting mouse and human prion proteins.

KeyWords: single chain Fv, antibody, prion, phage display, chicken

緒 言

病態関連分子の高次構造を認識する特異性の高い抗体をガンマ線核種で放射標識し、脳内に送達させ、単光子放射型コンピュータ断層撮影法 (SPECT) にて検出するイメージング法は、非侵襲的な診断及び病態解明に有用である。特に、神経系など生検ができない臓器においては、非侵襲的な検査がより重要になる。そこで、まず、伝達性海綿状脳症の診断に用いるための抗プリオンタンパク質一本鎖抗体 (single chain variable fragment, scFv) の作製を試みた。

プリオンタンパク質 (PrP) は哺乳類間で高度に保存された生体分子であり、ヒトとマウス間では204アミノ酸残基で92.2%の相同性があり、抗体の作製に一般的に用いられるマウスでは、免疫寛容が起こるため反応性の高い抗体が得られ難い。そのため、PrPノックアウト

マウスや、系統的に遠い動物種を利用することになる。PrPのヒトとニワトリ間での相同性は42.5%であることから、ニワトリは哺乳類のPrPに対する抗体作製に有用である。

また、抗原の相同性だけでなく、哺乳類と鳥類では抗体遺伝子の成熟過程においても相違がある。哺乳類では、免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の各々につき多種類のV、D及びJ遺伝子が存在し、その再編成により主に多様性を獲得している。一方、鳥類ではV(D)J再編成に関与する両端のV及びJ遺伝子は、重鎖及び軽鎖につき一つずつであり、V遺伝子の上位に多数存在する偽V遺伝子の遺伝子変換により多様性を獲得する。このことは、重鎖及び軽鎖共に、機能的V及びJ遺伝子が一つしかないということであり、一組のプライマーで抗体遺伝子の可変部位を増幅できることを意味する。

今回は、汎用的な手法の確立を念頭に置き、哺乳類と系統的に遠く、かつ、高度な免疫系を有するニワトリを用いて、スクリーニング能力に優れたファージディスプレイ法により、抗マウスプリオンタンパク質 (MoPrP) scFv抗体の作製を試みた。

[#] To whom correspondence should be addressed: Akiko Hachisuka; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.243; Fax: 03-3707-6950; E-mail: hachisuk@nihs.go.jp

* 広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学研究室 Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Molecular and Applied Biosciences, Laboratory of Immunobiology

実験方法

1 抗原

免疫抗原には, MoPrPの138-153残基に相当するペプチドのN末に3-maleimidobenzoic acid N-hydroxysuccinimide ester (MBS) を用いてkeyhole limpet hemocyanin (KLH) を結合させたもの (KLH-Cys-IHF-GNDWEDRYRENM) を用いた. パニング及びELISAの固相抗原には, 同一のペプチドを同様にovalbumin (OVA) に結合させたものを用いた. 組換えマウスプリオンタンパク質 (rMoPrP) 23-230は, 岸田らの方法¹⁾ を一部改変して作製した. マウスニューロblastoma細胞株 Neuro-2a (N-2a) 由来MoPrPのcDNAを, *EcoRI*と*NdeI*部位によりpET-23bに挿入し, *E. coli* BL21(DE3)pLysS に形質転換後, 0.4 mM isopropyl β -D-thiogalactopyranoside により発現誘導を行い, 発現したrMoPrPの精製は原法に従った. 129番目のコドンがMetとValの組換えヒトプリオンタンパク質 (rHuPrP) の調製は, 菊池らの方法²⁾ に従った.

2. 免疫

日本白色レグホン (5週齢, 雌) に深胸筋内にALUM (1 mg) と混和した免疫抗原 (100 μ g) を初回免疫後, 2週間間隔で計4回腹腔内に免疫した.

3. ファージディスプレイによるscFv抗体の調製

中村らの方法^{3,4)} に従った. 最終免疫3日後のニワトリ脾臓細胞から全RNAを抽出し, 逆転写酵素を用いてcDNAを合成した. 抗体可変領域重鎖(VH)及び軽鎖(VL)遺伝子をそれぞれPCRで増幅後リンカー (GGGGS)₃とアッセンブルPCRを行い, scFv遺伝子ライブラリーを作製した. scFv遺伝子をファージミドベクター pPDS⁵⁾ に組込み (Fig. 1), エレクトロポレーションにより*E. coli* XL1-Blueに形質転換した. ヘルパーファージVCS-M13 (Stratagene) 感染により培養上清中に発現させたファージディスプレイ scFvライブラリーを用いて, 抗原ペプチド (OVA-peptide) に対してパニングを行い, 特異抗体を濃縮した. パニング済ライブラリーから, ELISAで標的抗原に対して陽性反応を示すファージディスプレイ scFv抗体を選別した.

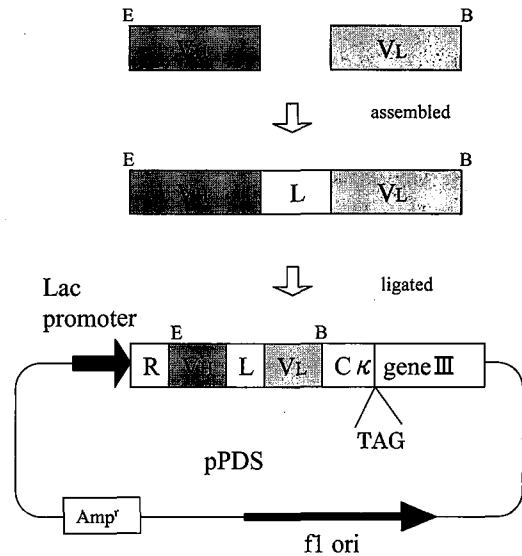


Fig. 1 Schematic diagram of phage-display vector pPDS. cDNA of immunoglobulin variable regions obtained from chicken spleen cells by RT-PCR (top) are assembled into scFv expression form. Assembled scFv cDNA (middle) is ligated to pPDS at *EagI* and *BssHIII* sites (bottom), then electroporated into *E. coli*. Recombinant phage displaying antibody fragment is prepared by helper phage infection. VH, variable region of Ig heavy chain; VL, variable region of Ig light chain; L, linker, (GGGGS)₃; E, *EagI* site; B, *BssHIII* site; R, ribosome binding site and leader sequence of gene III; C κ , constant region of Ig kappa chain; gene III, g3p of M13 phage.

4. ELISA

固相抗原として, 抗原ペプチド (OVA-peptide 2.5 μ g/ml in PBS) を96穴プレートに50 μ lずつ添加し, 4°Cで一晩コートし, 0.5% BSA-PBSでブロッキング後, ファージscFv抗体溶液を反応させた. 二次抗体にはアルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗マウスC κ 抗体 (x1/1000, SouthernBiotech), 基質にはp-nitrophenyl phosphateを用い, 405 nmの吸光度により測定した.

5. イムノブロット

rMoPrP, マウス脳膜画分及び細胞膜画分を還元下で可溶化後, ドデシル硫酸ナトリウム・ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を行い, ニトロセルロース膜に転写後, ファージscFv抗体溶液を反応させ, 2次抗体にアルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗マウスC κ 抗体 (x1/1000, SouthernBiotech) を用い, アルカリフォスファターゼ基質キット (BioRad) で可視化した.

6. 免疫組織染色

N-2a 細胞及びヒトグリオーマ細胞 (T98G細胞) をホルマリン固定し、ファージscFv抗体溶液を室温反応させ、イムノプロットと同様に可視化した。

7. ファージscFv抗体のシーケンシング

ELISAで陽性となったファージscFv抗体クローンのシーケンシングを、BigDye terminator cycle sequencing kit 及び3730 Gene Analyzer (Applied Biosystems) を用いて行った。

【結果及び考察】

1. ファージscFv抗体の調製

5羽のニワトリに抗原を5回免疫し、血清の抗体価を抗

原ペプチドに対するELISAにより測定したところ、全てのニワトリで上昇が認められた。最も抗体価が上昇したニワトリの脾臓細胞から調製したファージディスプレイscFvライブラリーを用いて、抗原ペプチドに対してパニングを4回繰り返した。抗原ペプチドに反応するファージscFv抗体の濃縮は、ELISAで確認した。パニング1回目 0.0375, 2回目 0.0445, 3回目 0.105, 4回目 0.121と、ELISAの値は回数を重ねる毎に上昇し、目的抗体が濃縮されていることが認められた。3回目及び4回目パニング済ライブラリーから各24クローンをピックアップしてファージscFv抗体溶液を調製し、抗原ペプチド及びrMoPrPに対する反応をELISAで調べ、陽性を示した23クローンを選別した (Table 1)。

Table 1 Characterization of phage anti-PrP scFv antibody

H Chain L Chain	Clone No.	ELISA		Immunoblot Analysis			Cytochemistry		Total Reac- tivity
		Peptide (138-153)	rMoPrP (23-231)	rMoPrP (23-231)	Mouse Brain Homogenate	r HuPrP (129V, 129M)	Mouse N2a	Human T98G	
H1- L4	8, 11, 14, 15, 21, 35, 38	1.60-2.04	0.33-0.59	708-1096	112-199	++	+, ++	++	+++
H2- L4	43	1.46	0.50	890	303	++	+++	++	+++
H1- L2	9	2.00	0.39	938	31		+		+
H2- L2	18, 44	1.80-1.96	0.19-0.43	361-1006	22-71	+	+/, +	++	+
H5- L2	2, 23	1.62-1.86	0.32-0.56	767-840	38-69		+, ++		++
H4- L2	5, 7, 24	1.58-1.96	0.38-0.51	745-1041	32-144		+, ++		+++
H4- L1	3, 4	1.00-1.59	0.11-0.40	26-1002	0-147		+/, +		+/, ++
H3- L7	19	1.60	0.36	836	138		++		++
H3- L3	22	1.74	0.42	908	143		+		++
H3- L5	26	1.53	0.30	641	121		+		+
H1- L6	47	1.27	0.41	772	154	++	++	++	++
H6- L8	25	0.84	0.71	0	0		+/-		-
-	1, 6	0.06	0.06	0	1-2	-	-	-	-

Number of H and L chains are shown in Fig. 6. Values of ELISA and immunoblot analysis are expressed as absorbance at 405 nm and arbitrary unit, respectively. Strength of total reactivity classified from the comprehensive analysis result.

2. ファージscFv抗体の反応性

得られた23クローンのファージscFv抗体溶液の反応性をELISAにより測定した。全長のrMoPrPより、ペプチド抗原に対して反応が強く出る傾向が認められた (Table 1)。

イムノプロット法により、rMoPrP、マウス脳膜画分及びrHuPrPに対する反応性を調べた。rMoPrPに対しては、2クローンは弱いものの全てのELISA陽性クローンで

rMoPrPの分子量23kD付近にバンドが検出された (Fig. 2)。マウス脳膜画分との反応も確認できた (Fig. 3)。二本の糖鎖の有無により、検出バンドは幅広くなり、ファージscFv抗体に含まれているCκ領域が、陰性コントロールでも認められた。また、rHuPrPの129M型及びV型とも高い反応性を示した (Fig. 4)。

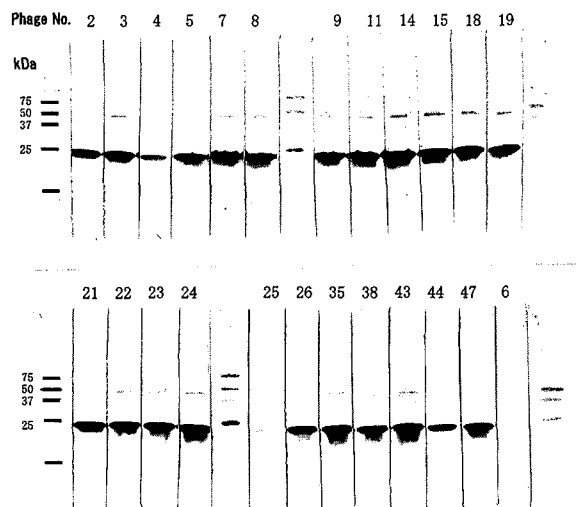


Fig. 2 Immunoblot analysis of recombinant mouse prion protein using phage scFv antibodies

SDS-PAGE was performed using 16% acrylamide gels. rMoPrP was loaded 0.2 μ g per lane. For immunoblot analysis, the proteins in gel were electrotransferred to nitrocellulose membrane. The membrane was blocked with 0.5% casein-PBS, incubated with phage scFv antibody (1/10 culture solution) for 2 hours at room temperature, washed, and reacted with alkaline phosphatase conjugated goat anti-mouse Ck (1/1000, SouthernBiotech) for 1 hour. Visualization was performed by alkaline phosphatase kit (BioRad). A phage scFv antibody of clone No. 6 was used as negative control.

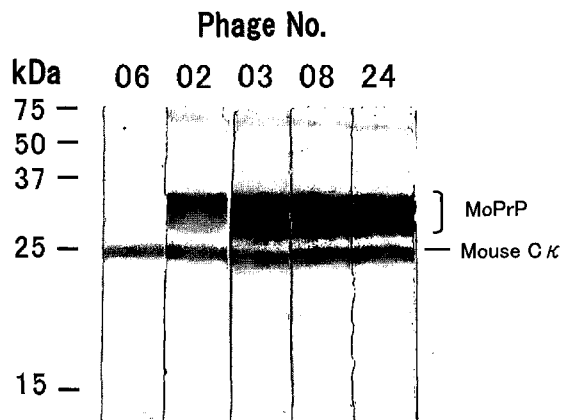


Fig. 3 Immunoblot analysis of mouse brain using phage scFv antibodies

Normal brain tissue from Balb/c mice was homogenized in 9 vol of 0.32 M sucrose containing 1 mM EDTA and 50 mM Tris-HCl. Homogenate was centrifuged at 1,000 x g for 5 min. The supernatant was centrifuged at 10,000 x g for 20 min. The pellet was resuspended in the same buffer, and an aliquot of equivalent to 2 mg wet brain was loaded per lane. The SDS-PAGE and immunoblotting were performed as described in Fig. 2. Phage scFv antibody of clone No. 6 was used as negative control.

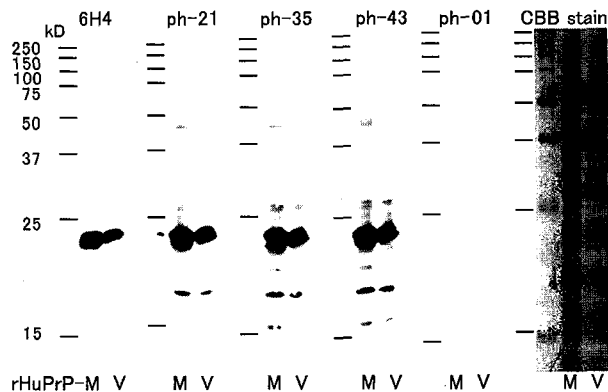


Fig. 4 Immunoblot analysis of recombinant human prion protein using phage scFv antibodies

E. coli strain BL21(DE3)pLysS transformed with HuPrP-129M or -129V was analyzed. The SDS-PAGE and immunoblotting was performed as described in Fig. 2. Monoclonal anti-PrP antibody 6H4 (Roche) was used as positive control and phage scFv antibody of clone No. 1 (ph-01) as negative control.

次に、培養神経系細胞に対する反応性を調べた。マウスN-2a細胞では、陰性対照のクローンでは全く染色されなかったが、ELISA陽性クローンでは3クローンを除き20クローンで染色された (Fig. 5)。反応性は、マウス脳膜画分に対するイムノプロット法と類似していた。ヒトT98G細胞でも、同様の結果であった。

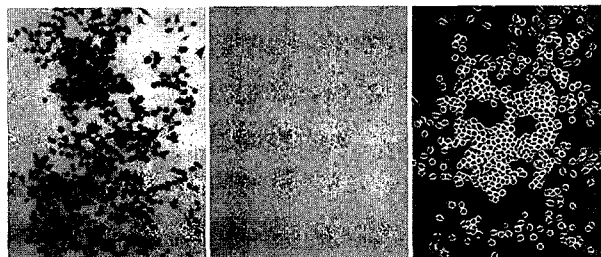


Fig. 5 Reactivity of phage scFv antibodies to mouse N2a cells
Mouse neuroblastoma N2a cells were cultured in MEM supplemented with non-essential amino acid (Gibco), 10% fetal calf serum and 100 μ g/ml kanamycin at 37 $^{\circ}$ C in 5% CO₂. Cells on cover glass were washed twice with PBS and fixed with 3.7% formalin for 15 minutes at room temperature. Fixed cells were blocked with 0.5% casein-PBS, and reacted with phage scFv antibody (x1 culture solution) at 4 $^{\circ}$ C overnight. Cells were washed with PBS and incubated with alkaline phosphatase conjugated goat anti-mouse Ck (1/1000, SouthernBiotech) at 4 $^{\circ}$ C for 2 hours. Visualization was performed as described in Fig. 2. Cells were stained by phage clone No. 08 (left) and not stained by phage clone No. 01 (middle). Right panel is a photograph of phase-contrast microscopy of the same field as shown in the middle panel.

ELISA陽性23クローンの反応性をTable 1にまとめた。反応性を3プラスで表したファージscFv抗体は、イムノブロットでのrMoPrPの検出限界において、陽性対照として用いた6H4抗体 (Roche) と、同等以上の反応性を示した。

3. ファージscFv抗体の遺伝子配列

陽性クローンのscFv抗体のシーケンスの結果、VHのアミノ酸配列は6種類であり、germlineとの相同性は77~80%であった (Fig. 6)。5種類のVH間では、アミノ酸配列が異なるところは5箇所のみであり、3箇所の相補性決定領域(complementarity-determining region, CDR)においても高い相同性が見られた。VLは8種類で、germlineとの相同性は76~81%であった。7種類のVH間では、3箇所のCDR32残基中27残基のアミノ酸が同一であった。両鎖とも、各々高い相同性が見られ、一種類ずつを除き、同一のクローンから点突然変異により多様性を獲得したことが示唆された。

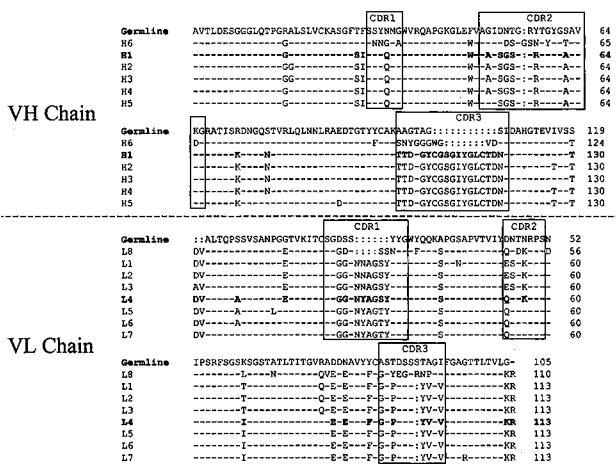


Fig. 6 Amino acid sequences of anti-PrP phage display scFv. Germline sequences were shown at the top line. CDRs were surrounded by boxes. Amino acid identity to the germline was shown by dash. The absence of corresponding residues was shown by colons.

4. 抗原ペプチドについて

抗原には、mPrPにおいて、正常型では α ヘリックス構造を取り、異常型では β シート構造を取り、病体と関連が深いと推定されている部分YYR6)を含む138-153残基に相当するペプチドを用いた。この部位は、マウスとヒトで2残基異なるが (Fig. 7), 今回、ファージscFv抗体が、HuPrPとも交差反応することが認められたことから、他の動物種とも反応する可能性が示唆された。

mouse, rat, hamster	IHFQNDWEDRYRENM
sheep, goat, rabbit	-----Y-----
human, bovine	----S-Y-----

Fig. 7 Sequence homology of prion peptide antigen in various species

伝達性海綿状脳症は、PrPの一次構造に違いはなく、高次構造変化がその病因と考えられているため、構造の変化を認識する抗体の研究も進められている。抗PrP抗体をイメージング法に用いるためには、目的分子との高い反応性、特異性だけでなく、結合解離定数、体内動態も重要である。今後、膜透過性を向上させるペプチド等を用いて、今回作製したscFv抗体の分布を中心にした体内動態の測定を行っていく予定である。

謝辞

本研究は、文部科学省原子力試験研究費により実施されたものである。

引用文献

- 1) Kishida H., Sakasegawa Y., Watanabe K., Yamakawa Y., Nishijima M., Kuroiwa Y., Hachiya N.S. and Kaneko K.: Amyloid, 11, 14-20 (2004)
- 2) Kikuchi Y., Kakeya T., Nakajima O., Sakai A., Ikeda K., Yamaguchi N., Yamazaki T., Tanamoto K., Matsuda H., Sawada J. and Takatori K.: FEBS J., 275, 2965-2976 (2008)
- 3) Nakamura N., Shuyama A., Shimokawa M., Miyamoto K., Hojyo S., Horiuchi H., Furusawa S. and Matsuda H.: J. Vet. Med. Sci., 66, 807-814 (2004)
- 4) Nakamura N., Aoki Y., Horiuchi H., Furusawa S., Yamanaka H.I., Kitamoto T. and Matsuda H.: Cytotechnology, 32, 191-198 (2000)
- 5) Yamanaka H.I., Kirii Y. and Ohmoto H.: J Biochem, 117, 1218-1227 (1995)
- 6) Paramithiotis E., Pinard M., Lawton T., LaBoissiere S., Leathers V.L., Zou W.Q., Estey L.A., Lamontagne J., Lehto M.T., Kondejewski L.H., Francoeur G.P., Papadopoulos M., Haghightat A., Spatz S.J., Head M., Will R., Ironside J, O' Rourke K, Tonelli Q, Ledebur HC, Chakrabarty A. and Cashman N.R.: Nature Medicine, 9, 893 - 899 (2003)

国内外におけるヒスタミン食中毒

登田美桜[#], 山本 都, 畝山智香子, 森川 馨

Histamine food poisonings in Japan and other countries

Miou Toda[#], Miyako Yamamoto, Chikako Uneyama, Kaoru Morikawa

Histamine food poisonings are allergy-like food poisonings caused by the ingestion of spoiled fish containing markedly elevated histamine levels. We examined histamine food poisonings in Japan from 1998 to 2008. In average 8 food poisonings and 150 cases were reported annually and there was no fatality case. In more than 80% of remaining food samples, histamine content exceeded 20 mg/100 g. These poisonings were caused by tuna, billfish (marlin) and mackerel, which contained higher level of histamine than other fishes in histamine food poisonings in Japan. Cooking methods of these fishes were mainly "broiled". We also studied histamine food poisonings in other countries. Tuna was the main fish in histamine food poisonings reported to Centers for the Disease Control and Prevention (CDC) in the US and Ozfoodnet in Australia from 2000 to 2006. In the US, histamine food poisonings were also caused by mahimahi and escolar fish. Our review will be useful for in taking measures to reduce risk of histamine food poisonings.

Keywords: histamine food poisoning, fish, Scombroid fish poisoning

1. はじめに

ヒスタミン食中毒は、鮮度の低下等によりヒスタミンが多く蓄積された魚介類やその加工品を喫食した場合に生じるアレルギー様の食中毒である。ヒスタミンの生成には微生物が深く関与しているが、微生物が食中毒の直接的な原因ではないことから、わが国の全国食中毒事件録では化学性食中毒として分類される。また、ヒスタミンは熱に安定であることから、微生物による食中毒とは異なり、焼き物や揚げ物などの加熱済みの食品でも食中毒が発生する。ヒスタミン食中毒は従前より恒常的に報告されているものの、食中毒の中でも症状が比較的軽く短時間で回復するため、他の食中毒よりも軽視される傾向がある。しかしながら、わが国の化学性食中毒の事例ではヒスタミン食中毒が最も多い。しかも、2009年1月に札幌市の小学校で患者数259人の食中毒が発生するなど、最近では保育所や学校が関係する給食施設を原因施設とする大規模な食中毒の発生が目立っている。本研究は、中毒を誘発すると考えられる食品中のヒスタミン濃度及び国内外における魚及び魚製品によるヒスタミン食中毒の事例について調査及び検討した。

2. 方法

国内のヒスタミン食中毒事例については、厚生労働省監修の全国食中毒事件録¹⁾にもとづき、1998～2008年の発生事例を対象に食中毒発件数及び患者数を調査した。ただし、2008年の事例については、2009年1月の時点で厚生労働省のウェブページで確認できた分とした。さらに、食品衛生学雑誌及び各都道府県の衛生研究所等の年報をもとに、個々の食中毒事案に関して残品及び検食(保存食)中のヒスタミン濃度などの情報を調査及び検討した。海外のヒスタミン食中毒事例については、1980年以降の発生事例を中心に、各国関係機関の公表資料及び文献情報を調査及び検討した。

食品中のヒスタミンに関して、中毒濃度に関する文献を調査・収集し、食中毒を起こすと考えられる食品中ヒスタミン濃度及び中毒症状の関係について検討した。食品中のヒスタミンの基準については、コーデックス及び各国の設定状況を調査した。

3. 結果

3-1. 国内のヒスタミン食中毒発生状況

国内における1998～2008年(過去11年間)のヒスタミン食中毒事例の届出件数と患者数をFig.1にまとめた。調査対象とした過去11年間において、2009年1月時点で確認できたヒスタミン食中毒の総届出件数は89件、患者数は1,577人、死亡者数は0人であった。平均すると、例年8件前後の届出数があり、2006年及び2008年は他年よ

[#] To whom correspondence should be addressed:

Miou Toda; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan;
Tel: 03-3700-1141 ext.296; Fax: 03-3700-1483; E-mail: miou@nihs.go.jp

り多く年間10件以上の届出があった。2003年及び2008年は年間の患者数が特に多かったが、2003年は、和歌山市において鉄火井（マグロ）の喫食者数171人に対し患者数113人という大規模な食中毒が発生したためであった。2008年は、患者数40人以上の事例が2件、78人の事例が1件と大規模な食中毒事例が複数確認された。

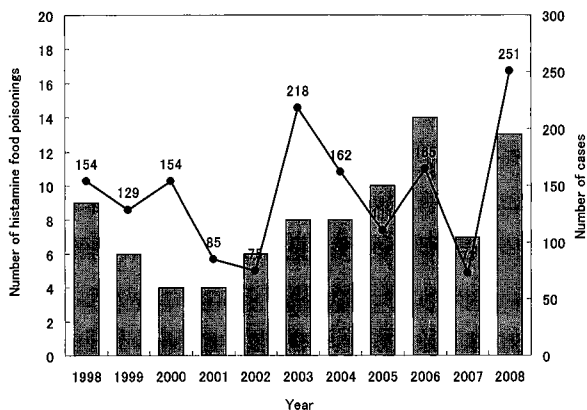


Fig.1. Number of histamine food poisonings and cases in Japan, 1998-2008

過去11年間のヒスタミン食中毒事例89件のうち、各都道府県の公表資料等で残品及び検食（保存食）中のヒスタミン濃度が確認できた74件について、原因食品（魚）の種類に関係なく検出濃度の分布をFig.2に示した。1件の事例で複数の検体を測定している場合には、最低濃度から最高濃度の濃度範囲を示した。その結果、残品及び検食中の濃度は不検出～1,267 mg/100 gであり、全体の8%は10 mg/100 g以下、12%は20 mg/100 g以下であった（複数の場合は最高濃度を採用）。発症時間はおおよそ喫食直後（約5分）～3時間で、大部分は1時間以内に発症した。症状は、発疹、顔面紅潮、頭痛、吐き気、嘔吐が多く、他に下痢、動悸、眼充血及び腹痛などであった。

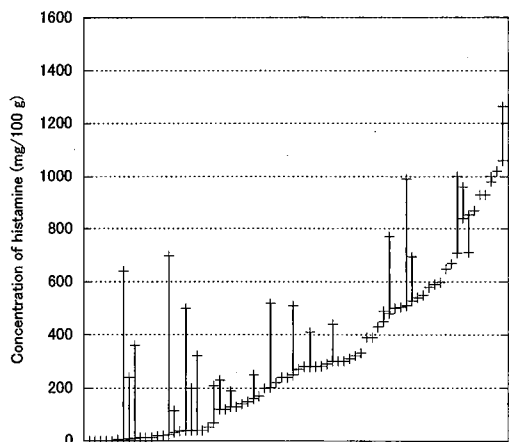


Fig.2. Histamine concentration in remaining samples of 74 histamine food poisonings in Japan, 1998-2008

次に、総届出89件について原因の魚種別件数をFig.3に示し、汚染濃度が確認できた事例74件について魚種別の検出濃度の範囲をFig.4に示した。最も事例数が多かったのはマグロ（33%）であり、次いでカジキ（18%）、サバ（13%）であった。魚種別に検出濃度を比較すると、最高濃度（サバのみりん焼き：1,267 mg/100 g）が測定されたサバのほか、マグロ、カジキ及びアジで高く、食中毒の事例数が多い魚種とほぼ一致した。

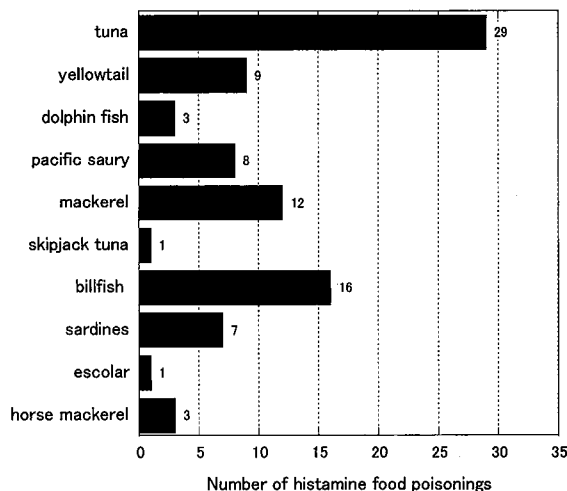


Fig.3. Fish species in 89 histamine food poisonings in Japan, 1998-2008

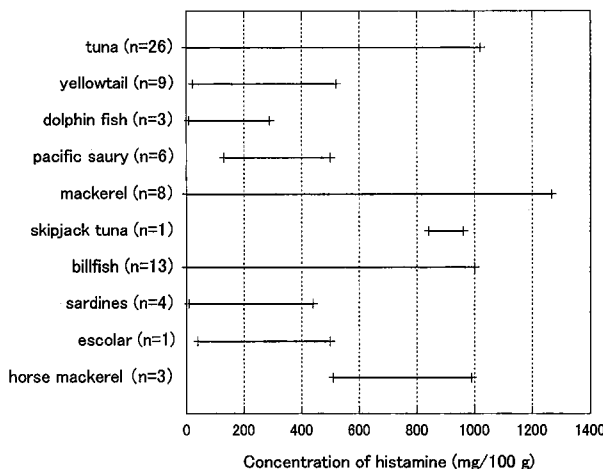


Fig.4. Histamine concentration in each fish species of 74 histamine food poisonings in Japan, 1998-2008

国内の食中毒事例の原因施設（Fig.5, a）は、飲食店及び給食施設（事業所、学校、病院）などの一度に多量の原材料を取り扱う施設が多かった。調理方法（Fig.5, b）では、焼き物が全体の約60%を占め、生ものは7%にすぎなかった。

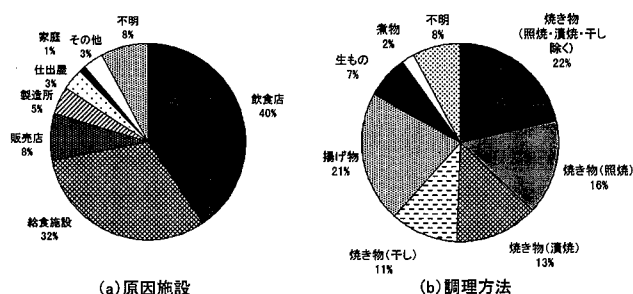


Fig.5. 国内食中毒事例の原因施設と調理方法

3-2. 海外のヒスタミン食中毒発生状況

2000年～2006年に米国疾病予防管理センター(CDC)²⁾に報告されたヒスタミン食中毒の件数及び魚種別の件数をTable 1及びTable 2に示した。米国における過去7年間のヒスタミン食中毒の件数は187件、患者数は752人であり、毎年20～30件のヒスタミン食中毒が報告された。魚種別の事例数では、マグロが全体の約50%を占め、次いでマヒマヒ、アブラソコムツ・バラムツが多かった。

2001年～2006年に豪州のOzFoodNet³⁾に報告されたヒスタミン食中毒の件数及び魚種別の件数をTable 1及びTable 2に示した。豪州はわが国や米国に比べて各年の事例件数は少なく、過去6年間の総件数は14件、患者数は57人であった。魚種別ではわが国や米国と同様にマグロの事例数が最も多かった。

Table 1. Number of histamine food poisonings and cases reported to CDC and Ozfoodnet, 2000-2006

Year	CDC		Ozfoodnet	
	Number of food poisonings	Cases	Number of food poisonings	Cases
2000	19	73	— ^{a)}	— ^{a)}
2001	27	126	1	4
2002	21	59	0	0
2003	32	186	4	29
2004	32	102	(1) ^{b)}	
2005	25	95	5	12
2006	31	111	4	12
all	187	752	14	57

a) We could not obtain the Ozfoodnet data for this year.

b) Suspected histamine

Table 2. Number of histamine food poisonings in each fish species reported to CDC and Ozfoodnet, 2000-2006

Fish species	CDC	Ozfoodnet ^{a)}
tuna	89	7
mahimahi	47	1
escolar	27	
marlin	5	
yellowtail	3	1
sardine		1
others	8	3
unspecified	8	1
all	187	14

a) We obtained the Ozfoodnet data from 2001 to 2006.

主に1980年以降に各国関係機関の報告書及び文献として公表された魚及び魚製品によるヒスタミン食中毒事例について調査し、当該食品中のヒスタミン濃度が確認できた事例を約113件収集した(ただし、複数の食中毒を1件にまとめて報告した文献も含む)。これらの事例について、報告された原因食品中のヒスタミン濃度の分布をFig.6に示した。1件の事例で複数の検体を測定している場合には最低濃度から最高濃度の濃度範囲を示した。その結果、原因食品中のヒスタミン濃度は1.25～2,000 mg/100 gであり、全体の6%は10 mg/100 g以下、9%は20 mg/100 g以下であった(複数の場合は最高値を採用)。次に、魚種別の検出濃度の範囲をFig.7に示した。ヒスタミン濃度(最高値)が最も高かったのはマグロ(2,000 mg/100 g)であり、次いでカウアイ(800 mg/100g)、アブラソコムツ(767 mg/100 g)、キングフィッシュ(758 mg/100 g)であった。詳細なデータは示していないが、国別の特徴としては、豪州及びニュージーランドではマグロ、近海でよく捕れるカウアイ及びキングフィッシュ、カナダ及び米国ではマグロ、マヒマヒ及びアブラソコムツ、欧州諸国ではマグロ、サバ、イワシ及びニシン、台湾ではマグロ、カジキ及びサバの報告事例が多かった。わが国と大きく違うのは、海外ではマグロ及びイワシの事例において缶詰製品が多数見られたこと、サバの事例で缶詰及び燻製品が多いことであった。

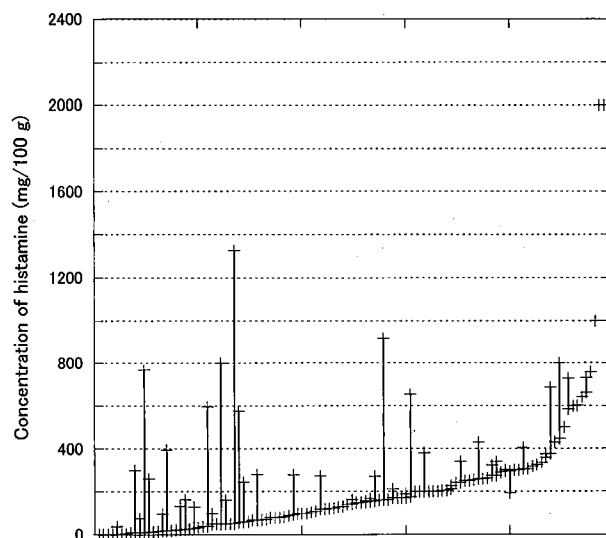


Fig.6. Histamine concentration in remaining samples of 113 histamine food poisonings in other countries

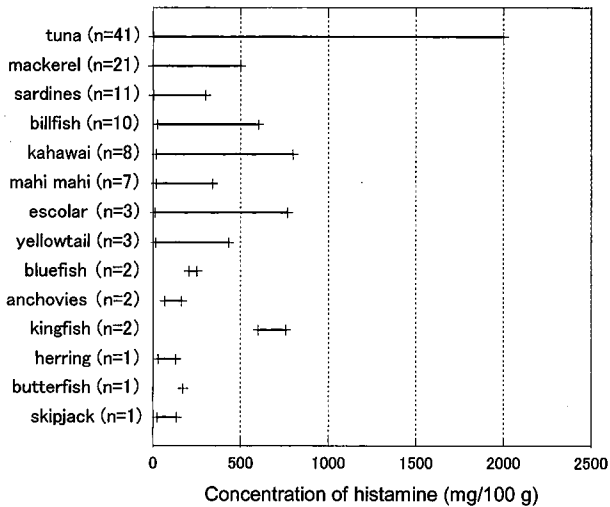


Fig.7. Histamine concentration in each fish species of 113 histamine food poisonings in other countries

3-3. 食品中ヒスタミンの食中毒濃度

文献情報をもとに、食中毒を起こすだろうと考えられている食品中のヒスタミン濃度をTable 3, 摂取量をTable 4に示した⁴⁻⁹⁾。摂取量については、食事1回分の魚の喫食量を80g又は150gと仮定した場合の食品(魚)中ヒスタミン濃度を算出した。いずれのデータにおいても、食品中のヒスタミン濃度が5 mg/100g未満の場合には正常(normal)であり、10 mg/100g以上では中毒を生じる可能性がでてくることが示唆された。さらに、100 mg/100gを超える場合には、症状が重篤になる可能性が推測された。

Table 3. Review of reports about histamine concentrations which may cause food poisoning

Concentration of histamine (mg/100g)	Qualitative risk	Ref.
>20	likely toxicity	4)
<20	occasionally toxicity	
50	Histamine food poisoning	
50~100	potentially dangerous	6)
<5	normal	7)
5~10	may cause mild disorders in susceptible subjects	
10~100	toxic	
>100	highly toxic	
<5	normal and safe	8)
5~20	mishandled and possibly toxic	
20~100	unsatisfactory and probably toxic	
>100	toxic and unsafe for consumption	

Table 4. Review of reports about toxic dose of histamine food poisoning. Histamine concentration in fish was estimated for toxic dose, when the amount of fish ingestion was assumed to be 80 g or 150g.

Toxic dose (mg)	Histamine concentration estimated in fish (mg/100g)		Ref.
	80 g ingestion	150 g ingestion	
8~40 mg: slight	10~50	5.3~26.7	9)
40~100 mg: moderate	50~125	26.7~66.7	
>100 mg: severe	>125	>66.7	
8~40 mg: mild ^{a)}	10~50	5.3~26.7	7)
70~1,000 mg: moderate ^{a)}	88~1,250	47~667	
1,500~4,000 mg: severe ^{a)}	1,875~5,000	1,000~2,667	

a) For 70 kg body weight

4. 考察

4-1. 国内のヒスタミン食中毒発生状況

わが国ではFig.1に示したように年間約8件のヒスタミン食中毒が報告され、特に最近は大規模な発生が見られた。ただし、2008年の事例については、厚生労働省のウェブサイトの全国食中毒事件録に2009年1月の時点で掲載されていた分までであり、その後2008年分として追加掲載された事例は含まれていない。そのため、2008年の最終的な届出件数及び患者数はさらに増加すると推測された。

過去11年間のヒスタミン食中毒において事例数が多かったのはマグロ、カジキ及びサバであった(Fig.3)。食品中のヒスタミンは、必須アミノ酸であるヒスチジンに細菌の酵素(脱炭酸酵素)が作用することで生成し、食品中のヒスタミン量はヒスチジン含量に大きく左右される。ヒスチジンの含量は白身魚に比べてマグロやサバ等の赤身魚で高く、細菌が利用できる遊離型も同様に赤身魚で高いと報告されている¹⁰⁾。特にマグロは赤身魚の中でもヒスチジン量が高く消費量も多いことから、ヒスタミン食中毒の原因に成りやすいと推測できる。本研究においてマグロが原因魚として上位であったことは、これを裏付けている。

国内のヒスタミン食中毒事例の調理方法では、焼き物及び揚げ物の事例が多く、特に照焼や漬焼などの加熱前に調味液への漬け置き作業が行われた事例が全体の約1/3を占めた。調味液に漬け込む作業を工程に含む場合では、解凍・冷凍が繰り返された、常温下で切り身や骨抜き等の下処理に時間がかかった、室温解凍した、常温で漬け置いた、漬け置きの残りを翌日或いは数日後に調理した、などが原因の可能性として報告されており、加工及び調理工程における衛生管理(特に温度)の不備がヒスタミン増加の原因として示唆された。一方、生もの事例は7%にすぎなかった。生食用の鮮魚については、

わが国の「食品、添加物等の規格基準」において、“生食用鮮魚介類は清潔で衛生的な容器包装に入れ、10°C以下で保存しなければならない”とされており、生食用以外の製品よりも保管や流通工程における衛生管理が徹底していることが生食による食中毒の事例数が比較的少ない理由の1つとして考えられた。実際、先に述べた加工及び調理工程における管理不備だけでなく、加工及び調理場へ納入される以前にヒスタミン含有量が増加した疑いがあり、魚が水揚げされてからの流通工程における管理不備の可能性が指摘された事例も多かった。しかしながら、流通工程では複数の業者が関与している場合が多く、原因の工程を特定するのは難しい。特に原因食品が輸入品の場合には、海外で漁獲された後、日本へ届くまでの間に長距離を冷凍輸送され、国内へ輸入された後も複数の自治体の加工業者や輸入業者が関与していることが多い。そのため、原因として流通工程における管理不備の可能性が考えられたとしても、原産国まで遡ることやヒスタミン産生が疑われる工程を特定することが難しい例が多く認められた。

4-2. 海外のヒスタミン食中毒との比較

米国 (CDC) のヒスタミン食中毒の年間発生件数はわが国よりも多かったが、患者数は少なかったことから、アウトブレイク1件あたりの被害者数はわが国よりも少ないと推測された。豪州 (OzFoodNet) は年間発生件数及び患者数ともにわが国よりも少なかった。米国及び豪州における魚種別の事例数の比較ではわが国と同様にマグロが最も多かったが、米国においては、わが国でほとんど報告されないマヒマヒ及びアブラソコムツ・パラムツの事例が上位であったのが特異的な特徴であった。アブラソコムツ・パラムツはワックスを含むため、わが国では食用の販売が禁止されている。

文献等で報告された海外の事例において、原因食品中のヒスタミン濃度の最高値は2,000 mg/100 gであり、わが国の国内事例の最高値 (1,267 mg/100 g) に比べて高かった (Fig.2, 6)。しかし、ヒスタミン濃度が200 mg/100gを超える事例の割合が海外事例では約40%であったのに対し、わが国では70%以上であったことから、わが国の方が原因食品中のヒスタミン濃度が高い傾向であることが示唆された。また、わが国では20 mg/100 g以下の事例が12%であったのに対し、海外事例では9%とわずかに低かった。これは、海外では特定の食品についてヒスタミン濃度の基準が設けられていることが影響しているのではないかと考えられた。また、今回検討した海外事例の大部分は文献による報告であったことを考慮すると、低濃度のヒスタミンによる食中毒事例は症状が軽いことから文献報告数がもともと少ない可能性も考

えられた。

4-3. 食品中ヒスタミンの中毒濃度

ヒスタミンは、魚肉中に含まれるアミノ酸の遊離ヒスチジンを原料としてヒスチジン脱炭酸酵素を有する細菌により生成される。原因菌としては、*Morganella morganii*などの腸内細菌及び*Photobacterium damsela*などの海洋由来菌が知られている¹¹⁾。魚の中でマグロやサバなどのサバ科 (*Scombridae*) の魚はヒスチジンを多く含み、腐敗したサバ科の魚を喫食するとヒスタミン食中毒を起こすことから、海外では魚及びその加工製品によるヒスタミン食中毒を“Scombroid fish poisoning”と呼ぶことが多い。ヒスタミンによる食中毒は主に魚による場合が多いが、魚以外では、チーズ、鶏及びザワークラウトなどによるヒスタミン食中毒も報告されている^{6, 12, 13)}。この他、ワイン及びビール等のアルコール類、ソーセージ及びサラミ、味噌、醤油、納豆、トウチ及びキムチ等の発酵食品からもヒスタミンが検出されており、食中毒への関与の可能性が示唆されている^{6, 9, 14-20)}。

食品中ヒスタミンの食中毒濃度に関する文献情報 (Table 3, 4) をもとに、食中毒を引き起こすと考えられる食品中のヒスタミン濃度について総合的に検討した結果、中毒症状と食品中のヒスタミン濃度の関係について次のように推定できた。

- 5 mg/100 g以下：安全域である
- 5～10 mg/100 g：感受性が高いグループでは食中毒を生じる可能性がある
- 10～100 mg/100 g：食中毒を生じる可能性があり、軽度～中程度の症状を呈す
- 100 mg/100 g以上：食中毒を生じる可能性が高く、重篤な症状を呈す

わが国のヒスタミン食中毒事例をもとに、食品 (魚) 中のヒスタミン濃度及びおおよその喫食量にもとづいたヒスタミンの中毒量については22～370 mgと報告されており¹⁰⁾、前記の推定と合わせて考慮すると、わが国では食品中のヒスタミン濃度が10～20 mg/100 gを超える場合に食中毒が誘発される可能性が生じると考えられた。しかしながら、ヒスタミンへの個人の感受性の違いや1回分の喫食量の違いにより食中毒の発生及び症状は大きく左右される。

外来のヒスタミンに対する感受性については、ボランティアによる経口投与試験で中毒の発症率や症状にばらつきが見られたと報告されているように個人差があると考えられている^{13, 21)}。ただしその理由については明らかではない。しかし、1つの可能性として、今回調査したわが国のヒスタミン食中毒事例のうち、保育園で発生した事例で園児は複数発症したが職員 (成人) は発症しな

かったとの報告例があったことから、成人よりも子どもの方が影響を受けやすいのではないかと考えられた。さらに、食品中のヒスタミンとしてではなくヒスタミンを単独でヒトに経口投与した場合に、中毒を生じなかった或いは同量のヒスタミンを含む魚を摂食するよりも中毒症状が軽かったとの研究結果が報告されている^{5, 13)}。しかしながら、単独で経口投与した場合に何故中毒を起こしにくいのかも不明のままである。

ヒスタミン食中毒については、いくつか影響因子の存在も指摘されている。その1つにヒスタミン代謝酵素の阻害物質がある。ヒトには、外から摂取したヒスタミンに対する代謝機構があり、小腸に存在するジアミンオキシダーゼやヒスタミンメチルトランスフェラーゼなどが関与しているが、これら代謝酵素の阻害物質はヒスタミン食中毒を増強すると考えられている。例えば、ヒスタミンと同様にアミノ酸を原料として腐敗した魚から検出される他のアミン類 (カダベリン等)、抗結核薬であるイソニアジド、抗マラリア薬 (クロロキン) などが知られている。今回対象にした国内外の事例においてもヒスタミンに加えて、カダベリン、プトレシン、スペルミジン及びチラミン等のアミン類が検出された報告があったことから、ヒスタミンの存在だけでなくこれらの影響因子についても今後検討する必要があると考えられた。この他、アルコール及び酸 (レモン、酢など) を一緒に摂取すると、ヒスタミンの吸収が促進され、中毒症状が増強される可能性も指摘されている^{9, 13)}。

ヒスタミンの中毒量について考察する際、さらに注意しなければならないのが、微生物汚染とは異なり、同じロットの製品の中でも汚染のばらつきが非常に大きいという点である。ヒスタミン濃度の大きなばらつきは、個人の感受性の違いに加えて、同じメニューを食べた人の中で発症にムラを生じる原因となることや、同じ業者から納入された別の調理場では患者が発生しないなど、原因食品の特定に悩む要因にもなる。また、国内で確認された事例の中に検体濃度が不検出の例があるように、残品や検食中の濃度と患者が喫食した食品中のヒスタミン濃度が必ずしも一致しない原因ともなり、中毒を誘発する濃度の推定にも影響している。

本研究では、食品中ヒスタミンの中毒濃度をおおまかに推定した。しかしながら、先に述べたようにヒスタミンによる食中毒の誘発には多数の因子が影響していることが示唆され、正確な中毒量及び用量反応性は現在も明らかにされていないことから、本研究の推定値は筆者が文献情報より独自に検討した参考値であることに注意していただきたい。

Table 5. 食品中のヒスタミン濃度に関するコーデックス及び各国の基準

Codex	<ul style="list-style-type: none"> Decomposition (腐敗基準) 魚の種類: <i>Clupeidae</i>, <i>Scombridae</i>, <i>Scombrosocidae</i>, <i>Pomatomidae</i>, <i>Coryphaenidae</i> 等 通常のサンプリングでヒスタミン濃度の平均値が 10 mg/100 g を超えないこと Hygiene and Handling (衛生及び取扱基準) 魚の種類: <i>Clupeidae</i>, <i>Scombridae</i>, <i>Scombrosocidae</i>, <i>Pomatomidae</i>, <i>Coryphaenidae</i> 等 ヒスタミン濃度が 20 mg/100g を超えないこと
EC	<ul style="list-style-type: none"> ヒスタジンを多く含む種類の魚 (<i>Scombridae</i>, <i>Clupeidae</i>, <i>Engraulidae</i>, <i>Coryphenidae</i>, <i>Pomatomidae</i>, <i>Scombrosocidae</i> 等) の製品 9 検体を HPLC で検査して次の 3 点を満たすこと 1) ヒスタミン測定値の平均値が 100 mg/kg 以下である 2) 2 検体の最大値が 100 ~ 200 mg/kg の範囲内である 3) いずれの検体も 200 mg/kg を超えない ヒスタジンを多く含む種類の魚 (<i>Scombridae</i>, <i>Clupeidae</i>, <i>Engraulidae</i>, <i>Coryphenidae</i>, <i>Pomatomidae</i>, <i>Scombrosocidae</i> 等) を塩水中で発酵させた水産品 9 検体を HPLC で検査して次の 3 点を満たすこと 1) ヒスタミン測定値の平均値が 200 mg/kg 以下である 2) 2 検体の最大値が 200 ~ 400 mg/kg の範囲内である 3) いずれの検体も 400 mg/kg を超えない
米国	<ul style="list-style-type: none"> 腐敗 (マグロ、マヒマヒ) 少なくとも 2 検体でヒスタミン濃度が 50 ppm 以上 腐敗 (マグロ、マヒマヒ以外の魚) 少なくとも 2 検体で 50 ~ 500ppm 健康へ有害影響 1 検体が 500 ppm 以上
カナダ ^{a)}	<ul style="list-style-type: none"> 発酵製品 (例: アンチョビ、アンチョビペースト、魚醤 (fish sauce)) 20 mg/100g 他の全ての scombroid fish products (例: 缶詰、生または冷凍のマグロ、サバ、マヒマヒ) 10 mg/100g (ただし、50 mg/100g を超えた検体はいずれも違反とされ、再検査も受けられない)
FSANZ ^{b)}	魚または魚製品はヒスタミン濃度が 200 mg/kg を超えてはならない

a) action level

b) Food Standards Australia New Zealand

4-4. 各国の食品中のヒスタミン基準

コーデックス (Codex) 及び各国における食品中のヒスタミン濃度に関する基準を Table 5 にまとめた。国際的指標となるコーデックス規格では、ヒスタジン含量が高い魚種を対象に腐敗基準として 10 mg/100 g、衛生及び取扱基準として 20 mg/100 g と設定している。各国の基準では米国の基準が最も厳しく、腐敗基準はマグロ及びマヒマヒは 5 mg/100 g、それ以外の魚は 5 ~ 50 mg/100 g、健康への有害影響は 50 mg/100 g であり、実質的には 5 mg/100 g を超えた場合に何らかの対応が取られる。EU 及びカナダでは、鮮魚 (冷凍含む) と魚の発酵製品 (魚醤など) で別けて設定しており、鮮魚は 10 mg/100 g、発酵製品は 20 mg/100 g を基準としていた。オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ) は、魚又は魚製品について 20 mg/100 g を超えてはならないとしている。このように、食品中のヒスタミンについてコーデックスや米国で腐敗基準と衛生基準を分けて設定してただけでなく、魚種や濃度などの設定も各国で様々であった。しかし多くの場合 (米国除く)、特にヒスタミン食中毒を起こしやすい食品では基準を 10 ~ 20 mg/100g の濃度付近で設定しており、4 - 3 項で食中毒を生じる可能性があるとして推測された食品中濃度と同程度であった。

一方、わが国では食品中のヒスタミンに関する規制はなく、食中毒が発生してから対応が取られる状況である。ただし、厚生労働省が各検疫所長に対して通知した食安輸発第1203001号(平成20年12月3日)「インドネシア産切り身魚類の取扱いについて」では、「検査の結果、コーデックス基準における安全性指標である200 ppm (20 mg/100g) を超えてヒスタミンが検出された場合、輸入者に対し当該貨物の積み戻し等を指導すること(注: この通知は、特定の製造者の輸入品に関してヒスタミンの自主検査の実施を指導するよう求めたもの)」と記載され、コーデックス規格を参照している。

4-3項で述べたように、わが国では食品中のヒスタミン濃度が10~20 mg/100gを越える場合に食中毒が発生する可能性が考えられた。さらに、今回調査・検討した国内のヒスタミン食中毒事例において、全体の92%は検出濃度(最高濃度)が10 mg/100 g以上、88%は20 mg/100 g以上であった。これらのことと、コーデックス及び各国の基準を合わせて考慮すると、わが国においても10~20 mg/100 gが食品衛生において安全性を確保するためのおおよその目安になるのではないかと考えられた。

ヒスタミン食中毒は各国で従前より発生しており、世界的に見ても食品の安全上重要な問題である。ヒスタミン食中毒のメカニズムは少しずつ明らかになってきているが、依然として不明な点が多く残されている。本研究では中毒濃度及び国内外における魚及び魚製品によるヒスタミン食中毒発生状況を中心に検討したが、魚及び魚製品以外の食品によるヒスタミン食中毒、ヒスタミンの毒性を増強させる食品中成分や医薬品、個人の感受性の違い、流通及び加工工程における温度管理状況など、今後、ヒスタミン食中毒に関してさらなる研究が望まれる。

謝辞

本研究は、平成20年度厚生労働科学研究(食品の安心・安全確保推進研究事業)の一環として実施したものである。食中毒調査データの提供にご協力頂いた、全国の食品衛生担当課の皆様にご感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 全国食中毒事件録 1998~2008年, 厚生労働省監修
- 2) Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Outbreak Surveillance Data. http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/outbreak_data.htm
- 3) OzFoodNet Annual Reports <http://www.ozfoodnet.org.au/internet/ozfoodnet/publishing.nsf/Content/reports-1>
- 4) Gilbert RJ, Hobbs G, Murray CK, Cruickshank JG, Young SE. Scombrototoxic fish poisoning: features of the first 50 incidents to be reported in Britain (1976-9). *British Medical Journal.*, **281**(6232), 71-72 (1980)
- 5) Lehane L, Olley J. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology.* **58**(1-2), 1-37 (2000)
- 6) Brink B, Damink C, Joosten HM, Huis in 't Veld JH. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol.* **11**(1), 73-84 (1990)
- 7) Ienistea C. Significance and detection of histamine in food. *The Microbiological Safety of Foods* (Academic Press New York) Hobbs, BC. and Christian, JHB., Editors. 1973.
- 8) Bartholomew BA, Berry PR, Rodhouse JC, Gilbert RJ, Murray CK. Scombrototoxic fish poisoning in Britain: Features of over 250 suspected incidents from 1976 to 1986. *Epidemiology and Infection.*, **99**(3), 775-782 (1987)
- 9) Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International.* **29**(7), 675-690 (1996)
- 10) 井部明広, アレルギー様食中毒: 食中毒(食品安全性セミナー①), 細貝祐太郎, 松本昌雄編, 中央法規出版, 2001
- 11) 藤井建夫. アレルギー様食中毒. *日本食品微生物学会雑誌.* **23**(2), 61-71 (2006)
- 12) Taylor SL. Monograph on Histamine Poisoning. Codex Committee on Food Hygiene, 19th, Washinton, D.C., 26-30 September 1983. 1983;CX/FH 83/11.
- 13) Taylor SL. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Crit Rev Toxicol.* **17**(2), 91-128 (1986)
- 14) Rauscher-Gaberniga E, Grossguta R, Bauer B, Paulsen P. Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods. *Food Control.* **20**(4), 423-429 (2009)
- 15) 井部明広. 発酵食品に含まれるアミン類. *東京都健康安全研究センター研究年報.* **55**, 13-21 (2004)
- 16) Tsai YH, Kung HF, Lin QL, et al. Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in kimchi products in Taiwan. *Food Chemistry.* **90**(4), 635-641 (2005)
- 17) Tsai YH, Kung HF, Chang SC, Lee TM, Wei CI. Histamine formation by histamine-forming bacteria in douchi, a Chinese traditional fermented soybean product. *Food Chemistry.* **103**(4), 1305-1311 (2007)
- 18) Rice S, Eitenmiller R, Koehler P. Biologically active

- amines in food: A review. *J Milk Food Technol.* **39**(5), 353-358 (1976)
- 19) Halasz Aea. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in food Science & Technology.* **5**, 42-49 (1994)
- 20) Chang SF, Ayres JW, Sandine WE. Analysis of cheese for histamine, tyramine, tryptamine, histidine, tyrosine, and tryptophane. *Journal of Dairy Science.* **68**(11), 2840-2846 (1985)
- 21) Van Gelderen CE, Savelkoul TJ, van Ginkel LA, van Dokkum W. The effects of histamine administered in fish samples to healthy volunteers. *J Toxicol Clin Toxicol.* **30**(4), 585-596 (1992)

V79細胞および正常ヒトアストロサイトに対する フラーレンとカーボンナノチューブおよびその誘導体の細胞毒性

山田貴史, 鄭 連淑, 土屋利江, 松岡厚子[#]

Cytotoxicity of fullerene [60], carbon nanotube, and their derivatives in V79 cells and cultured normal human astrocytes

Takashi Yamada, Yeon-Suk Jung, Toshie Tsuchiya, and Atsuko Matsuoka[#]

Fullerenes are a family of carbon allotropes, molecules composed entirely of carbon. Fullerenes have been developed in various forms and functions and are expected to be used for novel medical materials targeting on brain. Information on cytotoxicity of fullerenes on brain function, however, is few; thus we examined the effect of fullerenes on the brain astrocytes in this study. We used fullerene[60], hydroxylated-fullerene[60], carboxylated-fullerene[60], dimalonilated-fullerene[60], carboxylated-carbon nanotube and amino-carbon nanotube. At first, we examined cytotoxicity of fullerenes by V79 colony assay. Fullerenes inhibited the cell growth in a concentration-dependent manner, but 50 percent growth inhibition concentrations were different among fullerene derivatives, which we used. Cytotoxicity of carbon nanotubes was stronger than that of fullerenes. Secondly, we performed the microtiter tetrazolium assay of normal human astrocytes and measured the effects of fullerenes on cell activity. Fullerenes and carbon nanotubes decreased mitochondrial activity. In addition to this, it was observed that fullerenes and nanotubes adhered to cells. These results suggest that fullerenes and carbon nanotubes have cytotoxicity and the effects are different from each other due to their side chain and steric forms. We expected that fullerenes and carbon nanotubes gave physical stress to cells and caused cytotoxicity. In conclusion, it was suggested that safety evaluation is needed for fullerenes and carbon nanotubes individually.

Keywords: fullerene, carbon nanotube, nanomaterial, cytotoxicity, human astrocyte

1. 緒言

フラーレンは、炭素原子60個からなるサッカーボール状のナノ粒子のクラスターである。規則正しい面心立方構造をとっており、ドラッグデリバリーを目的とした生体機能プローブや医療基盤としての多糖呈示化合物の合成が注目されている。近年では、フラーレンと同様に、六員環で構成された一様な平面のグラファイトを丸めて円筒状にしたカーボンナノチューブの研究も進められており、このカーボンナノチューブにフラーレンを内包した医療用フラーレン化合物なども作成されている¹⁾。フラーレンに関する多くの生理作用、薬理作用も報告されている。フラーレンのラジカルスポンジ作用は、ラジカルをトラップし、無害化すること²⁾、また、DNAを切断する作用があり、フラーレンの側鎖の構造に依存し、標的となるDNAの破壊や、制限酵素のような働きをする³⁾。

一方で、光刺激に反応し、活性酸素種を発生する⁴⁾。HIV逆転写酵素の活性部位に結合し、この酵素を失活させるなどの報告もされている⁵⁾。このように、フラーレンは生体に様々な影響を及ぼす可能性が示唆され、生体への多くの利用価値があると考えられるが、それと同時に適切かつ安全に利用する必要がある。そこでまず第一に、本研究ではフラーレンやフラーレン誘導体およびカーボンナノチューブの細胞毒性を検討した。

また、近年フラーレンを脳神経再生や脳疾患治療に応用するための研究が盛んに行われはじめている。例えば、ヘキサスルホブチルフラーレンは、虚血ストレスによる脳細胞死を抑制する効果が期待され、フラレノール-1はβアミロイドタンパクの amino 酸配列のうち、疎水性部分に結合し、ベータシート化することを抑えることで、βアミロイドの会合阻害をする⁶⁾。このように、フラーレン誘導体を中枢神経の治療に導入することで、神経細胞死の抑制または神経疾患の回復に利用できるのではないかと考えられている。しかしながら、フラーレンの中枢神経に対する毒性または安全性評価に関する報告は現在ほとんどなく、その安全性が疑問視される一面もある。

[#] To whom correspondence should be addressed: Atsuko Matsuoka; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-9268 ext.232, Fax: 03-3707-6950; E-mail: matsuoka@nihs.go.jp

Satoら⁷⁾は、フラーレンを100 mg/kg body weightでマウスに腹腔投与し、痛覚感受性試験、筋力試験、回避試験や情動試験を行ない、急性の影響について評価したが、対照群との差はみられなかったと報告している。また、フラーレンを30 mg/kg body weightでマウスの腹腔に投与し、4週間後の長期的な暴露での影響についても観察したが、対照群との差は観察されなかった。脳への物質の取り込みは血液脳関門に制御されているが、フラーレンが中枢神経に取り込まれるのか、また、取り込まれた場合その量はどの程度なのかは明らかになっていない。さらに、フラーレンを脳神経用医療フラーレン化合物として使用する場合、外科的手術や、化合物埋め込み後に生じた脳障害などからおこる血液脳関門の損傷により、化合物が脳組織へ直接接触し、脳神経活動に作用する可能性が考えられる。脳内環境は、非常に厳密に恒常性が保たれており、フラーレンが作用する事で神経活動などに非常に重篤な影響をおよぼす可能性も考えられる。したがって、我々はフラーレンの中枢神経への影響を詳細に評価する必要があると考えた。そこで本研究では、正常ヒトアストロサイト細胞を用い、フラーレンおよびその化合物が脳細胞に及ぼす影響についても検討した。

2. 実験方法

2.1 フラーレン化合物

フラーレン、フラーレン誘導体およびカーボンナノチューブは次の6種類を用いた。①fullereneC60 (C60; フロンティアカーボン株式会社: C60を懸濁するために、C60 5%に対し、2% tween 80を加えた。), ②hydroxylated-fullerene (C60(OH)₂₄; 株式会社昌新), ③carboxylated-fullerene (C60CHCOOH; 株式会社昌新), ④dimalonilated-fullerene (C60(C(COOH)₂)₂; 当研究所山越博士合成), ⑤single wall amino-carbon nanotube (SW-CN-NH₂; Nanostructured & Amorphous Materials Inc.), ⑥single wall carboxylated-carbon nanotube (SWCN-COOH; Nanostructured & Amorphous Materials Inc.).

2.2 V79コロニーアッセイ

チャイニーズハムスター繊維芽細胞株(V79; Japanese Cancer Research Resources Bank)を用い細胞毒性試験を行った。実験は『Guidelines for Basic Biological Tests of Medical Materials and Devices-Part III: Cytotoxicity tests』に基づいて行った。培地は、5% fetal bovine serum (FBS) と1%ペニシリン・ストレプトマイシンを加えたEagle's MEM培地を用いた。V79細胞を24-wellプレートに50 cells/well播種した。24時間後に、6種類のフラーレン化合物をそれぞれ、0.1, 1, 10, 100, 1000 µg/mlの濃度で各wellに添加した (n=4)。添加後、1週間培養し、10%ホル

マリンで固定、5%ギムザ液で染色後、コロニー数をカウントした。フラーレン化合物を入れていない対照群のコロニー数を100%として処理群の相対コロニー形成率を算出し、添加したフラーレン化合物の細胞毒性を評価した。50%細胞増殖抑制濃度 (IC₅₀)はプロビット法で算定した。

2.3 正常ヒトアストロサイト(NHA)の細胞増殖に及ぼす影響

正常ヒトアストロサイト(NHA)は、三光純薬株式会社より購入した。NHAを5% FBSとepidermal growth factor, インシュリン, GA-1000, アスコルビン酸, L-グルタミン酸を加えたABM培地(ANGブレッドキッド; 三光純薬株式会社)で培養した。培養は、5%二酸化炭素濃度の37°C加湿状態のインキュベーターで行った。96-wellプレートに1000 cells/wellのNHAを播種し、ABM培地で24時間培養した。6種類のフラーレン化合物をそれぞれ、0.1, 1, 10, 100 µg/mlの濃度で各wellに添加した (n=3)。細胞を4日間培養した後、細胞数を測定した。また、10µg/mlのフラーレン化合物を添加し4日間の培養を行った細胞については、各wellをphosphate-buffered saline (-)で2回洗った後、フラーレン化合物を含まないAGM培地を加え、デジタルマイクロスコープ(KEYENCE VH-8000C)にて細胞を撮影した。

2.4 アストロサイトMTTアッセイ

NHAを24-wellプレートに1x10⁴ cells/well播種した。播種24時間後に、6種類のフラーレン化合物をそれぞれ、0.1, 1, 10, 100 µg/mlの濃度で各wellに添加した (n=4)。添加後、1週間インキュベーターで培養した後にMTTアッセイを行った。培地を5% TetraColor ONE溶液(生化学工業株式会社)を含む新しいABM培地に置換し、インキュベーターで2時間培養した。プレートリーダーを用い、上澄液の吸光度(450nm/630nm)を測定した。

2.5 統計解析

統計解析は、Tukey-Kramer testを用いた。それぞれの実験の測定結果は平均で示し、one-way ANOVAを行った。すべての場合において、P < 0.05を統計的な有意差があるとした。

3. 結果および考察

V79コロニーアッセイの結果、細胞毒性は、SWCN-COOH (IC₅₀ = 0.26 µg/ml) とSWCN-NH₂ (IC₅₀ = 0.98 µg/ml)の2種類のカーボンナノチューブで高く、次いで、水溶性を増したフラーレン誘導体であるhydroxylated-fullerene (IC₅₀ = 1.74 µg/ml), carboxylated-fullerene (IC₅₀

= 3.36 $\mu\text{g/ml}$), dimalonilated-fullerene (IC_{50} = 11.7 $\mu\text{g/ml}$)の順に毒性が高く, fullereneC60 (IC_{50} = 1620 $\mu\text{g/ml}$)は上述のフラーレン誘導体やカーボンナノチューブに比べると非常に低い毒性を示した (Fig. 1). また近年の報告で

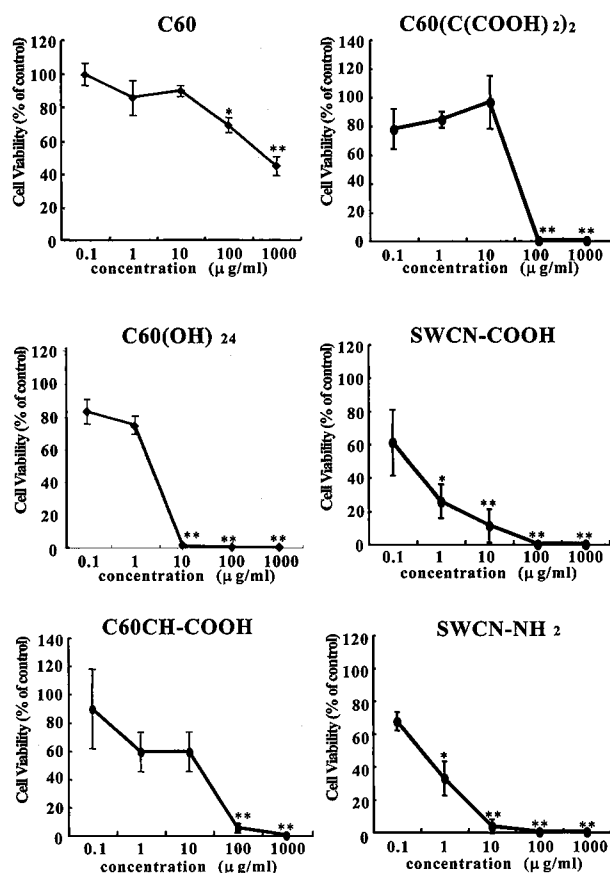


Fig. 1 The V79 colony assay of fullerene, its derivatives and carbon nanotubes

V79 cells were treated with fullerene, its derivatives and carbon nanotubes, and cultured for seven days. Data are expressed as mean \pm SD ($n=4$). Experimental data showed significant difference from control group (* $p<0.05$, ** $p<0.01$).

は, 溶解性の違いによりフラーレンのもつ細胞毒性に違いがみられることが示唆されている⁸⁾. これらのことから, フラーレンの細胞に対する毒性は水溶性が増すほど高くなる事が推察された. その一方で, フラーレンとカーボンナノチューブを比較すると, カーボンナノチューブの方が細胞に対する毒性が高いという結果になった. そして, carboxylated-fullereneとSWCN-COOHの2つのカルボン酸体を比較しても, カーボンナノチューブの方が, 細胞毒性が高かった事から, 物質の溶解性の違いに加え, 炭素結合の形状によっても細胞に与える影響に違いがおこることが示唆された. この結果は, ナノマテリアルの

細胞毒性はそのマテリアルの大きさに依存しているという報告とも一致している⁹⁾. 以上の事から, フラーレンの細胞毒性は, 物質の形状および細胞への接触具合, つまり物理的ストレスがひとつの要因ではないかと考えられた.

次に, フラーレン化合物が脳細胞に及ぼす影響について検討した. 脳内環境は血液脳関門などにより恒常性が厳密に維持されている事から, 他の体細胞と比べ, フラーレンの細胞に対する影響が異なる可能性が考えられた. そこで我々は, 正常ヒトアストロサイトを用い, フラーレンの脳細胞に及ぼす影響について検討した. アストロサイトはグリア細胞の一種で, 神経細胞への栄養の供給や, 神経ネットワークを構築するための足場の構築, また血液脳関門の形成と, 様々な面において脳神経活動を支えている非常に重要な細胞である. 我々は最初に, フラーレン化合物がアストロサイトの細胞増殖におよぼす影響について測定した. その結果, V79コロニーアッセイと同様に, カーボンナノチューブ, 水溶性フラーレン誘導体, フラーレンの順にアストロサイトの細胞増殖を抑制した (Fig. 2). この結果から, 使用した炭素化合

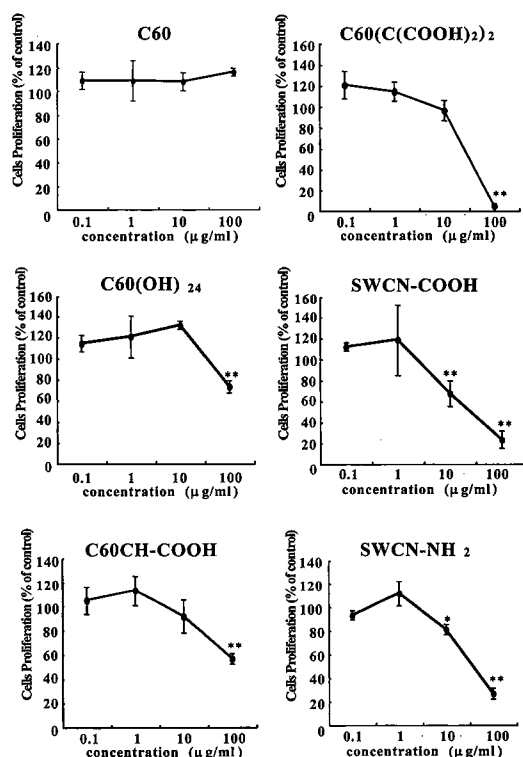


Fig. 2 Effects of fullerene, its derivatives and carbon nanotubes on cell proliferation of normal human astrocytes

Normal human astrocytes were treated with fullerene, its derivatives and carbon nanotubes, and cultured for four days. Data are expressed as mean \pm SD ($n=3$). Experimental data showed significant difference between treated groups and control groups except for C60 (* $p<0.05$, ** $p<0.01$).

物フラーレン化合物は、脳細胞、特にアストロサイトに對して特異的な毒性は示さず、どのような細胞對しても、ある一定の濃度以上で細胞毒性を示す事が示唆された。この結果からも、フラーレンが細胞對し物理的ストレスを与え、細胞毒性を示す事が示唆された。そこで次に、MTTアッセイを用い、アストロサイトのミトコンドリア活性を測定したところ、V79コロニーアッセイやアストロサイトの増殖におよぼす影響と同様の傾向を示し、カーボンナノチューブ、水溶性フラーレン誘導體、フラーレンの順にアストロサイトのミトコンドリア活性を低下させた (Fig. 3)。MTTアッセイの結果も、アスト

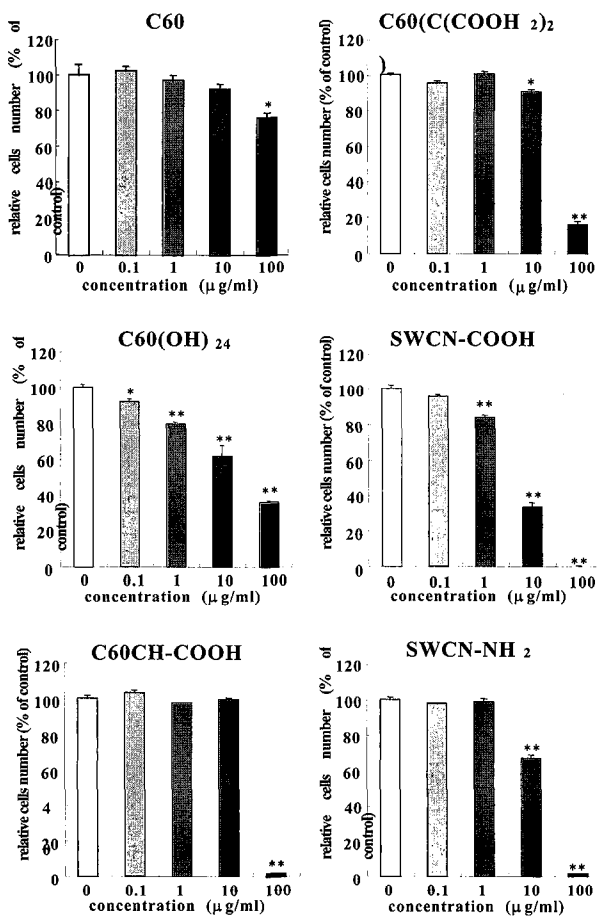


Fig. 3 The MTT assay of normal human astrocytes

Normal human astrocytes were treated with fullerene, its derivatives and carbon nanotubes, and cultured for 7 days. Data are expressed as mean \pm SD (n=4). Experimental data of treated groups showed significant difference from those of control groups (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

ロサイトの細胞増殖抑制の結果と一致したことから、フラーレンは細胞の活性に特異的な作用を及ぼすのではなく、細胞に物理的なストレスを与えている可能性が考え

られた。そこで、フラーレン添加時の細胞の様子を観察したところ、フラーレンの粒子が細胞に付着している事がわかった (Fig. 4)。フラーレンまたはカーボンナノ

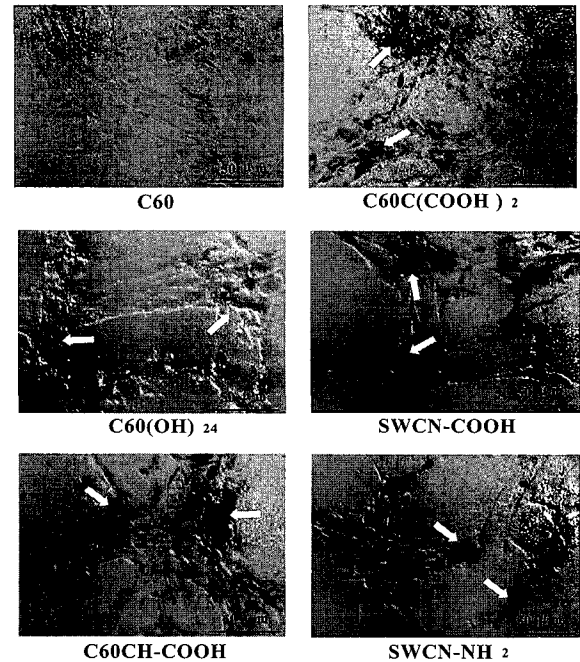


Fig. 4 Adhesion of fullerene, its derivatives and carbon nanotubes to normal human astrocytes

The cells were treated with each material at 10 $\mu\text{g/ml}$ for four days, rinsed with phosphate-buffered saline, and then observed through a digital microscope in AGM medium. The arrow shows cells to which fullerene, its derivatives or carbon nanotubes have adhered.

チューブの細胞への付着は、先の実験でみられた毒性の強さと一致し、毒性の強さに比例して多くなる傾向が観察された。また、化合物が細胞表面に付着しているのか、もしくは細胞膜を貫通し、細胞内に進入しているのかを明らかにすることが、これら化合物の細胞におよぼす作用の機序を解明するために必要である。現在、共焦点顕微鏡を用いた細胞の立体画像の解析により、化合物の細胞への付着状態について分析中である。この結果は後続の報告で発表する予定である。

以上の結果から、フラーレンおよびカーボンナノチューブの細胞毒性は、細胞への付着力に依存し、細胞に物理的ストレスを与えるためにおこる事が示唆された。また、細胞への付着は、物質の粒子の大きさおよび培地への溶解度に依存する事が示唆された。神経細胞は、細胞体自身の持つ膜電位を変化させる事で神経活動を行っているため、フラーレンに代表されるナノマテリアルが細胞に付着する事で膜電位の変化に影響を与える事が予想される。したがって、今回細胞毒性がみられなかつ

た濃度においても、フラーレンなどの炭素化合物フラーレン化合物が神経伝達など脳機能に影響をおよぼすことが推察される。最後に、フラーレン、フラーレン誘導体およびカーボンナノチューブなどのナノマテリアルを脳神経用医療フラーレン化合物として利用する場合、細胞毒性だけでなく、細胞の膜電位の変化に及ぼす影響について観察する必要がある事、加えて、実験動物などを用いた、行動試験、記憶学習試験、情動行動試験など、脳の高次機能に及ぼす影響について精査する必要があると考えられた。

文献

- 1) Polizu, S., Savadogo, O., Poulin, P., and Yahia, L.: *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **6**, 1883-1904 (2006)
- 2) He, Y., Hsu, C., Ezrin, A., and Miller, M.: *Am. J. Physiol.*, **265**, 252-256 (1993)
- 3) Tokuyama, H., Yamago, S., and Nakamura, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 7918-7919 (1993)
- 4) Yamakoshi, Y., Umezawa, N., Ryu, A., Miyata, N., Goto, Y., Masumizu, T., and Nagano, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 12803-12809 (2003)
- 5) Sijbesma, R., Srdanov, G., Wudl, F., Gastoro, J.A., Wilkins, C., and Friedman, S.H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 6510-6512 (1993)
- 6) Huang, S., Tsai, S., Chih, C., Chiang, L., Hsieh, H., Teng, C., and Tsai, M.: *Free Radical Biol. Med.*, **30**, 643-649 (2001)
- 7) Satoh, M. and Takayanagi, I.: *J. Pharmacol. Sci.*, **100**, 513-518 (2006)
- 8) Sayes, C., Fortner, J., Guo, W., Lyon, D., Boyd, A., Ausman, K., Tao, Y., Sitharaman, B., Wilson, L., Hughes, J., West, L., and Colvin, V.: *Nano Lett.*, **4**, 1884-1887 (2004)
- 9) Magrez, A., Kasas, S., Salicio, V., Pasquier, N., Seo, J., Celio, M., Catsicas, S., Schwaller, B., and Forro, L.: *Nano Lett.*, **6**, 1121-1125 (2006)

アレルゲンデータベースAllergen Database for Food Safety (ADFS) のデータ改訂とアレルゲン性予測ツールの信頼性評価

中村亮介[#], 中村里香, 手島玲子

Major revision of the Allergen Database for Food Safety (ADFS) and validation of the motif-based allergenicity prediction tool

Ryosuke Nakamura[#], Rika Nakamura and Reiko Teshima

We have been maintaining an integral web server system, the Allergen Database for Food Safety (ADFS), since 2005 (<http://allergen.nihs.go.jp/ADFS/>). Recently, a group at the University of Nebraska-Lincoln released a new version of an allergen database, AllergenOnline. This database includes more than 1,300 allergens, all of which have been peer-reviewed by an international board of allergology experts. Here, we have totally revised the dataset of the ADFS by comparing it with that of AllergenOnline to improve the reliability of our allergen data. Moreover, the performance of our web-based tool for predicting new allergens (motif-based method), which was developed according to a theory proposed by Stadler & Stadler (2003), was validated using three methods. As a result of the integration of this allergen data, the number of (iso)allergens in the ADFS has increased to 1340, and epitope information is now available for 76 allergens. Using model datasets, the precision, recall, and specificity of our motif-based allergenicity prediction tool was proved to be 100.0%, 99.4%, and 100.0%, respectively. These results were similar to those for the original motif-based prediction model that was previously reported and are much better than those of the method recommended by FAO/WHO, especially with regard to the precision of predictions.

Keywords: allergen, database, allergenicity prediction, epitope, motif

1. 背景

アレルゲンタンパク質のエピトープや立体構造等に関するデータベースの開発は、既知アレルゲン同士の交差反応性の予測や、遺伝子組み換え作物に新規に組み込まれるタンパク質の潜在的アレルゲン性の予測など、様々な情報を容易に取得することを可能とする。この目的のため、我々は2005年に、当時の既存アレルゲンデータベースの情報と独自に精査した文献情報とを元に、新しいアレルゲンデータベース、Allergen Database for Food Safety (ADFS) を作成し、公開した¹⁾。さらに、その内容を本誌にて詳述した²⁾。以降、PSI-BLASTに代表される様々なインターフェースの追加・修正作業を行なうと共に、毎年1回、アレルゲンとエピトープに関する最新のデータを追加してきたが、一度登録されたデータの再校正や削除などは行なってこなかったため、いくつかのアレルゲンデータが最新の情報と食い違う可能性が懸念

されていた。また、そもそも2005年当時存在していた他のデータベースにおけるアレルゲン登録に関するクライテリアも各データベースにより様々であり、統一されてはいなかった。

近年、米国ネブラスカリンカーン大学がアレルゲンデータベース「AllergenOnline (以下AOL)」を作成し、公開している³⁾。このデータベースは、登録アレルゲンの全てが国際的なアレルギーの専門家チームによるピアレビューを経ていることを大きな特徴としている。よって、登録タンパク質が真にアレルゲンであるかどうかというエビデンスの信頼性において、AOLは現在知られているアレルゲンデータベースの中でも際だっていると思われた。

しかし、AOLのアレルゲンデータはIgEエピトープに関する情報を含んでおらず、また、潜在的アレルゲン性予測ツールとしても、80残基のアミノ酸配列スライディングウィンドウ中35%以上の一致性を示した場合または連続する8残基の完全一致をもって陽性とする、いわゆるFAO/WHOの方法⁴⁾しか提供していない。これに対しADFSでは、筆者らによる査読を通じて得たエピトープ情報(線形・コンフォメーション・ミモトープ(エピ

[#] To whom correspondence should be addressed:

Ryosuke Nakamura; 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 Japan
Tel: +81-3-3700-9437, Fax: +81-3-3707-6950
E-mail: ryosnak@nihs.go.jp

トープ模倣配列)・糖鎖)や、UniProtの情報に基づくタンパク質の構造情報(ドメイン・立体構造・糖鎖等)などが一部のアレルギーに付与されており、また、アレルギー性予測法についても、FAO/WHOの方法に加え、アレルギーの共通モチーフに着目したStadlerらの理論⁵⁾を元にした、モチーフに基づく予測ツール(Motif-based法)も提供している。

このように、登録アレルギーの信頼性はAOLの優位性が認められるものの、そこに付随する情報や解析ツールの充実度は、多くの面でADFSが上回っていると思われる。そこで、今回AOLのアレルギーデータセットをADFSのそれと比較し、ADFSのアレルギーデータをピアレビューを経たものに統合することを試みた。また、これに伴い新たに作製したアレルギーモチーフを用い、ADFSのモチーフに基づく予測ツールの精度、感度および確度に関する評価を行なった。

2. 方法

2.1 AOLアレルギーデータの取得

AOLにおけるデータは、2008年7月の時点で取得した。ADFSはUniProtデータベースに基づく運用システムを採用しているが、AOLはアレルギーシークエンスをすべてNCBIのgene identifier (gi) 番号により管理している。よって、AOLとADFSのデータの比較・統合を行なうため、AOLのgi番号を対応するUniProt IDへと変換した。UniProtに対応するエントリが存在しない場合は、RefSeq, GenPept, PDB等のデータベースよりシークエンス情報を取得した。

アレルギー情報はアレルギー名とそのアミノ酸配列(UniProtのアクセッション番号)によって整理され、同一名で同一シークエンスを持つものは基本的に一つのエントリにまとめられる。なお、この条件の中でも、エピトープ情報や立体構造情報等の有無に違いがある場合は、エントリを分けて表示している。International Union of Immunological Societies (IUIS) が発行する正式な(イソ)アレルギー名が存在しない場合は、由来する生物の属と種の頭文字をそれぞれ3文字と1(または2)文字で表し、末尾に「?」を付した。

ADFSでは登録アレルギーを従来8種のカテゴリに分類していたが、AOLのデータを取り込むにあたり、アレルギーのカテゴリも、AOLによる分類に合わせ、全13種(aero animal, aero fungi, aero insect, aero mite, aero plant, contact, food animal, food fungi, food plant, gliadin, protozoan, venom/salivary, worm)とした。

2.2 エピトープ情報の取得

NCBI PubMedにおいて、下記のキーワード群を一定の検索式に当てはめて検索した文献から、アレルギーの

IgEエピトープ情報が記載されているものを筆者らが実際に査読し、エピトープ情報とした。

Immunoglobulin E, IgE-binding, Epitope, Identification, Epitope Mapping, Linear (Sequence Conformational, Structural, Discontinuous, three-dimensional), Analysis, Peptide, Recognition, Mimotope (Bacteriophages, Phage, Display) エピトープは、その性状から線形(L)、コンフォメーション(C)、および糖鎖(S)に分類し、さらに、実験方法などの情報を記載した。なお、ミモトープに関しては、コンフォメーションエピトープの一種として分類した。糖鎖エピトープは、単なる交差反応により結合するいわゆるCCDではなく、サイトカイン産生や脱顆粒を誘導するなど、何らかの生物活性を持つと認められた場合のみを示した。

2.3 アレルギーモチーフの抽出

Stadlerらの報告⁵⁾に従い、ADFSが収載する923本のアレルギーシークエンスから、複数のアレルギーに共通なモチーフ構造を抽出した。モチーフ抽出ツールはMEME(ver. 3.0.13)を用いた。その際、アミノ酸残基数は50、E-valueは0.01、モードはzoopsを使用した。1つのモチーフが抽出されるごとに、抽出に用いられたアレルギーシークエンスを除き、残りのシークエンスにより再度モチーフを抽出するという工程を繰り返し、最終的にE-value 0.01で一つもモチーフがヒットしなくなるまでこの作業を繰り返した。

2.4 Motif-based法によるアレルギー性予測の信頼性評価

ADFSが独自に提供しているアレルギー性予測ツールであるMotif-based法による解析手法の信頼性について、下記の3通りの手法により評価を行なった。

1. 人工生成非アレルギーデータセットを用いた評価: ADFS収載アレルギーのうち、アミノ酸残基数が26残基以上の902種を真のアレルギーとし、この配列を、(A) 逆順に並べたもの、(B) window size 20でシャッフルしたもの、(C) window sizeなしでシャッフルしたもの、の3つを真の非アレルギーと定義した。アミノ酸残基長を26残基以上としたのは、Stadlerらが同法を発表した際と同一の条件にそろえるためであり、これは当時知られていた最もアミノ酸長の短いアレルギー(ハチ毒アレルギーApi m 3)の長さ(26残基)に基づいている⁹⁾。これらのアレルギーおよび非アレルギーデータセットを対象に、BLAST E-valueカットオフ値を様々に変えながらMotif-based法によるアレルギー性予測を行なった結果について、真陽性(TP)、真陰性(TN)、偽陽性(FP)および偽陰性(FN)を元に、次の式で定義される精度(Precision)、感度(Recall; 再現性)、および確度(Specificity)を算出した。

$$\text{Precision} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FP})$$

$$\text{Recall} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FN})$$

$$\text{Specificity} = \text{TN} / (\text{TN} + \text{FP})$$

2. 10分割交差試験法：前述の902種のアレルゲンデータをランダムに10分割し、一つ一つのデータセットについて、残りの9個のデータセットを用いて抽出したモチーフとシーケンスにより試験を行なった。

3. とうもろこしタンパク質のアレルゲン性：とうもろこしが発現するタンパク質をランダムに50種選び、FAO/WHO法およびMotif-based法により解析を行なった。

3. 結果および考察

3.1 ADFSのデータ改訂後のスペック

今回のAOLとのアレルゲンデータ照合の後、ADFSにおける収載アレルゲンおよびイソアレルゲンの総数は1340種（うち、UniProtとの対応が付いたものは923種）となった。また、何らかのエピトープ情報を持つアレルゲンおよびイソアレルゲンの数は76種となり、これは現時点で存在するアレルゲンのエピトープ情報を集めたデータベースとしては世界でも最大である。

今回、アレルゲンの糖鎖自体がIgEと結合し、好塩基球からのヒスタミン遊離を起こす場合（Ole e 1）やIL-4産生を誘導する場合（Phl p 1）などについてエピトープ情報を追加した。多くのIgE結合性糖鎖は生物活性を持たず、*in vitro*の臨床試験におけるバックグラウンドの上昇に寄与していることが知られている⁶⁾。しかし少なくとも一部のアレルゲンにおける糖鎖は上記のようにアレルギーの発症に関与すると考えられており、アレルゲンデータベースが糖鎖エピトープの情報を収載することは望ましいと考えられる。このようなアレルゲンデータベースは、今のところADFS以外に存在しない。

3.2 Motif-based法

ADFSでは、任意のアミノ酸配列に関する潜在的アレルゲン性を予測するため、いわゆるFAO/WHOの方法⁴⁾とMotif-based法の2種類のインターフェイスを提供している。前者については他のアレルゲンデータベースにおいてもしばしば実装されているが、Motif-based法によるアレルゲン性予測については、Stadlerらによる報告³⁾があるのみで、ウェブ上でユーザが任意のクエリ（問い合わせ）配列を解析できるツールはこれまで開発されていなかった。

我々は、Stadlerらの報告に従い、MEMEソフトウェアにより923本のアレルゲンシーケンスから58種のアレルゲンモチーフを抽出した。その際、141本のシーケンスがモチーフに抽出されずに残った（Fig. 1）。本法は、クエリアミノ酸配列をpftoolソフトウェアにより58種のアレルゲンモチーフに対してプロファイル検索し、さらに141本のアレルゲンシーケンスに対してBLASTによる

ペアワイズ検索を行なう手法である。この手法について、次の3種類の方法によってその予測信頼性を解析した。

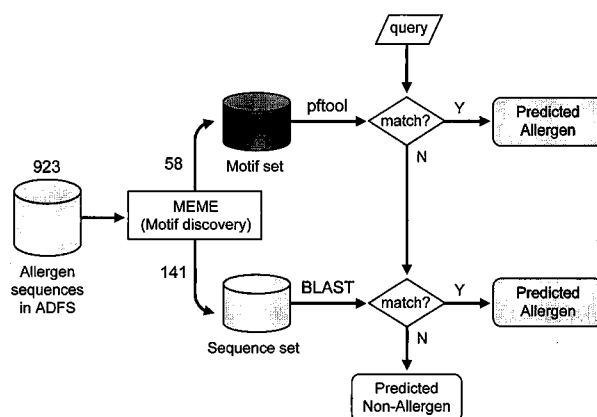


Fig. 1. Schematic of motif-based allergenicity prediction method.

Allergen sequences in the ADFS (923) were submitted to MEME, and 58 allergen motifs were extracted. Of the 923 sequences, 782 matched one or more of the allergen motifs, while the remaining 141 sequences did not match any of the motifs. The query sequence is first compared to the 58 motifs using the pftool; then, it is compared to the remaining 141 sequences using BLAST pairwise alignment tool. The query sequence is predicted to be a potential allergen if it is identical to either an allergen motif or an allergen sequence.

3.3 人工生成非アレルゲンデータセットを用いた評価

まず、ADFSに収載された902本の真のアレルゲンアミノ酸配列と、その3倍量に当たる真の非アレルゲンアミノ酸配列とを用い、本ツールがどれだけ正しくアレルゲン性を予測できるかについて調べた。Motif-based法では第一段階にクエリ配列とモチーフとの比較を行ない、第二段階ではBLASTによるペアワイズ検索を行なう。そこで、BLASTのマトリクスやギャップペナルティなどの各種パラメータ、およびE-valueカットオフ値を様々に変化させ、最もパフォーマンスの優れたBLASTのパラメータ設定を探したところ、マトリクスとしてBlosum80、開始および伸張ギャップペナルティをそれぞれ13および2、フィルタをTrueに設定した場合であった。この条件でPrecision (%), Recall (%), Specificity (%) の合計が最大になるBLAST E-valueカットオフ値は 10^{-13} で、このときのそれぞれの値は100.0%, 99.4%, 100.0%と、極めて良好であった（Fig. 2）。この結果を受け、ADFSのMotif-basedアレルゲン性予測ツールにおけるBLASTのパラメータ設定は上記の組み合わせを使用することとした。E-valueカットオフ値のみはユーザが任意に変更できるが、これは後に述べる理由により 10^{-3} を初期値とした。

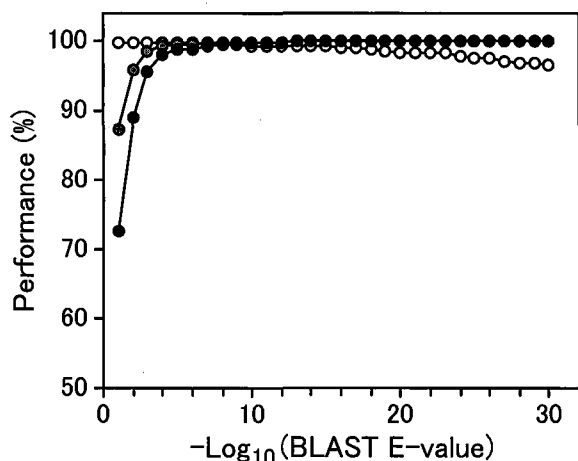


Fig. 2. Performance of motif-based allergenicity prediction method. Test sequences composed of 902 true allergens and 2706 true non-allergens were submitted to the motif-based allergenicity prediction tool in the ADFS. The prediction stringency was varied by adjusting the BLAST E-value cut-off. The best results were obtained when 10^{-13} was used as the E-value cut-off. See the Materials and Methods section for the definitions of Precision (○), Recall (●), and Specificity (●).

3.4 10分割交差試験法

上記の試験は、リファレンスとなるデータベース中にクエリアレルゲン配列自身が含まれていることになる。そこで、実際にアレルギー性が未知のタンパク質を本法で解析した場合を再現するため、次に10分割交差試験を行なった (Table 1)。これは、合計902種のアレルゲン配列をアルファベット順に10分割し、一つ一つのデータセットについて、自分自身を含まない他の9つのデータセットを用いて生成したモチーフおよびシークエンスにより解析を行なう手法である⁵⁾。各データセットにより Precision, Recall, Specificityの合計が最大になるBLAST E-valueカットオフ値は 10^{-15} から 10^{-3} までの間で変化した。これは、シークエンスを10分割した際のデータセットのばらつきによるものと推測される。実際にユーザが解析するクエリ配列は多様であることから、最適なE-valueカットオフ値を一つ設定することは困難であり、適切な値をユーザ自身が設定すべきであると考えられる。よってADFSでは、今回の最大値である 10^{-3} をもってBLAST E-valueカットオフ値の初期値とすることとした。この条件における10分割交差試験の解析結果を示したのがTable 1である。平均すると、Precision 96.5%, Recall 85.5%, Specificity 98.9%となった。Stadlerらが2003年に報告した時点では、同法のPrecisionおよびRecallはそれぞれ94.8%および86.2%であり、いわゆるFAO/WHOの方法

Set	Query sequence	Motif generation			Performance (%)		
		Reference	Motif	Sequence	Precision	Recall	Specificity
#01	93	809	65	133	95.6	93.5	98.6
#02	93	809	53	134	90.0	77.4	97.0
#03	93	809	57	133	94.7	77.4	98.6
#04	88	814	59	133	98.6	82.0	99.6
#05	84	818	56	126	98.6	85.7	99.6
#06	93	809	54	142	97.6	88.2	99.3
#07	93	809	55	140	100.0	90.3	100.0
#08	87	815	57	119	98.6	78.2	99.6
#09	93	809	55	134	93.2	88.2	97.8
#10	85	817	59	144	97.6	94.1	99.2
Total	902	-	-	-	96.5	85.5	98.9

Table 1. Ten-fold cross validation test

A test database (902 sequences) was randomly divided into 10 parts, and allergenicity prediction was performed for the sequences in each part, using the other nine parts as the allergen reference database. The appropriate BLAST E-value cut-off varied from 10^{-15} to 10^{-3} , depending on the dataset; only the results obtained using a cut-off of 10^{-3} are shown.

ではそれぞれ37.6～68.0%および92.2～97.0%であった (Specificityは不明)⁵⁾。これらの結果から、ADFSの Motif-based法によるアレルゲン性予測ツールの信頼性

は、Stadlerの報告における成績とほぼ同程度で、FAO/WHO法よりも精度の面で大きく上回っていることが分かる。

ID	Corn Protein Locus	Description	Known Allergen	FAO/WHO			Motif-based			
				35%/80	cont. 6	cont. 7	cont. 8	Motif	BLAST	
1	A55092	catalase (EC 1.11.1.6) CAT-2 - maize (fragment).	No	0	1	0	0	0	0	
2	AAA33523	16-kDa zein protein.	No	0	15	3	0	0	0	
3	AAA68209	sus1 gene product.	No	0	6	0	0	0	0	
4	AAA73960	kaurene synthase A.	No	0	5	0	0	0	0	
5	AAA87580	cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase GAPC4.	No	0	4	0	0	0	0	
6	AAB71078	acidic ribosomal protein P3a [Zea mays].	No	0	25	7	4	0	0	
7	AAB86960	profilin [Zea mays].	Yes	65	52	49	49	#002	0	
8	AAC72193	pyruvate dehydrogenase E1 beta subunit isoform 2 [Zea mays].	No	0	2	1	0	0	0	
9	AAC78468	RNA polymerase sigma factor 2 [Zea mays].	No	0	11	0	0	0	0	
10	AAC79953	anionic peroxidase H [Zea mays].	No	0	2	1	0	0	0	
11	AAK26754	plasma membrane integral protein ZmPIP1-3 [Zea mays].	No	0	2	0	0	0	0	
12	AAK30114	teosinte branched protein 1 [Zea mays].	No	0	2	0	0	0	0	
13	AAK51777	MURB-like protein hMURB3 [Zea mays].	No	0	3	0	0	0	0	
14	AAK51786	MURB-like protein hMURB12 [Zea mays].	No	0	3	0	0	0	0	
15	AAK56122	alpha-expansin 4 [Zea mays].	No	0	3	2	2	0	0	
16	AAK56130	beta-expansin 7 [Zea mays].	Yes	26	36	27	17	#008	1	
17	AAK59898	kaurene synthase A [Zea mays].	No	0	3	0	0	0	0	
18	AAK60245	teosinte branched1 protein [Zea mays].	No	0	4	1	0	0	0	
19	AAK60502	sucrose export defective 1 [Zea mays].	No	0	8	0	0	0	0	
20	BAA05550	group 3 Lea protein MGL3 [Zea mays].	No	0	3	0	0	0	0	
21	BAA22410	calcium-dependent protein kinase-related kinase [Zea mays].	No	0	4	2	0	0	0	
22	CAA28734	40.1 kD A1 protein [Zea mays].	No	0	7	0	0	0	0	
23	CAA31221	unnamed protein product [Zea mays].	No	0	2	1	0	0	0	
24	CAA35589	pyruvate decarboxylase [Zea mays].	No	0	22	4	0	0	0	
25	CAA37038	dihydrodipicolinate [Zea mays].	No	0	1	0	0	0	0	
26	CAA39438	ribosomal protein S11 [Zea mays].	No	0	9	4	0	0	0	
27	CAA60366	hypothetical protein [Zea mays].	No	0	1	0	0	0	0	
28	CAA72196	cytochrome p450 [Zea mays].	No	0	13	1	0	0	0	
29	CAA87634	orf [Zea mays].	No	0	6	0	0	0	0	
30	CAB56627	SBP-domain protein 1 [Zea mays].	No	0	8	0	0	0	0	
31	CAC18100	putative legumain [Zea mays].	No	0	2	0	0	0	0	
32	CAC35069	VIP3 protein [Zea mays].	No	0	0	0	0	0	0	
33	JC1524	major allergen m1 protein - maize.	Yes	23	28	25	24	0	3	
34	O24578	Adenylosuccinate synthetase, chloroplast precursor (AdSS) (IMP--aspartate ligase) (AMPSase).	No	0	5	0	0	0	0	
35	P04705	Zein-alpha PZ19.1 precursor (19 kDa zein PZ19.1).	No	1	11	0	0	0	0	
36	P15590	Globulin-1 S allele precursor (GLB1-S) (7S-like).	No*	6	16	8	2	0	1	
37	P33489	Auxin-binding protein 5 precursor (ABP) (ERABP5).	No	0	7	0	0	0	0	
38	P40280	Histone H2A.	No	0	2	1	0	0	0	
39	P46251	Actin-depolymerizing factor 1 (ZmADF1) (ADF-1) (ZmABP1).	No	0	0	0	0	0	0	
40	P51059	Phosphoenolpyruvate carboxylase 2 (PEPCase 2) (PEPC 2).	No	0	3	1	0	0	0	
41	PWZMAM	H ⁺ -transporting two-sector ATPase (EC 3.6.3.14) alpha chain - maize mitochondrion.	No	0	0	0	0	0	0	
42	S12043	leucoanthocyanidin dioxygenase (EC 1.14.11.-) - maize.	No	0	6	0	0	0	0	
43	S30062	polygalacturonase - maize.	Yes**	6	6	6	5	0	0	
44	S37379	catalase (EC 1.11.1.6) 3 - maize.	No	0	4	0	0	0	0	
45	S58532	matK protein (trnK intron) - maize chloroplast.	No	0	6	0	0	0	0	
46	T02242	wEST02963 Early embryo, Stratagene (cat. #937007) Caenorhabditis elegans cDNA clone CESAB12, mRNA sequence.	No	0	3	1	1	0	0	
47	T02763	0100M7 gmbPfHB3.1, G. Roman Reddy Plasmodium falciparum genomic clone PF0100M, genomic survey sequence.	No	0	6	1	1	0	0	
48	T02990	FB19G7 Fetal brain, Stratagene Homo sapiens cDNA clone FB19G7 3'end, mRNA sequence.	No	0	10	0	0	0	0	
49	T02993	FB1A10 Fetal brain, Stratagene Homo sapiens cDNA clone FB1A10, mRNA sequence.	No	1	9	3	0	0	1	
50	T03397	IB217 Infant brain, Bento Soares Homo sapiens cDNA clone IB217 3'end, mRNA sequence.	No	0	1	0	0	0	0	
Total positive:				4	7	47	21	9	2	4

Table 2. Comparison of FAO/WHO method and motif-based method using 50 corn proteins.

Of the 50 randomly selected corn proteins [6] that are shown, known allergens are indicated by a "Yes". For the FAO/WHO method, the numbers of matched allergens in the ADFS are presented according to the criteria shown in the top row (more than 35% identity over 80 or more sliding windows, exact match of 6, 7, or 8 contiguous amino acids). For the motif-based method, the motif ID in the ADFS and/or the numbers of matching allergen sequences (BLAST E-value, 10^{-3}) are presented.

*GLB1-S, a 7S-globulin, has been reported as an allergen found in several organisms other than corn.

**Corn polygalacturonase has several UniProt IDs, and some entries with longer amino acid sequences than S30062 are known as the allergen Zea m 13.

3.5 どうもろこしタンパク質のアレルゲン性

最後に、実際の作物由来タンパク質のアレルゲン性を本法により調べるため、Hilemanら⁷⁾が報告の中でランダムに抽出した50種類のどうもろこしタンパク質について、FAO/WHO法と本法とを比較した (Table 2)。FAO/WHO法においては、連続する6アミノ酸残基の完全一致をもって判定すると、50種のタンパク質中47種がアレルゲンであると判断され、偽陽性が極めて多いということが分かる。これに対しMotif-based法では、アレルゲンであることが既知であるタンパク質は、一つ (polygalacturonase) を除きすべてについて陽性判定を出していると同時に、クエリタンパク質自体のアレルゲン性は知られていないが他の生物種におけるアナログがアレルゲンであるような場合 (7S-globulin like GLB1-S) を正しく検出できていることが分かる。Polygalacturonaseについては、本表で用いたクエリアミノ酸配列 (S30062; 95残基) より長いアミノ酸長を持つ複数のUniProtエントリが存在し (404 ~ 411残基)、これらがどうもろこしアレルゲン *Zea m 13* として知られている⁸⁾。ADFSではこれら長い方のエントリのみがアレルゲンとして登録されており、そのモチーフは#020として抽出されているが、その抽出モチーフ (50残基) がクエリアミノ酸配列の領域と一致しなかったため、陰性として判定されてしまった (Table 2)。しかし、このような場合でも、クエリアミノ酸長の十分長いエントリ (Q1ZYQ5等) を用いることにより、正しいモチーフがヒットすることを確認している。

FAO/WHO法は、遺伝子組み換え作物に新規に導入するタンパク質のアレルゲン性を予測する上では現在でも標準的な手法とされているが、その偽陽性の多さゆえに、批判も根強い⁹⁾。Stadlerらが開発したMotif-based法はFAO/WHO法の欠点を大きく改善した有望な手法であり、それをウェブツールとして公開しているのは現在のところADFSのみである。しかし、ADFSのMotif-based法のパフォーマンスを定量的に評価することはこれまで困難であった。今回、様々な角度から同法の評価を行ない、ADFSのMotif-based法がStadlerらが報告したものと同程度のパフォーマンスを有していることが分かった。ADFSは公開以来毎年一回のペースでデータのアップデートを行っており、そのたびにアレルゲンモチーフやシークエンスも更新されている。今後もこの作業を継続し、潜在的アレルゲン性予測の信頼性向上に努めたい。

4. 参考文献

- 1) URL: <http://allergen.nihs.go.jp/ADFS/>
- 2) Nakamura, R., Teshima, R., Tkagi, K., Sawada, J.: *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **123**, 32-36 (2005)
- 3) URL: <http://www.allergenonline.com/>
- 4) Codex Alimentarius Commission, Alinorm 03/34, pp47-60 (2003)
- 5) Stadler, M.B. & Stadler, B.M.: *FASEB J.*, **17**, 1141-1143 (2003)
- 6) van Ree, R.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **129**, 189-197 (2002)
- 7) Hileman, R.E., Silvanovich, A., Goodman, R.E., Rice, E.A., Holleschak, G., Astwood, J.D., Hefle, S.L.: *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **128**, 280-291 (2002)
- 8) Petersen, A., Dresselhaus, T., Grobe, K., Becker, W-M.: *Proteomics*, **6**, 6317-6325 (2006)
- 9) Goodman, R.E., Vieths, S., Sampson, H.A., Hill, D., Ebisawa, M., Taylor, S.L., van Ree, R.: *Nature Biotechnol.*, **26**, 73-81 (2008)

高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中の防腐剤クロルフェネシンの定量

五十嵐良明[#], 宮澤法政^{*1}, 島村公雄^{*2}, 佐藤信夫^{*3}, 吉沢賢一^{*4}, 林 正人^{*5},
高野勝弘^{*6}, 宮本道子^{*7}, 小島 尚^{*8}, 坂口 洋^{*9}, 藤井まき子^{*10}

Detection of the Preservative Chlorphenesin in Cosmetics by High-performance Liquid Chromatography

Yoshiaki Ikarashi[#], Norimasa Miyazawa^{*1}, Kimio Shimamura^{*2}, Nobuo Sato^{*3}, Ken-ichi Yoshizawa^{*4}, Masahito Hayashi^{*5},
Katsuhiko Takano^{*6}, Michiko Miyamoto^{*7}, Takashi Kojima^{*8}, Hiroshi Sakaguchi^{*9} and Makiko Fujii^{*10}

A simple determination method for preservative chlorphenesin in cosmetics was developed. Cosmetic samples were dissolved in methanol. The sample solution was analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with ODS column, using water-methanol (55:45) or water-acetonitrile (3:1) adjusted to pH 2.5 with phosphoric acid as the mobile phase. Chlorphenesin was detected with ultraviolet light detection at 280 nm. A linear relation was obtained between the peak areas and the concentrations of chlorphenesin in the range of 1–500 µg/ml. The determination limit of chlorphenesin was 1–2 µg/ml. Recoveries of chlorphenesin spiked in lotion and milky lotion at the levels of 0.03% and 0.3% were 98.8–100.0%. This method was applied for cosmetics including 0.03% and 0.3% of chlorphenesin and their content corresponded with the determined values.

Keywords: preservative, chlorphenesin, cosmetics, determination, HPLC

諸 言

クロルフェネシン[chlorphenesin, 3-(4-chlorophenoxy)-1,2-propanediol, CP, C₉H₁₁ClO₃, 分子量202.63]はFig. 1に示す化学構造式で, 化粧品の防腐剤として用いられる成分である. クロルフェネシンは, 化粧品基準(厚生省告示平成12年9月29日第331号)において, 粘膜に使用されることがない化粧品のうち洗い流すもの, 及び粘膜に使用されることがない化粧品のうち洗い流さないものに対して, 100 g中に0.3 g以下の配合が認められている¹⁾. 防腐剤の種類や量については最も違反例の多い項目であり, 時代や化粧品の種類とともに使用される物質も変化している. 現在最もよく使用される防腐剤は, パラベン類と呼ばれる*p*-ヒドロキシ安息香酸エステル類であるが, クロルフェネシンも651製品中14品に使用されていることが東京都の調査でわかっている²⁾.

日本薬学会衛生試験法・注解には種々の防腐剤の試験法が記載されているが, クロルフェネシンの試験法は記載されていない³⁾. クロルフェネシンの分析法として高速液体クロマトグラフィー (HPLC)²⁾やガスクロマトグラフィー⁴⁾を用いた方法が報告されている. 前者の

HPLCによる方法は, 化粧品中の防腐剤を一斉分析することを目的としたため, 7種もの試薬及び溶媒を混合した複雑な組成の移動相を用いている²⁾. そこで今回, 簡便なクロルフェネシンの試験法として, 単純な組成の移動相を用いたHPLC法を開発することとした.

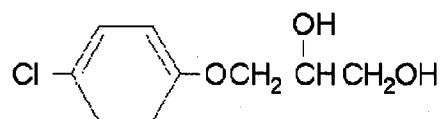


Fig. 1. Chemical structure of chlorphenesin

実験方法

1. 試薬

クロルフェネシンはSigma-Aldrich社から購入した. クロルフェネシン約0.1 gを精密にはかり, メタノールに溶かして正確に100 mlとしたものをクロルフェネシン標準原液とした. この原液をメタノールで希釈して, 10~200 µg/mlのクロルフェネシン標準溶液を調製した. *p*-ヒドロキシ安息香酸メチル(メチルパラベン), *p*-ヒドロキシ安息香酸エチル(エチルパラベン), フェノキシエタノール及びデヒドロ酢酸ナトリウムはメタノールに溶解して, 約1.0 mg/mlの各標準原液を調製した. これら4種の標準原液のうち3種またはすべてとクロルフェネ

[#] To whom correspondence should be addressed:

Yoshiaki Ikarashi; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.255, Fax: 03-3707-6950; E-mail: ikarashi@nihs.go.jp

シン標準原液を混合し、メタノールで希釈して、各100 $\mu\text{g/ml}$ の混合標準溶液を調製した。アセトニトリル及びメタノールは市販のHPLC用を用いた。

2. 試料

クロルフェネシンを無配合、あるいは0.03または0.3%配合して製剤した化粧水及び乳液を検討に用いた。

3. 器具及び装置

高速液体クロマトグラフは、島津製作所製LC-10_{VP}またはAgilent社製1100システムを用いた。

メンブランフィルターは、Millipore社製Millex-LCR（孔径0.45 μm ，直径13 mm，PTFE膜）を用いた。

4. 試験操作

4.1 試験溶液の調製

試料約1 gを精密にはかり、メタノールを加えて約10分間超音波処理して分散または溶解したのち、メタノールを加えて正確に10 mlとした。完全に溶解しないときはメタノールの容量を20～100 mlとした。この溶液をメンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。ろ過が不十分な場合は、3000 rpmで10分間遠心し、上清を試験溶液とした。

4.2 定量

試料溶液10 μl をHPLCに注入し、得られたクロマトグラムのクロルフェネシンのピーク面積を求め、別に、クロルフェネシン標準溶液（10～200 $\mu\text{g/ml}$ ）を用いて作成した検量線から、試験溶液中の濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）を求め、試料中の含有量（%）を算出した。

HPLC条件

カラム：TSKgel ODS-80_{TM}（東ソー（株）），CAPCELL PAK C18 UG120（（株）資生堂），またはInertsil ODS-3（ジーエルサイエンス（株））。いずれも4.6 mm i.d.×150 mm，粒径5 μm

カラム温度：40°C

移動相：水・メタノール（55:45），または水・アセトニトリル（3：1）をリン酸でpH 2.5に調整したもの

流速：1.0 ml/min

検出器：フォトダイオードアレイ検出器（280 nm）

結果と考察

1. 測定波長の検討

クロルフェネシン-メタノール溶液の紫外可視吸収スペクトルをFig. 2に示した。クロルフェネシンは228 nm及び280 nmに吸収極大を示した。HPLCの測定波長としては280 nmの方が特異性が高く適切と思われた。ただし、試験溶液中のクロルフェネシン量が少ない場合は、

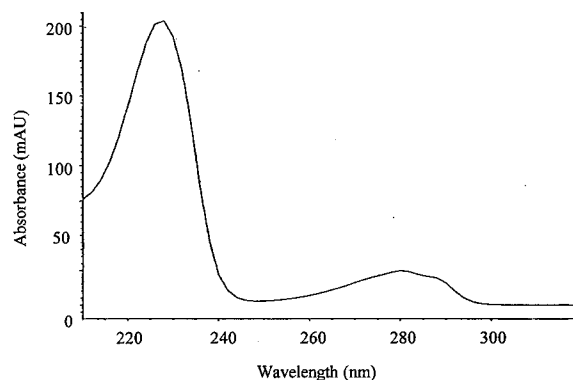


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectrum of chlorphenesin (1000 $\mu\text{g/ml}$ in methanol)

228 nmを検出波長とすることによって低濃度まで測定が可能と考えられた。

2. HPLC条件の検討

化粧品には、防腐剤としてクロルフェネシン以外にメチルパラベン、エチルパラベン、フェノキシエタノール、デヒドロ酢酸ナトリウムなどが汎用される。そのため、クロルフェネシンの定量にはこれら物質との分離分析が必要である。そこで、各物質を100 $\mu\text{g/ml}$ 含む混合標準溶液を用い、クロルフェネシンが分離、定量可能なHPLC条件を検討した。クロルフェネシンの保持時間は、カラムに一般的なODSカラムであるTSKgel ODS-80_{TM}を、移動相として水・メタノール混液を用いた場合、液比50:50では約6分、55:45では約10分、60:40では約20分であった。ここでは、クロルフェネシンの保持時間が10分程度となるよう、移動相は水・メタノール（55:45）混液とした。本条件でメチルパラベンの保持時間は約7分、エチルパラベンは約12分と、クロルフェネシンと良好に分離した（Fig. 3）。カラムとして別のODSカラムであるCAPCELL PAK C18 UG120を用いた場合、クロルフェネシンの保持時間は約7.5分とやや早くなったが他の物質との分離に問題はなかった。

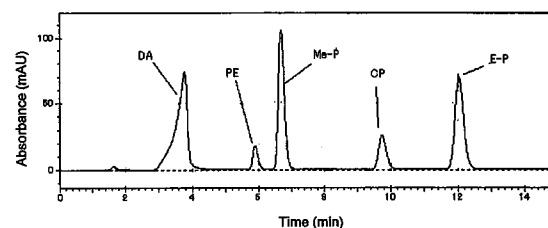


Fig. 3. HPLC chromatograms of preservatives

DA: dehydroacetic acid, PE: phenoxyethanol, Me-P: methyl *p*-hydroxybenzoate, CP: chlorphenesin, E-P: ethyl *p*-hydroxybenzoate.

HPLC column: TSK gel ODS-80_{TM} (4.6 mm i.d. × 150 mm), column temperature: 40°C, mobile phase: water-methanol (55:45), flow rate: 1.0 ml/min, detection wavelength: 280 nm, injection volume: 10 μl .

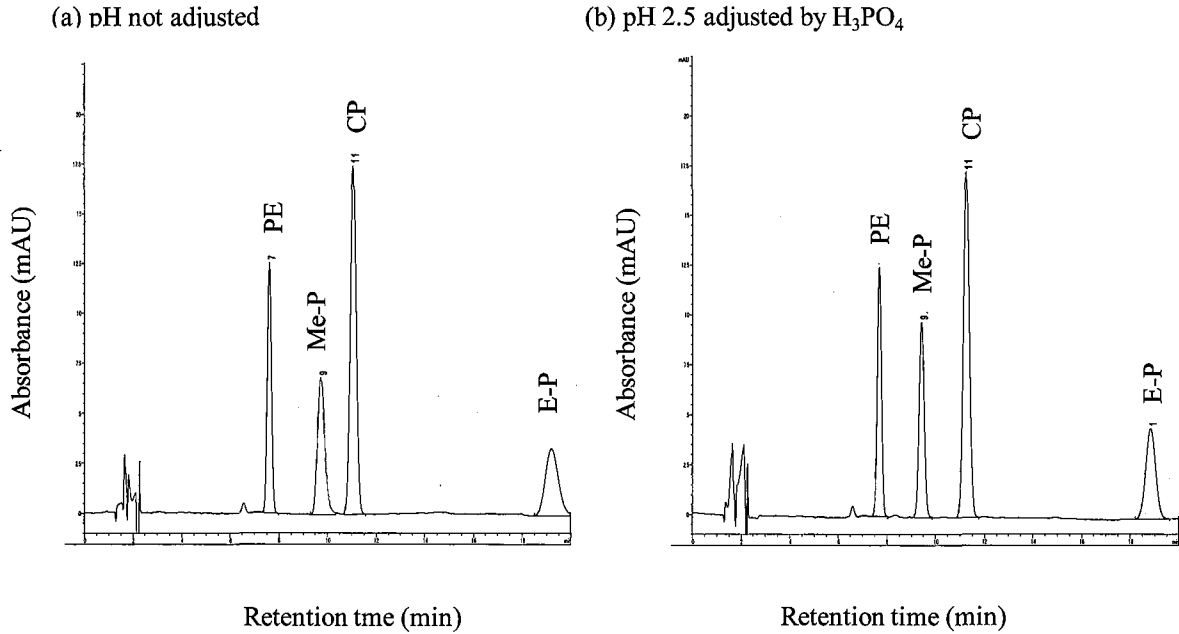


Fig. 4. Effect of pH on the HPLC chromatogram of preservatives

PE: phenoxyethanol, Me-P: methyl *p*-hydroxybenzoate, CP: chlorphenesin, E-P: ethyl *p*-hydroxybenzoate.

HPLC column: Inertsil ODS-3 (4.6 mm i.d. \times 150 mm), column temperature: 40°C, mobile phase: water-acetonitrile (3:1), flow rate: 1.0 ml/min, detection wavelength: 280 nm, injection volume: 10 μ l.

さらに水・アセトニトリル混液の移動相についても検討した。TSKgel ODS-80T_Mカラムで、水・アセトニトリル (4:1) 混液におけるクロルフェネシンの保持時間は約8分、3:1混液では約14分、7:3混液では約18分であった。そのため、水・アセトニトリル比は、水・メタノール混液を用いたときの保持時間とほぼ同じとなるよう3:1とした。カラムにInertsil ODS-3を使用した場合、クロルフェネシンの保持時間は約11分となったが、テーリングするメチルパラベンとの分離が若干良くなかった。そこで、移動相にリン酸を加えpH2.5と酸性にした結果、分離度は3.8と良くなった (Fig. 4)。

以上のことから、カラムとしては種々のメーカーのODSカラムが、移動相としては水・メタノール混液、あるいは水・アセトニトリル混液を用いることができることがわかった。また、水・アセトニトリル混液の場合は酸性にすることで、クロルフェネシンとメチルパラベンとの分離が改善されることがわかった。

3. 検量線及び定量限界

カラムにTSKgel ODS-80T_M、移動相に水・メタノール (55:45) 混液を用いた場合のクロルフェネシンの検量線をFig. 5に示した。いずれのカラム及び移動相を用いても、クロルフェネシンは1 ~ 500 μ g/mlの濃度範囲でピーク面積との間に良好な直線性が認められた ($\gamma^2 = 0.9995$)。また、定量限界濃度は1 ~ 2 μ g/mlであった。

4. 添加回収試験

クロルフェネシン無配合の化粧水及び乳液1.0 gにクロルフェネシンを約300 μ g添加し、試験法に従って操作した。添加したクロルフェネシンは、化粧水、乳液から良好に回収された (Table 1)。

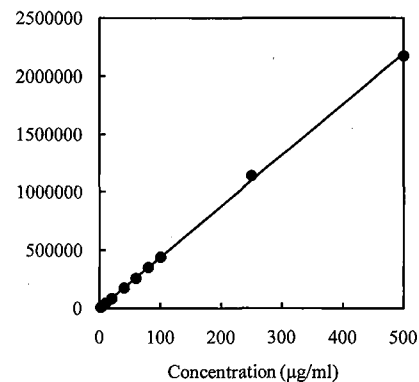


Fig. 5. Calibration curve of chlorphenesin

Table 1. Recovery of chlorphenesin added to lotion and milky lotion

Sample	Chlorphenesin	
	Added (μ g)	Recovery (%)
Milky lotion	317.1	98.8 \pm 0.3
Lotion	308.1	100.0 \pm 0.8

Each value was the mean \pm standard deviation of six experiments.

5. クロルフェネシン配合試料の定量

一定量のクロルフェネシンを配合して製剤した化粧水及び乳液を定量することで本試験法の精度を確認した。代表的な試料のクロマトグラムをFig. 6に、定量結果をTable 2に示した。いずれの試料ともクロマトグラム上でクロルフェネシンに重なるピークはなく、定量値もほぼ配合量の値と一致した。化粧水に比べると乳液に若干のばらつきが見られたが、問題のないレベルであった。

Table 2. Determination of chlorphenesin in lotion and milky lotion

Sample	Chlorphenesin	
	Content (%)	Determined (%)
Lotion	0	ND
	0.03	0.030 ± 0.000
	0.30	0.299 ± 0.001
Milky lotion	0	ND
	0.03	0.031 ± 0.000
	0.30	0.300 ± 0.003

ND: <0.001%.

Each value was the mean ± standard deviation of six experiments.

文献

- 1) Ministry of Health, Labour and Welfare Notification No.465 of October 2005
- 2) Mori, K., Nakamura, Y., Ohnuki, N., Terajima, K., Miyamoto, M., Ogino, S. and Saito, K.: *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P.H.*, **58**, 103-106 (2007)
- 3) "Method of Analysis in Health Science 2005," eds. By the Pharmaceutical Society of Japan, Kanehara & Co., Ltd., Tokyo, Japan (2005)
- 4) Douglas, J. F., Stockage, J. A. and Smith, N. B.: Gas chromatographic determination of chlorphenesin in plasma. *J. Pharm. Sci.*, **59**, 107-108 (2006)

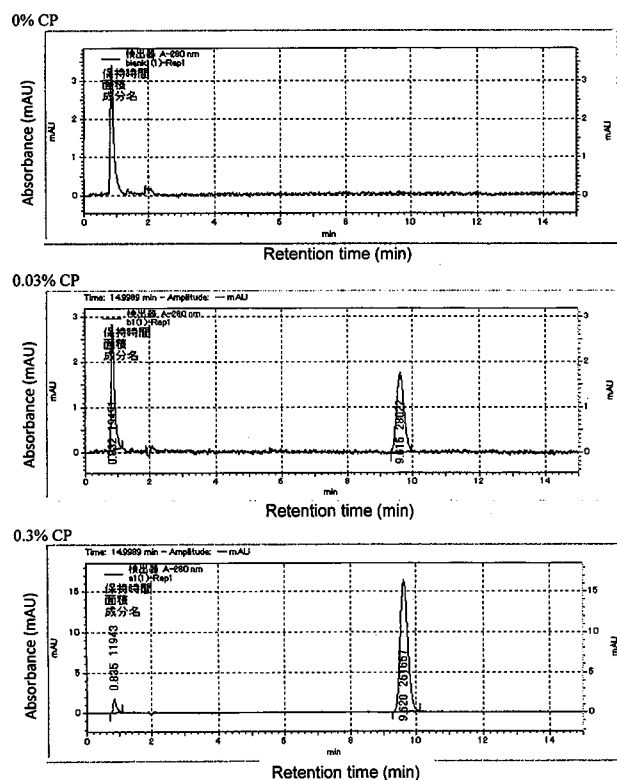


Fig. 6. HPLC chromatograms of milky lotions containing chlorphenesin (CP)

The HPLC conditions have been described in Fig. 3.

アトピー性皮膚炎への効果をうたう化粧品のステロイド配合に関する一斉収去検査
：プロピオン酸クロベタゾールの検出

五十嵐良明[#], 瀧田葉子, 内野 正, 西村哲治

Detection of clobetasol propionate in a cream advertised
to be effective against atopic dermatitis

Yoshiaki Ikarashi[#], Yoko Takita, Tadashi Uchino, and Tetsuji Nishimura

Addition of medical ingredients to cosmetics is prohibited. However, last year some cases of illegal cosmetics containing steroids were successfully identified. We have already reported an analytical method to detect steroids in cosmetics [*Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 126, 51-56 (2008)]. In this study, we initially examined whether this method could be applied for the detection of some new steroids as target chemicals. We then used this developed method to detect steroids in cosmetics obtained from manufacturers by spot checks. These manufacturers have been advertising the effectiveness of a steroid-free cream against atopic dermatitis. The results revealed that clobetasol propionate (CP) was present in this facial moisturizing cream, which was available in the market. The steroid was extracted with methanol. After ultrasonication and centrifugation, the resulting supernatant was injected into the high-performance liquid chromatography system equipped with an ODS column. The separation was achieved using a mixture of acetonitrile and water as the mobile phase. The retention times of the observed peaks were in accordance with those of some preservatives and CP. The presence of CP was also confirmed by thin-layer chromatography. The concentration of CP in the cream was approximately 0.039%. CP is a steroid that has the strongest effect as compared to those of other steroids. The cream was therefore recalled for safety reasons.

Keywords: clobetasol propionate, steroid, cosmetics, atopic dermatitis

緒 言

2008年(平成20年)2月及び7月と相次いで、日本国内で製造・販売されていた化粧クリームに医薬品成分のステロイド(副腎皮質ホルモン)が含有されていた事例が報告され、いずれも薬事法違反で商品回収及び販売中止が指示された¹⁻⁶⁾。これらの化粧品は、「アトピー性皮膚炎にもよく効く」との触れ込みでインターネットなどを通じて通販されていた。薬事法では、化粧品に医薬品を配合することは禁止されており、化粧品の全成分を表示することが義務付けられている⁷⁾。ステロイドには強力な抗炎症作用と免疫抑制作用があり、これを配合した外用薬は種々の皮膚疾患の治療に用いられている。ステロイドは医師の指導のもと正しい使用方法で用いれば問題はないが、効果の強いステロイドを長期間使用し続けると塗布部位に血管が浮き上がって赤く見えたり皮膚が薄

くなったりするなどの局所的な副作用が起きることがあり注意が必要である^{8,9)}。

規制緩和により、業者は自分の判断と責任で、種々の成分を自由に化粧品に配合できるようになった。製品のインターネット等での宣伝及び評判は、消費者の購買意欲及び販売数に大きく影響する。冒頭で示した事例は、高機能性との評判を獲得するために医薬品が使用された原料を配合して、結果的に化粧品製品として違反を引き起こしてしまった。近年アトピー性皮膚炎の患者が増えていると言われているが、患者はステロイド外用薬の副作用を危惧して使用をできるだけ減らしたい、化粧品のようなもので何とかしたいという意識がある。ネットを中心に販売されている保湿クリームには、こうした患者をターゲットとするように「脱ステロイド。天然成分のみ。ステロイドを含まない。アトピーにも効果的。」と宣伝しているものがあるが、消費者の使用意見の中には化粧品では考えられないような即効性や効果についての記載があり、ステロイドの配合が疑われるものもある。

平成20年度医薬品等の一斉監視指導では、アトピー性皮膚炎への効果を標榜する化粧品についてステロイド

[#] To whom correspondence should be addressed:

Yoshiaki Ikarashi; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.255, Fax: 03-3707-6950; E-mail: ikarashi@nihs.go.jp

の配合の有無を検査することとした。化粧品中のステロイドの分析法として特に規定されるものはないが、既に我々は試験法を開発し報告している¹⁰⁾。今回はまず、いくつかのステロイドが入手できたのでこれを試験対象物質として追加し、先の試験法でこれらを分析できるかどうかを検討した。次に、全国の製造販売業者から収去した製品に対し、この方法を適用して検査した。その結果、化粧品1種にステロイドの配合を確認した。

実験方法

1. 試料

東京都、宮城県、大阪府、奈良県から化粧品8品を収去した。米国製のSample 1～4はA社から入手した。Sample 5及び8についてはそれぞれB社及びD社が、Sample 6及び7についてはC社が製造販売会社として表示され、いずれも国内製造されたものであった。

2. 試薬

ステロイド（副腎皮質ホルモン及び卵胞ホルモン）は市販試薬として入手可能なものを分析対象とし、略名及び入手先をTable 1に示した。*p*-ヒドロキシ安息香酸エステル（パラベン類）については和光純薬工業（株）及び東京化成工業（株）から購入した。テトラヒドロフラン（THF）及びメタノールは市販高速液体クロマトグラフィ用を用いた。各ステロイド及びパラベン類はメタノールに溶解して標準原液（約1000 µg/ml）を調製し、適宜混合希釈して各混合標準溶液を調製した。

3. 器具及び装置

TLC用薄層板：Silica gel 60 F254, 薄層厚0.25 mm, 20×20 cm (Merck社製5715)

超音波洗浄機：シャープマニファクチャリングシステム（株）製UT205型

メンブランフィルター：Millipore社製Millex-FG（孔径0.20 µm, 直径13 mm, PTFE膜）

高速液体クロマトグラフ（HPLC）：（株）島津製作所製LC-10AD型ポンプ2台にSPD-M20A型フォトダイオードアレイ検出器または紫外可視検出器SPD-10AVvp, CTO-10AC型カラムオープン, SIL-10AD型オートサンプラーを連結して用いた。（株）島津製作所製LCワークステーション（LC solution）によりHPLCのシステム制御、データ収集及び解析を行った。

4. 試験操作

4.1 試料溶液の調製

試料約0.5 gを量りとり、メタノール約9 mlを加えて10分間超音波処理した後、さらにメタノールを加えて正確に10 mlとした。この溶液を10000 rpmで10分間遠心した後、上清を分取し、メンブランフィルターを通したものを試料溶液とした。

4.2 HPLCによる定性及び定量

試料溶液10 µlを下記条件のHPLCに注入し、得られたクロマトグラム上の各ピークの保持時間及び紫外可視吸収スペクトルを各標準溶液のものと比較した。

HPLC条件1

カラム：CAPCELL PAK C18 UG120 (4.6 mm i.d.×150 mm, 粒径5 µm, (株)資生堂)

カラム温度：40℃

移動相：A液；水, B液；THF

流速：1.0 ml/min

検出波長：254 nm及び205 nm

リニアグラジエントの条件

min	A(%)	B(%)
0	70	30
35	0	100
45	0	100

HPLC条件2

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 mm i.d.×150 mm, 粒径5 µm, ジーエルサイエンス (株))

カラム温度：40℃

移動相：メタノール-水 (7:3)

流速：1.0 ml/min

検出波長：240 nm

4.3 TLCによる定性

上記条件2のHPLCに試料溶液10 µlを注入し、CP相当ピークを分取する操作を20回繰り返した。分取した溶出液はエバポレーターを用いて溶媒を除き、残留物を少量のメタノールに溶解し、TLC用試験溶液とした。各標準溶液（約1000 µg/ml）については特に指示がない場合2 µl, TLC用試験溶液については20 µl以上を薄層板にスポットした。ヘキサノール-酢酸エチル (1:3) を展開溶媒として約10 cm展開した後、薄層板を風乾し、紫外線 (254 nm) を照射して観察後、アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液を均等に噴霧して、得られたスポットの位置を比較した。

結果と考察

1. HPLCによるステロイドの定性

各種ステロイドのHPLCによる一斉分析法については既に報告した¹⁰⁾。今回、更に数種のステロイドを追加し、同条件下での分離状況を調べた。カラムとしてCAPCELL PAK C18 UG120を用い、移動相は水とTHFのリニアグラジエントとした。ステロイド混合液のクロマトグラムをFig. 1に、各ステロイド、卵胞ホルモン及

びパラベン類の保持時間をTable 1に示した。いくつかのステロイドに関しては保持時間が非常に近くピークが重なるものもあった。しかし、複数のステロイドを併用して製品に使用することはほとんどないものと予想されるので、ステロイド以外の成分との分離がされれば、定性で問題になることは少ないと思われる。HPLC条件1での各ステロイドの検量線をFig. 2に示した。ステロイドにより感度の差はあるが、いずれも0.5 ~ 25 µg/mlの範囲で良好な直線性を示した。

イソクラティック条件の移動相を用いたときの試験物質の保持時間をTable 2に示した。本HPLC条件2では、カラムをInertsil ODS-3に、移動相もメタノール-水 (7:3) に変更した。条件1と2とは、一部の物質で保持時間

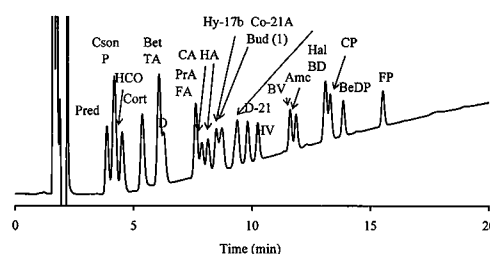


Fig. 1. HPLC chromatograms of the tested steroids
HPLC column: CAPCELL PAK C18 UG120 (4.6 mm i.d. × 50 mm), column temperature: 40°C, mobile phase: THF-water (gradient times are as mentioned in the text), flow rate: 1.0 ml/min, detection wavelength: 254 nm, injection volume: 10 µl. The concentration of each chemical in methanol was approximately 5 µg/ml.

Table 1. Target steroids and preservatives and their retention times

Chemical	Abbreviation	Company	Retention time (min)
Prednisone	Pred	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	3.90
Phenoxyethanol	Phe	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	3.97
Cortisone	Cson	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	4.18
Prednisolone	P	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	4.23
Hydrocortisone	HCO	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	4.54
Estriol	Estriol	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	4.78
Corticosterone	Cort	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	5.39
Methyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	MP	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	5.84
Betamethasone	Bet	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	6.10
Triamcinolone acetonide	TA	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	6.13
Dexamethasone	D	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	6.32
Ethyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	EP	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	7.62
Prednisolone acetate	PrA	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	7.67
Fluocinolone acetonide	FA	MP Biomedicals, Inc.	7.69
Cortisone acetate	CA	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	7.94
Hydrocortisone acetate	HA	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	8.18
Hydrocortisone 17-butyrate	Hy-17b	Sigma-Aldrich, Inc.	8.55
Corticosterone 21-acetate	Co-21A	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	8.73
Budesonide	Bud	LKT Laboratories, Inc.	8.83 + 9.34
Isopropyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	iPP	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	9.27
Betamethasone 21-acetate	Be-21A	Sigma-Aldrich, Inc.	9.44
β-Estradiol	Estradiol	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	9.59
<i>n</i> -Propyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	PP	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	9.63
Dexamethasone 21-acetate	D-21	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	9.87
Hydrocortisone 17-valerate	HV	Sigma-Aldrich, Inc.	10.29
Estrone	Estrone	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	10.58
Isobutyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	iBP	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	11.34
Ethinylestradiol	EED	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	11.37
<i>n</i> -Butyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	BP	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	11.47
Betamethasone valerate	BV	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	11.67
Amcinonide	Amc	Sigma-Aldrich, Inc.	11.94
Diethylstilbestrol	DES	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	12.66
Hexestrol	Hexestrol	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	12.88
Halcinonide	Hal	Sigma-Aldrich, Inc.	13.13
Betamethasone dipropionate	BD	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	13.18
Clobetasol propionate	CP	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	13.38
Beclomethasone dipropionate	BeDP	MP Biomedicals, Inc.	13.92
<i>n</i> -Hexyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	HP	Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.	14.29
Flumethasone pivalate	FP	Sigma-Aldrich, Inc.	15.59
2-Ethylhexyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	EHP	Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.	15.82

HPLC column: CAPCELL PAK C18 UG120 (4.6 mm i.d. × 150 mm), column temperature: 40°C, mobile phase: solvent A = water, solvent B = THF (gradient times are similar to those mentioned in the text), flow rate: 1.0 ml/min, detection wavelengths: 254 and 205 nm, injection volume: 10 µl. Budesonide showed 2 peaks.

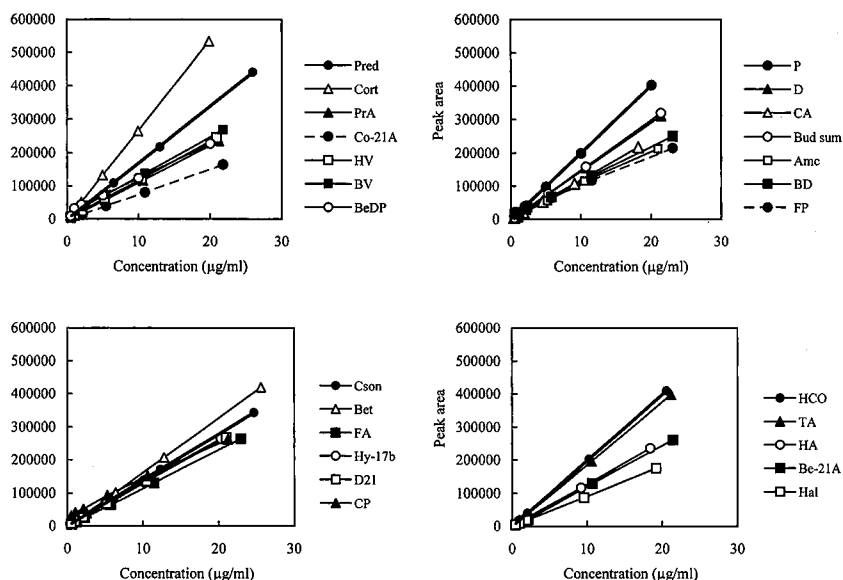


Fig. 2. Calibration curves of steroids
The concentration of each steroid in methanol was approximately 0.5–25 µg/ml. HPLC conditions were similar to those described in Fig. 1

Table 2. Retention time of steroids and preservatives

Chemical	Abbreviation	Retention time (min)
Prednisone	Pred	3.01
Phenoxyethanol	Phe	2.84
Cortisone	Cson	3.11
Prednisolone	P	3.42
Hydrocortisone	HCO	3.50
Estriol	Estriol	2.90
Corticosterone	Cort	4.42
Methyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	MP	2.90
Betamethasone	Bet	3.91
Triamcinolone acetonide	TA	4.26
Dexamethasone	D	3.96
Ethyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	EP	3.46
Prednisolone acetate	PrA	4.42
Fluocinonide acetonide	FA	4.25
Cortisone acetate	CA	4.26
Hydrocortisone acetate	HA	4.47
Hydrocortisone 17-butyrate	Hy-17b	6.46
Corticosterone 21-acetate	Co-21A	5.74
Budesonide	Bud	7.74
Isopropyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	iPP	4.16
Bethamethasone 21-acetate	Be-21A	5.02
β-Estradiol	Estradiol	8.43
<i>n</i> -Propyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	PP	4.46
Dexamethasone 21-acetate	D-21	5.29
Hydrocortisone 17-valerate	HV	8.72
Estrone	Estrone	6.02
Isobutyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	iBP	5.86
Ethinylestradiol	EED	5.76
<i>n</i> -Butyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	BP	6.10
Betamethasone valerate	BV	10.84
Amcinonide	Amc	12.12
Diethylstilbestrol	DES	5.84
Hexestrol	Hexestrol	6.53
Halcinonide	Hal	9.93
Betamethasone dipropionate	BD	12.95
Clobetasol propionate	CP	9.09
Beclomethasone dipropionate	BeDP	>15
<i>n</i> -Hexyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	HP	13.06
Flumethasone pivalate	FP	12.12
2-Ethylhexyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	EHP	>15

HPLC column: Inertsil ODS-3 (4.6 mm i.d. × 150 mm), column temperature: 40°C, mobile phase: methanol-water (7:3), flow rate: 1.0 ml/min.

の逆転が認められた。なお、記載した保持時間の値はHPLCシステム等の違いにより多少の変動がある。本条件でもいくつかのステロイドについては保持時間が近くピーク形状が変化し、対象物質すべてを混合した標準溶液のクロマトグラムと比較して、定性することは難しい。クロマトグラム上でそれぞれピークが重ならないような保持時間を有するステロイドを数種ずつ混合した標準溶液をいくつか調製し、それぞれのクロマトグラムと試験溶液とのピークの保持時間を比較してステロイドの定性をした方がよいと思われる。更に、複数の条件での確認も有効である。

2. 試料のHPLC分析

各製品をメタノールに溶解して調製した試験溶液のHPLC条件1におけるクロマトグラムをFig. 3に示した。いずれの製品とも、防腐剤が配合成分として表示されており、それらに相当するピーク1から5が得られた。Sample 1～7については記載のパラベン類とフェノキシエタノール (Phe) が確認された。Sample 8についてはメチルパラベン (MP) と記載されているが、分析するとMPの代わりにエチルパラベン (EP) が検出され、成分表示の記載不備と考えられた。Sample 1～7についてはステロイドに相当するピークはなかった。Sample 8については、EPの他に約13分にピークが出現し、プロピオン酸クロベタゾール (clobetasol propionate, CP) の保持時間とほぼ一致した。

次に、HPLC条件2で検討した。検出波長は、CPが極大吸収を示す240 nmとした。CPの保持時間は約9分

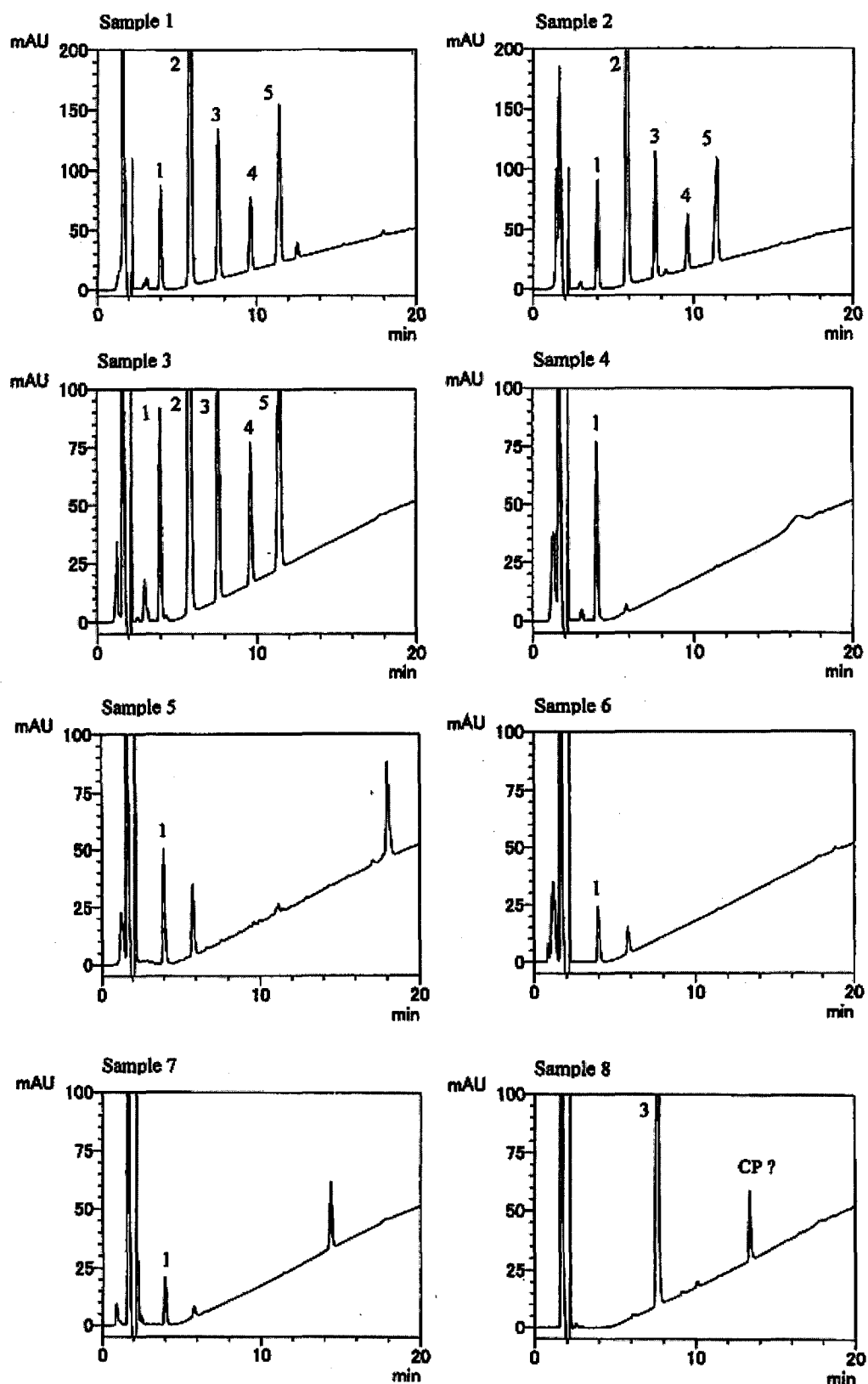


Fig. 3. HPLC chromatograms of the samples

Sample (0.5 g) was dissolved in 10 ml of methanol. After centrifugation, the supernatant was taken and injected into the HPLC system. HPLC conditions were the same as those mentioned in Fig. 1.

Peaks: 1, Phe; 2, MP; 3, EP; 4, PP; 5, iBP + BP.

であった。SampleのクロマトグラムをFig. 4に示した。Sample 1～7に関しては表示されている殺菌防腐剤等のピークが、sample 8に関しては主として2本のピークが得られ、一方はEP、もう一方はCPと保持時間が一致した。

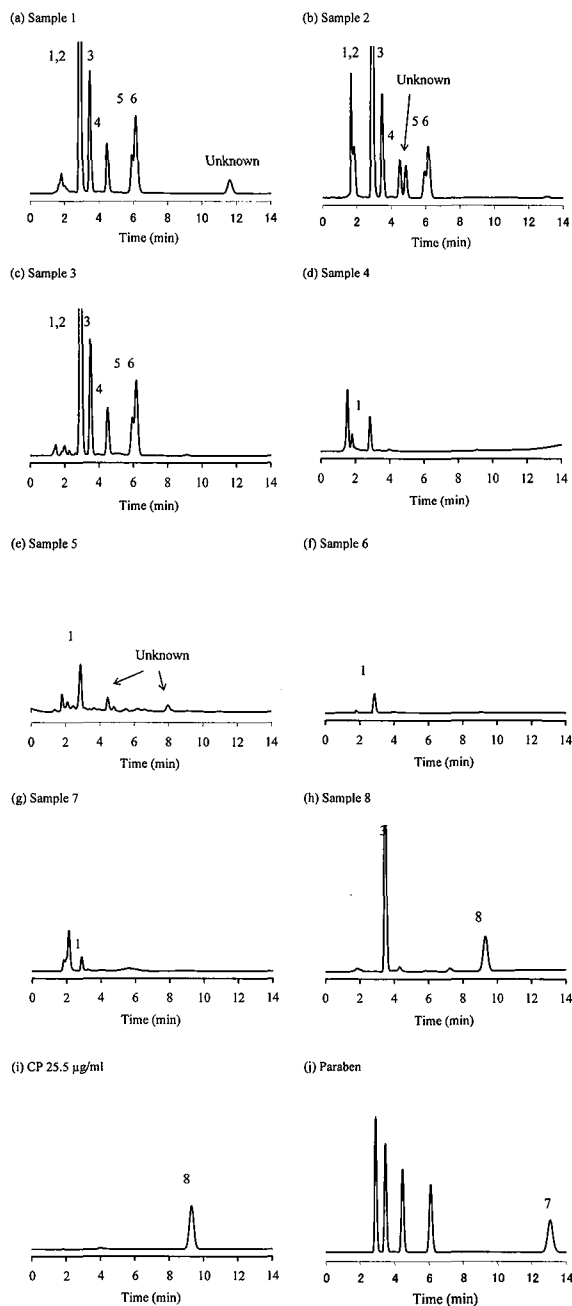


Fig. 4. HPLC chromatograms of samples and clobetasol propionate (CP)

Peaks: 1, Phe; 2, MP; 3, EP; 4, PP; 5, iBP; 6, BP; 7, HP; 8, CP.

HPLC column: Inertsil ODS-3 (4.6 mm i.d. × 150 mm), mobile phase: methanol-water (7:3), detection wavelength: 240 nm. The other conditions were the same as those mentioned in Fig. 1.

Each sample (0.5 g) was dissolved in 10 ml of methanol.

PDA検出器でのSample 8のピークの紫外吸収スペクトラムをCPのそれと比較したところ、両ピークとも240 nmに極大吸収を持ち、ほぼ一致したスペクトル形状を示した (Fig. 5).

3. TLCによる確認

Sample 8のクロマトグラムでCPに相当する (HPLC条件2で保持時間約9分) ピークフラクションを分取、濃縮したものについてTLCで分析した。TLC条件は既報の方法¹⁰⁾から若干変更し、TLCプレートはシリカゲル、展開溶媒はヘキサン-酢酸エチル (1:3) とした。濃縮しない試料溶液 (Sample) ではEP以外のスポットは認めなかったが、分取した画分 (Peak) についてはCPと同じ位置にスポットが認められ、ステロイド骨格を有する化学物質に特異的なアルカリ性ブルーテトラゾリウム試液で薄赤色に呈色した。本TLC条件ではhalcinonideもほぼ同位置にスポットが出るが、HPLCでは保持時間が異なり区別は可能であった (Fig. 6)。以上のことから、sample 8にはCPが配合されていると判断した。

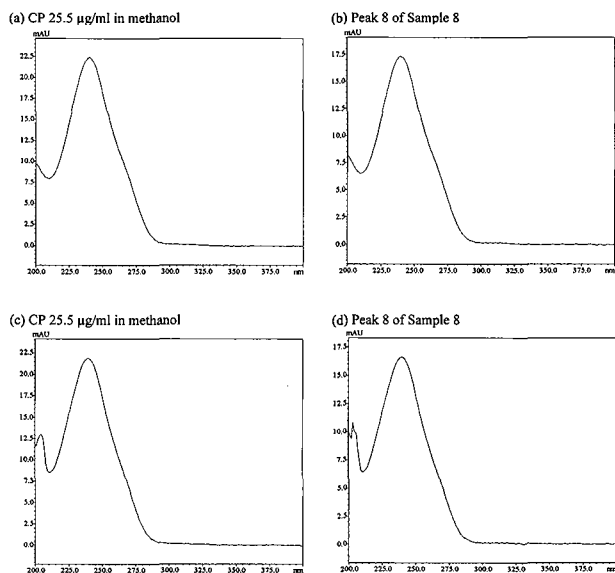


Fig. 5. Ultraviolet absorption spectra of standard CP and peak 8 of sample 8

HPLC mobile phase of (a) and (b) was a gradient methanol-water mixture and that of (c) and (d) was an isocratic THF-water (40:60) mixture. Other HPLC conditions were the same as those described in the text.

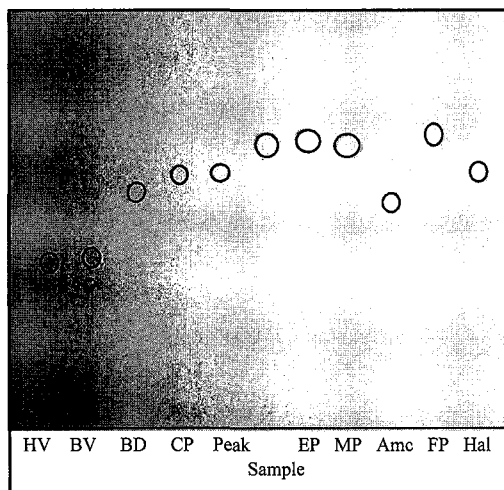


Fig. 6. Thin-layer chromatogram of steroids and sample 8
The TLC plate was precoated with silica gel 60 F254 (layer thickness of 0.25 mm). Hexane:ethyl acetate (1:3) was used as the developing solvent. The spots were visualized by spraying the plate with an alkaline tetrazolium blue solution.

Abbreviations of the steroids are provided in Table 1.

Sample: Approximately 0.5 g of cream was dissolved in 10 ml of methanol.

Peak: Fractionated sample from the cream extract. The residue was dissolved in a small amount of methanol.

4. 検量線と定量

Sample 8の試験溶液はメタノールで調製した。メタノールを加え攪拌しただけではワックス状の不溶物が残るものの、超音波で処理するとよく分散した。よって、メタノールに対して高い溶解度を有するCPは、採取した試料中の全量が溶液に移行すると考えられる。HPLC条件2でCPは2.5～100 µg/mlの濃度範囲でピーク面積との間に良好な直線関係が認められた。この検量線を用いてSample 8中のCPを定量したところ、1 g当たり0.39 mg (0.039%) 含まれていることがわかった。

CPはステロイドの中でも最も薬効の強いグループに属し、これを含有する製剤は外用合成副腎皮質ホルモン剤として医薬品に承認されている^{7,8)}。CP含有製剤は劇薬に指定されており、各種皮膚疾患の治療に使用する外用剤中へのCP配合量は0.05%である。今回検出された量は若干少ないもののこれに匹敵する量であった。この製品を長期連用していた人は急に使用を中止すると健康影響が危惧され、早急に医師の診断が必要とされた。これまでも、アトピー性皮膚炎の治療を標榜するクリームに各種ステロイドが検出されたという事例が報告され問題視されていたが^{1-6, 10)}、また同様のことが繰り返されることとなった。本件に関しては、製造販売の禁止、自主回収の指導がされた¹¹⁾。

ステロイドが検出された本製品は、中国の製造元から供給されたバルク（クリーム）をそのまま充てん包装し、輸入販売しているとの情報が得られた¹²⁾。このことはクリームの製造段階、すなわち原料にCPが使われていた可能性を示唆している。CPに関連した違反としては、2001年に「皮炎霜」と呼ばれる無承認無許可医薬品に、医薬品とほぼ同濃度のCPが含有されていたという事例がある¹³⁾。化粧品についても過去にそうした報告があり^{14,15)}、いずれも輸入品であった。中国でもCPをはじめステロイドの入った製品による健康被害が問題になっている¹⁶⁾。中国には「順峰康王」というCP含有医薬品があり、「皮炎霜」はそれを詰め直して製品にした可能性が高いとされている¹⁵⁾。他にも、CPの濃度や組成の異なる軟膏が中国では市販されている。今回の製品も、こうした中国製軟膏を原料として詰め直し、あるいは希釈して化粧品用クリームとしたものと推測される。

文 献

- 1) Yamanashi Prefecture.
http://www.pref.yamanashi.jp/news/200803/documents/file_1204627242828.pdf
- 2) The Sankei Shimbun & Sankei Digital.
<http://sankei.jp.msn.com/life/lifestyle/080311/sty-803112048007-n1.htm>
- 3) Fukui Prefectural Government.
<http://www.pref.fukui.lg.jp/doc/imu/yakumu/houdousiry-ou.html>
<http://www.pref.fukui.lg.jp/doc/imu/yakumu/houdousiry-ou2.html>
- 4) National Consumer Affairs Center of Japan (NCAC).
http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20080716_3.pdf
- 5) Tokyo Metropolitan Government.
<http://www.metro.tokyo.jp/INET/OSHIRASE/2008/07/20i7h100.htm>
- 6) Ministry of Health, Labour and Welfare.
<http://www.mhlw.go.jp/topics/2008/07/tp0716-1.html>
- 7) Ministry of Health, Labour and Welfare. Notification of No.331 of Ministry of Health and Welfare (2000)
- 8) Furue, M., Furukawa, F., Hide, M., Takehara, K., Committee for Revised Guidelines 2003 for Therapy for Atopic Dermatitis of Japanese Dermatological Association.: *Jpn. J. Dermatol.*, **114**, 135-142 (2004)
- 9) Furue, M., Saeki, H., Furukawa, F., Hide, M., Ohtsuki, M., Nakamura, T., Sasaki, R., Suto, H., Takehara, K., Committee for Guidelines for Management of Atopic Dermatitis of Japanese Dermatological Association.: *Jpn. J. Dermatol.*, **118**, 325-342 (2008)

- 10) Ikarashi, Y., Matsumura, Y., Miwa, M., Uchino, T., Tokunaga, H., Nishimura, T. : *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **126**, 51-57 (2008)
- 11) Pharmaceuticals and Medical Devices Agency.
<http://www.info.pmda.go.jp/rgo/MainServlet?recallno=2-3400>
- 12) The Sankei Shimbun & Sankei Digital.
<http://sankei.jp.msn.com/life/lifestyle/090311/sty-903111359002-n1.htm>
- 13) Ministry of Health, Labour and Welfare.
<http://www-bm.mhlw.go.jp/houdou/0109/h0907-5.html>
- 14) Ministry of Health, Labour and Welfare.
<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2004/06/h0603-1.html>
- 15) Ninowa, K., Kishimoto, K., Moriyasu, T., Shigeoka, S., Yasuda, I.: *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P.H.*, **56**, 47-51 (2005)
- 16) Record China.
<http://www.recordchina.co.jp/group/g12944.html>
<http://www.recordchina.co.jp/group/g25086.html>
<http://www.recordchina.co.jp/group/g25097.html>

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：塩化ストロンチウム

内野 正[#], 五十嵐良明, 西村哲治

Studies for the Analytical method of Prohibited Ingredient Strontium Dichloride in Cosmetics

Tadashi Uchino[#], Yoshiaki Ikarashi and Tetsuji Nishimura

Strontium dichloride is one of the prohibited ingredients in cosmetics due to the Japanese Pharmaceutical Affairs Act. We established the analytical method for strontium dichloride in cosmetics by capillary electrophoresis (CE). The toothpaste was dispersed into water.

After ultrasonication for 10 min, the solution was centrifuged at 3000 rpm for 10 min. The supernatant was filtrated through a membrane (0.45 μm), diluted 100-times with water, and injected into CE. The calibration curve showed linear between the concentrations of strontium dichloride (from 2 to 50 $\mu\text{g/ml}$) and the peak area of strontium ion. Detection limit of strontium dichloride is 2 $\mu\text{g/ml}$. There was no interference of the ingredients in the toothpaste.

Keywords: strontium dichloride, capillary electrophoresis, prohibited ingredients, toothpaste, cosmetics

1. 緒 言

塩化ストロンチウム($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 分子量266.62)は知覚過敏用の歯磨き粉, 花火の着色や他のストロンチウム化合物の原料などとして用いられているが¹⁻⁴⁾, 我が国では平成12年9月から化粧品への配合が禁止されている⁵⁾. (塩化) ストロンチウムの分析法としては, エレクトロスプレーイオン化イオン移動度計(ESI-IMS)法⁶⁾やフレイムレス原子吸光法⁷⁾が報告されている. 今回我々は, キャピラリー電気泳動法を検討し, 市販歯磨き粉に適用した.

2. 実 験

2.1 装 置

Hewlett Packard製3D-CE型キャピラリー電気泳動装置を用いた.

2.2 試薬・試液

塩化ストロンチウム(strontium dichloride, $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 純度99.9%以上)は和光純薬工業特級を, 無機陽イオン分析用bufferはAgilent社製を用いた. 試料は市販の歯磨き粉4種類 [日本製2種 (A, B), 米国製(C:知覚過敏用), 英国製(D:知覚過敏用, 塩化ストロンチウム10%配合と表示)] を用いた.

塩化ストロンチウム標準溶液: 塩化ストロンチウム約10 mgを精密に量り, 水を加えて正確に10 mlとしたものを原液とした. これを水で希釈し, 2 ~ 50 $\mu\text{g/ml}$ の標準溶液を調製した.

2.3 定量法

試料約0.5 gに水を加えて50 mlとし, 超音波浴で10分間分散した. その後, 3000 rpm, 10分間遠心し, 上清を孔径0.45 μm のフィルターでろ過した後, 水で正確に100倍希釈したものを試料溶液とした.

試料溶液及び標準溶液を次の条件でキャピラリー電気泳動法による測定を行い, 標準溶液から作成した検量線から試料溶液中の塩化ストロンチウムの濃度C(mg/l)を求めた.

試料中の塩化ストロンチウムの濃度(mg/ g) = $5 \times C$ / 試料採取量(g)

測定条件:

キャピラリー: 内径75 μm , 有効長72 cm, フューズシリカキャピラリー

キャピラリー温度: 25 $^{\circ}\text{C}$

泳動用buffer: 無機陽イオン分析用buffer

注入法: 加圧法, 50 mbar, 4 seconds

極性: Positive

印加電圧: 30 kV(373V/cm)

分析時間: 15 min

検出波長: 310 nm, バンド幅20 nm

[#] To whom correspondence should be addressed: Tadashi Uchino; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:03-3700-1141 ext.318; Fax:03-3707-6950; E-mail: uchino@nihs.go.jp

リファレンス波長：215 nm，バンド幅10 nm

3. 結果及び考察

3.1 塩化ストロンチウムの検量線及び再現性

塩化ストロンチウム標準溶液(10 µg/ml)のエレクトロフェログラムをFig.1に示した。保持時間8分付近にストロンチウムイオンのピークが検出された。

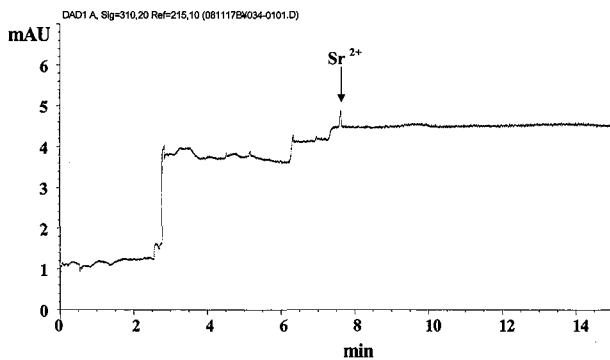


Fig.1 Electropherogram of strontium dichloride

2～50 µg/mlの標準溶液を用いて、検量線を作成した(Fig.2)。塩化ストロンチウムの濃度とストロンチウムイオンのピーク面積との間には良好な直線関係が成立した。

10 µg/mlの塩化ストロンチウム溶液を3回繰り返し注入したとき、得られたストロンチウムイオンのピーク面積の相対標準偏差(R.S.D.)は0.9%であった。塩化ストロンチウムの検出限界濃度は、ストロンチウムイオンのピークにおけるS/N=3とすると2 µg/ml、定量下限をS/N=10とすると7 µg/mlであった。

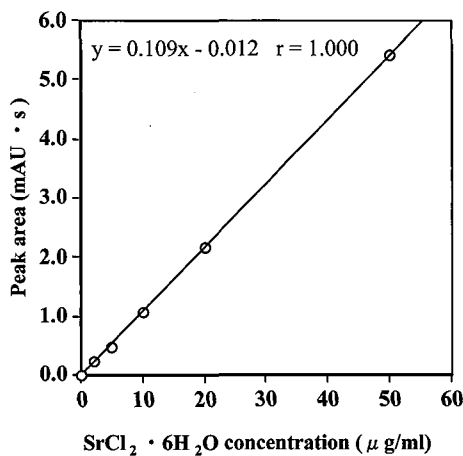


Fig.2 Calibration curve for strontium dichloride

3.2 化粧品への応用

試料A,B及びCそれぞれに塩化ストロンチウムを10%量添加したものについて、回収試験を行った。

日本では、歯磨き粉は薬事法により化粧品若しくは医薬部外品に分類されており、化粧品として分類される歯磨き粉については塩化ストロンチウムの配合が平成12年の告示において禁止されている。

欧米では、塩化ストロンチウムは知覚過敏用歯磨き(日本の医薬部外品に相当)に通常10%の濃度で配合されており³⁾、米国から輸入された歯磨き粉から検出されている⁴⁾。

Fig.3には、試料A及びこれに塩化ストロンチウムを添加したときのエレクトロフェログラムを示した。塩化ストロンチウムを添加した場合、保持時間8分付近にストロンチウムイオンのピークが認められた。試料B及びCについてもほぼ同様のエレクトロフェログラムが得られ、ストロンチウムイオンに重なるようなピークは認められなかった。

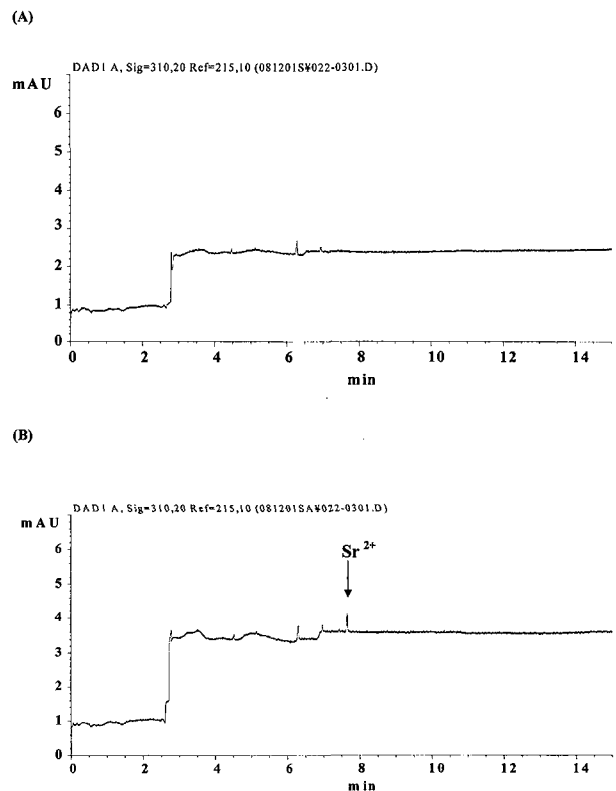


Fig.3 Electropherogram of samples

(A) toothpaste A, (B) toothpaste A + 100 mg/g strontium dichloride

試料A, B及びCに添加した塩化ストロンチウムの回収率はそれぞれ, 102.9%, 99.0%及び97.9%であった(Table1). また, 相対標準偏差は 2.8%, 2.9%及び 1.5%といずれも3%未満であった.

Table 1. Recovery of added strontium dichloride from toothpaste

Experiment No.	Recovery(%)		
	Toothpaste A	Toothpaste B	Toothpaste C
1	99.7	96.0	97.9
2	101.5	96.9	96.0
3	104.3	101.5	97.9
4	106.1	101.5	99.7
Average	102.9	99.0	97.9
R.S.D.	2.8	2.9	1.5

試料Dには10%塩化ストロンチウム($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)を含むという表示がされており, その試料溶液には, ストロンチウムイオンのピークが見られた(Fig.4).

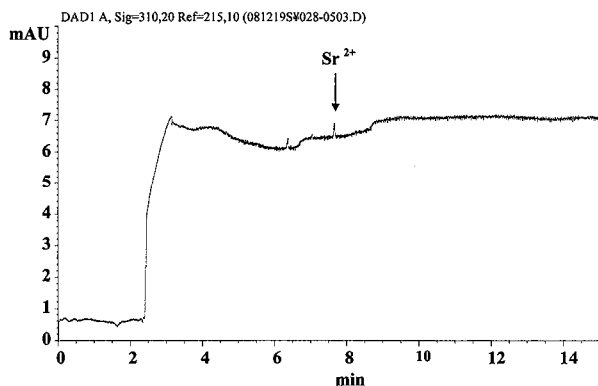


Fig.4 Electropherogram of toothpaste D

試料Dに含まれる塩化ストロンチウムを定量したところ, 101 mg/g (10.1%)と表示通りの値が得られた.

以上, キャピラリー電気泳動法により, 歯磨き粉中の他の成分の妨害を受けることなく塩化ストロンチウムを定量できることが明らかになった.

文 献

- 1) 化学大辞典編集委員会: “化学大辞典 1 縮刷版”, 共立出版, 東京, pp.1044 (1978)
- 2) “The Merck Index 13” eds. by O’Neil, J., M., Smith, A., and Heckelman, E., P., Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, pp.1575 (2001)
- 3) Lee, S., Y., Kwon, H., K., and Kim, B., I. : *J. Oral Re-*

habil., **35**, 847-853 (2008)

- 4) 厚生労働省ホームページ (化粧品回収の概要) (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/kaisyu/kaisyuu2003-2-1188.html>)
- 5) Notification No.331 of Ministry of Health and Welfare dated on September (2000)
- 6) Dion, H., M., Ackerman, L., K., and Hill, H., H., Jr. : *Talanta*, **57**, 1161-1171 (2002)
- 7) Barto, R., Sips, A., J., van der Vijgh, W., J., and Netelenbos, J., C. : *Clin. Chem.*, **41**, 1159-1163 (1995)

高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法による生物試料中フラーレンの分析法の開発

久保田領志[#], 田原麻衣子, 清水久美子, 杉本直樹, 広瀬明彦, 西村哲治Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of fullerenes C₆₀ and C₇₀ in biological samplesReiji Kubota[#], Maiko Tahara, Kumiko Shimizu, Naoki Sugimoto, Akihiko Hirose, and Tetsuji Nishimura

Wide application of fullerenes in various areas would increase the risk of occupational and environmental exposure to human. However, information about toxicity and biological behavior of fullerenes is not sufficient for the risk assessment at present. For the determination of fullerene C₆₀ in biological samples, an analytical method using high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and extraction procedure from tissues of experimental animals was established in this study. Using LC-MS/MS with an atmospheric pressure chemical ionization in negative mode, C₆₀ were identified and quantified. After optimization of mobile phase and separation column, good separation of peak of fullerene and sensitivity were obtained in case of using toluene and acetonitrile as the mobile phases and Develosil RPFULLERENE as the separation column. For method validation, rat brain, kidney, liver, lung, spleen tissues and blood were used for recovery tests. Good results were obtained and the recovery percentages were found to be between 98.1% and 106.5%.

Keywords: fullerene, analytical method, LC-MS/MS, biological Sample, extraction

1. はじめに

近年、ナノテクノロジー素材である人工ナノ粒子 (Engineered nanoparticles, ENPs) は新機能や優れた物理化学的特性を持つことから、情報・通信、医療、環境、エネルギー等の様々な分野において次世代を担うキーテクノロジーとして期待され、急速に種類や生産量が増加しつつある。代表的なENPsとしては、カーボンナノ粒子 (フラーレンやカーボンナノチューブ等)、金属・合金・金属酸化物のナノ粒子、ポリマーナノ粒子、量子ドット等があり、賦形剤、乳白剤、触媒、半導体等の工業分野だけでなく、ヒトに直接関係する製薬、食品、化粧品等の分野においても用いられている¹⁾。一方で、それらENPsのヒトへの健康影響や環境への放出、生態系への影響については多くの点で未解明のままであり、特にENPsによるヒトに対する健康影響評価への関心が高まっているのが現状である^{2,3)}。

カーボンナノ粒子のフラーレンは、グラファイト、ダイヤモンドに次ぐ第三の炭素同素体であり、他の炭素同素体とは異なる多数の五角面と六角面を持つ閉多面体か

ご型構造の分子である⁴⁾。その独特な構造と特性のためにフラーレンと内包フラーレンや化学修飾フラーレンなどの誘導体は、他の炭素同素体とは異なりフリーラジカルスカベンジャー⁵⁾、光誘起DNA切断⁶⁾、HIV-1プロテアーゼ活性阻害⁷⁾、ヒト細胞 (ヒト皮膚線維芽細胞 (HDF細胞)、ヒト肝ガン由来細胞 (HepG2細胞)、およびヒト星状細胞 (NHA細胞) における細胞毒性⁸⁾を示すことが報告されている。フラーレンとその誘導体の急速な商用化により、ヒトが職業や環境から経口、経皮、経気道曝露するリスクが増大することが推測されている。しかしながら、曝露によるヒト健康への影響は殆ど明らかにされておらず、有害影響評価や体内動態に関する研究は十分ではない。*in vivo*⁹⁾や*in vitro*¹⁰⁾によるフラーレンやその誘導体の有害影響を正しく評価するためには、フラーレンの曝露評価が不可欠である。そのためには、フラーレンの高感度、高精度および選択性が高い分析化学的手法が必要である。しかしながら、分析化学的手法を用いた生物試料中のフラーレンやその誘導体の測定に関する研究は数例あるだけで¹¹⁻¹³⁾、これらの研究を行う上でも、分析法の開発が急務となっている。

そこで本研究では、高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) を用いたフラーレン (C₆₀) の高感度測定法の確立の目的とし、投与した実験動物の

[#] To whom correspondence should be addressed: Reiji Kubota, Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel/Fax.: 03-3700-9346; E-mail: reijik@nihs.go.jp

組織からのフラーレン類の抽出等の前処理法を検討した。

2. 実験方法

2.1 試薬

C₆₀はMaterials Technologies Research社製 (Cleveland, USA) (純度99.98% (メーカー成績値)) またはフロンティアカーボン (株) (東京, 日本) 製ナノムパーブルSUH (純度>99.9% (メーカー成績値)) を、C₇₀はMaterials Technologies Research社製 (Cleveland, USA) (純度99.5% (メーカー成績値)) を用いた。高速液体クロマトグラフィー用2-プロパノール, アセトニトリル, およびトルエンは和光純薬工業 (株) (大阪, 日本) 製を用いた。また, 生化学用のドデシル硫酸ナトリウムも和光純薬工業 (株) (大阪, 日本) 製を用いた。標準原液はC₆₀またはC₇₀を10mg精密に量り取り, それぞれトルエン10mLに加え超音波処理および攪拌して溶解したものとし, 分析まで-20°Cで保存した。標準液は標準原液からトルエンで段階的に希釈したものを用時調製した。

2.2 装置

LC-MS/MSには, 高速液体クロマトグラフとしてWaters社 (Milford, USA) 製Alliance 2695 HPLCシステムを, タンデム質量分析装置として同社製Micromass Quattro micro APIトリプル四重極質量分析計を連結したものをを用いた。

2.3 LC-MS/MSの分析条件

移動相の最適化は, 以下の2組の条件 (条件1: A1-A2, 条件2: B1-B2) で比較検討した。条件1では, 移動相A1=トルエンおよびA2=2-プロパノールを, A1/A2の割合を27%/73%, 36%/64%および45%/55%に設定した。条件2では, 移動相B1=トルエンおよびB2=アセトニトリルを, B1/B2の割合を50%/50%, 60%/40%および70%/30%に設定した。条件1, 2共にアイソクラティックモードで送液し, 流速は0.2および1.0 mL/minとした。カラムオープンの温度は40°C (一部30°Cも用いた) を用いた。オートサンプラーは10°Cで維持し, 注入量は5μLもしくは20μLで行った。

イオン化法は, 大気圧化学イオン化法 (APCI) のネガティブイオンモードを用い, Multiple Reaction Monitoring (MRM) モードにより高感度定量分析を行った。対象物質の分離カラムによる分離条件を比較検討するためにWaters社製 Atlantis dC18 (3 μm, 2.1 × 150 mm) (極性化合物の保持にすぐれ, 100%水系移動相でも使用できるC18系逆相カラム) および野村化学 (株) (瀬戸, 日本) 製Develosil RPFULLERENE (5 μm, 4.6 × 250 mm) (C18

系) に比べ, 保持が大きく, 高い耐久性を示すC30系逆相カラム) を用いた。LC-MS/MSのシステム制御, データ収集および解析にはWaters MassLynx version 4.0を用いた。

MRM測定条件は, 標準液を直接注入し, イオン検出強度が最大になるように最適化した。以下に条件を示す。APCIのコロナ電流は15μA, ソース温度, APCIプローブ温度はそれぞれ120°C, 400°Cを用いた。デゾルベーションガス流量およびコーンガス流量はそれぞれ600L/hr, 50L/hrとした。インタースキャンディレイは0.1secs, インターチャンネルディレイは0.05secsに設定し, ドウェルタイムは0.5secsを用いた。フラーレンのプレカーサイオン, プロダクトイオンについては, C₆₀が $m/z = Q1\ 720 \rightarrow Q3\ 720$, サロゲート物質として回収率補正に用いるC₇₀では $m/z = Q1\ 840 \rightarrow Q3\ 840$ とし, コリジョンエネルギーはC₆₀, C₇₀ともに60eV, コーン電圧は120Vを採用した。

2.4 試料の前処理法

生物試料からのC₆₀の抽出はMoussaら (1997)¹⁴⁾ の方法を簡便化して行った。分析まで冷凍保存していた臓器の重量を測定し, ホモジナイズし, 50~200mgをガラス製のホモジナイズ管に量り取った。これに0.1Mのドデシル硫酸ナトリウム0.5mL, および内部標準物質溶液として1.0mg/L C70トルエン溶液0.5mLを添加し, 穏やかにホモジナイズした。ホモジネートをガラス製の遠沈管に移し, ホモジナイズ管を1.0mLのトルエンで5回洗浄し, その洗液をホモジネートに合わせた。次にホモジネートを合わせた遠沈管に0.5mLの酢酸を加え遮光し, 室温で5時間295/minで振とう後, 30分間3500rpmで遠心した。遠心後, 上澄みを分取し, LC/MS/MS分析用試料とした。

3. 結果と考察

3.1 移動相の最適条件の検討

フラーレンの分離における移動相の最適条件を検討した。まず, C18系逆相カラムのAtlantis dC18カラムを用い, 2組の移動相の条件でそれぞれ100μg/LのC₆₀とC₇₀のトルエン混合標準液を測定し, それぞれのピークの分離状況を比較した。Fig.1に移動相の条件1: A1-A2を用いた場合のMRMクロマトグラムを示す。A1およびA2の比率を変動させてC₆₀とC₇₀の分離状況を比較した結果, A1/A2=45%/55%の条件では, C₆₀とC₇₀のピークが完全に重なり, 両者のピークの分離は得られなかったが, A1/A2=36%/64%ではC₆₀のピークにC₇₀のショルダーピークが観察されるようになり, さらにA1/A2=27%/73%ではC₆₀とC₇₀のピークは完全に分離した。

Fig.2に移動相の条件2: B1-B2を用いた場合のMRMク

ロマトグラムを示す。B1 / B2の比率を変動させてC₆₀とC₇₀の分離状況を比較した結果、B1 / B2=70% / 30%の条件ではC₆₀のピークにC₇₀のショルダーピークが観察された。一方、B1 / B2=60% / 40%の条件ではC₆₀とC₇₀のピークは完全に分離し、B1 / B2=50% / 50%の条件ではC₆₀とC₇₀のピークの間隔がさらに広がった。

C₆₀とC₇₀のピークは条件1に比べ、条件2の移動相でより良好なピーク分離が観察された。また、条件1に比べ条件2においてC₇₀のピーク形状がシャープであり、検出感度も良好であった。以上の結果から、移動相としてトルエンとアセトニトリルを用いることとした。

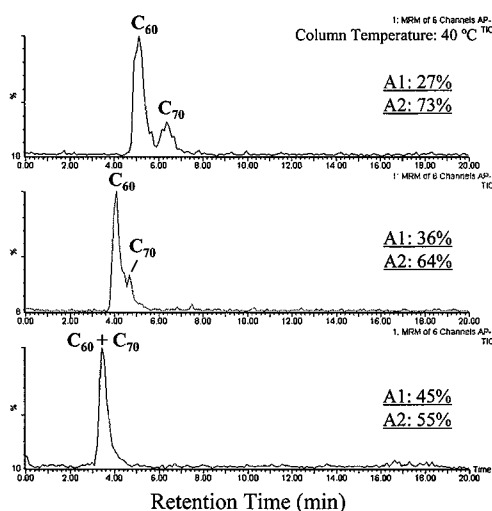


Fig. 1 Comparison of separation of fullerenes C₆₀ and C₇₀ by Atlantis dC18 separation column, A1: 2-Propanol/Toluene (1:9 v/v); A2: 2-Propanol, flow rate: 0.2mL/min, injection volume: 5 μ L

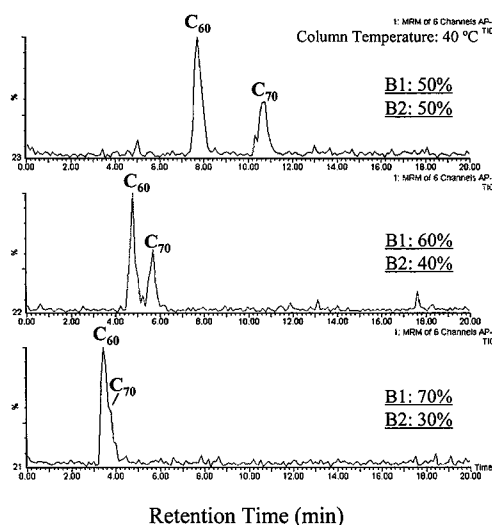


Fig. 2 Comparison of separation of fullerenes C₆₀ and C₇₀ by Atlantis dC18 separation column, B1: Toluene; B2: Acetonitrile, flow rate: 0.2mL/min, injection volume: 5 μ L

3.2 分離カラムの検討

分離カラムの検討を行った。Atlantis dC18カラムおよびC30逆相カラムのDevelosil RPFULLERENEカラムを用いてそれぞれ100μg/LのC₆₀とC₇₀のトルエン混合標準液を測定し、ピーク分離状況を比較した。Develosil RPFULLERENEカラムで、移動相がB1 / B2=50% / 50%ではC₆₀とC₇₀のピークは20分以内に溶出せず、B1 / B2=60% / 40%ではC₆₀のみ20分以内に溶出した（データ示さず）。一方、B1 / B2=70% / 30%、カラムオープン温度が40°Cの条件において、20分以内に両ピークとも溶出され、シャープなピークが観察された。また、C₆₀とC₇₀のピークはそれぞれのピークトップの間隔が3分程度というように十分な分離能が確認され、検出感度も良好であった (Fig. 3)。一方、同じ条件において、Atlantis dC18カラムではC₆₀とC₇₀のピーク分離は不十分でありピーク形状も良くなかった (Fig.2)。さらに、Develosil RPFULLERENEカラムにおいてカラムオープン温度を30°Cにして分離状況を比較したところ、40°Cに比べC₆₀とC₇₀のピークはそれぞれのピークトップの間隔が4分程度というようにより良好に分離することが確認された (Fig.3)。以上の結果から、LC-MS/MSの諸条件を下記にまとめた。

装置 : Waters Alliance 2695,

Waters Micromass Quattro micro API

分離カラム : Develosil RPFULLERENE (5 μm, 4.6 ×

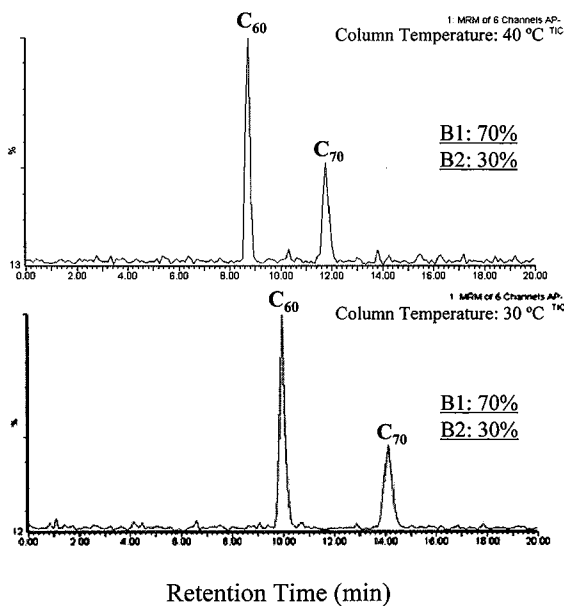


Fig. 3 Comparison of separation of fullerenes C₆₀ and C₇₀ by Develosil RPFULLERENE separation column, B1: Toluene; B2: Acetonitrile, flow rate: 1mL/min, injection volume: 20 μ L

250 mm)

移動相：トルエン/アセトニトリル=70%/30%

アイソクラティック法

流速：1mL/min

カラムオープン温度：30°C

試料注入量：20 μ L

イオン化法：APCIネガティブイオンモード

この条件では定量下限値は10 μ g/Lであった。すなわち組織重量に換算すると1.1 μ g/g wet wt.であった。

3.3 生物試料を対象としたフラーレンの抽出方法の検討

実験動物の臓器からのフラーレンの抽出方法を確立するため、実験動物の臓器組織を用いたフラーレンの添加回収試験を行った。検討には日本SLC(株)から購入したSlc:Wistar(SPF)ラット雄6週齢から得た肝臓、腎臓、脾臓、肺、脳、および血液を用いた。血液および全ての臓器においてC₆₀の回収率は100%前後(平均値 \pm 標準偏差:102.7 \pm 3.9%)と良好な結果が得られた(Fig.4)。また、MRMクロマトグラムにおいても、全ての臓器から抽出した試料において良好なピーク形状が得られ、また、妨害ピークや干渉等は認められなかった。C₇₀の回収率についても100%前後と良好な結果(平均値 \pm 標準偏差:98.6 \pm 4.5%)が得られたことから、C₇₀をサロゲートとして用いることが妥当であることが示された。C₇₀の回収率を用いC₆₀の回収率補正を行った結果、補正前(102.7 \pm 3.9%)と補正後(104.4 \pm 6.6%)でC₆₀の回収率はほぼ同程度であった。以上の結果より、曝露評価のために本研究で示したトルエンによる振とう抽出法によって組織中のC₆₀の分析を行うことができ、生物試料を対象と

する際にC₇₀により抽出効率の補正を行うことでより正確な分析が可能であることが示された。

4. おわりに

フラーレンのヒトにおける健康影響評価を最終目標に、LC-MS/MSによりC₇₀を抽出操作の補正として用いるC₆₀の測定法、さらには生物試料を対象としたフラーレンの抽出方法を検討した。本報で示した方法により、生物試料を対象としたフラーレンの分析が可能となり、曝露評価を実施する有効な方法であると言える。

参考文献

- 1) Nel, A., Xia, T., Mädler, L., Li, N.: *Science*, 3, 622-627 (2006).
- 2) Colvin, V. L.: *Nat. Biotechnol.*, 21, 10, 1166-1170 (2003).
- 3) Moore, M.N.: *Environ. Int.*, 32, 967-976 (2006)
- 4) Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C., Curl, R.F., Smalley, R.E.: *Nature*, 318, 14, 162-163 (1985)
- 5) Dugan, L. L., Turetsky, D. M., Du, C., Lobner, D., Wheeler, M., AlmLi, C. R., Shen, C. K. F., Luh, T. Y., Choi, D. W., Lin, T. S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 9434-9439 (1997)
- 6) Tokuyama, H., Yamago, S., Nakamura, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 7918-7919 (1993)
- 7) Friedman, S. H., DeCamp, D. L., Sijbesma, R. P., Srdanov, G., Wudl, F., Kenyon, G. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 6506-6509 (1993)
- 8) Sayes, C. M., Gobin, A. M., Ausman, K. D., Mendez, J., West, J. L., Colvin, V. L.: *Biomaterials*, 26, 7587-7595 (2005)
- 9) Bosi, S., Da Ros, T., Spalluto, G., Prato, M.: *Eur. J. Med. Chem.*, 38, 11-12, 913-923 (2003)
- 10) Lovern, S.B., Klaper, R.: *Environ. Toxicol. Chem.*, 25, 4, 1132-1137 (2006)
- 11) Yamago, S., Tokuyama, H., Nakamura, E., Kikuchi, K., Kananishi, S., Sueki, K., Nakahara, H., Enomoto, S., Ambe, F.: *Chem. Biol.*, 2, 385-389 (1995)
- 12) Moussa, F., Pressac, M., Genin, E., Roux, S., Trivin, F., Rassat, A., Célin, R., Szwarc, H.: *J. Chromatogr. B*, 696, 153-159 (1997)
- 13) Xia, X. R., Monteiro-Riviere, N. A., Riviere, J. E.: *J. Chromatogr. A*, 1129, 216-222 (2006)
- 14) Moussa, F., Pressac, M., Genin, E., Roux, S., Trivin, F., Rassat, A., Célin, R., Szwarc, H.: *J. Chromatogr. B*, 696, 153-159 (1997)

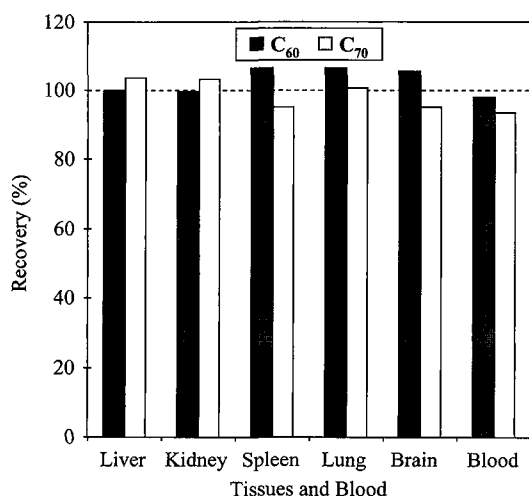


Fig. 4 Comparison of recovery of fullerenes C₆₀ and C₇₀ from tissues and blood of Slc:Wistar(SPF) rat.

家庭用品に使用される化学物質による重大製品事故 (平成19年度及び20年度)

伊佐間和郎

Serious product accidents due to the chemical substances used in household products in fiscal years 2007 and 2008

Kazuo Isama

The revised consumer product safety law was enforced in 2007. Then, the collection and publication system of the information of product accidents was newly included. Serious product accidents due to the chemical substances used in household products had 32 cases in fiscal years 2007 and 2008. These household products were a desk mat, a sectional bed, a spray-type adhesive, a paint and an adhesive for table tennis rackets. The safety measure of the household product was explained based on the law for the control of household products containing harmful substances.

Keywords: household product, serious product accident, consumer product safety law

1. 緒言

近年、身の回りの製品による痛ましい事故が相次いでおり、製品安全に対する国民の関心が高まっている。ガス瞬間湯沸器及び家庭用シュレッダーによる重大事故の発生を受けて、経済産業省は消費生活用製品安全法（昭和48年6月6日法律第31号）の改正に取り組み、改正消費生活用製品安全法（平成18年12月6日法律第104号）が平成19年5月14日に施行された。死亡、重傷、火災などの重大な製品事故が発生した場合、メーカーや輸入業者は、国に事故報告することが義務づけられた。そして、国は、事故情報を収集・分析し、その結果を広く国民に公表することになった。

経済産業省に報告された重大製品事故のうち、製品に使用されている化学物質が事故原因と考えられるものについては、厚生労働省医薬食品局化学物質安全対策室に通知され、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」（昭和48年10月12日法律第112号、家庭用品規制法）に基づき、厚生労働省が危険の回避に必要な事項等について適宜情報提供を行うことになった。

本稿では、平成19年度及び20年度に厚生労働省が公表した製品に使用されている化学物質が事故原因と考えられる重大製品事故等¹⁾を概説し、家庭用品の安全対策に

ついて考察した。

2. 家庭用品による製品事故

2-1. デスクマットの使用に伴う重大製品事故

平成11年から平成19年までに、同一製造業者による抗菌デスクマットの使用に伴う重大製品事故が28件発生した（表1, No.1-28）。いずれも、職場等で当該製品を使用したところ、アレルギー性接触皮膚炎を発症した。製造業者において、接触部位が赤く腫れるような重篤な事例が61件、軽症なもの及び因果関係が不明なものも含めて皮膚炎の被害が全体で1,117件確認されている。平成18年10月から、新聞紙上の社告、製造業者のホームページ、販売店を経由した納入先及び顧客への告知などによって、注意喚起と製品の回収・交換が行われた。さらに、重大製品事故の発生を受けて、ネット配信や医療機関向けの告知などによって、不特定多数の使用者への注意喚起と当該製品の回収等が強化された。

当該製品に含有する抗菌剤2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジン (TCMSP, CAS No. 13108-52-6, 図1) は動物実験において強い皮膚感作性を有することが認められた²⁾。また、デスクマットに含有するTCMSPが原因と特定された皮膚炎発症事例が平成12年頃から報告され始めた³⁾。これらのなかには改正消費生活用製品安全法に基づく重大製品事故に該当する症例もあったとみられ、平成12年当時に重大製品事故の報告・公表制度が施行されていれば、当該製品による健康被害の拡大は防げた可能性がある。

To whom correspondence should be addressed:

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

表 1 家庭用品に使用される化学物質による重大製品事故等¹⁾

No.	製品名	事故発生日	発生場所	被害分類	被害者	症状
1	デスクマット	平成 11 年頃	栃木県	負傷又は疾病 ^{a)}	男性	アレルギー性接触皮膚炎
2	デスクマット	平成 11 年頃	新潟県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
3	デスクマット	平成 11 年 7 月	青森県	負傷又は疾病	女性 (20 歳代)	アレルギー性接触皮膚炎
4	デスクマット	平成 12 年	熊本県	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
5	デスクマット	平成 12 年頃	千葉県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
6	デスクマット	平成 13 年頃	神奈川県	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
7	デスクマット	平成 13 年頃	宮崎県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
8	デスクマット	平成 13 年 10 月頃	大阪府	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
9	デスクマット	平成 14 年頃	北海道	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
10	デスクマット	平成 14 年頃	熊本県	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
11	デスクマット	平成 14 年頃	東京都	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
12	デスクマット	平成 15 年	兵庫県	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
13	デスクマット	平成 15 年 6 月頃	愛知県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
14	デスクマット	平成 16 年頃	大阪府	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
15	デスクマット	平成 16 年頃	神奈川県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
16	デスクマット	平成 17 年	千葉県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
17	デスクマット	平成 17 年頃	鳥取県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
18	デスクマット	平成 17 年頃	東京都	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
19	デスクマット	平成 17 年 6 月頃	長崎県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
20	デスクマット	平成 18 年頃	宮崎県	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
21	デスクマット	平成 18 年頃	東京都	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
22	デスクマット	平成 18 年頃	愛知県	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
23	デスクマット	平成 18 年頃	大阪府	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
24	デスクマット	平成 19 年 2 月	和歌山県	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
25	デスクマット	平成 19 年 4 月下旬	大阪府	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
26	デスクマット	平成 19 年 4 月	北海道	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
27	デスクマット	不明	北海道	負傷又は疾病	女性	アレルギー性接触皮膚炎
28	デスクマット	不明	北海道	負傷又は疾病	男性	アレルギー性接触皮膚炎
29	組み立て式ベッド	平成 19 年 4 月 9 日	兵庫県	負傷又は疾病	女性 (30 歳代)	アレルギー性接触皮膚炎及び 蕁麻疹等
30	スプレー式接着剤	平成 19 年 5 月 7 日	兵庫県	負傷又は疾病	女性 (30 歳代)	有機溶剤による化学性肺炎
31	塗料	平成 20 年 5 月 13 日	千葉県	負傷又は疾病	女性	咽頭痛, 頭痛, 結膜充血等
32 ^{b)}	卓球ラケット用接着剤	平成 19 年	岡山県	負傷又は疾病	男性 (40 歳代)	アナフィラキシー様ショック, 急性腎不全, 肝機能障害

a) 治療に要する期間が 30 日以上

b) 改正消費生活用製品安全法施行前の事故例だが重大製品事故に相当する被害事例のため公表されたもの

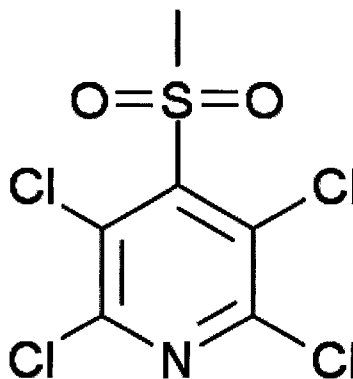


図 1 2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジンの化学構造

2-2. 組み立て式ベッドの使用に伴う重大製品事故

平成19年4月に、組み立て式ベッドの使用に伴う重大製品事故が発生した（表1, No.29）。当該製品を寝室にて使用した30歳代の女性がアレルギー性の気道炎及び蕁麻疹等と診断された。

当該製品は、ネジと木工用ボンドによる組立て式で、合成樹脂繊維板からなる。集材材や合板などの木製製品にはホルムアルデヒドが含有されていることが多く、当該製品に添付された説明書には、ホルムアルデヒドに起因する事故を回避するため、「梱包を開けたとき、臭いの残っている場合は風通しの良いところに、しばらく放置し、組立てや設置後は部屋の換気を十分にしてからご使用ください」等の使用上の注意があった。また、販売元では、今回の事例を除き、当該製品に起因するアレルギー性気道炎等の健康被害の発症事例は確認されていない。

ホルムアルデヒドは目、鼻及び咽頭に対して強い刺激性があり、濃度依存性の不快感、流涙、咳、吐気、呼吸困難を生じ、高濃度では死に至ることが知られている。従って、ホルムアルデヒド等の臭気を感じた時には換気を十分に良くし、何らかの症状があれば製品の使用中止を考える必要がある。

2-3. スプレー式接着剤の使用に伴う重大製品事故

平成19年5月に、スプレーのりの使用に伴う重大製品事故が発生した（表1, No.30）。当該製品を自宅台所にて使用した30歳代の女性が有機溶剤による化学性肺炎と診断された。

当該製品は、紙などを接着するため、接着剤をスプレー状に塗布する製品で、スチレンブタジエンゴム（26%）、有機溶剤（44%、イソヘキサン、シクロヘキサン）及び噴射剤（30%、LPG、ジメチルエーテル）を成分とする。容器には成分組成概要のほか、「使用に際しては換気をよくしてください」、「有機溶剤が含まれているので悪用して吸うと有害でくせになり健康を害することがありますので故意に吸引しないでください」、「目やのどに刺激を感じたり気分が悪くなったら、すぐに新鮮な空気の場合に移動し、必要に応じて医師の診断を受けること」、「人体に向けてスプレーしないでください」等の注意表示があった。また、販売元では、今回の事例を除き、当該製品に起因する肺炎の発症事例は確認されていない。

スプレー式製品に含まれる有機溶剤は、吸入や誤嚥した場合に、容易に体内に吸収される他、刺激によって化学性肺炎を発症するおそれがある。使用にあたっては、換気に十分な注意を払い、一度に大量に使用しないこと等の注意が必要である。

2-4. 塗料の使用に伴うものと疑われる重大製品事故

平成20年5月に、塗料の使用に伴う重大製品事故が発生した（表1, No.31）。公衆浴場の天井・壁面上部に当該製品を塗装した翌日、当該公衆浴場を利用した女性（1名）が、咽頭痛、頭痛、結膜充血等を発症した。当日、当該公衆浴場を利用した他の客から同様の被害は報告されていない。

当該製品は、業務用の防カビ用塗料で、樹脂製分として酸化重合型樹脂（アルキド樹脂）、顔料として酸化チタン及び酸化カルシウム等、溶剤として脂肪族炭化水素系溶剤等を含有し、使用時に希釈用シンナーで希釈して塗布する製品である。カタログ等に、「使用に際しては換気をよくしてください」、「適切な保護具を着用してください」等の注意喚起があった。当該製品に起因する結膜充血、急性咽頭炎等の健康被害の発症事例は他には確認されていない。

有機溶剤を使用した塗料では、吸入による健康被害が発生するおそれがある。使用にあたっては、換気を良くし、適切な保護具を着用する必要がある。また、一般に合成樹脂系塗料は、乾燥（硬化）に数時間を要する。

2-5. 卓球ラケット用接着剤の使用に伴う重篤な被害

平成19年に、卓球ラケットのラバー貼り付け用接着剤に起因すると疑われる重篤な健康被害が発生した（表1, No.32）。改正消費生活用製品安全法施行前の事故例であるが、重大製品事故に相当する被害事例のため公表された。40歳代の男性が当該製品を自宅で使用したところ気分不良となり、その後に完全な窒息、意識不明となり、緊急気管内挿管で救命した。強度の咽頭浮腫による気道閉塞を認め、アナフィラキシー様ショックを発症したと診断された。発症1及び2週間後に急性腎不全及び肝機能障害が出現し、約2週間後に意識は回復した。被害者にはアレルギー等の既往症はなく、アナフィラキシー様ショック発症の原因物質の特定には至らなかった。

当該製品は卓球用ラケットの木板とラバーを接着するための接着剤で、シクロヘキサン、酢酸ブチル、リモネン及び天然ゴムを成分とする。容器には成分組成概要のほか、「使用に際してはよく換気をする」、「有機溶剤が含まれているので、故意に吸わないこと」等の注意表示があった。

接着剤等の揮発性成分を含有する製品を使用する際には、十分な換気を行う必要がある。また、天然ゴム製品はアナフィラキシーショックを引き起こし、重篤な健康被害を招くことがあるので、注意する必要がある。

3. 家庭用品の安全対策

3-1. 有害物質を含有する家庭用品の規制

家庭用品規制法に基づき、家庭用品の製造又は輸入事業者は、家庭用品に含有される物質の人の健康に与える影響を把握し、当該物質により人の健康に係る被害が生ずることのないようにしなければならない。また、厚生労働大臣は、家庭用品を指定し、その家庭用品について、有害物質の含有量、溶出量又は発散量に関し、必要な基準を定めている。現在までに有害物質として、ホルムアルデヒド等20物質が指定されている。基準が定められた家庭用品について、都道府県等が市販品を検査すること等により監視し、必要な場合には、事業者に対し指導を行い、回収や品質管理の強化がなされている。

3-2. 家庭用品による製品事故の防止対策

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室では消費生活用製品安全法に基づき経済産業大臣から通知された重大製品事故等の原因及び対策を総合的に検討するため、「家庭用品による製品事故対策検討会」を設置した。厚生労働省では、家庭用品による製品事故について、昭和54年に発足した家庭用品危害情報制度、昭和56年3月10日通知「家庭用品による健康被害の報告について」に基づく各自自治体からの報告、消費生活用製品安全法35条第3項に基づく経済産業大臣からの通知等により広く情報収集を行っている。それらについて、「家庭用品専門家会議（危害情報部門）」で検討し取りまとめた家庭用品に係る健康被害病院モニター報告及び「家庭用品による製品事故対策検討会」で検討し取りまとめた重大製品事故についての資料として公表してきた。平成21年度より、「家庭用品専門家会議（危害情報部門）」と「家庭用品による製品事故対策検討会」を統合して、新たに「家庭用品専門家会議」を開催し、家庭用品による製品事故の分析評価、講ずべき対策等について、より包括的な議論を行っていく。

3-3. 国立医薬品食品衛生研究所における取り組み

国立医薬品食品衛生研究所では、厚生労働省医薬食品局の依頼により、家庭用品規制基準調査及び家庭用品健康被害防止調査等を実施している。これらの調査において、家庭用品規制法に基づく有害物質を含有する家庭用品の基準を設定するために、家庭用品に使用される化学物質の毒性試験、分析法策定及び市場調査等を実施している^{4,7)}。

最近では、米国において発生した鉛を高濃度に含有する子供用金属製アクセサリを誤飲した小児の死亡事故を踏まえて、国内で市販されている金属製アクセサリ類⁵⁾及びアクセサリを除く金属製品⁶⁾における鉛及びカ

ドミウムの含有量等を調査した。その結果、鉛及びカドミウムを高濃度に含有し、誤飲した場合に健康被害をもたらす恐れがある金属製品が多く認められた。鉛その他の有害金属を含有する金属製品が広く家庭内に置かれていることを確認した。さらに、アルカリ性洗剤に含まれる皮膚感作性を有するモノエタノールアミンの分析⁷⁾、繊維製品に含まれるアゾ染料由来の発がん性を有する芳香族アミン類の分析などを実施した。

4. 考 察

ガス瞬間湯沸器による一酸化炭素中毒死傷事故及び家庭用シュレッダーによる乳児手指切断時などを踏まえて、消費生活用製品に係る製品事故に関する情報の収集及び提供等の措置を新たに設け、製品事故の再発防止を図るために、消費生活用製品安全法が改正された。改正消費生活用製品安全法では、消費生活用製品の製造又は輸入事業者は、重大製品事故が生じたことを知ったときは、発生の事実を知った日から起算して10日以内に、当該消費生活用製品の名称、事故の内容等を経済産業省に報告しなければならない。そして、経済産業省は、重大な危害の発生及び拡大を防止するため必要があると認められるときは、製品の名称及び型式、事故の内容等を迅速に公表する。さらに、経済産業省は、製造又は輸入事業者が重大製品事故の報告を怠ったり、又は虚偽の報告をした場合には、当該製造事業者又は輸入事業者に対して、事故情報を収集、管理及び提供するために必要な社内の体制を整備するよう命令（体制整備命令）を発動することとしている。改正消費生活用製品安全法に基づく重大製品事故とは、具体的には、死亡事故、重傷病事故（治療に要する期間が30日以上を負傷・疾病）又は後遺障害事故、一酸化炭素中毒事故、火災である。本稿では、製品に使用されている化学物質が事故原因と考えられて、経済産業省から通知され、厚生労働省医薬食品局化学物質安全対策室が公表した重大製品事故等について概説した。

家庭用品を製造・販売する業者は、製品の正しい使用方法や保管方法などを、消費者が理解できるように伝える責任がある。また、事故が発生した際には、製品の回収等に関する情報を速やかに伝達したり、使用に関する注意喚起したりする必要がある。インターネットを利用した消費者等への情報提供は、コストが掛からず、速報性があるため、有用である⁸⁾。しかし、子供やお年寄り等が手軽に利用できず、関心のない人には情報が伝わり難い面があるので、インターネットによる情報提供を過信しすぎるのも良くない。小売店等にポスターを掲示したり、テレビや新聞などのマスメディアなどを利用して、広く情報を伝えることが重要である。

消費者は、家庭用品による健康被害を防ぐため、家庭用品等を使用する前には取扱説明書や注意書き等をよく読み、正しい使用方法を守ることが大切である。特に、乳幼児のいる家庭では、誤飲・誤使用等を防ぐために製品の保管方法にも細心の注意を払う必要がある。また、化学物質に対して感受性が高いアレルギー患者等は、自分がどのような化学物質に反応するのかを認識し、製品に配合された成分に注意する必要がある。このように、製品を安全に使用するためには、消費者が正しい知識やデータを入手し、自らの製品安全に対する意識を高めることが重要である。

家庭用品の安全対策は国の重要な責務であり、厚生労働省を始め、国立医薬品食品衛生研究所、地方自治体及びその他関係機関は、家庭用品の安全対策に積極的に取り組んでいる。しかし、家庭用品による健康被害を防止するためには、実際に製品を使用する消費者一人一人の心掛けが何よりも大切であろう。

謝 辞

製品事故の概要は、厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室が公表した資料を基にした。本稿を作成するにあたり、ご理解ご助言いただきました柴辻正喜室長補佐に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局化学物質安全対策室：家庭用品による製品事故事例，<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/katei/topics/jikojirei.html> (2009.5)
- 2) a) 野田勉，山野哲夫，大嶋智子，清水充：生活衛生，**50**，76-83 (2006)；b) 野田勉，山野哲夫，大嶋智子，清水充：生活衛生，**50**，197-205 (2006)
- 3) a) Nomi, A., Hagari, Y. and Mihara, M.: *Environ. Dermatol.*, **7**, 91-94 (2000)；b) 町野博，八幡陽子，宇野英満：皮膚病診療，**24**，1099-1102 (2002)；c) Gushi, A., Kanekura, T., Katahira, Y., Miyoshi, H. and Kanzaki, T.: *Contact Dermatitis*, **48**，347-348 (2003)；d) 鷲見浩史，横関博雄，金井康真，西岡清：皮膚病診療，**26**，861-864 (2004)
- 4) a) 五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江：国立医薬品食品衛生研究所報告，**121**，16-24 (2003)；b) 松島裕子，内田雄幸，斉藤実，川崎靖，伊佐間和郎，鹿庭正昭，井上達，菅野純：国立医薬品食品衛生研究所報告，**121**，40-47 (2003)；c) 五十嵐良明，鹿庭正昭，土屋利江：国立医薬品食品衛生研究所報告，**123**，53-56 (2005)；d) 鹿庭正昭：国立医薬品食品衛生研究所報告，**124**，1-20 (2006)
- 5) 伊佐間和郎，鹿庭正昭，土屋利江：中毒研究，**19**，

409-411 (2006)

- 6) 伊佐間和郎，鹿庭正昭，土屋利江：中毒研究，**21**，393-395 (2008)
- 7) 伊佐間和郎，鹿庭正昭，土屋利江：国立医薬品食品衛生研究所報告，**126**，71-75 (2008)
- 8) 伊佐間和郎：生活と環境，**43**，65-71 (1998)

日本, および諸外国における鶏卵・液卵の*Salmonella*汚染状況 (文献調査)鈴木穂高[#], 山本茂貴A Literature Survey of *Salmonella* Contamination in Shell Eggs and Liquid Eggs in the WorldHodaka Suzuki[#], Shigeki Yamamoto

Salmonella species are common bacterial pathogens associated with human gastroenteritis worldwide. In Japan, salmonellosis is one of the main food-borne bacterial illnesses and, especially, *Salmonella* Enteritidis infections have been strongly associated with the consumption of eggs and egg-containing foods. In this study, we performed the literature survey of *Salmonella* contamination in shell eggs and liquid eggs worldwide for comparing the prevalence among the countries and summarized in the tables. This survey clarified that one out of several thousands of retail shell eggs were contaminated with *Salmonella* spp. in Japan and the prevalence of *Salmonella* in retail shell eggs were higher in some countries. This paper is useful for providing referable data on *Salmonella* contamination in shell eggs and liquid eggs in Japan, especially for researchers of other countries.

Keywords: shell egg, liquid egg, *Salmonella*, Japan, world

1. はじめに

*Salmonella*は、我が国を始めとする世界各国において、主要な細菌性食中毒の起因菌である¹⁾。*Salmonella*は現在までに2500種類以上の血清型が報告されているが、特に1980年代後半以降、世界中で急増した*Salmonella* Enteritidisによる食中毒は、その原因食材が主に卵あるいは卵製品であることが指摘されている^{2,3)}。

本研究は国内, および諸外国の鶏卵・液卵の*Salmonella*汚染状況について文献的に調査し, その比較を目的として行われた。

2. 方法

文献の検索には, JDreamII (JSTPlusとJMEDPlus), 医学中央雑誌, PubMed, ScienceDirectという4種のデータベースを用い, [サルモネラ, *Salmonella*] と [卵, egg] という2群のキーワードを組み合わせて行った。検索対象は1998年以降に発表された文献に限定し, 2008年11月~12月に文献検索を行った。

検索結果はまず, 表題と要旨により一次選別し, 次に本文を読んで, 実際に鶏卵・液卵の*Salmonella*汚染状況を調査している文献を二次選別した。ただし, 食中毒事件と関連性が疑われる施設のみの調査や, *Salmonella*陽

性が疑われる養鶏場のみの調査については対象から除外した。結果は国内と諸外国に分け, 鶏卵(採材場所により市場等, GPセンター(鶏卵選別包装施設)等, 農場等に分類)と液卵について, 検体名, 汚染率, 検出方法, 分離株の血清型等を表にまとめた。

3. 結果

指定した2群のキーワードの組み合わせで, JDreamII (JSTPlusとJMEDPlus)では1457文献, 医学中央雑誌では200文献, PubMedでは697文献, ScienceDirectでは125文献が該当した(表1)。このうち, 鶏卵・液卵の*Salmonella*汚染状況について報告していた国内分45文献, 諸外国分41文献を表2, 表3にまとめた(1文献については国内分と諸外国分で重複)。表4には, 分離された*Salmonella*株の血清型についてまとめた。表2, 表3, 表4で用いた文献のリストは表5, 表6に示した。

Table 1. Results of each database^{a)}

Database	No. of results
JDreamII	1457
Japana Centra Revuo Medicina (Ichushi)	200
PubMed	697
ScienceDirect	125

^{a)} These databases were searched by using a combination of 2 sets of keywords, "*Salmonella*" and "egg", from November to December 2008. The papers, which were published from 1998 to the time of the searches, were collected.

[#] To whom correspondence should be addressed to:
Hodaka Suzuki; Division of Biomedical Food Research,
National Institute of Health Sciences
Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

国内を対象とした文献では15文献のうち, 市販鶏卵(鶏卵(市場等))で*Salmonella*汚染が報告されていたのは1文献だけで, in egg汚染が9010検体中3検体で見られた(汚染率0.03%, 表2). 鶏卵(GPセンター等)では, 検体の種類を未洗浄卵(原卵), 洗浄卵(製品卵), および汚卵・破卵の3種類におおまかに分類できる. このうち, 未洗浄卵では8文献中4文献で汚染が報告されていた. これらはすべてon eggの汚染であり, in egg, wholeでは汚染は報告されていなかった. 洗浄卵では5文献中1文献で汚染(in egg汚染)が報告されていた. また, 汚卵・破卵では3文献中1文献で汚染(wholeの汚染)が報告されていた. 鶏卵(農場等)では, 13文献中6文献で汚染が報告されていた. このうち, on egg汚染が1文献, in egg汚染が3文献, wholeが2文献, 記載なしが1文献であり, 汚染率は数%程度であった. 液卵については, 殺菌液卵と明記してある検体については2文献で汚染は認められなかった. 一方, 未殺菌液卵, もしくは単に液卵と記載されている検体については14文献中10文献で汚染が報告されていた. 汚染率は0.96%から100%と幅広かった.

諸外国の市販鶏卵の*Salmonella*汚染に関する文献では, ドイツ, UK, インド, ポーランド等で検体数1000以上の割合大規模な調査結果が報告されていたが, それ以外は小～中規模の調査結果であった(表3). このうち, 検体数が10以下で信頼性の低い文献を除いて考えると, チ

リ, ポーランド, 韓国では市販鶏卵から*Salmonella*汚染は検出されていなかった. ドイツでは汚染率が1%以下として報告されていた. UKでは国内(UK)産の鶏卵では1%以下の汚染率であったが, 輸入鶏卵には一部汚染率の高いものが見られた. 一方, トリニダード・トバゴやアルバニア, ザンビア, インド, タイでは, 市販鶏卵の*Salmonella*汚染率は数%から十数%と高く報告されていた. 中国は2文献で0%と4%という結果であった. 鶏卵(鶏卵処理施設等)の文献数はUSAが3報, カナダとUKおよびアイルランドから1報と少なかったが, USAでは3報中2報で数%から数十%のon egg汚染が報告されており, カナダとUKおよびアイルランドでは1%以下のwhole, もしくはon eggの汚染率が報告されていた. 鶏卵(農場, 孵化場等)に関しても文献数は7報と少ないが, カナダ, トリニダード・トバゴ, ドイツ, クウェート等で, 数%程度の汚染が報告されていた. 液卵については, カナダで2報中1報から1%以下という汚染が報告されていた.

表4に, 鶏卵・液卵から分離された*Salmonella*株の血清型についてまとめた. 国内においても諸外国においても, *S. Enteritidis*が卵から分離される*Salmonella*の主要な血清型であった. 国内では*S. Infantis*の方が*S. Typhimurium*よりも多く分離されていたが, 諸外国では*S. Typhimurium*の方が多く分離されており, *S. Infantis*はほとんど分離されていなかった.

Table 2. Prevalence of *Salmonella* in shell eggs and liquid eggs in Japan

a) shell eggs (markets etc.)									
No. of reference	Prefecture (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
J1	Osaka(2008)	2004-2006	packed eggs	9010	10	in egg	0.03%	enrichment	
J2	Oita(2008)	2007-2008	eggs	20	NS	NS	0.00%	enrichment	
J3	Aomori(2007)	NS	eggs	10	1	NS	0.00%	direct plating	
J4	Tokyo(2006)	2005	packed eggs	32	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
						in egg	0.00%	enrichment	
J5	Oita(2007)	2006-2007	eggs	20	NS	NS	0.00%	enrichment	
J6	Oita(2006)	2005-2006	eggs	26	NS	NS	0.00%	enrichment	
J7	Oita(2005)	2004-2005	eggs	23	NS	NS	0.00%	enrichment	
J8	Oita(2004)	2003-2004	eggs	10	NS	NS	0.00%	enrichment	
J9	Tokyo(2003)	2002	packed eggs	24	1	on egg	0.00%	direct plating	swab
						in egg	0.00%	direct plating	
J10	Oita(2003)	2002-2003	eggs	10	NS	NS	0.00%	enrichment	
J11	Oita(2002)	2001-2002	eggs	10	NS	NS	0.00%	enrichment	
J12	Hokkaido(2002)	1998-1999	eggs	4398	5	in egg	0.00%	enrichment	
J13	Oita(2001)	2000-2001	eggs	17	NS	NS	0.00%	enrichment	
J14	Oita(2000)	1999-2000	eggs	10	NS	NS	0.00%	enrichment	
J15	Fukuoka(1999)	1994-1999	eggs	3	NS	NS	0.00%	enrichment	
b) shell eggs (grading and packing centers etc.)									
No. of reference	Prefecture (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
J1	Osaka(2008)	2004-2006	processed eggs	11280	40	in egg	1.03%	enrichment	
J16	Tokyo(2006)	2003	unwashed eggs	14	NS	NS	0.00%	enrichment	
J17	Fukuoka(2006)	2002	eggs	3	10	on egg	0.00%	NS	NS
J18	Kyoto(2003)	2001	unwashed eggs	5	1	on egg	40.00%	enrichment	swab
						in egg	0.00%	enrichment	

			processed eggs	4	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
						in egg	0.00%	enrichment	
J19	Nagasaki(2001)	1999	unwashed eggs	273	10	on egg	0.00%	enrichment	crush
		2000	unwashed eggs	137	10	on egg	0.73%	enrichment	crush
		2001	unwashed eggs	61	10	on egg	1.64%	enrichment	crush
J20	Fukuoka(2001)	1995-1998	cracked or faecally soiled shell eggs	92	about 100	whole	47.83%	enrichment	
J21	Iwate(1999)	NS	normal eggs	20	3	on egg	5.00%	enrichment	swab
						in egg	0.00%	enrichment	
			dirty eggs	22	3	on egg	0.00%	enrichment	swab
						in egg	0.00%	enrichment	
			cracked eggs	51	3	on egg	0.00%	enrichment	swab
						in egg	0.00%	enrichment	
J22	Osaka(1999)	1997	washed eggs	46	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
			cracked or dirty eggs	5	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
			washed eggs	43	1	in egg	0.00%	enrichment	
			cracked or dirty eggs	10	1	in egg	0.00%	enrichment	
			packed eggs	30	1	in egg	0.00%	enrichment	
J23	Toyama(1999)	NS	unwashed eggs	40	1	on egg	0.00%	direct plating	stamp
			processed eggs	40	1	on egg	0.00%	direct plating	stamp
J24	Hiroshima(1999)	1997-1998	unwashed eggs	7	1	on egg	14.29%	enrichment	swab
			unwashed eggs on the rail	5	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
			washed eggs	6	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
			pasteurized eggs	3	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
			packed eggs	5	1	on egg	0.00%	enrichment	swab
J25	Nagasaki(1998)	1998	unprocessed eggs	279	10	whole	0.00%	enrichment	

c) shell eggs (farms etc.)

No. of reference	Prefecture (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
J1	Osaka(2008)	2004-2006	unprocessed eggs	1766	90	whole	1.70%	enrichment	
J26	Hyogo(2008)	2003	eggs	44	10	NS	0.00%	enrichment	
		2004	eggs	104	10	NS	0.00%	enrichment	
		2005	eggs	112	10	NS	0.00%	enrichment	
		2006	eggs	73	10	NS	0.00%	enrichment	
		2007	eggs	32	10	NS	0.00%	enrichment	
J27	Osaka(2007)	NS	nest run eggs	130	30	NS	0.00% ^{a)}	NS	
			dirty and broken eggs	81	80	NS	1.23% ^{a)}	NS	
J28	Aomori(2007)	1996-1999	mature eggs in oviducts	837	10	in egg	6.81%	enrichment	
		1996-1997	mature eggs in oviducts	177	20	in egg	6.78%	enrichment	
J29	Fukushima(2006)	2004	nest eggs	NS	1	on egg	0.00%	direct plating	swab. stamp
			floor eggs	NS	1	on egg	0.00%	direct plating	swab. stamp
			eggs	NS	1	on egg	0.00%	direct plating	swab. stamp
			eggs	NS	1	on egg	0.00%	direct plating	swab. stamp
J30	Kochi(2006)	2004	eggs	50	1	NS	0.00%	enrichment	
		2005	eggs	80	1	NS	0.00%	enrichment	
J31	Fukushima(2003)	2001	eggs	12	about 20	whole	0.00%	enrichment	
J32	Fukushima(2001)	1995-1998	eggs	3740	30	whole	1.23%	enrichment	
			eggs	855	333 or 334	in egg	2.57%	enrichment	
J33	Okinawa(2001)	1998-2000	egg shells	38	NS	on egg	0.00%	enrichment	NS
J34	Aomori(1999)	1996	shell egg yolks in oviducts	278	10	in egg	6.12%	enrichment+DNA probe, immunoband	
		1997	shell egg yolks in oviducts	279	10	in egg	1.44%	enrichment+DNA probe, immunoband	
J35	Niigata(1998)	1998	eggs in oviducts	200	1	on egg	0.50%	enrichment+DNA probe, immunoband	rinse

No. of reference	Prefecture (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
			eggs in oviducts	296	1	in egg	0.00%	enrichment	
J36	Kanagawa(1998)	1997	eggs	7	1	on egg	0.00%	direct plating	stamp
J37	Aichi(1998)	1996-1997	eggs	NS	NS	NS	0.00%	NS	
d) liquid eggs etc.									
J27	Osaka(2007)	NS	liquid eggs	627	NA	NA	0.96% ^{a)}	NS	
J38	Fukuoka(2007)	2006	liquid eggs	5	NA	NA	20.00%	enrichment	
J16	Tokyo(2006)	2003	liquid whole eggs	14	NA	NA	0.00%	enrichment	
			liquid egg yolks	14	NA	NA	7.14%	enrichment	
			liquid egg whites	14	NA	NA	7.14%	enrichment	
J39	Fukuoka(2006)	2005	liquid eggs	5	NA	NA	0.00%	enrichment	
J40	Saitama(2005)	2003	raw liquid eggs before pasteurization	24	NA	NA	100.00%	enrichment+LAMP	
			raw liquid eggs before pasteurization	110	NA	NA	90.91%	enrichment+LAMP	
J41	Ibaraki(2004)	NS	pasteurized liquid eggs	74	NA	NA	0.00%	enrichment(+DOX)	
J13	Oita(2001)	2000-2001	liquid eggs	3	NA	NA	0.00%	enrichment	
J20	Fukuoka(2001)	1995-1998	unpasteurized liquid eggs	59	NA	NA	18.64%	enrichment	
J42	Shizuoka(2000)	1998-2000	unpasteurized liquid eggs	12	NA	NA	75.00%	enrichment	
			pasteurized liquid eggs	12	NA	NA	0.00%	enrichment	
J43	Chiba(2000)	NS	unpasteurized liquid whole eggs	53	NA	NA	30.19%	enrichment(+DNA probe)	
J44	Saitama(2000)	1998	unpasteurized liquid eggs	50	NA	NA	12.00%	enrichment	
J14	Oita(2000)	1999-2000	liquid eggs	7	NA	NA	0.00%	enrichment	
J22	Osaka(1999)	1997	liquid eggs	15	NA	NA	66.67%	enrichment	
J15	Fukuoka(1999)	1994-1999	liquid eggs	124	NS	NA	8.06%	enrichment	
J45	Oita(1999)	1998-1999	liquid eggs	9	NA	NA	0.00%	enrichment	

NA: not applied

NS: not specified

^{a)} Only *S. Enteritidis* was examined.

Table 3. Prevalence of *Salmonella* in shell eggs and liquid eggs in various countries

a) shell eggs (markets etc.)															
No. of reference	Country (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg						
F1	USA(2001)	NS	shell eggs	5	NS	NS	20.00%	enrichment(+PCR, Biosys-32)							
F2	Trinidad and Tobago(2005)	NS	table eggs	138	6	on egg	2.90%	enrichment	swab						
						in egg	10.14%	enrichment							
						whole	13.04%	enrichment							
F3	Argentina(2001)	NS	fresh hen eggs	NS	1	on egg	0.00%	enrichment	rinse						
						in egg	0.00%	enrichment							
F4	Argentina(2000)	NS	fresh chicken eggs	NS	1	on egg	0.00%	enrichment, direct plating	rinse						
F5	Argentina(2000)	NS	fresh chicken eggs	NS	1	on egg	0.00%	enrichment, direct plating	rinse						
F6	Chile(2000)	1998-1999	eggs	1081	12	on egg	0.00% ^{a)}	enrichment+IMS	crush						
						in egg	0.09% ^{a)}	enrichment+IMS							
F7	UK(2008)	2005-2006	raw shell eggs	1588	6	on egg	0.38%	enrichment	crush						
						in egg	0.06%	enrichment							
						origins of above samples									
						UK	1413	whole	0.35%						
						Spain	48	whole	0.00%						
						Germany	38	whole	2.63%						
						France	27	whole	0.00%						
						other countries	43	whole	0.00%						
						unknown	19	whole	0.00%						
						non-UK									
F8	UK(2007)	2005-2006	produced raw shell eggs	1744	6	on egg	9.00%	enrichment	crush						
						in egg	0.57%	enrichment							
						origins of above samples									
						Spain	1157	whole	13.31%						
						France	348	whole	0.57%						
						Germany	45	whole	0.00%						
						other countries	194	whole	0.52%						
						F9	UK(2007)	2002	raw shell eggs	726	6	whole	0.96%	enrichment	
						origins of above samples									
						UK	541	whole	0.18%						
France	45	whole	0.00%												
unknown	140	whole	4.29%												
F10	UK(2005)	2003	raw shell eggs	5686	6	whole	0.30%	enrichment							
						origins of above samples									
						UK	4987	whole	0.32%						
						Spain	22	whole	0.00%						
						Germany	10	whole	0.00%						
						other countries	16	whole	0.00%						
						unknown	651	whole	0.15%						
						F11	UK(1998)	1996-1997	raw shell eggs	2090	6	on egg	0.38%	enrichment	crush
												in egg	0.05%	enrichment	
						F12	Germany(2008)	2007	eggs entire	6382	NS	whole	0.72%	NS	
shells	3212	NS	on egg	0.53%	NS				NS						
egg white	1347	NS	in egg	0.00%	NS										
yolk	3339	NS	in egg	0.06%	NS										
F13	Germany(2007)	2006	eggs entire	4761	NS	whole	0.59%	NS							
			shells	3334	NS	on egg	0.39%	NS	NS						
			egg white	575	NS	in egg	0.00%	NS							
			yolk	3356	NS	in egg	0.06%	NS							
F14	Germany(2007)	2005	eggs entire	8285	NS	whole	0.51%	NS							
			shells	6876	NS	on egg	0.41%	NS	NS						
			egg white	1151	NS	in egg	0.00%	NS							
			yolk	6252	NS	in egg	0.02%	NS							
F15	Germany(2006)	2004	eggs entire	10179	NS	whole	0.44%	NS							
			shells	8968	NS	on egg	0.42%	NS	NS						
			egg white	1870	NS	in egg	0.00%	NS							
			yolk	9160	NS	in egg	0.02%	NS							
F16	Poland(2001)	1997-1998	unwashed eggs	1200	1	on egg	0.00%	enrichment	rinse						
						in egg	0.00%	enrichment							
F17	Albania(1999)	1996-1997	imported shell eggs	79	5	on egg	1.27%	enrichment	crush						
						in egg	0.00%	enrichment							

F18	Albania(1998)	1997	imported eggs	7	5	on egg	14.29%	enrichment	crush
						in egg	0.00%	enrichment	
F19	Zambia(1999)	NS	table eggs	240	10	in egg	3.75% ^{a)}	enrichment	
F20	Turkey(2002)	NS	eggs	9	1	in egg	0.00%	enrichment(+IMS)	
F21	India(2006)	1997-1998	unwashed eggs	492	1	on egg	6.10%	enrichment	swab
						in egg	1.83%	enrichment	
F22	India(2003)	NS	eggs	41	NS	NS	0.00%	enrichment	
F23	India(2003)	NS	eggs	534	1	on egg	9.55%	enrichment	rinse
						in egg	1.31%	enrichment	
						whole	10.86%	enrichment	
F24	Thailand(2007)	2003	chicken eggs	50	NS	NS	14.00%	NS	
F25	China(2007)	2003-2005	raw eggs	58	1	NS	0.00%	enrichment	
F26	China(2007)	NS	eggs	25	1	NS	4.00%	direct plating	
F27	Korea(2003)	1993-2001	eggs	40	NS	NS	0.00%	enrichment(+EIA)	
F28	Korea(2000)	1998	shell eggs	135	1	on egg	0.00%	enrichment	rinse
						in egg	0.00%	enrichment	

b) shell eggs (egg-processing plants etc..)

No. of reference	Country (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
F29	USA(2007)	NS	restricted eggs	90	6	on egg	2.22%	enrichment	crush
						in egg	0.00%	enrichment	
F30	USA(2005)	NS	eggs before processing	60	5	on egg	25.00%	enrichment	rinse, crush
			eggs during processing	84	5	on egg	14.29%	enrichment	rinse, crush
			eggs after processing	54	5	on egg	12.96%	enrichment	rinse, crush
F31	USA(2004)	NS	washed eggs	36	1	on egg	0.00%	direct plating	rinse
			unwashed eggs	36	1	on egg	0.00%	direct plating	rinse
F32	Canada(1998)	1996	table eggs	252	6	whole	0.40%	enrichment	
F33	UK & Ireland (2007)	2005-2006	eggs	5018	6	in egg	0.00%	enrichment	
						on egg	0.04%	enrichment	crush

c) shell eggs (farms, hatcheries, etc..)

No. of reference	Country (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
F34	Canada(2003)	NS	chicken eggs	NS	NS	NS	0.00% ^{b)}	NS	
F32	Canada(1998)	1996	hatching layer eggs	378	6	whole	3.17%	enrichment	
			hatching broiler eggs	126	6	whole	0.00%	enrichment	
F2	Trinidad and Tobago(2005)	NS	table eggs	46	25	on egg	6.52%	enrichment	swab
						in egg	6.52%	enrichment	
						whole	13.04%	enrichment	
F35	Trinidad and Tobago(1998)	1995	eggs	750	25	on egg	4.67%	enrichment	swab
						in egg	1.20%	enrichment	
F36	Germany(2008)	2004-2005	eggs	80	10	on egg	1.25%	enrichment	crush
						in egg	0.00%	enrichment	
F37	Portugal(2004)	NS	eggs	150	1	on egg	0.00%	direct plating	rinse
						in egg	0.00%	direct plating	
F38	Kuwait(2007)	2004-2005	hatching eggs	30	1	in egg	10.00%	enrichment	

d) liquid eggs etc.

No. of reference	Country (Reported year)	Investigated year	Sample	No. of sample	No. of eggs pooled	Object	Prevalence	Method	Sampling from on egg
F39	Canada(1998)	NS	pooled egg products	21	NA	NA	0.00%	enrichment(+IMS)	
F40	Canada(1998)	NS	egg powders & liquid eggs	200	NA	NA	0.50%	enrichment(+EIA)	
F41	Egypt(2006)	NS	liquid egg white	1	NA	NA	100.00%	enrichment	
			liquid egg yolk	1	NA	NA	100.00%	enrichment	

NA: not applied

NS: not specified

IMS: immunomagnetic separation

EIA: enzyme immunoassay

^{a)} Only *S. Enteritidis* was examined.^{b)} Only *S. Typhimurium* was examined.

Table 4. Frequency of *Salmonella* serovar distribution among the isolates from shell eggs and liquid eggs

a) Japan							
No. of reference	Prefecture	total <i>Salmonella</i>	S. Enteritidis	S. Infantis	S. Typhimurium	others	note
J1	Osaka	149	121	27		1	
J16	Tokyo	2	2				
J18	Kyoto	2	1	1			
J19	Nagasaki	2				2	Mbandaka 2
J20	Fukuoka	11	9			2	Nitra 1, group C ₃ 1
J22	Osaka	10				10	Livingstone 10
J28	Aomori	86	17	2	4	63	Braenderup 5, Galiema 4, II 4, Dusseldorf 2, Heiderberg 2, Stanley 2, Blegdam 1, Corvallis 1, Schwarzengrund 1, Singapore 1, untypable 40
J32	Fukushima	68	18	23		27	Bareilly 11, Derby 3, Orion 2, Brendey 1, Livingstone 1, Rissen 1, Schwarzengrund 1, untypable 7
J34	Aomori	50	4	1	1	44	Galiema 4, II 4, Dusseldorf 2, Heidelberg 2, Stanley 2, Blegdam 1, Braenderup 1, Schwarzengrund 1, O7 group 13, O4 group 7, O3, 10 group 5, O13 group 2
J35	Niigata	1		1			
J40	Saitama	156	54	17	6	79	Cerro 20, Emek 4, Braenderup 11, Mbandaka 9, Thompson 8, Virchow 5, Corvallis 4, Lockleaze 2, Agona 1, Bareilly 1, Derby 1, Hadar 1, Haifa 1, Havana 1, Heidelberg 1, Livingstone 1, Montevideo 1, Saintpaul 1, Schwarzengrund 1, Yoruba 1, O35:Z4,Z23:- 3, O8:Z4,Z24:- 1
J42	Shizuoka	13	7	1		5	Cerro 2, Braenderup 1, Montevideo 1, Rissen 1
J44	Saitama	6	3		1	2	Livingstone 1, Worthington 1
b) World							
No. of reference	Country	total <i>Salmonella</i>	S. Enteritidis	S. Infantis	S. Typhimurium	others	note
F2	Trinidad and Tobago	74	42			32	Ohio 14, Mbandaka 6, Javiana 5, Braenderup 3, Caracas 1, Georgia 1, group C 1
F7	UK	6	5			1	Mbandaka 1
F8	UK	173	147	1		25	Mbandaka 14, Rissen 2, Braenderup 1, Panama 1, Weltevreden 1, untypable 6
F9	UK	7	6			1	
F10	UK	17	15		1	1	Livingstone 1
F11	UK	9	3	2	1	3	Kentucky 1, Mbandaka 1, Montevideo 1
F12	Germany	65	38		1	24	
F13	Germany	43	35		2	2	
F14	Germany	72	61		0	4	
F15	Germany	84	75		2	6	
F17	Albania	1				1	group C 1
F18	Albania	1				1	group C 1
F21	India	39	35			4	Cerro 2, Molade 1, Mbandaka 1
F24	Thailand	9				9	Braenderup 2, Cerro 1, Derby 1, Enterica 1, Hvittingfloss 1, Idikan 1, Mbandaka 1, Montevideo 1
F32	Canada	65			16	49	Heidelberg 40, Agona 5, I:4,12:-:1,2 4
F33	UK & Ireland	2				2	Poona 2
F35	Trinidad and Tobago	44	11	2	26	5	Cerro 2, Ohio 2, Heidelberg 1
F36	Germany	1				1	Kimuenza 1
F38	Kuwait	3	3				

*Salmonella*の検査法について概説すると、鶏卵の検査は、1.卵殻の汚染を調べる検査(on egg)、2.卵内容の汚染を調べる検査(卵黄のみを調べる場合もある、in egg)、3.卵全体(卵殻と卵内容)の汚染を調べる検査(whole)の3種類が行われていた。

卵殻の汚染検査については、検体の調整方法として、

1. リンス法…卵を培養液中で洗い、洗った後の培養液を試料として用いる。
2. クラッシュ法…卵を割った後、卵内容を取り出し、卵殻を培養液中で砕いた後、卵殻ごと、もしくは培養液のみを試料とする。
3. ふき取り法…卵殻表面を拭い、それを試料として用

いる。

4. スタンプ法…卵殻表面をそのまま培地に接触させる。の4方法が取られていた。

検出方法としては、

1. 二段階増菌法…非選択増菌培地で前(一次)培養した後、選択増菌培地で選択(二次)培養し、分離培地で検出する(非選択培地ではなく、卵内容をそのまま培養し、前培養としているものもある)。
 2. 一段階増菌法…選択増菌培地で増菌培養した後、分離培地で検出する。
 3. 直接法…分離培地で直接、検出を行う。
- という3つの方法が主であったが、分離培地の代わりに

分子生物学的手法を用いた方法や免疫化学的手法を用いた方法, 酸素電極を用いた方法, あるいは増菌法に磁気ビーズを組み合わせた方法等も用いられていた。

培地に関しては, 国内では一次増菌培地としてEEM (Enterobacteriaceae enrichment mannitol broth)やBPW (buffered peptone water)を用いているものが多く, 二次増菌培地としては, HTT(Hajna tetrathionate broth)やRV (Rappaport-Vassiliadis broth), SBG(S)(selenite brilliant green (sulfa) broth), SC(selenite cystine broth), TT(tetrathionate broth)等が用いられていた。分離培地に関しては, DHL(deoxycholate hydrogen sulfide lactose

agar), MLCB(mannitol lysine crystal violet brilliant green agar), SS(Salmonella Shigella agar), XLD(xylose lysine deoxycholate agar), CHROM-S(CHROMagar Salmonella)等が用いられ, 確認方法として生化学性状検査や血清凝集反応を用いているものが多かった。諸外国では, 一次増菌培地としてBPWの他, LB(lactose broth)やTS(trypticase soy broth)が用いられており, 二次増菌培地としては, SC, TT, RVが多く用いられていた。分離培地にはXLD, BS(bismuth sulfite agar), BG(S)(brilliant green (sulfa) agar)等が広く用いられており, 確認方法としては生化学性状検査や血清凝集反応を用いているものが多かった。

Table 5. List of references (Japan)

No. of reference	Authors	Sources
J1	Lapaz et al.	Epidemiol. Infect., 136, p1235-1243 (2008)
J2	Wakamatsu et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 35, p53-57 (2008)
J3	Hu et al.	Hirosaki Med. J., 59, p1-6 (2007)
J4	Otani	Bull. Toyoko Gakuen Women's College, 40, p.1-9 (2006)
J5	Ogata et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 34, p65-69 (2007)
J6	Hasegawa et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 33, p44-47 (2006)
J7	Washimi et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 32, p53-56 (2005)
J8	Washimi et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 31, p49-52 (2004)
J9	Otani	Bull. Toyoko Gakuen Women's College, 37, p.15-22 (2003)
J10	Ogata et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 30, p65 (2003)
J11	Ogata et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 29, p71 (2002)
J12	Sunagawa et al.	Jpn. J. Food Microbiol., 19, p7-17 (2002)
J13	Ogata et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 28, p92 (2001)
J14	Ogata et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 27, p92 (2000)
J15	Sera et al.	Ann. Rep. Fukuoka Inst. Health Environ. Sci., 26, p51-57 (1999)
J16	Kudo et al.	J. Food Hyg. Soc. Jpn., 47, p119-126 (2006)
J17	Murakami et al.	Yokei no Tomo, Feb., p18-21 (2006)
J18	Sunazu et al.	Food Sanit. Res., 53, p72-76 (2003)
J19	Yamasaki et al.	Ann. Rep. Nagasaki Pref. Inst. Public Health Environ. Sci., 47, p109-111 (2001)
J20	Murakami et al.	Epidemiol. Infect., 126, p159-171 (2001)
J21	Shinagawa	HACCP, Aug., p88-92 (1999)
J22	Imanishi et al.	Food Sanit. Res., 49, p97-103 (1999)
J23	Nagasaka et al.	Rep. Ann. Meet. Livest. Hyg. Toyama Pref., p14-16 (1999)
J24	Natsuaki et al.	Yokei no Tomo, Oct., p20-23 (1999)
J25	Miyazaki et al.	Ann. Rep. Nagasaki Pref. Inst. Public Health Environ. Sci., 44, p129-130 (1998)
J26	Nakayama et al.	Yokei no Tomo, July, p13-17 (2008)
J27	Lapaz et al.	J. Vet. Med. Sci., 69, p649-652 (2007)
J28	Otomo et al.	Avian Dis, 51, p578-583 (2007)
J29	Yaguchi et al.	Bull. Fukushima Pref. Poult. Experiment Stn., 33, p21-24 (2006)
J30	Matsumoto et al.	Rep. Public Health Inst. Kochi Pref., 52, p25-33 (2006)
J31	Yaguchi et al.	Bull. Fukushima Pref. Poult. Experiment Stn., 30, p42-48 (2003)
J32	Shirota et al.	J. Food Prot., 64, p734-737 (2001)
J33	Zakimi et al.	J. Vet. Epidemiol., 1, p31-36 (2001)
J34	Odagiri et al.	J. Jpn Soc. Poult. Dis., 35, p.89-96 (1999)
J35	Shichiku et al.	Ann. Re. Niigata Pref. Res. Lab. Health Environ., 14, p101-105 (1998)
J36	Miki	Yokei no Tomo, Nov., p25-28 (1998)
J37	Aoki et al.	J. Jpn Soc. Poult. Dis., 34 Suppl, p.1-5 (1998)
J38	Hamasaki et al.	Ann. Rep. Fukuoka Inst. Health Environ. Sci., 34, p96-98 (2007)
J39	Hamasaki et al.	Ann. Rep. Fukuoka Inst. Health Environ. Sci., 33, p89-91 (2006)
J40	Ohtsuka et al.	Appl. Environ. Microbiol., 71, p6730-6735 (2005)
J41	Yamanashi et al.	Jpn. J. Food Microbiol., 21, p160-167 (2004)
J42	Masuda et al.	Bull. Shizuoka Inst. Environ. Hyg., 43, p13-19 (2000)
J43	Namimatsu et al.	J. Vet. Med. Sci., 62, p615-619 (2000)
J44	Kurokawa et al.	Food Sanit. Res., 50, p65-71 (2000)
J45	Ogata et al.	Ann. Rep. Oita Pref. Inst. Health Environ., 26, p78 (1999)

Table 6. List of references (World)

No. of reference	Authors	Sources
F1	Peng et al.	Int. J. Food Microbiol., 63, p225-233 (2001)
F2	Adesiyun et al.	Epidemiol. Infect., 133, p1049-1056 (2005)
F3	Favier et al.	J. Food Prot., 64, p1621-1623 (2001)
F4	Favier et al.	J. Food Prot., 63, p1053-1057 (2000)
F5	Favier et al.	Food Microbiol., 17, p73-81 (2000)
F6	Alexandre et al.	Rev. Med. Chil., 128, p1075-1083 (2000)
F7	Little et al.	J. Food Prot., 71, p19-26 (2008)
F8	Little et al.	J. Food Prot., 70, p2259-2265 (2007)
F9	Little et al.	Lett. Appl. Microbiol., 44, p595-601 (2007)
F10	Elson et al.	J. Food Prot., 68, p256-264 (2005)
F11	Wilson et al.	Commun. Dis. Public Health, 1, p156-160 (1998)
F12	Hartung	Fleischwirtschaft, 88, p114-122 (2008)
F13	Hartung	Fleischwirtschaft, 87, p109-117 (2007)
F14	Hartung	Fleischwirtschaft, 87, p98-106 (2007)
F15	Hartung	Fleischwirtschaft, 86, p155-161 (2006)
F16	Radkowski	Int. J. Food Microbiol., 64, p189-191 (2001)
F17	Telo et al.	Int. J. Food Microbiol., 49, p169-171 (1999)
F18	Telo et al.	Fleischwirtschaft, 78, p231-232 (1998)
F19	Hang'ombe et al.	Avian Dis., 43, p597-599 (1999)
F20	Mercanoglu et al.	Arch. Lebensmittelhyg., 53, p43-45 (2002)
F21	Suresh et al.	Food Microbiol., 23, p294-299 (2006)
F22	Bajaj et al.	J. Food Sci. Technol., 40, p556-558 (2003)
F23	Bajaj et al.	J. Food Sci. Technol., 40, p682-684 (2003)
F24	Vindigni et al.	Foodborne Pathog. Dis., 4, p208-215 (2007)
F25	Chao et al.	Foodborne Pathog. Dis., 4, p277-284 (2007)
F26	Hu et al.	Hirosaki Med., 59, p1-6 (2007)
F27	Chung et al.	J. Food Prot., 66, p1154-1157 (2003)
F28	Chang	J. Food Prot., 63, p655-658 (2000)
F29	Jones et al.	J. Food Prot., 70, p2004-2007 (2007)
F30	Musgrove et al.	Poult. Sci., 84, p1955-1958 (2005)
F31	Musgrove et al.	J. Food Prot., 67, p2613-2616 (2004)
F32	Poppe et al.	Can. J. Vet. Res., 62, p191-198 (1998)
F33	Murchie et al.	J. Food Prot., 70, p1238-1240 (2007)
F34	Wong et al.	J. Sci. Food Agric., 83, p44-52 (2003)
F35	Indar et al.	West Indian Med. J., 47, p50-53 (1998)
F36	Schwaiger et al.	Zoonoses Public Health, 55, p331-341 (2008)
F37	Verde et al.	Radiat. Phys. Chem., 71, p27-31 (2004)
F38	Al-Zenki et al.	Foodborne Pathog. Dis., 4, p367-73 (2007)
F39	Shaw et al.	J. Food Prot., 61, p1507-1510 (1998)
F40	Blais et al.	J. Food Prot., 61, p1187-1190 (1998)
F41	Badr	Food Chem., 97, p285-293 (2006)

4. 考察

以前、我々が行った国内、および諸外国における市販鶏肉の*Campylobacter*汚染状況に関する文献調査^{4,5)}では、鶏肉の種類や国ごとに集計し、結果を提示した。しかし、本研究において調べた鶏卵の*Salmonella*汚染に関する文献では、鶏卵1個を1検体としている文献もあれば、数個から多いものでは数百個プールしたものを1検体としている文献、あるいは1検体中の鶏卵の個数について記載のない文献が混在していた。このため、結果の集計は行わず、それぞれの調査結果を表に示すこととした。

国内の市販鶏卵の*Salmonella*汚染について調べた15文献のうち、*Salmonella*汚染は1文献のみで、in egg汚染が9010検体中3検体(汚染率0.03%)と報告されていた(表2)。1992年に行われた大規模な殻付き卵の*Salmonella*汚染調査⁹⁾では、24000個のうち7個が*Salmonella*にin egg汚染されていたと報告されており、汚染率は7/24000=0.03%とほぼ同じとなる。しかし、1992年の調査では鶏卵1個を1検体としているのに対し、J1の文献においては鶏卵10個をプールして1検体としており、単純に1検体の鶏卵10個のうち1個だけが汚染されていたと仮定すると、汚

染率は約10倍異なることとなる。いずれにせよ、我が国の国内の市販鶏卵の *Salmonella* 汚染率は数千個～数万個に1個程度であり、数検体から数十検体程度を対象とした小規模な調査では汚染が検出されないことは妥当であると考えられた。GPセンター等における鶏卵の *Salmonella* 汚染については、前述したように1検体としてプールされる鶏卵の数が文献により様々であるため、正確なことは言えないが、未洗浄卵で on egg 汚染が比較的多くの文献で認められた。一方、洗浄卵では on egg 汚染は認められていなかったことから、洗浄の効果が認められることが示唆された。農場等における鶏卵の *Salmonella* 汚染についても、正確なことは言えないものの、市販鶏卵よりも汚染を報告している文献が多いことから、GPセンターにおける選別と洗浄の効果を反映したものと考えられた。液卵の *Salmonella* 汚染については、殺菌液卵では2文献で汚染は認められなかったが、未殺菌液卵では14文献中10文献で汚染が報告されていた。1999年11月に食品衛生法施行規則等が改正されていることから、改正前の文献(J14, J15, J20, J22, J42～45の8文献)と改正後の文献(J13, J16, J27, J38～40の6文献)に分けて未殺菌液卵の汚染率を比較したところ、改正前は8文献中6文献で8.06～75%, 改正後は6文献中4文献で0.96～100%の汚染が認められていた。改正後の6文献のうち陰性と報告されている2文献が検体数5以下の小規模な調査なのに対し、陽性の4文献には100検体以上の大規模な調査も含まれていることから、改正後も未殺菌液卵についてはある程度の汚染が認められると考えられた。殺菌液卵に関しては、1990～91年に284検体⁷⁾、1992年に50検体^{7, 8)}から *S. Enteritidis* が検出されなかったという報告がある。また、未殺菌液卵に関しては、1990～91年に1370検体中55検体(4.0%)⁷⁾、1990～92年に545検体中78検体(14.3%)^{6, 8)}から *S. Enteritidis*, もしくは *Salmonella* が検出されたと報告されている。

諸外国の市販鶏卵の *Salmonella* 汚染に関しては、チリ、ポーランド、韓国、ドイツ等では *Salmonella* 汚染率は1%以下であったのに対し、トリニダード・トバゴやアルバニア、ザンビア、インド、タイ等では、*Salmonella* 汚染率は数%から十数%と高かった(表3)。UKでは国内(UK)産の鶏卵では1%以下の汚染率であったが、輸入鶏卵のうち、特にスペイン産の輸入鶏卵で汚染率が高いという結果が報告されていた。文献により使用している培地や培養条件、検出方法、1検体としてプールされる鶏卵の個数等が異なること、さらに文献により卵殻、卵内容、卵全体と汚染調査対象が異なることから、厳密な比較はできないが、少なくとも市販鶏卵の *Salmonella* 汚染率には地域差があること、および、一部の国々では、我が国の市販鶏卵よりも高い汚染率の鶏卵が流通していること

が明らかとなった。諸外国における鶏卵処理施設等、あるいは農場、孵化場等の鶏卵や液卵の *Salmonella* 汚染に関しては文献が少なく、地域差等の考察は困難であった。

鶏卵・液卵から分離された *Salmonella* 株の血清型(表4)については、1980年代後半から世界中で増加が報告されている *S. Enteritidis* が^{2, 9)}、国内においても諸外国においても卵から分離される *Salmonella* の主要な血清型となっていることが示されていた。

本研究では国内、および諸外国の鶏卵・液卵の *Salmonella* 汚染状況について文献的に調査した。その結果、我が国においては、市販鶏卵の *Salmonella* 汚染率は数千個～数万個に1個程度と考えられること、農場等での鶏卵の *Salmonella* 汚染は市販鶏卵よりも多く見られ、GPセンターでの選別や洗浄の効果が示唆されること、(未殺菌)液卵については数千～数万個の卵が1ロットとしてまとめられることからリスクが高く、ある程度の *Salmonella* 汚染が認められること等が示された。また、諸外国においては、市販鶏卵の *Salmonella* 汚染率には地域差があること、一部の国々では、我が国の市販鶏卵よりも高い汚染率の鶏卵が流通していることが示された。

5. 謝辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金により実施された。

6. 参考文献

- 1) codex alimentarius commission: Discussion Paper on Risk Management Strategies for *Salmonella* spp. in Poultry, 2003
<ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh36/fh0410ce.pdf> (accessed in May, 2009)
- 2) 田村和満: 感染症発生動向調査週報 感染症の話 サルモネラ感染症, 2004
http://idsc.nih.gov/idwr/kansen/k04/k04_05/k04_05.html (accessed in May, 2009)
- 3) 食品安全委員会 微生物・ウイルス合同専門調査会: 食品健康影響評価のためのリスクプロファイル ～鶏卵中のサルモネラ・エンテリティディス～, 2006
http://www.fsc.go.jp/senmon/biseibutu/risk_profile/salmonellasenteritidis.pdf (accessed in May, 2009)
- 4) Suzuki, H. and Yamamoto, S.: *Food Control*, 20, 531-537 (2009)
- 5) Suzuki, H. and Yamamoto, S.: *J. Vet. Med. Sci.*, 71, 255-261 (2009)
- 6) 仲西寿男: 食品衛生学雑誌, 34, 318-322 (1993)
- 7) 梅田浩史: 食品衛生研究, 49, 9-29 (1999)
- 8) 村瀬稔: 食品と微生物, 10, 181-184 (1994)
- 9) Schlundt, J.: *Int. J. Food Microbiol.*, 78, 3-17 (2002)

わが国及び各国における畜水産食品中の残留動物用医薬品の検出状況について

山本 都[#], 登田美桜, 杉田たき子, 田中敬子, 畝山智香子, 森川 馨

Studies on the results of monitoring of veterinary drug residues in food products of animal origin in Japan and other countries

Miyako Yamamoto[#], Miou Toda, Takiko Sugita, Keiko Tanaka, Chikako Uneyama, Kaoru Morikawa

The positive list system was introduced in Japan for agricultural chemicals such as pesticides, feed additives and veterinary drugs in May 2006. After this time, food containing residues of these chemicals exceeding MRLs, or the default tolerance (uniform limit: 0.01 ppm) cannot be marketed in Japan. The number of chemicals to be tested for imported food at the port increased remarkably. We studied on the results of monitoring of imported food for the residues of veterinary drugs and change in trend of violation after the enforcement of the system. The number of violation of the veterinary drugs in imported food increased largely, most of them were attributed to chloramphenicol and nitrofurans in seafood from Asian countries.

Monitoring of the veterinary drugs in seafood in other countries such as EU, United States, United Kingdom and Australia were also studied.

Keywords: veterinary drugs, monitoring, imported food, positive list system

はじめに

食品中の残留農薬及び動物用医薬品については、平成18年5月のポジティブリスト制度の施行に伴い、規制の対象となる物質が大幅に増加した。輸入食品等の検査を効率的かつ効果的に進めるためには、わが国及び各国における残留農薬及び動物用医薬品の最新の検出状況を常に把握しておくことが重要である。本報告では、残留動物用医薬品について、わが国での輸入食品中の検出状況におけるポジティブリスト制度実施の影響及び各国の魚介類中の検出状況について調査した。

方法

わが国における輸入食品中の残留動物用医薬品検出状況については、厚生労働省の2002～2007年度の輸入食品監視指導結果（厚生労働省食品安全部監視安全課提供）をもとに検討した。個別の違反事例の内容については、「輸入食品等の食品衛生法違反事例」¹⁾を併せて参照した。各国における食品中の残留動物用医薬品の検出状況については、EU、米国、英国、オーストラリアの担当機関が実施した検査についての報告書等

をもとに調査した。個々の報告書名については、文中に記載した。

結果

1. わが国の輸入食品中残留動物用医薬品の検出状況

2002～2007年度における輸入食品中の残留動物用医薬品検査結果をもとに輸入食品検査における違反件数の推移を年度別、国別、物質別に示した。また、ポジティブリスト制度実施（2006年5月）の前後における推移をみるため、国別及び物質別においては2002～2005年度及び2006～2007年度を分けて示した。

1.1 年度別の違反件数

2002～2007年度の違反件数の合計（総違反件数）は603件であった。図1に、年度別の違反件数のグラフを示した。ポジティブリスト制度は2006年5月に実施されたが、2006年度（2006年4月～2007年3月）の違反件数は246件で、前年度の約5倍に急増した。2006～2007年度2年間の合計違反件数は、2002～2007年度6年間の合計違反件数の約67%を占めた。一方、違反件数を魚介類及び魚介類以外の品目に分けた場合、魚介類による違反件数が2006年度以降急増しているのに対し、魚介類以外の品目についてはさほど変化がみられない。したがって、2006年度以降の急増は主に魚介類及びその製品によるものと考えられる。

[#] 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

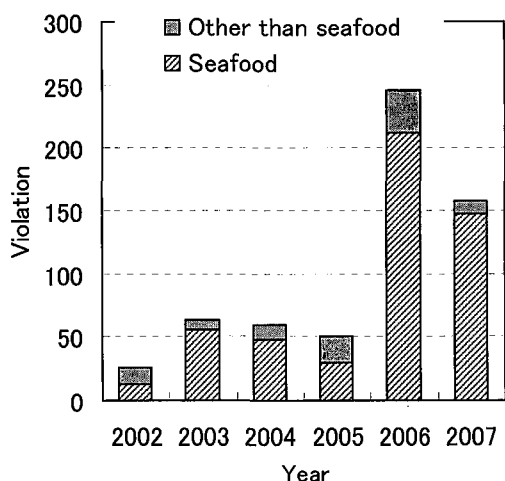


Fig.1. Number of violation of veterinary drugs in 2002-2007

1.2 原産国別の違反件数

2002～2007年度の原産国別の違反件数を図2に示した。2002～2007年度の違反件数の合計は中国が最も多く、総違反件数の約41%を占めた。次いでベトナム（約36%）、インドネシア（約8%）、台湾（約6%）、米国（約2%）であった。2002～2005年度は中国の違反件数が圧倒的に多いが、2006～2007年度はベトナムが最も多く、次いで中国であった。2006年度及び2007年度のベトナムと中国を合わせた違反件数は、全体の総数に対し、それぞれ約73%、約88%であった。中国の違反件数は、2002～2007年度で年度による大きな違いはさほどみられなかったのに対し、ベトナムの違反件数は2006～2007年度に集中していた。中国とベトナム以外の国については、違反件数ははるかに少なく、インドネシアが総違反件数の約8%、台湾が約6%であった。

魚介類（その製品を含む）と魚介類以外の違反件数に

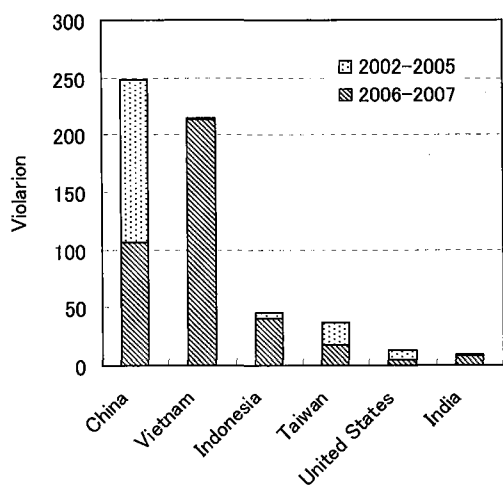


Fig.2. Number of violation of veterinary drugs by countries of origin

ついては、ベトナム、インドネシア、台湾などは大部分が魚介類による違反であった。ベトナムはエビ（2006及び2007年度）やイカ（2006年度）、インドネシアはエビ、台湾はウナギによる違反が大半を占めた。中国は2002～2007年度の違反件数合計の約80%が魚介類によるもので、2006～2007年度は主にウナギのロイコマラカイトグリーン及びマラカイトグリーンによる違反であった。一方、米国の違反は主に花粉加工品（オキシテトラサイクリン）で、魚介類についての違反はなかった。

1.3 物質別の違反件数

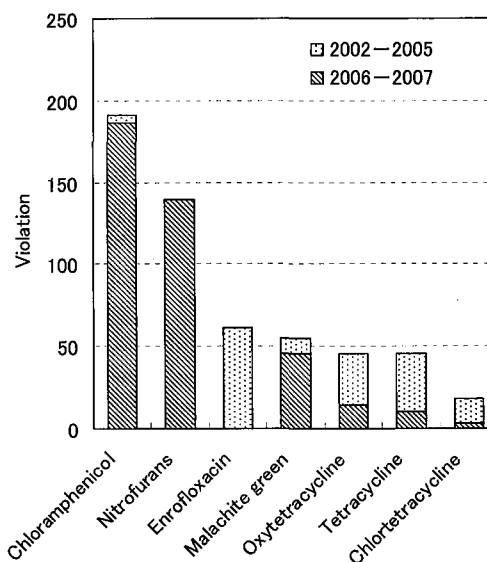


Fig.3. Number of violation of veterinary drugs by chemicals in 2002-2007

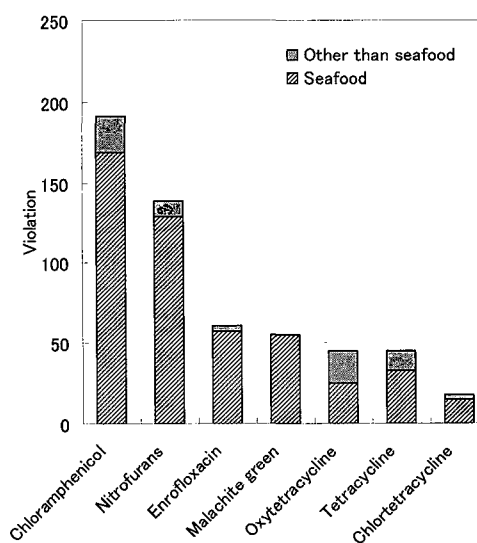


Fig.4. Number of violation of veterinary drugs by chemicals for seafood and others

2002～2007年度の物質別の違反件数を図3及び図4に示した。違反件数が最も多かった物質はクロラムフェニコールで総違反件数に対し約32%であった。次いでニトロフラン類23%、エンロフロキサシン10%、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーン合計9%、オキシテトラサイクリンとテトラサイクリンがいずれも7%であった。クロラムフェニコールとニトロフラン類の違反件数は、2006年度以降急増している。

図4に示したように、ニトロフラン類、エンロフロキサシン、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンの違反の多くは魚介類によるものであった。一方、クロラムフェニコールでは魚介類の他にローヤルゼリー製品（中国、台湾、韓国、米国など）、オキシテトラサイクリンやテトラサイクリンでは花粉加工品による違反が比較的多かった。

クロラムフェニコールによる違反は、2002～2005年度は魚介類以外の食品でわずか5件であり、大部分が2006～2007年度に集中していた。2006～2007年度の違反の約90%は原産国がベトナムであった。主な品目は、2006年度が冷凍エビや乾製品のイカなど、2007年度が冷凍エビであった。ベトナム産以外のクロラムフェニコール違反としては、ローヤルゼリー製品（中国、台湾、韓国、米国など）や水煮あさり（中国）などがあつたが、件数は少ない。クロラムフェニコールは食品中に不検出と定められている。ベトナム産その他の魚介類中に検出されたクロラムフェニコールは、ほとんどが10分の1ppb～数ppbレベルであったが、一部、ローヤルゼリー加工品で10ppbを超えるものもあつた。

ニトロフラン類の違反は、すべて2006年度以降であつた。ニトロフラン類の違反例が多かったのは、ベトナム（29%、主にエビ）、インドネシア（28%、エビ）、中国（24%、主にウナギ）、台湾（12%、ウナギ）であつた。検出されたニトロフラン類の多くは数ppbレベルであつたが、一部のエビやウナギなどで10ppbを超えるものもあつた。

エンロフロキサシンは、2002～2007年度の違反件数がクロラムフェニコール、ニトロフラン類に次いで多いが、その多くは2003年度及び2004年度の違反で（主に中国産ウナギ）、2006～2007年度の違反はなかつた。マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンは、2004年度以前は検査対象となっていない。2005年度の違反はマラカイトグリーンのみ10件（中国産のウナギその他の魚介類、台湾産魚介類）で、2006～2007年度は主にロイコマラカイトグリーン（主に中国産ウナギ）であつた。オキシテトラサイクリンは、さまざまな原産国や品目について広範に検出されているが、検出頻度に比べ違反件数は少なかった（総違反件数の7%）。

1.4 クロラムフェニコール及びニトロフラン類による違反

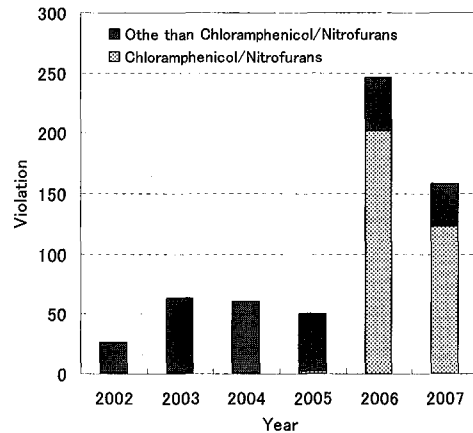


Fig.5. Number of violation of chloramphenicol and nitrofurans in 2002-2007

図5に、クロラムフェニコールとニトロフラン類、及びそれ以外の物質の違反を示した。クロラムフェニコールとニトロフラン類の違反件数の合計が各年度の全体の違反件数に占める割合は、2002～2005年度の0～6%に対し、2006年度、2007年度とも約80%であつた。このうち、クロラムフェニコールによる違反は、主にベトナム産のエビ及びイカ（加工品を含む）であつた。これらのベトナム産食品におけるクロラムフェニコールの違反例は検査命令によるものが大半であつた（2006年度約90%、2007年度約98%）。

1.5 その他

輸入食品中の残留動物用医薬品の検査結果において、違反例は比較的少ないにもかかわらず検出例が多い物質として特にめだつた物質はオキシテトラサイクリンである。検出例については、検出濃度がマチマチであり、また検査件数も原産国や品目によって大きく異なることから、検出頻度を数字で表すことは困難であるが、オキシテトラサイクリンの検出例は他の物質（違反件数が多い物質も含め）に比べてはるかに多かつた。またオキシテトラサイクリンが検出された品目や原産国は広範であり、特定の品目や原産国に偏るといふ傾向はみられなかつた。

2. 各国における魚介類中の残留動物用医薬品の検出状況

欧州、北米、オセアニアのいくつかの国では、食品中の残留動物用医薬品に関するモニタリングが定期的に実施され、結果がwebなどで公表されている。しかしこれらのモニタリング報告書で魚介類が対象になっているものは比較的少なく、魚介類については、別途特別プログラムにより検査されている場合も多い。本報告では、各

国における魚介類の残留動物用医薬品に関する情報を調査した。

2.1 欧州

欧州では、2002年以降、アジア産動物由来製品の輸入一時停止などの規制が何回かとられた。EUでの魚介類中の動物用医薬品の検出状況に関する資料としては、RASFF（食品及び飼料に関する緊急警告システム）及び毎年EU加盟国が実施する残留動物用医薬品のモニタリングがある。

2.1.1 RASFF²⁾

EUでは、RASFFを通じ、あるEU加盟国が食品や飼料の安全性に関わる問題を検出した場合に、欧州委員会と他のEU加盟国がその情報を迅速に入手し対応できるシステムになっている。各加盟国からの通知には、警報通知（Alert Notifications）、情報通知（Information Notifications）、通関拒否通知（Border rejections）がある。警報通知は重大なリスクのある食品や飼料が市場に出回っているため速やかに回収などを行う必要がある場合、情報通知はリスクが確認された食品や飼料が市場に出回ったが他のEU加盟国はすぐに何らかの措置をとる必要はない場合、通関拒否通知はEU及び欧州経済領域の外部国境で食品や飼料にリスクが見つかり通関拒否された場合に出される。リスクの検出は、公的機関による市場監視、国境での検査、企業の自主検査、食中毒、消費者の苦情による場合などさまざまであり、通知される内容は必ずしも基準値や参照値を超える違反や不適合がみられた検体だけに限らない。これまで欧州で明らかになった食品の安全性に関わる問題の多くは、RASFFへの通知がきっかけとなっている。これらの通知は毎週、“Weekly Overview”で公表されており、これらをまとめて分析した年次報告書が年に1回発表される。

年次報告書をもとに、表1に、2005～2007年における魚介製品（fish products）の動物用医薬品の通知件数を抽出し示した。

魚介製品に関して通知件数が多い動物用医薬品は、主にニトロフラン類で、2005年36件、2006年57件、2007年35件である。そのほとんどはアジア産で、特にインド産やバングラデシュ産のエビが多い。魚介製品中のニトロフラン類に関する通知件数は、2006年（57件）に比べて2007年（35件）は減少したが、これはニトロフラゾン（代謝物であるセミカルバジド（SEM）を測定）の通知件数が減少したことによる（2006年40件から2007年13件）。

次いで多いのはマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンであった。2005年は50件であったが、これをピークとし2006年17件、2007年9件と、年々大きく減少している。

EUは2001～2002年、アジア産（中国、ベトナムなど）エビにクロラムフェニコールを検出し、規制を強化した。魚製品中のクロラムフェニコールに関するRASFFの通知件数は2002年に113件と顕著なピークを示したが、最近では2005年2件、2006年5件、2007年5件と少ない。2005年（2件）に初めて通知されたクリスタルバイオレット（ゲンチアナバイオレット）については、2006年は5件（インドネシア産4件、タイ産1件）、2007年は2件（ジャマイカ産及び中国産ティラピア各1件）であった。

2.1.2 EUの残留動物用医薬品のモニタリング³⁾

欧州連合(EU)では、加盟国が国の残留物モニタリング計画を作成し、例えば畜水産食品のモニタリングで基準に適合しない「不適合」(non-compliant results)の結果が出た場合、結果及びそのフォローアップ措置について欧州委員会及び他の加盟国に報告することになっている。モニタリングの対象品目に水産養殖があり、毎年、不適合事例として発表される。2003～2006年の水産養殖における動物用医薬品の「不適合」件数は、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンが圧倒的に多く（全体の90%以上）、ニトロフラン類及びクロラムフェニコールの不適合は合わせてわずか2件であった。ニト

Table 1. Number of notification by Rapid Alert System for Food and Feed of EU for veterinary drugs in fish products

RASFFの通知件数	2005	2006	2007	備考
通知件数(総数)	104	80	58	
ニトロフラン類	36	57	35	主にエビ、インド産、バングラデシュ産など
フラゾリドン(AOZ)		15	22	
ニトロフラゾン(SEM)		40	13	
フラルタドン(AMOZ)		2	2	
ニトロフラントイン(AHD)			1	
マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーン	50	17	9	ベトナム産、インドネシア産魚介類など
クリスタルバイオレット	2	5	2	インドネシア産魚介類など
クロラムフェニコール	2	5	5	ベトナム産エビなど

ロフラン類は、RASFFでは2005～2007年の通知件数が多く、モニタリングで不適合がきわめて少なかったのは実際の状況を反映しているとは言い難い。各国のモニタリング計画により前者の検査結果を報告した国の数が多く、後者で非常に少なかったことが大きな理由のひとつと考えられる。このように、各国から報告される「不適合」件数は各国のモニタリング計画の影響を大きく受けるため、動物用医薬品の検出状況に関する全体的な傾向をみるには、RASFFの方がより適していると考えられる。

2.2 米国

米国では、米国農務省 (USDA) の食品安全検査局 (FSIS) が、全国残留検査プログラム (NRP) を通じて国産及び輸入食肉、家禽肉、卵製品の残留化学物質データを収集・蓄積している。一方、魚介類中の残留動物用医薬品については、NRPのような定期的なモニタリングは行われていない。

FDAは2002年以降何度か輸入魚介類中の未承認の抗菌剤について輸入警報 (import alert) を発令したが、2006年～2007年の集中検査で中国産養殖魚介類に米国で未承認の動物用医薬品が繰り返し検出されたことから、2007年6月には、中国産の5種類の養殖魚介類 (ナマズ、バス、エビ、デイス、ウナギ) について輸入規制を強化した。

魚介類中の動物用医薬品の検査結果がまとめられている資料は少ないが、2008年11月にFDAが議会に提出した報告書⁴⁾には、魚介類の監視プログラムや検査結果などが記載されている。この報告書は2007年のFDA改正法にもとづくもので、同法では米国保健福祉省長官が議会に対して、水産養殖及び魚介類の監視プログラムの詳細、魚介類のトレーサビリティ、特定の汚染物質及び禁止物質に関するリスク評価などを報告することが求められている。

国産及び輸入養殖魚介製品中に残留する未承認動物用医薬品のルーチン検査は2002年に始まったが、2008年のFDAの報告書⁴⁾には、2004～2007年に実施された動物用医薬品の検査結果が示されている。この検査では、アジア (主に中国、ベトナム、インドネシア) や南米各国の輸入養殖製品に多くの違反がみられた。2004～2007年に実施したすべての原産国についての輸入養殖魚介類の総検査件数は1,715件であったが、このうち中国、ベトナム、インドネシア産養殖魚介類についての検査件数は1,119件 (全体の65%) であり、違反件数 (カッコ内検査件数) は、ベトナムが43件 (237件)、中国が96件 (652件)、インドネシアが18件 (230件) であった。中国産魚介類については、2006年10月～2007年5月に集中検査が行われたため、検査件数、違反件数共に激増した。

一方、国産及び輸入魚介類全般について2004～2007年に実施した総検査件数は2,836件で、うち違反件数は176件であった。上述の輸入養殖魚介類における集計結果において、ベトナム、中国、インドネシアの違反件数の合計が157件になることから、国産及び輸入魚介類全体の違反件数のうち、大部分をアジア産が占めていることになる。国産及び輸入魚介類全般において、違反がみられた主な物質は、マラカイトグリーン79件 (バス/ナマズ、ウナギ、ティラピア、デイスなど)、クロラムフェニコール (エビ、カニ) 57件、フルオロキノロン類 (バス/ナマズ他) 19件、ニトロフラン類 (エビ) 17件、クリスタルバイオレット (ナマズ、エビ) 3件であった。これらの検査結果に原産国は示されていない。しかしマラカイトグリーンの違反は大部分が2006年 (51件) 及び2007年 (25件) であり、2007年にバス、ナマズ、ウナギなどの中国産養殖魚介類に対する輸入規制が強化されたこととあわせると、マラカイトグリーンによる違反のほとんどは中国産の輸入魚介類によるものと推測される。

2.3 英国

英国では、獣医学研究局 (VMD) 及び残留動物用医薬品委員会 (VRC) が残留動物用医薬品サーベイランスの計画立案や報告書の発表などを行っている。サーベイランスの種類には、大きく分けてNational Surveillance Scheme (NSS, 国のサーベイランス計画) とNon-Statutory Surveillance Scheme (法律にもとづかないサーベイランス計画) がある。

各年次のサーベイランス報告書は、担当機関のwebサイトで2001年分から入手可能である⁵⁾。

2002年のサーベイランスで、輸入エビにニトロフラン類、国産及び輸入魚 (サケ・マスなど) にマラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンの検出が相次ぎ、VRCは魚介類の残留物質について、国産及び輸入養殖魚のマラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーン、輸入エビのニトロフラン類及びクロラムフェニコールを懸念材料としてあげた。2002年以前のサーベイランスにおいては、クロラムフェニコール、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーン、ニトロフラン類についての参照値 (Reference Points) としてMRPL (Minimum Required Performance Limit) が設定されていなかった。これらの物質については、2003年は検査の時期によって一部をのぞき、また2004年のサーベイランスではいずれもMRPLが設定された。したがって2003年以降のサーベイランス報告書には、上記の物質についてMRPLを超過した件数が示されている。

英国では2003～2006年に輸入 (暖水性) エビのニトロフラン類についてNon-Statutoryサーベイランスを実施

しており、4年間で総検査件数1,198件のうち、不適合だった件数は99件（ニトロフラゾンの代謝物SEM:78件、フラゾリドンの代謝物AOZ:21件）であった。英国のサーベイランス結果の報告書（1998年からwebサイトで公表）に記載されている以下の結果には、2003～2006年の輸入エビのニトロフラン類に関するNon-Statutoryサーベイランス結果も含まれている。

各年次の報告書では、2003年、2004年とも、輸入暖水性甲殻類のニトロフラン類、国産及び輸入魚のマラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンのMRPL超過件数は依然として多かった。2005年及び2006年は輸入暖水性甲殻類のニトロフラン類のMRPL超過件数は引き続き多かったものの、国産及び輸入魚のマラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンは減少し、また輸入魚のニトロフラン類の超過件数はわずかであった。クロラムフェニコールのMRPL超過は、2003年以降報告されていない。2007年の報告書では、輸入暖水性甲殻類のニトロフラン類の超過件数が大きく減少した。2007年は輸入暖水性甲殻類の検査件数が半減してはいるが、その要因を差し引いてもニトロフラン類の不適合件数は減少している。

2005～2007年にクロラムフェニコール、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーン、ニトロフラン類以外に、MRLまたはMRPLを超えて検出されている主な物質としては、エマメクチン（サケでMRL超過）、テトラサイクリン及びオキシテトラサイクリン（サケや輸入魚介類でMRL超過）、シプロフロキサシン及びエンロフロキサシン（輸入養殖魚介類でMRL超過）、クリスタルバイオレット/ロイコクリスタルバイオレット（輸入養

殖魚介類でAction limit超過）があった。

シプロフロキサシンとエンロフロキサシンはEUの基準を超過しており、英国食品基準庁（FSA）はこの結果をRASFFに通知したが、健康上の懸念はないとして回収は行わなかった。エマメクチンは健康上の懸念がないとされた。この他の物質についても、リスク評価の結果、出荷制限、廃棄命令、さらなるフォローアップ調査など、それぞれの状況に応じて処理され、その概要が報告書に記載されている。

2.4 オーストラリア

オーストラリアでは、農業水産森林省（DAFF）、検疫検査局（AQIS）、オーストラリア・ニュージーランド食品基準局（FSANZ）、各州政府などいくつかの関係機関が、定期的なモニタリングあるいは特定の目的のための臨時検査などで魚介類についての汚染物質や動物用医薬品等の検査を行っている。

FSANZは2005年、国産及び輸入養殖魚介類60検体について、56種類の化学物質（ニトロフラン類、クロラムフェニコール、スルホンアミド類、テトラサイクリン系、ペニシリン系、マクロライド系、キノロン系など各種動物用医薬品、PCB類、各種重金属）を検査した⁶⁾。これらの化学物質のうち、検出されたのはごく微量のロイコマラカイトグリーン及びマラカイトグリーン2種類のみで、残り54種類は検出されなかった。また検査した60検体のうち、これらの物質が検出されたのはオーストラリア産の魚3検体及びベトナム産魚7検体であった。

AQISは、2006年4月から2007年3月にかけて、輸入魚介

Table 2. Veterinary drugs detected from seafood in “Survey of Chemicals in Imported Seafood” by AQIS in Australia⁷⁾

国	魚介類	動物用医薬品	検出量(μg/kg)	検出件数/検査件数
中国	エビ	スルファメトキサゾール	2.3-5.4	エビ: 9/14
		オキシテトラサイクリン	8.6	
		フルメキン	2.6-17	
		シプロフロキサシン	3.1	
		エンロフロキサシン	3.3-130	
インドネシア	魚	フロルフェニコール	11	魚: 7/25
		オキシテトラサイクリン	2.0	
		アモキシシリン	14-130	
ニュージーランド	エビ	フルメキン	2.0	エビ: 1/1 カニ: 2/4
		オキシテトラサイクリン	3.4	
		オキシテトラサイクリン	6.7	
タイ	魚	アモキシシリン	380	魚: 6/12
		アンピシリン	25-71	
ベトナム	エビ	アンピシリン	10-130	エビ: 2/9
		オキシテトラサイクリン	2.1	
		フルメキン	3.4	
ベトナム	魚	オキシテトラサイクリン	5.9	魚: 2/7
		マラカイトグリーン	7.8	
		フルメキン	8.2	
	エビ	オキシテトラサイクリン	2.0	エビ: 1/3

AQIS(オーストラリア検疫検査局)の輸入魚介類についての調査結果(2006/2007年)から抜粋⁷⁾

類100検体について39種類の残留動物用医薬品の検査を行った⁷⁾。検査した魚介類は、天然・養殖、チルド・冷凍、調理済み・未調理の各種の魚、エビ、カニ、ウナギである。検査の結果、魚介類100検体のうち31検体に定量可能な量の動物用医薬品13種類が検出された。結果を表2に示した。検出された31検体のうち、9検体は養殖、14種類は天然 (wild caught) と表示され、残り8検体に表示はなかった。

中国産エビでは、6種類の物質が検出され、エンロフロキサシンは最大130 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。また、インドネシア産魚でアモキシシリン (最大130 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、インドネシア産カニでアモキシシリン380 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が検出された。ニュージーランド産魚では、ペニシリン系の動物用医薬品であるアモキシシリン (25~71 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 及びアンピシリン (10~130 $\mu\text{g}/\text{kg}$) が検出された。FSANZなどの関連機関がこれらの結果について公衆衛生上及び安全上のリスクを評価し、懸念はないとしている。また個々の物質で最大濃度が検出された魚介類を摂取した場合のワーストシナリオでもADIを十分に下回っていた。ただし、抗菌剤耐性の観点においては、専門家グループが、国産品も含む養殖魚介製品全般で抗菌剤が検出されていることに懸念を示している。特にエビで主に検出されている残留フルオロキノロン系動物用医薬品 (フルメキン、シプロフロキサシン、エンロフロキサシン) について耐性菌増加の可能性を指摘している。

AQISはさらに2007年9月から6ヶ月間に522検体の輸入魚介類を採取し検査した⁸⁾。このうち、中国産エビ3検体にニトロフラン類 (1.7~5.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、ベトナム産魚2検体にエンロフロキサシン (8.5~35 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 及びシプロフロキサシン (2.0~33 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、タイ産エビ1検体にエンロフロキサシン (5.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、台湾産バラマンディ1検体にマラカイトグリーン (6.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$) が検出された。ペニシリン系及びキノロン系の抗菌剤は検出されなかった。

DAFFが毎年実施しているモニタリングでは、検査対象となっている畜水産食品のほとんどは肉類である。魚介類としては天然魚介類について重金属や塩素系農薬のみ検査されている。ただし、最新の2007~2008年次調査報告書では、ホタテ及びザリガニ業界からの要請により駆虫薬と抗菌剤を検査しているが、いずれの検体にもこれらの物質は検出されなかった。

2.5 その他

ニュージーランドのNZFSAは、2008年12月、エビやカニなど陸地 (land-based) で養殖されている輸入魚介製品の検査結果を発表している⁹⁾。タイ、ベトナム、インド、日本及びペルーから輸入した養殖魚介類30検体

(エビ、ホタテ、カニ、カキ) について、トリフェニルメタン系色素 (マラカイトグリーン、ロイコマラカイトグリーン、クリスタルバイオレット、ロイコクリスタルバイオレット、)、ニトロフラン類、クロラムフェニコール、スルホンアミド類、テトラサイクリン等を検査した結果、いずれの検体からもこれらの抗菌剤は検出されなかった。

考察

1. わが国の輸入食品中残留動物用医薬品の検出状況

2002~2007年度6年間の総違反件数は約600件であったが、その3分の2 (約67%) はポジティブリスト制度施行後である2006年度及び2007年度2年間の違反であった。特に2006年度は違反件数が約250件で、前年度の違反件数50件の5倍に急増している。この急増した内容を、魚介類と魚介類以外のもの、国別、物質別に示した。

図1に示したように、2006年度以降における違反件数の増加部分の大部分は魚介類によるものである。国別の違反件数では、2006年度以降の違反件数が最も多いのはベトナムである。中国産や台湾産が2005年度以前、2006年度以降共に違反がみられるのに対し、ベトナム産やインドネシア産はほとんどが2006年度以降の違反であった。また、物質別の違反件数を示した図3及び図4では、2006年度以降に急増しているのはクロラムフェニコール及びニトロフラン類であった。マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンの違反も2006年度以降増加しているが、クロラムフェニコール及びニトロフラン類に比べるとはるかに少ない。図5に示したように、クロラムフェニコール及びニトロフラン類は、2002~2005年度にはほとんど違反例がないのに対し、2006年度及び2007年度には双方の違反件数の合計は全体の約80%であった。一方、クロラムフェニコールとニトロフラン類以外の物質の合計違反件数は2003~2007年度で大きな違いはみられなかった。このことから、2006年度及び2007年度に違反件数が急増したのは、2005年度以前に違反例がほとんどなかったクロラムフェニコールとニトロフラン類によるものであると考えられる。ニトロフラン類については2005年度以前の違反例はなく、すべて2006~2007年度であった。現在、ニトロフラン類は食品中に不検出と定められており、検出された場合は違反となる。しかし2005年度以前は検出されても違反とはならなかったため、2003~2005年度にインドやベルギーの粉鶏卵で検出例が多くみられたものの、この期間の違反件数はゼロである。

こうしたことから、2006~2007年度の違反件数の急増は、その大部分がそれまで違反例がほとんどなかったクロラムフェニコールとニトロフラン類によるもので

あった。これらは、ベトナム産のエビやイカのクロラムフェニコール及び中国・台湾産ウナギやインドネシア産・ベトナム産エビのニトロフランによる違反であり、その多くは検査命令によるものであった。これらの影響が顕著であるため、他の物質や品目についてはポジティブリスト制度が施行された後の動物用医薬品の違反状況の変化が明らかではなく、今後引き続きその推移を調査する必要がある。

オキシテトラサイクリンは、さまざまな原産国及び品目で検出され、各国で広く使用されていることが推測されるが、検出頻度の高さに比べると違反件数はさほど多くなかった。クロラムフェニコール、ニトロフラン類、マラカイトグリーン、テトラサイクリンなど違反件数の多い物質は、食品に「不検出」あるいは魚介類でMRLが設定されていないなどの理由で、検出濃度が低くても違反になる場合が多いと考えられるが、一方、オキシテトラサイクリンはさまざまな種類の畜水産食品でMRLが設定されているため、検出頻度の高さに比べ違反例は比較的少ないと考えられる。

2. 各国における魚介類中の残留動物用医薬品の検出状況

わが国では魚介類の消費量が多く、輸入食品検査における違反状況をみても魚介類が検査対象になっているものが多い。したがって、各国における魚介類中の残留動物用医薬品の検出状況を調査し、わが国の輸入食品検査等への活用をはかる必要がある。EU、米国、カナダ、英国、オーストラリア、スウェーデン、フィンランドなどでは、担当機関が食品中の残留動物用医薬品のモニタリングを定期的に行いweb上で公表している。しかしこれらの検査対象食品は主に肉製品、乳製品、卵製品、ハチミツ製品であり、魚介類が対象に含まれているのはEUなどごく一部であった。しかし、魚介類中の動物用医薬品検査については、2001～2002年にEUやカナダなどでアジア産魚介類（主にエビ）にクロラムフェニコールやニトロフラン類の検出例が多くみられ、これを契機に特別プログラムとして検査を実施する国も増えてきている。

EU、米国、英国、オーストラリアの魚介類の検査で共通して違反例が多かったのは、アジア産魚介類（特にエビ）のニトロフラン類、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーン、クロラムフェニコールで、この他に国によってフルオロキノロン系抗菌剤（エンロフロキサシン等）も違反例が比較的多い。オーストラリアの検査ではこの他、高濃度のペニシリン系抗菌剤（アモキシシリン、アンピシリン等）の検出もみられたが、最新の検査報告ではこれらの物質は検出されていない。EUや英国ではマラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーンの検出も減少している。

わが国を含め各国において、魚介類中での違反事例が多い動物用医薬品の種類は現時点でさほど多くないが、欧米の検査でクリスタルバイオレットの違反が散見されるなど、検出状況は変化していく可能性がある。したがって常に国内外の検出状況を把握していく必要がある。

おわりに

本報告では、魚介類を中心に畜水産食品中の残留動物用医薬品について、わが国及び各国の検出状況等を調査した。わが国及び今回調査した各国における魚介類中の残留動物用医薬品について、違反事例の多くがアジア産魚介類（特にエビ）によるものであった。各国共通して違反が多い物質は、主にニトロフラン類、マラカイトグリーン/ロイコマラカイトグリーン、クロラムフェニコールであった。

魚介類（特にエビ）の輸出量が多いアジアの国における動物用医薬品の規制や使用状況、検出状況に関する情報調査が今後の課題であるが、入手可能な情報源がきわめて限られており、言語の問題も含め現時点では入手が困難であるなどの問題がある。しかし現在、世界各国で養殖魚介類の消費量は増加しており、アジア産魚介類の供給量は今後も増えていくことが予想される。したがって、世界の関係機関から提供される検出状況等のデータを常にチェックしていくことがこれまでも増して重要となろう。

引用文献

- 1) Homepage of the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW), Imported Foods Inspection Service Home Page, "Recent Cases of Violation of the Food Sanitation Law that were Found on the Occasion of Import Notification", (URL:<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>, May 2009)
- 2) EU Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) (URL: http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm, May 2009)
- 3) Commission Staff Working Papers : Commission Staff Working Paper on the Implementation of National Residue Monitoring Plans in the Member States (Council Directive 96/23/EC) (URL:http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/control_en.htm, May 2009)
- 4) Report to Congress, Food and Drug Administration Amendments Act of 2007, Public Law 110-85, Section 1006 – Enhanced Aquaculture and Seafood Inspection

(November 20, 2008)

(URL:<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/Seafood/SeafoodRegulatoryProgram/ucm150954.htm>, May 2009)

- 5) Veterinary Residues Committee Annual Reports
(URL:<http://www.vet-residues-committee.gov.uk/Reports/annual.htm>, May 2009)
- 6) Report on a Survey of Chemical Residues in Domestic and Imported Aquacultured Fish
(URL:<http://www.foodstandards.gov.au/newsroom/publications/surveyofchemicalresi3107.cfm>, May 2009)
- 7) Survey of Chemicals in Imported Seafood (April 2008)
(URL:http://www.daff.gov.au/__data/assets/pdf_file/0020/623225/survey-chem.pdf, May 2009)
- 8) Update on the border testing of imported seafood
Date of Issue: April 2008
(URL:http://www.daff.gov.au/__data/assets/pdf_file/0018/623223/testing-update.pdf, May 2009)
- 9) Imported land-based seafood products given all-clear (1 December 2008)
(URL:<http://www.nzfsa.govt.nz/publications/media-releases/2008/imported-land-based-seafood-release-nov-08.htm>, May 2009)

発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関する研究 (平成18～20年度)

世話人 山口 照 英

I. 事業目的

近年、再生医療や癌の分化誘導療法といった発生・分化・成育と言った生命の基本現象を意図的に制御することにより有用な医薬品を創生する試みが数多く行われる様になり、これまで有効な治療法の無かった疾病への適応も期待され、非常に活発な医薬品開発が進行している。一方、環境ホルモンに代表される様に逆に様々な化学物質が非常に低濃度でこのような発生・分化・成育現象を望ましくない方向に変えてしまうこと知られる様になり、新たな対応が必要となってきた。従って、発生・分化・成育の意図的な制御を目的とした医薬品の有用性や安全性確保においてその機作の分子レベルでの解明や評価法の開発が望まれる一方で、化学物質等の発生・分化・成育への望ましくない作用を適切に評価することや有用な評価法の開発が、毒性回避や望ましくない作用をできる限り低減化するために必要とされている。一方、発生・分化・成育の意図的な制御や化学物質等による望ましくない作用にせよ、その作用発現は転写制御やシグナル伝達、あるいは細胞外での情報伝達等を介する場合など様々な作用点から誘起されると考えられている。本研究においては、発生・分化・成育を制御することを目的とした、あるいはこれらを制御する作用を有する医薬品および化学物質等の評価法開発を目的として、その作用機序の解明も含めて総合的に研究を実施した。

II. 事業概要

発生・分化・成育を制御する医薬品や有用物質、あるいは望ましくない作用を有する化学物質等を取り上げ、その作用機序を分子レベルで明らかにすると共に、それぞれの医薬品や化学物質のターゲット分子の解明を目指した。本研究により、発生・分化・成育の影響を与える医薬品や化学物質の作用機作について分子レベルでの解明が進んだことにより、医薬品や化学物質のより適切な品質・安全性評価手法開発が進むとともに新規医薬品開発のシーズ提供にもつながったと考えられる。事業は所内12部（遺伝子細胞医薬部、医薬安全科学部、環境衛生化学部、機能生化学部、食品部、生物薬品部、代謝生化学部、毒性部、病理部、薬理部、有機化学部、療薬部）が分担して遂行した。

なお、動物実験は、動物実験指針等を遵守し、動物福祉・愛護の精神に基づいて実施した。また、ヒト由来の生体試料を用いる場合は、試料提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに採取された試料を使用するとともに、研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得た上で研究を実施した。

III. 分担研究

(1) 心筋の肥大および線維化を規定する因子の解明

遺伝子細胞医薬部 佐藤陽治・鈴木和博

1-1 研究要旨：心不全の一因とされている心筋の病的線維化の発症に心筋細胞から放出されるヌクレオチド、心筋細胞のP2Y6受容体、およびG蛋白質アイソフォームGα12/13が関与することを、トランスジェニックマウス等を用いて明らかにした。

1-2 研究目的：圧付加心肥大に付随して発生する心筋線維化に、G蛋白質アイソフォームGα12/13が仲介する細胞情報伝達経路が関与するという仮説を検証すると同時に、情報伝達経路の詳細を解明する。

1-3 研究方法：Gα12/13阻害ペプチド (p115RGS) を過剰発現した培養ラット心筋細胞もしくはp115RGSを心筋細胞特異的に過剰発現したトランスジェニックマウス (p115-Tg) の心筋に機械的負荷を課し、心筋細胞肥大および心筋線維化を検討した。また、Gα12/13の関与する情報伝達経路の各種阻害剤を用い、肥大および線維化に寄与する因子を同定した。

1-4 研究成果：大動脈狭窄による圧負荷によりp115-Tgマウスは野性型と同程度の心肥大を示したものの、心筋線維化は抑制されていた。p115RGSを過剰発現した培養ラット心筋細胞に機械的進展を加えたところ、ATPおよびUDPの放出が確認され、ヘミチャネル阻害剤およびP2Y6受容体阻害剤によりRhoの活性化および線維化促進因子 (CTGF, Periostin, TGFβ) の発現が阻害された。進展刺激による細胞外へのヌクレオチド放出は、ヘミチャネルの一種パネキシンのRNAiにより抑制された。

1-5 考察：心筋への圧負荷においては、機械的進展刺激により心筋細胞からパネキシンを通じてヌクレオチド放出され、細胞外からP2Y6受容体に作用し、線維化促進因子の心筋細胞における発現を促進することにより、心

筋線維化が亢進することが示唆された。また、Gal12/13の阻害剤は心筋の異常なモデリングの予防薬となりうると考えられた。

(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

医薬安全科学部 長谷川隆一・頭金正博・黒瀬光一

2-1 研究要旨：アフリカツメガエルの初期胚をモデルとして、ビスフェノールAを暴露した際の形態形成異常および遺伝子発現に及ぼす影響を調べたところ、神経胚後期から尾芽胚後期にかけて、脳やせき髄などの中枢神経系を形成する細胞で、多数のアポトーシス細胞が検出された。また、遺伝子発現をマイクロアレイで分析したところ、エストラジオール暴露とは異なった変動パターンが観察された。

2-2 研究目的：個体形成に重要な時期である発生初期における化学物質の影響を調べるため、アフリカツメガエルの初期胚をモデルとして、ビスフェノールAを暴露した際の形態形成異常および遺伝子発現に及ぼす影響を調べた。

2-3 研究方法：アフリカツメガエルの桑実胚に種々の濃度のビスフェノールAを暴露し、形態形成を観察するとともに、マイクロアレイを用いて9,600種類の遺伝子の発現に対する影響を調べた。

2-4-1 研究成果①発生初期の形態形成に及ぼすビスフェノールAの影響：20 μMのビスフェノールAを暴露した初期胚では、神経胚後期から尾芽胚後期にかけて、脳やせき髄などの中枢神経系を形成する細胞で、多数のアポトーシス細胞が検出された(表1)。一方、類似の形態異常をおこす10 μMのエストラジオールを暴露した初期胚ではアポトーシスを起こした細胞は観察されなかった。

表1 各発生段階における非暴露胚とビスフェノールA暴露胚の生存比率

	胚の個数	神経胚まで	尾芽胚中期まで	尾芽胚後期まで
非暴露胚	274	92.3%	92.3%	91.6%
10 μM BPA	269	94.1%	94.1%	93.7%
20 μM BPA	268	92.5%	92.5%	89.6%

2-4-2 研究成果②発生初期の遺伝子発現に及ぼすビスフェノールAの影響：ビスフェノールAを暴露した尾芽胚中期の胚での9,600種類の遺伝子の発現を測定したところ、ビスフェノールA暴露胚と被暴露胚を比べて発現量に変化が見られた遺伝子は、10 μMで344種類、20 μMで281種類あり、形態異常を起こさなかった10 μMビスフェノールA暴露胚でも遺伝子レベルでは変化が見られた(表2)。一方、10 μMのエストラジオールを暴露した初期胚で発現量が変動した遺伝子群を、ビスフェノールA暴露群と比較すると、共通の遺伝子はあまり見られなかった。

表2(A) ビスフェノールA暴露で変動した遺伝子群(のう胚および尾芽胚由来遺伝子 3840個)

シグナル強度変動幅(倍数)	10 μM	20 μM
-3以下	0	0
-3 ~ -2	5	9
2 ~ 3	31	19
3以上	0	0

表2(B) ビスフェノールA暴露で変動した遺伝子群(母性由来遺伝子 5760個)

シグナル強度変動幅(倍数)	10 μM	20 μM
-3以下	0	0
-3 ~ -2	49	49
2 ~ 3	251	182
3以上	8	22

2-5 考察：ビスフェノールAはエストロゲン様作用を示す内分泌攪乱物質であると考えられているが、アフリカツメガエルをモデル動物とした初期胚への影響を、形態形成および遺伝子発現を指標として比較するとビスフェノールAとエストラジオールでは共通性は少なく、ビスフェノールAの作用機構はエストラジオールとは異なることが示唆された。また、遺伝子発現を指標にした場合、形態形成よりも低濃度で発生の異常を検出できることが明らかになった。

(3) 医薬品類の塩素処理生成物の健康影響評価

環境衛生化学部 西村哲司・清水久美子

3-1 研究要旨：環境水中から検出される頻度が比較的高い医薬品有効成分原体12種を選択し、塩素反応後の生成物を抽出し、心筋細胞分化に対する影響を検討した。

未分化ES細胞に対する細胞毒性発現EC20に相当する濃度で分化0日目～7日目まで曝露した結果、エリスロマイシン、フェノフィブレートおよびクロロテトラサイクリンの塩素処理生成物は分化誘導を遅延する可能性が、メフェナム酸は細胞毒性が低いにも拘らず分化誘導に影響を及ぼす可能性が示唆された。その他の8物質は影響を及ぼさないと考えられた。

3-2 研究目的：ほとんどの医薬品類は、疾患治療のために処方使用された後、生体を通り排泄されて環境水中に放出される。したがって、生理活性を有する原体も排泄されることが知られており、環境中に存在する調査結果が報告されている。また、環境水中では、光や温度などの物理化学的な要因による酸化、還元、加水分解、光分解の他、微生物による代謝などを受け、医薬品としての有効成分は原体とは異なった様々な反応生成物が生成していることが推測される。一方、環境水中に存在する医

薬品の有効成分原体は、下水処理や浄水処理工程で塩素処理を受けることがある。これらの医薬品有効成分原体の塩素反応における挙動や、生物に対する影響に関しては情報がほとんどない。本研究では、環境水中から検出される頻度が比較的高い医薬品有効成分原体12種を選択し、塩素反応後の生成物を抽出し、生物に対する影響を検討した。

3-3 研究方法：

3-3-1 試薬：①エリスロマイシン（和光純薬工業（株））、②メフェナム酸⁽¹⁾、③ベザフィブラート（アルドリッチシグマ社）、④フェノフィブラート（アルドリッチシグマ社）、⑤パロキセチン（TRC社）、⑥テトラサイクリン（MP Biochemical社）、⑦トリクロサン（CALBIOCHEM社）、⑧ロキスロマイシン（和光純薬工業（株））、⑨ジクロフェナック（アルドリッチシグマ社）、⑩クロロテトラサイクリン（関東化学（株））、⑪オキシテトラサイクリン（和光純薬工業（株））、⑫フルロキサミン（TOCRIS社）の、市販されている試薬純度の製品を使用した。

3-3-2 標準溶液：メチルアルコールで500 μ g/mL溶液を調整し、使用時まで-20 $^{\circ}$ Cに保存した。

塩素処理反応：10mMリン酸水溶液（pH7.0）500mLに対し、1000 μ Lの500 μ g/mLのメチルアルコール標準溶液を添加し、室温で10分間攪拌した。さらに、初期遊離塩素濃度が1mg/Lになるように次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加し、室温で2時間攪拌して、塩素反応させた。

3-3-3 塩素反応生成物の抽出：塩素反応終了後、10mg/mlのアスコルビン酸ナトリウム溶液を250 μ L添加し、残留塩素を除去した。20%硝酸水溶液を適量加え、pH値を2に調整した後、ジクロロメタン5mL、メチルアルコール5mLおよび精製水5mLを順次通した固相カートリッジ Oasis HLBに、10mL/分の流速で通水した。固相カートリッジは、精製水を20mL通水した後、空気を5分間およ

び窒素を5分間、順次通気して乾燥した。固相カートリッジにジクロロメタン5mLを通して、吸着成分を溶出した。溶出溶液は、減圧濃縮により乾固し、ジメチルスルホキシド（DMSO）で1mLに定容し、試験溶液とした。

3-3-4 培養細胞の準備：細胞は、マウス幹細胞(ES細胞)とヒト肝がん由来樹立細胞(HepG2細胞)を用いた。ES細胞では、0.1% Gelatinを予めコーティングした96well white plate 6枚にマウス線維芽細胞を 1×10^5 cells/ml、0.2ml/wellを植え、2時間後に線維芽細胞が接着したことを確認後、ES細胞を 1×10^5 cells/ml、0.2ml/wellを植え、24時間培養した。HepG2細胞では、96well white plate 6枚に 1×10^5 cells/ml、0.2ml/wellを植え、24時間培養した。

3-3-5 塩素反応生成物の細胞への曝露：12種の抽出されたDMSO溶液を100%として、DMSOで等倍段階希釈を行ない、0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625%のDMSO溶液を調整した。24時間培養した細胞を0.5% FCS medium, 0.2ml/wellで培地交換し、段階希釈したDMSO溶液をn=3で1 μ L/well添加し、37 $^{\circ}$ C CO₂インキュベータ内で24時間及び48時間曝露した。

3-4 研究成果：塩素反応生成物を曝露したマウスES未分化細胞について、CellTiter-Glo[®] Luminescent Cell Viability Assay kit (Promega) およびLDH Cytotoxicity Detection Kit (TaKaRa)を用いて、添付されたプロトコールに従って細胞毒性に対する影響を調べた。現時点では、塩素反応生成物の分析用標準物質が入手できないため、定量的な評価はできないが、12種の塩素反応生成物は、細胞毒性が強く出る傾向が見られた。20～30%の細胞毒性が見られた濃度を、原体と塩素反応生成物の抽出効率がおおよそ同等と仮定して求めると、トリクロサン塩素処理抽出生成物の6.25ng/mL相当（以下）からメフェナム酸とジクロフェナックの12.5 μ g/mL相当（以下）であった（表3）。これらの医薬品成分の環境中実態濃度の測定結果では、1 μ g/L以上の濃度が検出されることはほ

表3 医薬品塩素処理生成物のマウスES細胞に対する毒性および心筋細胞分化誘導に及ぼす影響

Compounds	Roughly EC20-30 (g/mL)	Fluorescence Detection	
		7 days	11 days
Erythromycin	0.25	—	±
Mefenamic acid	12.5	—	—
Bezafibrate	0.4	±	±
Fenofibrate	2.5	—	±
Paroxetine Hydrochloride	0.05	±	±
Tetracycline Free base	0.4	±	±
Triclosan	0.0625	±	±
Roxithromycin	1	±	±
Diclofenac sodium salt	12.5	±	±
Chlorotetracycline Hydrochloride	1.5	—	±
Oxytetracycline Hydrochloride	0.75	±	±
Fluvoxamine malate	0.0375	±	±

±: 蛍光タンパク質の限られた発現

-: 蛍光タンパク質が発現認められない

ほとんど無いことから、20～30%の細胞毒性が見られた濃度の塩素反応生成物が環境水中に存在する可能性は低いと考えられた。また、ヒト肝がん由来HepG2細胞に対する細胞毒性を調べた結果、マウスES未分化細胞に比べ毒性が強く出る傾向が認められた。パロキセチン、トリクロサン、フルロキサミンは、両細胞に対し細胞毒性が強くでており、環境中の挙動に注意を払う必要があると考えられる。

ここで求められた濃度を用いて、我々が確立したマウスの心筋分化誘導評価系で分化過程に及ぼす影響を検討した。マウスの心筋分化誘導評価系は、蛍光タンパクを発現するベクター pZs Green 1-1に心筋分化特異的発現遺伝子であるGATA-4遺伝子のプロモーター領域を導入したプラスミドを構築し、そのプラスミドを形質導入したES細胞を心筋細胞に分化誘導させて誘導される蛍光タンパク質を指標として、曝露した化学物質の影響を評価するスクリーニング系である。各々の塩素反応生成抽出物を、細胞毒性発現EC20に相当する濃度で、分化0日目～7日目まで曝露して心筋系に分化させた。分化後、7日目と11日目の細胞のGATA-4の発現を顕微鏡にて観察した。溶媒対照では、7日目から蛍光タンパク質の誘導が認められたが、エリスロマイシン、メフェナム酸、フェノフィレートおよびクロロテトラサイクリンを曝露した分化細胞では誘導が認められなかった。その他9物質では誘導が見られたが、GATA-4の発現が抑制される傾向にあった。11物質の曝露では11日後に誘導発現が見られたが、メフェナム酸は細胞毒性が低いにもかかわらず、11日目においても認められなかった。

3-5 考察：本研究で検討した12医薬品成分の塩素反応生成物の中で、メフェナム酸は細胞毒性が低いにもかかわらず、心筋細胞分化指標遺伝子であるGATA-4の誘導が認められなかった。この結果は、メフェナム酸の塩素反応生成物は心筋分化に影響を及ぼす可能性を示唆している。しかし、本研究で用いた塩素反応生成物は固相抽出混合物であり、正確な定量ができていないことから、影響を及ぼす物質の同定および影響濃度等、さらに詳細な検討を行うことが必要である。

また、本研究で使用したマウスの心筋分化誘導評価系は、種々の化学物質が心筋へ分化誘導する過程に及ぼす影響を評価するために有効な手法であり、化学物質のスクリーニング法としての適用が期待される。

(4) 粘膜免疫および神経免疫系相互作用の機序解析

代謝生化学部 手島玲子・中村亮介

4-1 研究要旨：粘膜免疫に関係して腸管上皮細胞中 $\gamma\delta$ Tリンパ球の経口免疫寛容への影響を、 $\gamma\delta$ Tリンパ球の発現の抑えられているW/W^mマウスに野生型マウスの骨髄

細胞を移植する再構成実験より確認した。また、神経免疫系相互作用に関連して、神経細胞とマスト細胞の共存培養実験からマスト細胞から産生されるATPが神経の活性化に関与すること、ATP受容体拮抗薬により抑制されることを確認した。

4-2 研究目的：食物アレルギーの経口感作における寛容のメカニズムを知る目的で腸管上皮細胞中 $\gamma\delta$ Tリンパ球の役割の解析を行う。また、神経系と免疫系の相互作用に関与する制御因子の解析を神経系細胞とマスト細胞の共存培養系を用いて検討する。

4-3 研究方法：c-kit遺伝子に変異を持つために $\gamma\delta$ Tリンパ球の発現の抑えられているWBB6F1-W/W^m(W/W^m)マウスに野生型(C57BL/6)マウスの骨髄細胞を移植し、5ヶ月後に腸管上皮細胞中 $\gamma\delta$ Tリンパ球の再構成を確認し、卵白アルブミン経口感作実験を行い、再構成前のW/W^mマウスの感作能との比較を行った。また、頸上神経節(superior cervical ganglia (SCG))由来神経細胞とマスト細胞の共存培養系を用いて、相互作用へのATPの影響を検討した。

4-4 研究成果： $\gamma\delta$ Tリンパ球を再構成したW/W^mマウスにおいて卵白アルブミン経口感作によるIgG1抗体産生が抑えられ、経口免疫寛容が再構成前のW/W^mマウスに比べ大きく誘導されることから、 $\gamma\delta$ Tリンパ球が経口免疫寛容に重要な役割を担うこと、また、 $\gamma\delta$ Tリンパ球はc-kit陽性骨髄細胞のSCFによる分化により形成されることが示された。神経細胞とマスト細胞の共存培養実験からマスト細胞から産生されるATPが神経の活性化に関与すること、ATP受容体拮抗薬及びATP加水分解酵素により抑制されることを確認した。

4-5 考察：腸管上皮細胞中 $\gamma\delta$ Tリンパ球は、CD8陽性リンパ球であり、細胞から産生されるサイトカインを介して経口免疫寛容を成立させる役割を担っているものと考えられた。また、神経細胞とマスト細胞の共存培養実験からは、神経系細胞から産生されるサブスタンスP等の神経伝達物質ばかりでなくマスト細胞から産生されるATPも神経・マスト細胞の相互作用に関与していることが示された。

(5) 化学形に依存したヒ素の発生・分化に対する影響

食品部 長岡(浜野) 恵

5-1 研究要旨：化学形に依存したヒ素の発生・分化に対する影響を検討するために、水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法(HG-CT-AAS法)によるヒ素の化学形別定量法を確立した。

5-2 研究目的：ヒ素の代謝経路について含硫化合物との相互作用を含む系が報告されつつあり、近い将来、代謝マップが新しいものに塗り替えられる可能性がある。そ

ここでヒ素代謝をさらに明らかにするため、まずヒ素の形態別分析法の確立を検討した。

5-3 研究方法：ヒ素の分別定量には水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法（HG-CT-AAS法）を用いた。形態別ヒ素分離システム：島津ASA-2sp, 原子吸光分光光度計：サーモエレメンタルSOLAAR M5。

5-4 研究成果：無機ヒ素、モノメチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸、トリメチルアルシンオキシドの4種のヒ素化合物の分別定量を、水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法（HG-CT-AAS法）を用いて行うための最適な分析条件を確立した。

5-5 考察：ヒ素代謝についてはこれまでメチル化機構の代謝経路が確立され、長年信じられてきたが、含硫化合物との相互作用を含む新しい代謝経路についての報告がなされつつある。含硫化合物との関連について、今後、HPLC/HR-ICP-MS法を用いた研究が必要と考えられた。

(6) AC133陽性細胞由来early EPCの分化に対するThrombopoietinの促進効果に関する研究

生物薬品部 豊田淑江・石井明子・山口照英

6-1 研究要旨：血管内皮前駆細胞（EPC: Endothelial Progenitor Cells）の中でも細胞・組織加工医薬品として有用性が高いと期待されるearly EPCに着目し、AC133陽性の幹細胞画分からearly EPCを効率よく誘導する方法の開発を試みた。Early EPCの分化に対するstatin類等の各種医薬品や生理活性物質の影響を評価したところ、Thrombopoietin（TPO）がearly EPCの分化促進活性を持つことを見出すことができ、TPOを用いてearly EPCの誘導効率を改善することができた。また、TPOのシグナル伝達が血管内皮細胞増殖因子VEGFとは異なること、TPOとVEGFが相乗的に作用することを明らかにした。

6-2 研究目的：現在、虚血性心疾患や下肢虚血疾患などの重症虚血性疾患患者に対して、血管内皮前駆細胞の起源細胞を含む骨髄あるいは末梢血由来単核球を虚血部位に移植するという血管再生療法が臨床研究や先進医療として実施されている。しかし、多様な細胞を含む単核球画分を投与することにより有害作用が生じる可能性も懸念されることから、有効成分である血管内皮前駆細胞のみをex vivoで調製し、一定の品質・有効性・安全性が確保された細胞・組織医薬品として提供することにより、血管再生療法の有効性・安全性を向上させることが望まれている。本研究では、血管新生に関わるサイトカイン類を放出することから細胞・組織加工医薬品として有用性が高いと期待されるearly EPCに着目し、early EPCの分化誘導を促進する方法の探索を行った。

6-3 研究方法：末梢血より分離したパフィーコートあるいは臍帯血を2mM EDTAを含むPBS(-)で2倍希釈し、

Lymphoprep tubeを用いた遠心法により単核球を分離した。分離した単核球を抗AC133抗体-マイクロビーズと4℃で30分反応させ、Auto MACS (Milteny Biotec)を用いてAC133陽性細胞を分離した。AC133陽性細胞は20%ウシ胎児血清(FBS), 50 ng/ml VEGF, 50 ng/ml TPO, を含むEBM-2培地に浮遊させ培養した。なお、末梢血パフィーコートは埼玉赤十字血液センターより、臍帯血は東京赤十字血液センター臍帯血バンクより提供された。

6-4 研究成果：我々はこれまで、ヒト末梢血あるいは臍帯血から分画したAC133陽性細胞からearly EPCを分化誘導する系を確立し、AC133陽性細胞に由来するCD31強陽性細胞が高活性なearly EPCであることを報告してきた (Kanayasu-Toyoda et al. J. Cell. Physiol. 195, 19, 2003)。本研究において、*in vitro*でearly EPCを分化誘導する物質を探索した結果、TPOがAC133陽性細胞から分化するCD31強陽性early EPCを増加させることを見出すことができた。

1) AC133陽性細胞由来EPCの誘導系におけるTPOの効果

AC133陽性細胞にVEGFのみを添加、あるいは、VEGFとTPOの両者を添加してfibronectinプレート上で2週間培養したところ、VEGF単独群に比して、VEGF+TPO添加群でKDR陽性、eNOS陽性の接着した細胞が増加した。フローサイトメトリーによる解析で、TPOの添加によりCD31強陽性細胞が0.51%から2.80%に増加していたことから、TPOがAC133陽性細胞からearly EPCへの分化増殖を促進することが明らかとなった。

上記の検討では対照群にVEGFを添加し、VEGFにTPOを加えて比較したが、次にTPO単独の効果を検討した。AC133陽性細胞にVEGFを加えて一週間培養すると細胞総数 (Fig. 1a) は対照群と比べて増加しなかったが、CD31強陽性細胞の割合は約1.5倍とわずかではあるが上昇しており (Fig. 1b), CD31強陽性細胞数 (Fig. 1c) は

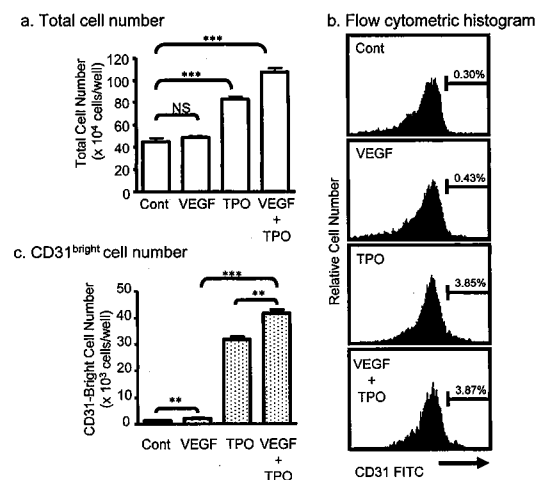


Fig. 1 Effects of TPO and VEGF on induction of CD31^{bright} early EPC.

対照群に比べて有意に増加していた。一方、TPOを加えて培養すると、細胞総数は約2倍増加 (Fig. 1a) し、CD31強陽性細胞の割合は約13倍近く上昇しており (Fig. 1b)、CD31強陽性細胞数 (Fig. 1c) は20倍以上の増加が観察された。また、VEGFとTPOを同時に添加すると細胞総数がさらに増加し、CD31強陽性細胞数は相乗的に増加していた (Fig. 1c)。

2) TPOの情報伝達経路

培養開始3日後の細胞を用い、AC133陽性細胞におけるTPOの情報伝達経路について検討した。Fig. 2に示すように、PI3K/Akt経路の活性化に重要なAktの473番目のセリンのリン酸化がTPO刺激後15分で観察された。次に、TPOあるいはVEGFで刺激15分後のPI3K/Akt経路とJAK/STAT経路の活性化を比較したところ、Aktの473番目のセリンのリン酸化はVEGFよりTPOの方が強く、両者で細胞を同時に刺激するとさらに強いリン酸化が検出された。Aktのセリンリン酸化に対して観察されたVEGFとTPOの相乗効果は、early EPC誘導において相乗効果が見られたことと一致した現象である。一方、STAT3の705番目のチロシンのリン酸化はTPOで刺激した時のみ観察された。PI3Kをその阻害剤であるワートマニンで抑制すると、early EPCの産生は有意に減少したが、その阻害が完全でなく部分的であったことから、EPC産生促進にはPI3K/Akt経路とJAK/STAT経路の両経路の活性化が重要と考えられた。また、TPOがVEGFより強いearly EPC産生促進作用をもつのはTPO単独で両経路の活性化ができることが一因であると考えられた。

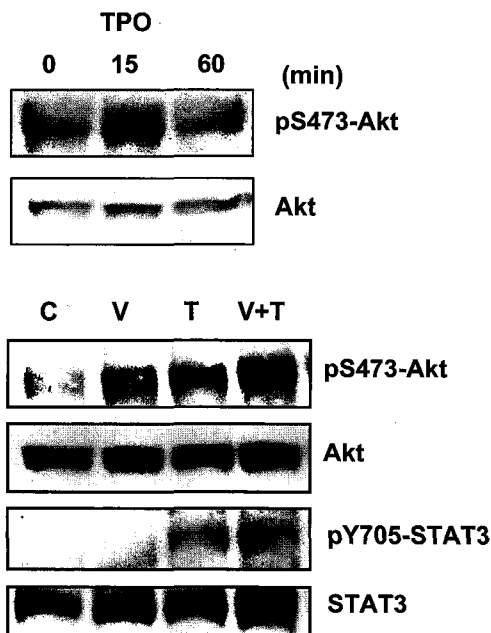


Fig. 2 TPO-induced signal transduction in AC133⁺ cells.

6-5 考察：血管内皮前駆細胞にはearly EPC とOutgrowth Endothelial Cells (OEC)という少なくとも2つのタイプがあることが知られている。early EPCは血管形成に関与するサイトカイン等を放出することにより、OECは自身が新生血管に取り込まれることにより、それぞれ血管形成に寄与すると考えられていることから、両者を併用することにより、より高い血管再生効果が期待できる。OECが増殖性の高い細胞であるのに対して、early EPCは増殖性が低く、実用化に向けては細胞調製法の確立が最大の課題である。本研究の成果は、early EPCの臨床応用に向けた有用な知見であると考えられる。

(7) 破骨細胞および脂肪細胞の分化と機能発現に関する研究

機能生化学部 安達玲子・鈴木和博・手島玲子・最上(西巻)知子

慶應義塾大学 櫻井智子・笠原忠

7-1 研究要旨：造血幹細胞より分化し骨代謝系において重要な役割を担う破骨細胞について、その分化及び機能発現において細胞骨格系の一つである中間径フィラメント (ビメンチンフィラメント) が重要な役割を果たすことを示した。また、脂肪前駆細胞を用い、 β 3アドレナリン受容体 (β 3-AdR) 発現影響評価の方法を検討した。

7-2 研究目的：①造血幹細胞より分化し骨代謝系において重要な役割を担う破骨細胞について、その分化及び機能発現における中間径フィラメント (ビメンチンフィラメント) の役割について解析する。②白色脂肪での β 3アドレナリン受容体 (β 3-AdR) 発現とその制御について、培養細胞を用いた解析方法を検討する。

7-3 研究方法：マウスマクロファージ系RAW264.7細胞に、破骨細胞の分化において重要なサイトカインであるReceptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) を添加して3日間培養し、破骨細胞に分化させた。ビメンチン及びアクチンの分布は蛍光標識抗体を用いて観察した。破骨細胞活性はOAASプレートを用いたPit formation assayにより測定した。3T3-L1脂肪前駆細胞を脂肪細胞へと分化誘導する際に薬物処理し、 β 3-AdR mRNA発現への影響を調べた。

7-4 研究成果：①RAW264.7細胞の破骨細胞への分化に伴い、中間径フィラメントを形成するビメンチンの発現が増大することを示した。また、siRNAによりビメンチン発現量を低下させた細胞では、分化後の破骨細胞において重要なアクチン細胞骨格の分布に異常が生じること、細胞が通常よりも大きく広がった形態をとること、骨吸収活性が低下することを示した。②3T3-L1細胞の分化と薬物処理のタイミングが β 3-AdR mRNA発現に及ぼす影響を解析し、 β 3-AdR mRNA発現は分化とともに上

昇することを見いだした。

7-5 考察：①中間径フィラメントであるビメンチンフィラメントは、破骨細胞分化の際、アクチン細胞骨格と相互作用しつつ、その形態維持、さらに機能発現において重要な役割を果たしているものと考えられる。②β3-AdR mRNA発現は3T3-L1細胞の分化と関連しており、分化効率に影響する薬物は、分化誘導時に処理すると評価が困難になることが判明した。

(8) 分子メカニズムに支えられた発生毒性評価系の開発

毒性部 菅野純・北嶋聡

8-1 研究要旨：3年間を通じ、遺伝子発現変動に立脚した高精度な発生毒性評価系の開発・確立を目的として、1) 無処置野生型マウス・全胚における遺伝子発現変動の経時データベースの作成[マウス胎生6.25-9.75日]、2) 催奇形性モデル物質を経胎盤投与した際のマウス胚における本手法の適用と解析、加えて3) *in vitro*の系を導入し、無処置野生型ES細胞を用いた胚様体(EB)形成における遺伝子発現変動の経時データベースの作成 [EB形成0-7日]の以上3点につき検討した。1)、3)の経時データベースは取得でき、2)については、分子標的物質が影響する想定外のシグナルカスケード、あるいは不明であった標的分子を見いだした可能性が示唆されるなど、化学物質の安全性評価上、意義深い知見が得られており、本解析手法の基本的な部分は確立されたものと考えられた。

8-2 研究目的：本研究の目的は、医薬品をはじめとする化学物質暴露時の安全性確保の観点から、遺伝子発現変動に立脚した高精度な発生毒性評価系を開発・確立することにある。げっ歯類という実験動物を用いた本研究の成果を通して、ヒトにおける発生毒性評価を、より正確に予測することができるものと期待される。

8-3 研究方法：マウスは、C57BL/6CrSlcを実験に用い、経時的にサンプリングした各ステージのマウス胚を1腹分プールしたRNAサンプルを用い、マイクロアレイ[Affymetrix GeneChip MOE430v2] (約45,000プローブセット)を用いて、網羅的遺伝子発現変動解析を検討した。胚性幹(ES)細胞はTT2を使用し、ES細胞の分化はLIF非存在下で2日間天井培養し(day2)、その後得られた胚様体(EB)を浮遊培養することによりおこなった。EBは、180個～60個(分化日数によって異なる)をプールして1サンプルとし、直接、1%の2-メルカプトエタノール含有RLTバッファーに変性・溶解させた。

催奇形性モデル物質はサイクロパミンとサリドマイドを選択した。化学物質の投与に際しては、投与経路は、妊娠マウスへの強制経口投与とし、投与容量は10 (ml/kg)、溶媒は0.5%メチルセルロースあるいはコーンオイルとし、懸濁にはメノウ鉢を使用した。用量設定実験結

果を基に投与用量を決定した。サイクロパミンは、ユリ科パイケイソウ属植物由来のアルカロイドで、妊娠羊から産まれた仔羊が単眼症を示し、*in vitro*実験にて、神経管発生等に関与するShhシグナル関連分子Smo分子を阻害することが報告された化学物質である。したがって、標的分子が一応明らかな催奇形性モデル物質である。サリドマイドは、げっ歯類で催奇形性を示さないがヒトで示し、標的分子が不明な化学物質である。

Whole mount ISHは、ジゴキシゲニンでラベルしたdNTPを用いて作製したRNAプローブを用いて、固定後プロテナーゼK処理したマウス胚とハイブリダイゼーションをおこない、検出は抗ジゴキシゲニン抗体、発色はBM purpleでおこなった。

8-4 研究成果：①無処置野生型マウス・全胚につき、胎生6.25日から9.75日まで(0.25日毎)、計12点のtime pointにつき、マウス胚1匹あたりのgenomic DNA量、total RNA量の算出、ならびにGeneChip1枚あたりに必要な胚数を算出の後、遺伝子発現変動の経時データを取得した。Shhシグナルカスケードに直接関係する各遺伝子の発現の経時変化を解析し、それぞれ同様な発現パターンを示すことが明らかとなった。②妊娠7.25日の妊娠動物にサイクロパミン(0, 30 mg/kg)を単回経口投与し、投与2, 8, 24時間後の胚RNAサンプルにつき、遺伝子発現変動解析を検討した。標的分子と考えられSmoならびにShhシグナル関連遺伝子につき検討したところ、対照群と投与群とで有意な変化が認められなかった。網羅的に遺伝子発現変動解析を検討した結果、コレステロール生合成に関わる遺伝子群の発現変動が見いだされた。妊娠7.25日の妊娠動物にサリドマイド(0, 1,000 mg/kg)を単回経口投与し、投与2, 8, 24時間後の胚RNAサンプルにつき網羅的遺伝子発現変動解析を検討し、その結果、当該分子の遺伝子欠失マウス胚のサリドマイド誘発奇形と同様な肢部での形成異常の報告がある遺伝子の発現減少が見いだされた。③無処置野生型ES細胞を用いた、EBにおける遺伝子発現変動の経時データベース [EB形成0-7日] (TIME POINT: 14点)を取得した。BrachyuryやCardiac actinなど、いくつかの分化マーカーについて、すでに取得済みのマウス無処置野生型胚のデータベースと比較し、両データベース間で同様な発現パターンを示すことが明らかとなった。

8-5 考察：①取得した、無処置野生型マウス・全胚の遺伝子発現変動の経時データは、化学物質暴露実験時の対照として有益となるだけでなく、非投与時でも、発生に関与する遺伝子群が激しく経時的に変化することから、特定のシグナルカスケードを描出できる可能性が示唆された。加えて、ある遺伝子の発現に関し、時間1点における観察だけでは、発現ピークの変化なのか位相のシフ

トなのか、あるいは両者複合なのか不明となり、化学物質影響下での比較のためには、用量依存性ととも経時変化を検討する必要があることが示唆された。②サイクロパミンあるいはサリドマイド投与の際の解析結果は、分子標的物質が影響する想定外のシグナルカスケード、あるいは不明であった標的分子を見いだした可能性を示唆しており、本解析手法が高精度な発生毒性評価系として有用であると同時に、化学物質の安全性評価上、意義深いものと考えられた。③ES分化系であるEBを用いる実験系は、*in vitro* 実験として有用であるだけでなく、より早期の胚の代替となり得ることからも有用なるものと考えられた。具体的には、マウス胚のサンプリングは、着床前後の胎生3.5日～5.5日まで困難であるが、マウス胎生3.5日の胚盤胞の内細胞塊由来のES細胞を分化させるEBは、この時期を補完できるためである。

以上のことから、本解析手法の基本的な部分は確立されたものと考えられた。

(9) ラット大腸発がん過程に出現する分化異常の発生機構と大腸発がん物質検出への応用

病理部 広瀬雅雄・西川秋佳・今井俊夫・吉田緑

9-1 研究要旨：ラット大腸中期発がんモデルにおいて出現する分化異常を呈するベータカテニン陽性の小腸上皮類似細胞は、大腸がんの前がん病変であると考えられた。またこのモデルを用いた結果、スルファサラジンは大腸発がん促進作用を有し、その機序に炎症の増強の関与が示唆された。

9-2 研究目的：ラット大腸発がん過程において小腸類似の分化異常を呈する細胞が出現するが、この分化異常と大腸発がんとの関連性を明らかにし、この分化異常が大腸発がん物質の短期検出のエンドポイントとなりうるかを検討する。

9-3 研究方法：ラットに大腸発がん物質であるジメチルヒドラジン処置後、大腸炎発生物質であるデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)を投与するラット大腸中期発がんモデルを応用してスルファサラジンの発がん修飾作用を検索した。

9-4 研究成果：ラット大腸中期発がんモデルでは、パネート細胞を有する小腸上皮類似の上皮が出現し、ベータカテニン陽性であった。このモデルを応用した結果、スルファサラジンは発がん促進作用を示し、免疫組織化学、RT-PCR法の結果よりiNOS関連の遺伝子および蛋白が上昇した。

9-5 考察：ラット大腸中期発がんモデルで出現するパネート細胞を有する小腸上皮類似の上皮は、ベータカテニン陽性を示すことから前がん病変であると考えられた。また、このモデルを応用した結果、スルファサラジ

ンは大腸発がん促進作用を示し、その機序にはiNOS関連の遺伝子および蛋白の上昇が関与していると考えられた。

(10) ラット海馬アストロサイトにおけるfluoxetineのBDNF産生とadenosineの増強作用

薬理部 大久保聡子

10-1 研究要旨：ラット初代培養海馬アストロサイトの有するbrain-derived neurotrophic factor (BDNF)産生能に与える影響について、SSRI型抗うつ薬fluoxetine (FLX)及びATPおよびその代謝物adenosineの作用を検討した。その結果、FLXはアストロサイトからのBDNF産生を促し、その作用はadenosine共存下さらに増強した。

10-2 研究目的：抗うつ薬の作用機序については「モノアミン仮説」を中心に進められてきたが、薬理作用と臨床効果発現の時間依存性の矛盾が指摘され、実際の抗うつ薬の作用機序は未解明のままである。近年、抗うつ薬はニューロンやグリア細胞の一種であるアストロサイトにおいて神経栄養因子であるBDNFを増加させることが知られており、抗うつ薬の新たな作用機序としてBDNFを介した神経新生が注目されている。一方、ATPは恒常的にアストロサイトから遊離される“グリア伝達物質”として、P2受容体を介し中枢神経系機能の制御を担う他、遊離後は速やかにadenosineまで分解され、adenosine受容体を介した機能制御を行う。アストロサイトはBDNFなど様々な神経栄養因子を放出してニューロンの機能を維持すると考えられているが、常にアストロサイトから放出され細胞周囲に存在すると考えられるATPまたはその代謝物adenosineの神経栄養因子放出に対する役割は未だ明らかでない。そこで本研究では、アストロサイトのBDNF産生に着目し、これに対する抗うつ薬FLXの効果とATP/adenosineの修飾作用について実験を行った。

10-3 研究方法：実験には生後1日目のラットより調製した海馬アストロサイト初代培養細胞を用いた。BDNF mRNA量は定量的real-time RT-PCR法、また海馬アストロサイトに発現するadenosine受容体の発現はRT-PCR法を用いて検討した。リン酸化CREB (cAMP response element-binding protein)の検出にはウエスタンブロット法を用いた。

10-4 研究成果：ATPおよびその代謝産物であるADP、AMP、adenosineの中で、adenosineが最も強くBDNF mRNA発現増強をもたらした。一方、抗うつ薬FLXによってもBDNF mRNA発現が観察された。さらにFLX存在下でadenosineの効果は相乗的に増大した。RT-PCR法及び受容体阻害薬を用いた検討により、adenosine刺激によるBDNF mRNA発現増加にはA_{2B}受容体の関与が示唆された。また、adenosine及びFLXによるBDNF mRNA発現上

昇にはMEK/ERK経路から転写因子CREBへの経路が関与することを見出した。

10-5 考察：アストロサイトはグリア伝達物質として常にATPを放出し、これは速やかにadenosineに代謝されることから、脳内には常に一定量のadenosineが存在していると考えられる。このことから、アストロサイトにおけるFLXのBDNF産生にはadenosineが常に相乗的な作用をもたらしていることが示唆され、脳内での神経新生を介する抗うつ作用発現を考える上でも有用な知見を得ることが出来た。

(11) 安全性を確保したビタミンDレセプターリガンドの創製

有機化学部 栗原正明・袴田航

11-1 研究要旨：核内レセプターのひとつであるビタミンDレセプター（VDR）は細胞の分化、骨代謝に深く関わり、創薬のターゲット分子として注目されている。しかし、血中カルシウム濃度の上昇という副作用もあり、安全性を十分確保した創薬が求められている。我々は、VDRの新規な非セコステロイド型リガンドの創製を行った。また、X線構造解析も行い、新規リガンドとVDRの結合様式も明らかにした。

11-2 研究目的：安全性を確保した新規VDRリガンドの創製を行うことを目的とする。

11-3 研究方法：コンピュータを用い、タンパク質の三次元構造に基づいた非セコステロイド型VDRリガンドの分子設計を行った。設計した分子を合成し、転写活性を評価した。

11-4 研究成果：セコステロイド骨格を持たない新規リガンドYR301の創製を行った。YR301は活性型ビタミンD₃に匹敵する転写活性を示した。また、このYR301とビタミンDレセプター（VDR）の複合体のX線構造解析に成功した。

11-5 考察：内在性のリガンドである活性型ビタミンD₃はビタミンDレセプター（VDR）の6つの残基（Tyr143, Ser237, Arg274, Ser278, His305, His397）と水素結合を形成しているが、YR301では6残基のうち2残基（Tyr143, Ser278）とは水素結合を形成していなかった。にもかかわらず、YR301は活性型ビタミンD₃に匹敵する転写活性を示した。これは今後のリガンド設計に大きな情報を与える。

(12) 骨接合材料の高度安全性評価手法の開発

療品部 伊佐間和郎・土屋利江

12-1 研究要旨：直接接触法によるコロニー法を用いて、Ti-Ni合金等の細胞毒性を評価した。また、in vitroアパタイト形成能試験に用いる擬似体液として、カルシウム

及びマグネシウムイオンを含有するハンスク平衡塩溶液の有用性を確認した。さらに、Ti合金のアパタイト形成能を定量的に評価するために、フーリエ変換赤外光音響分光（FT-IR/PAS）分析の測定条件を最適化した。

12-2 研究目的：金属材料は化学組成の相違によって細胞毒性強度が異なる。そこで、金属材料の細胞毒性を高感度に検出する方法を検討する。また、擬似体液中でのアパタイト形成能は生体内での骨結合性をよく再現する。そこで、金属材料のアパタイト形成能を簡便に定量的に評価する方法を検討する。

12-3 研究方法：Ti-Ni合金等の細胞毒性を直接接触法によるコロニー法を用いて評価する。また、カルシウム及びマグネシウムイオンを含有するハンスク平衡塩溶液を用いて、Ti合金のアパタイト形成能試験を行う。さらに、FT-IR/PAS分析において、スキャンスピードを変化させた時のアパタイト由来の光音響強度の動向を解析する。

12-4 研究成果：直接接触法によるコロニー法において、Ti及びTi-Niは細胞毒性を示さなかったが、Niは細胞毒性を示した。また、ハンスク平衡塩溶液浸漬によって、Ti合金は材料表面にアパタイトを形成した。さらに、アパタイトのFT-IR/PAS分析において、スキャンスピードが2.0 mm/secの時に光音響強度が最も高くなった。

12-5 考察：アパタイトの分析にFT-IR/PASを用いることで、試料の表面形状に制限が無く、定量的なアパタイト形成能の評価が可能となった。金属材料の細胞毒性を高感度に検出し、アパタイト形成能を定量的に評価することは、安全性及び有効性のより高い骨接合材料の材料設計に有用である。

IV. 研究発表

(1) 論文発表

1. Kiyonaka S, Kato K, Nishida M, Mio K, Numaga T, Sawaguchi Y, Yoshida T, Wakamori M, Mori E, Numata T, Ishii M, Takemoto H, Ojida A, Watanabe K, Uemura A, Kurose H, Morii T, Kobayashi T, Sato Y, Sato C, Hamachi I, Mori Y. Selective and direct inhibition of TRPC3 channels underlies biological activities of a pyrazole compound. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:5400-5.
2. Nishida M, Sato Y, Uemura A, Narita Y, Tozaki-Saitoh H, Nakaya M, Ide T, Suzuki K, Inoue K, Nagao T, Kurose H. P2Y6 receptor-Galpha12/13 signalling in cardiomyocytes triggers pressure overload-induced cardiac fibrosis. *EMBO J*. 2008;27:3104-15.
3. Nishida M, Onohara N, Sato Y, Suda R, Ogushi M, Tanabe S, Inoue R, Mori Y, Kurose H. Galpha12/13-mediated up-regulation of TRPC6 negatively regulates

- endothelin-1-induced cardiac myofibroblast formation and collagen synthesis through nuclear factor of activated T cells activation. *J Biol Chem.* 2007;**282**:23117-28.
4. Onohara N, Nishida M, Inoue R, Kobayashi H, Sumimoto H, Sato Y, Mori Y, Nagao T, Kurose H. TRPC3 and TRPC6 are essential for angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *EMBO J.* 2006;**25**:5305-16.
 5. Nagamatsu Y, Nishida M, Onohara N, Fukutomi M, Maruyama Y, Kobayashi H, Sato Y, Kurose H. Heterotrimeric G protein G alpha13-induced induction of cytokine mRNAs through two distinct pathways in cardiac fibroblasts. *J Pharmacol Sci.* 2006;**101**:144-50.
 6. Yoshida T, Inoue R, Morii T, Takahashi N, Yamamoto S, Hara Y, Tominaga M, Shimizu S, Sato Y, Mori Y. Nitric oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation. *Nat Chem Biol.* 2006;**2**:596-607.
 7. Teshima R, Okunuki H, Sato Y, Akiyama H, Maitani T, Sawada J. Effect of oral administration of CpG ODN-OVA on WBB6F1-W/Wv mice. *Allergol Int.* 2006;**55**:43-8.
 8. Suzuki R, Furuno T, Okamoto K, Teshima R, Nakanishi M. ATP plays a role in neurite stimulation with activated mast cells. *J Neuroimmunol.* 2007;**192**:49-56.
 9. Nagaoka MH, Maitani T. Analysis of inorganic arsenic in foods by hydride generation-cold trap-atomic absorption spectrophotometry. *Metal Ions in Biology and Medicine.* 2006;**9**:75-7.
 10. Nagaoka MH, Hanaoka K, Usui M, Nishimura T, Maitani T. Nitric acid-based partial-digestion method for selective determination of inorganic arsenic in hijiki and application to soaked hijiki, *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 2008;**49**:88-94.
 11. Nagaoka MH, Nishimura T, Matsuda R, Maitani T. Evaluation of a nitric acid-based partial-digestion method for selective determination of inorganic arsenic in rice, *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 2008;**49**:95-9.
 12. Kanayasu-Toyoda T, Ishii-Watabe A, Suzuki T, Oshizawa T, Yamaguchi T. A new role of thrombopoietin enhancing ex vivo expansion of endothelial precursor cells derived from AC133-positive cells. *J Biol Chem.* 2007;**282**:33507-14.
 13. Mukai N, Akahori T, Komaki M, Li Q, Kanayasu-Toyoda T, Ishii-Watabe A, Kobayashi A, Yamaguchi T, Abe M, Amagasa T, Morita I. A comparison of the tube forming potentials of early and late endothelial progenitor cells. *Exp Cell Res.* 2008;**314**:430-40.
 14. Sanosaka T, Namihira M, Asano H, Kohyama J, Aisaki K, Igarashi K, Kanno J, Nakashima K. Identification of genes that restrict astrocyte differentiation of midgestational neural precursor cells. *Neuroscience.* 2008;**155**:780-8.
 15. Yasuhiko Y, Kitajima S, Takahashi Y, Oginuma M, Kagiwada H, Kanno J, Saga Y. Functional importance of evolutionally conserved Tbx6 binding sites in the presomitic mesoderm-specific enhancer of Mesp2. *Development.* 2008;**135**:3511-9.
 16. David R, Brenner C, Stieber J, Schwarz F, Brunner S, Vollmer M, Mentele E, Müller-Höcker J, Kitajima S, Lickert H, Rupp R, Franz WM. MesP1 drives vertebrate cardiovascular differentiation through Dkk-1-mediated blockade of Wnt-signalling. *Nat Cell Biol.* 2008;**10**:338-45.
 17. Shimazaki M, Nakamura K, Kii I, Kashima T, Amizuka N, Li M, Saito M, Fukuda K, Nishiyama T, Kitajima S, Saga Y, Fukayama M, Sata M, Kudo A. Periostin is essential for cardiac healing after acute myocardial infarction. *J Exp Med.* 2008;**205**:295-303.
 18. Baniasadi S, Chairoungdua A, Iribe Y, Kanai Y, Endou H, Aisaki K, Igarashi K, Kanno J. Gene expression profiles in T24 human bladder carcinoma cells by inhibiting an L-type amino acid transporter, LAT1. *Arch Pharm Res.* 2007;**30**:444-52.
 19. Kanno J, Aisaki K, Igarashi K, Nakatsu N, Ono A, Kodama Y, Nagao T. "Per cell" normalization method for mRNA measurement by quantitative PCR and microarrays. *BMC Genomics.* 2006;**7**:64.
 20. Grün F, Watanabe H, Zamanian Z, Maeda L, Arima K, Cubacha R, Gardiner DM, Kanno J, Iguchi T, Blumberg B. Endocrine-disrupting organotin compounds are potent inducers of adipogenesis in vertebrates. *Mol Endocrinol.* 2006;**20**:2141-55.
 21. Yasuhiko Y, Haraguchi S, Kitajima S, Takahashi Y, Kanno J, Saga Y. Tbx6-mediated Notch signaling controls somite-specific Mesp2 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;**103**:3651-6.
 22. Onose J, Imai T, Hasumura M, Cho YM, Hirose M. A new medium-term rat colon bioassay applying neoplastic lesions as endpoints for detection of carcinogenesis modifiers-validation with known modifiers. *Cancer Lett.* 2006;**232**:272-8.
 23. Imai T, Onose J, Hasumura M, Takizawa T, Hirose M. Indomethacin induces small intestinal damage and inhibits amitrole-associated thyroid carcinogenesis in

- rats initiated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Toxicol Lett.* 2006;**164**:71-80.
24. Imai T, Fukuta K, Hasumura M, Cho YM, Ota Y, Takami S, Nakagama H, Hirose M. Significance of inflammation-associated regenerative mucosa characterized by Paneth cell metaplasia and beta-catenin accumulation for the onset of colorectal carcinogenesis in rats initiated with 1,2-dimethylhydrazine. *Carcinogenesis.* 2007;**28**:2199-206.
 25. Cho YM, Imai T, Ota Y, Hasumura M, Takami S, Hirose M, Nishikawa A. A new medium-term rat colorectal bioassay applying neoplastic lesions as end points for detection of carcinogenesis modifiers effects with weak or controversial modifiers. *Toxicol Pathol.* 2008;**36**:459-64.
 26. Hakamata W, Sato Y, Okuda H, Honzawa S, Saito N, Kishimoto S, Yamashita A, Sugiura T, Kittaka A, Kurihara M. (2S,2'R)-analogue of LG190178 is a major active isomer. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008;**18**:120-3.
 27. Kakuda S, Okada K, Eguchi H, Takenouchi K, Hakamata W, Kurihara M, Takimoto-Kamimura M. Structure of the ligand-binding domain of rat VDR in complex with a nonsecosteroidal vitamin D3 analogue YR301. *Acta Crystallogr. F.* 2008;**64**:970-3.
 28. Honzawa S, Yamamoto Y, Yamashita A, Sugiura T, Kurihara M, Arai MA, Kato S, Kittaka A. The 2alpha-(3-hydroxypropyl) group as an active motif in vitamin D3 analogues as agonists of the mutant vitamin D receptor (Arg274Leu). *Bioorg Med Chem.* 2008;**16**:3002-24.
 29. Tamai M, Isama K, Nakaoka R, Tsuchiya T. Synthesis of a novel beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite biphasic calcium phosphate containing niobium ions and evaluation of its osteogenic properties. *J Artif Organs.* 2007;**10**:22-8.
 30. 西村哲治, 久保田領志. 環境中の医薬品由来の化学物質によるヒトに対するリスク評価. *環境技術.* 2008;**37**:865-70.
- (2) 学会発表
1. Nishida M, Sato Y, Nakaya M, Inoue R, Mori Y, Kurose H. Regulation of hypertrophic signaling pathway by functional interaction between G protein-coupled receptor and TRPC channels. 第82回日本薬理学会年会 (平成21年3月16-18日, 横浜)
 2. Uemura A, Nishida M, Sato Y, Narita Y, Tozaki-Saitoh H, Nakaya M, Inoue K, Kurose H. Role of P2Y6 receptor-Galpha12/13 signaling in pressure overload-induced cardiac fibrosis. 第82回日本薬理学会年会 (平成21年3月16-18日, 横浜)
 3. Minamisawa S, Satoh Y, Cho MC. Regulation of Activity of Sarcoplasmic Reticulum Calcium ATPase in the Failing Heart. 第72回日本循環器学会総会・学術集会 (平成20年3月28日, 福岡)
 4. Nishida M, Suda R, Sato Y, Onohara N, Tanabe S, Nakaya M, Kurose H. A small GTPase rac mediates pertussis toxin-induced up-regulation of angiotensin receptors. 第81回日本薬理学会年会 (平成20年3月17-19日, 横浜)
 5. Haghghi K, Sato Y, Fan G-C, He S, Kolokathis F, Paraskevaidis I, Jones K, Dorn GW II, Kremastinos DT, Kranias EG. A Novel Human Phospholamban Promoter Polymorphism in Dilated Cardiomyopathy Alters Glucocorticoid Nuclear Receptor Mediated Transcription Regulation. The American Heart Association Scientific Sessions 2007, Orlando, USA (2007年11月)
 6. Nishida M, Onohara N, Inoue R, Sumimoto H, Sato Y, Mori Y, Nagao T, Kurose H. TRPC3 and TRPC6 are essential for angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy. 第80回日本薬理学会年会, 名古屋 (2007年3月)
 7. Suda R, Onohara N, Sato Y, Nishida M, Kurose H. Inhibition of angiotensin II signaling by ATP-induced NFAT activation in cardiac fibroblasts. 第80回日本薬理学会年会, 名古屋 (2007年3月)
 8. Narita Y, Onohara N, Nishida M, Sato Y, Nagao T, Kurose H. Role of Galpha12/13 in angiotensin II-induced cardiac fibrosis in mice. 第80回日本薬理学会年会, 名古屋 (2007年3月)
 9. Kurose H, Suda R, Tanabe S, Onohara N, Mangmool S, Nagamatsu Y, Sato Y, Nagao T, Nishida M. Rac up-regulates angiotensin II type I receptors through ROS and NF-kappaB-dependent interleukin-1beta production in rat cardiac fibroblasts. The American Heart Association Scientific Sessions 2006, Chicago, USA (2006年11月)
 10. Teshima R., Okunuki H., Nakamura R., Sawada J.: The effect of plant oil on oral sensitization of mice with ovomucoid., 13th International congress of mucosal immunology (2007.7)
 11. 中村亮介, 酒井信夫, 松岡英樹, 秋山晴代, 佐藤雄嗣, 穂山浩, 手島玲子: 「c-kit欠損W/W^vマウスにお

- けるタンパク質の経口感作とその関連遺伝子」第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (2008.12)
12. Nagaoka M. H. Maitani T. : Speciation of arsenic in foods by hydride generation-cold trap-atomic absorption spectrophotometry. Ninth International Symposia on Metal Ions in Biology and Medicine (ISMIBM) (Lisbon) p.244 (2006.5)
 13. 長岡(浜野) 恵, 米谷民雄: 水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法およびHPLC/ICP-MS法を用いた食品中無機ヒ素の分別定量法に関する研究. 日本分析化学会第55年会(大阪) (2006.9)
 14. Nagaoka M. H. and Maitani T.: Analysis of inorganic arsenic in samples of seaweed, rice and infant foods by hydride generation-cold trap-atomic absorption spectrometry. 12th Symposium on Sample Handling for Environmental and Biological Analysis (Zaragoza) p.120 (2006.10)
 15. Nagaoka M. H. and Maitani T.: Efficient extraction and determination of inorganic arsenic in baby foods containing seaweed and fish, 3rd. International FSTEM (Federation of European Societies on Trace Elements and Minerals) Symposium on Trace Elements and Minerals in Medicine and Biology (Santiago, Spain) (2007. 5)
 16. 長岡(浜野)恵 米谷民雄: 水素化物変換-コールドトラップ-原子吸光法を用いたゲルマニウム含有試料中の無機ヒ素分別定量. (Speciation analysis by hydride generation-cold trap-atomic absorption spectrometry to measure the levels of inorganic arsenic in bottled waters containing inorganic germanium). 第17回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (SRM2007) (京都) (2007.6)
 17. 長岡(浜野)恵 米谷民雄: ヒジキを含有する乳幼児食中のヒ素の無機ヒ素の定量. (Efficient extraction and determination of inorganic arsenic in baby foods containing seaweed "hijiki"). 第18回 日本微量元素学会学術集会 (福井) (2007.7)
 18. Nagaoka M. H. and Maitani T.: Efficient extraction and selective determination of inorganic arsenic in rice. Tenth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers (HTC-10) & Tenth International Symposium on Advances in Extraction Techniques (ExTech (R) 2008)) (Bruges, Belgium) (2008.1-2)
 19. 豊田淑江, 押澤正, 石井明子, 鈴木孝昌, 山口照英: Thrombopoietin(TPO)によるAC133陽性細胞より分化する血管内皮前駆細胞(EPC)の分化促進作用 日本薬学会第127年会 2007年3月
 20. 豊田淑江, 石井明子, 鈴木孝昌, 押澤正, 山口照英: トロンボポエチン (TPO) によるin vitroでの血管内皮前駆細胞 (EPC) の増幅作用 第28回日本炎症・再生医学会 2007年8月
 21. 石井明子, 豊田淑江, 鈴木琢雄, 小林 哲, 山口照英: 細胞組織利用医薬品としての血管内皮前駆細胞の誘導法確立と特性解析 第51回日本薬学会関東支部大会 2007年10月
 22. 豊田 淑江, 石井 明子, 鈴木 孝昌, 押澤 正, 山口 照英: トロンボポエチン(TPO)による, in vitroでの血管内皮前駆細胞(EPC)の増幅作用 第80回日本生化学会大会 2007年12月
 23. 豊田淑江, 石井明子, 山口照英: トロンボポエチン(TPO)の血管内皮前駆細胞(EPC)増幅作用における新しい役割 第7回 日本再生医療学会総会 2008年3月
 24. 豊田淑江, 石井明子, 鈴木 浩子, 李勤, 田村悦臣, 森田育男, 山口照英: 血管内皮前駆細胞であるEarly EPCとOutgrowth Endothelial Cellの特性解析 第81回日本生化学会大会 2008年12月
 25. 安達玲子, 櫻井智子, 笠原忠, 鈴木和博, 手島玲子「破骨細胞における中間系フィラメントの役割について」 日本薬学会第128年会 平成20年3月27日
 26. 櫻井智子, 安達玲子, 笠原忠, 鈴木和博, 手島玲子「破骨細胞の形態維持・機能発現におけるビメンチンの役割について」 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 平成20年12月11日
 27. 菅野 純, Percellome遺伝子発現解析標準化及び解析手法, 第11回癌治療増感研究シンポジウム, 2009年2月
 28. 北嶋 聡, 菅野 純, トキシコゲノミクスによる毒性評価法の高精細化, 第35回日本トキシコロジー学会学術年会, 2008年6月
 29. 菅野 純, トキシコゲノミクス(Percellome Project)を基盤とした分子毒性学の展開の試み, 第35回日本トキシコロジー学会学術年会, 2008年6月
 30. 菅野 純, Chemosphere-Biosphere Interaction解析ツールとしてのPercellome Toxicogenomics, 第34回日本トキシコロジー学会学術年会 特別講演 2007年6月
 31. 北嶋 聡, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 中津 則之, 菅野 純, モデル催奇形性物質を用いた発生トキシコゲノミクス (Percellome手法) 解析, 第34回日本トキシコロジー学会学術年会, 2007年6月
 32. 北嶋 聡, トキシコゲノミクスを用いた毒性予測の

迅速・精細化研究

33. [日本実験動物医学会・教育シンポジウム-動物実験代替法における分子毒性学のアプローチ- (第54回日本実験動物学会関連集会として実施)] 2007年5月
34. Kanno Jun, Aisaki Ken-ichi, Igarashi Katsuhide, Nakatsu Noriyuki, Kitajima Satoshi, Kodama Yukio, "PERCELLOME" TOXICOGENOMICS PROJECT FOR THE MECHANISM-BASED TOXICOLOGY, the SOT 46th Annual Meeting March 25-29, 2007
35. 菅野 純, トキシコゲノミクス (Percellome Project) を基盤とした分子毒性学の展開の試み, 第145回日本獣医学会学術集会 日本比較薬理学・毒性学会, 教育講演, 2008年3月
36. Jun Kanno, Percellome Toxicogenomics Project for Predictive Toxicology, 8th International ISSX meeting (Oct.9-12, 2007)
37. Kitajima S, Aisaki K, Igarashi K, Nakatsu N and Kanno J, Fetus (developmental) toxicogenomics for addressing the embryotoxicity induced by chemicals. Demonstration by a model teratogen cyclophosphamide. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the life Sciences, 2007年8月
38. 菅野 純, Percellome法による遺伝子発現解析研究 (トキシコゲノミクス) とその基礎研究への適用性, 東京大学分子細胞生物学研究所・機能形成研究分野セミナー, 2007年3月
39. 菅野 純, Percellome Projectの概要と展望, 第33回日本トキシコロジー学会, 2006年7月
40. 北嶋 聡, 相崎 健一, 五十嵐 勝秀, 中津 則之, 相賀 裕美子, 菅野 純, Percellome手法を用いた遺伝子発現変動解析の発生毒性実験への適用, 第33回日本トキシコロジー学会学術年会, 2006年7月
41. 北嶋 聡, 発生毒性のPercellomeトキシコゲノミクス解析, 第1回毒性オミクスフォーラム(第33回日本トキシコロジー学会学術年会との共催), 2006年7月
42. 菅野 純, 相崎 健一, 五十嵐 勝秀, 北嶋 聡, 中津 則之, 創薬とトキシコゲノミクス, 第10回がん分子標的治療研究会総会, 2006年6月
43. Jun Kanno, Percellome Toxicogenomics Project, ASIA TOX IV, 18-23 June, 2006
44. 菅野 純, 基礎と応用のリンケージ・ツールとしてのPercellome System, 第95回日本病理学会総会, 2006年5月
45. 今井俊夫, 園田 二朗, 前田 博, 久田 茂: リンパ節とパイエル板の病理検査 -医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン- その進め方と試験法 第13回日本免疫毒性学会学術大会(2006.9)
46. 今井俊夫, 福田勝洋, 蓮村麻衣, 曹永晩, 太田世志雄, 蓮村麻衣, 中釜 斉, 広瀬雅雄: DMH-dextran sodium sulfateラット大腸発がんモデルにみられる再生粘膜における β -cateninの異常発現. 第65回日本癌学会学術総会(2006.9)
47. 曹永晩, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 高見成昭, 広瀬雅雄: ラット中期大腸発がん試験法における酵素処理イソクエルシトリン及びヤマモモ抽出物の発がん修飾作用. 第65回日本癌学会学術総会(2006.9)
48. 今井俊夫, 蓮村麻衣, 高見成昭, 曹永晩, 広瀬雅雄: DMH-DSSラット大腸発がん過程にみられるパネート化生の意義. 第23回日本毒性病理学会(2007.1)
49. 曹永晩, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 高見成昭, 広瀬雅雄: DMH-DSSラット大腸発がんに対する抗炎症剤スルファサラジンの作用. 第23回日本毒性病理学会(2007.1)
50. 今井俊夫: 炎症関連ラット大腸発がんモデルの初期病変 -再生粘膜におけるパネート化生と β -catenin蛋白蓄積の意義- 第145回日本獣医学会(2008.3)
51. 金子文也, 佐藤由紀子, 袴田 航, 奥田晴宏, 本澤 忍, 山下 純, 杉浦隆之, 橋高敦史, 加藤茂明, 栗原正明 ビタミンDレセプターノンセコ型リガンドの設計と合成 日本薬学会第128年会 (2008/03/26-28 横浜)
52. 金子文也, 佐藤由紀子, 岩井すみれ, 本澤 忍, 山下 純, 橋高敦史, 加藤茂明, 奥田晴宏, 栗原正明 VDR及び変異VDRに作用するノンセコ型リガンドの設計と合成 第27回メディシナルケミストリーシンポジウム (2008/10/26-28, 大阪)
53. 伊佐間和郎, 小園知, 小林郁夫, 石水敬大, 土屋利江: Ti-Zr-Nb合金の骨組織適合性評価, 第29回日本バイオマテリアル学会大会 (2007.11)
54. Isama K, Haishima Y, Tsuchiya T: Evaluation of proliferation and differentiation of normal human osteoblasts on collagen scaffolds, 1st Asian Biomaterials Congress (2007.12)
55. Isama K, Tsuchiya T: Osteoblast compatibility of Ti-Zr-Nb alloys, Biomaterials Asia 2009 (2009.4)
56. 西村哲治, 清水久美子, 久保田領志, 田原麻衣子, 徳永裕司: マウスES細胞分化系を用いた環境汚染物質の評価系の確立, 第12回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会(2006.9)
57. Nishimura, T., Shimizu, K., Kubota, R., Tahara, M., Hirose, M., Tokunaga, H. : Load to aqueous environment in urban area by swage treatment water

- on pharmaceuticals and personal care products. SETAC North America 28th Annual Meeting (2007.11)
58. Nishimura, T., Micropollutants Management for Drinking Water Safety in Japan. (2008) International Seminar on the World Water Day 2008 (Korea) Future Direction of Improvement in Drinking Water Safety, 55-89 (2008).
 59. Nishimura, T., Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., and Tokunaga, H.:A occurrence of pharmaceuticals and personal care products in raw water for drinking water supply and load to aqueous environment by swage treatment water in Japan. 2008 IWA World Water Congress, (2008.9).
 60. 西村哲治, 久保田領志: 水道水中の医薬品類の影響評価, 日本リスク研究学会2008年度第21回年次大会発表予稿論文集, p407-412 (2008.11)
 61. 須藤久美, 大久保聡子, 本田一男, 小泉修一: ラット海馬アストロサイトにおけるフルオキセチンのBDNF産生に対するアデノシンの増強作用, 第80回日本薬理学会年会 (2007.3)
- (3) その他の発表, 施策への貢献, ガイドライン, マニュアル等の作成
1. 山口照英, 石井明子 細胞・組織加工医薬品の品質と安全性確保への提言 PHARMASTAGE 7, 1-6, 2008 (生物薬品部)
 2. 「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」(病理部)
 3. Isama K, Tsuchiya T: Gamma-ray Irradiated Poly(L-lactide) for Bone Repair, Tetsuya Tateishi ed., Biomaterials in Asia, World Scientific Publishing Company, Singapore (2008), pp. 254-265 (療品部)

平成20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 西島正弘

平成20年度の世界的な出来事として、アメリカ発の世界的経済危機とその中でアメリカ初の黒人大統領の誕生、並びにメキシコから広まった新型インフルエンザの世界的流行があり、これらの影響は平成21年度に入っても引き続き大きな社会問題となっている。また、今年度も、中国で発生した牛乳・乳製品へのメラミン混入事件や国内での汚染米事件など、食の安全を脅かす大きな事件も発生した。一方、2008年のノーベル物理学賞を南部陽一郎博士、益川敏英博士、小林誠博士が、更に化学賞を下村脩博士が受賞されたニュースは、我が国の科学者はもちろんのこと、広く国民を勇気づけるものであった。

さて、目覚しく進歩する科学技術により、医薬品・医療機器では抗体医薬品、遺伝子治療薬、細胞・組織を加工した医薬品・医療機器、食品では遺伝子組換え作物、その他の化学物質としてナノマテリアル等々、新しい物質が次々と作り出されてきている。国立衛研の使命は、これら新しく作り出される物質を中心に、その品質、安全性及び有効性を科学的に評価し、その成果を厚生行政に反映させ、国民の健康と生活環境の維持・向上に貢献することである。この使命に向け、以下の各部からの報告にある通り、平成20年度も、医薬品・医療機器分野、食品分野、生活関連分野、生物系・安全性分野、安全情報関連分野、並びに総務部のすべての部において、試験・研究・調査等の数多くの業務が順調に滞りなく行われた。

平成20年度に国立衛研全体として取り組んだ主な事項は次の通りである。

- (1) 昨年に引き続き、公務員としての必須事項を身につけ、今後の研究活動を円滑に実行していくのに必要な情報を伝えることを目的として、新人職員全員を対象に、公務員倫理、研究者倫理、および所内の各種の規程を紹介した。
- (2) 厚生労働省統合ネットワークについては、本省と研究機関との間の意見の相違は解決されていない。引き続き感染研および科学院と協力し、対応していく。また、インターネット環境の安全確保のためセキュリティ監査を行った。なお、所ホームページへの「お問い合わせ」への対応について、総務部がチェックし、答えられない場合は所内の適切な者に回答作成を依頼するという回答作成手順が定められた。
- (3) 改正感染症法が平成18年12月8日に公布され19年6月1日に施行されたことに伴い、当所の病原体等安全管理規程も平成19年6月に全面改正したが、さらに当規程の運営に必要な病原体等安全管理区域運営規則、事故対応要領および暴露対応要領、事故・災害時対応体制のフロー図等も作成する必要があるため、一部改正を行った。また、平成20年12月25日をもって病原体等安全管理規程は正式に施行された。バイオセーフティーの確保は所員のみならず、周辺住民の安全確保の面からも極めて重要であることから、本年も、病原体等の安全な取扱及び管理に関する「バイオリスク管理講習会」を開催し、病原体等を取り扱う職員等を対象に、病原体等の安全管理に必要な法令遵守の徹底と知識及び技術の向上を図った。
- (4) ヒト及びヒト由来試料および情報に関わる研究の適正化をはかるための研究倫理委員会を、平成20年度は2回開催した。また、正副委員長会議を8回開催し、正委員会のための事前審査および倫理的に問題が少ない案件を処理した。なお、12月17日の委員会で、研究倫理に関する厚生労働省等の上位指針を国立衛研の指針に引用するとともに、上位指針で簡略審査が認められているものについては、当所の規定でも簡略審査に該当するとの倫理委員会規程の変更を行い、審査の効率化を図った。
- (5) 適正な動物実験推進のため、HS財団による動物実験の第三者評価を受け、厚生労働省の動物実験等の実施に関する基本指針に適合しているとの評価を受けた。
- (6) 平成20年度予算の設定にあたり、図書購入に関する配分予算を削減し、外国雑誌の購入について見直しを行った。しかし、その後予算の節約留保が解除されたことにより、図書購入額を昨年並みに戻した。そこで、見直しで落とした雑誌の中で各部の購入希望が高かったものを復活させるとともに、新規雑誌及びオンラインジャーナルの購入に積極的に切り替えることを考慮し、見直しを行った。また、研究部で必要な単行本を共通経費で購入することとした。
- (7) 平成18年度より開始した、研究者の業績評価は施行3年目を迎え、定着してきた。一方、国家公務員に対する人事評価制度が別途組み立てられつつあり、平成20年度はその試行が行われた。二つの評価制度の間に重複があり、いかに効率良く制度を組み立て、運用するかが課題である。
- (8) 平成25年度の府中市への移転に向けて、府中市、財務省との協議を続けて来た。19年度に行われた米軍跡地の区割りでは、国立衛研は米軍跡地のほぼ中央部を

占め、府中市が公園用地として南側を、財務省が民間住宅建設のため、北側を利用することとなっていたが、20年度に北側を公務員住宅建設用地とすることに変更された。また、建物や設備についての基礎条件についてのとりまとめを開始した。一方、府中市および市民の国立衛研に対する理解を深めていただくため、また、所の安全に対する懸念を払拭するため、前年度に引き続き説明会を行った。具体的には総務部報告に記載されている。なお、バイオセーフティー施設の安全確保は府中市および市民の安心を確保するために極めて重要であり、また、府中市長の要望もあり、病原体等を用いる実験の安全に関するISOによる第三者評価を受けることとし、その準備を開始した。

平成20年度の全国地方衛生協議会総会は福岡市で開催され西島は祝辞を述べた。また、全国衛生化学協議会は佐賀市で開催され、例年通り当研究所の職員が大きな活躍をした。厚生労働省の委託によりジェネリック医薬品品質情報検討会の事務局が薬品部に置かれ、西島が座長を務めることになった。2回検討会が開催され、ジェネリック医薬品の品質について議論された。平成20年5月12日、安全性生物試験研究センターの創立30周年記念式典と講演会が開催され、研究所内外からの多数の参加者並びに祝辞を得て盛大に行われた。

大野副所長は、ICHにおける「臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミング」に関する協議を行うため、米国ポートランド(6月1日から5日)、ベルギーブラッセル(11月10日から13日)、およびワシントン(3月11日から13日)における会議に出席し、パブリックコメントに基づきステップ2文書の改定作業を行った。また、イタリアイブスラ市で開催されたECVAM眼刺激性試験評価会議(10月14日から15日)に参画し、眼刺激性試験代替法の評価を行った。また、製薬企業ならびに所員の協力も得て、薬学会のレギュラトリーサイエンス部会の行事である第3回医薬品評価フォーラム「課題名:医薬品開発の迅速化のためのバイオマーカーの同定とバリデーション」を主催した(10月29日)。

今年度も本省等との併任、各種審議会への参画、医薬品医療機器総合機構や食品安全委員会の専門委員等、並びにWHO、OECD、ICH等の国際会議への参画を通じ、国立衛研の多くの職員が国内外の衛生行政に多大な貢献をした。

また、学術の面でも国立衛研職員の貢献が認められた。元薬理部第一室長であった小泉修一山梨大学医学部教授が主に国立衛研時代に行ったグリア細胞に関する研究で学術振興会奨励賞および日本学士院奨励賞を受賞した。長谷川隆一部長らの執筆した論文(Hasegawa R, Hirata-

Koizumi M, Dourson M, Parker A, Hirose A, Nakai S, Kamata E, Erma M. Pediatric susceptibility to 18 industrial chemicals: a comparative analysis of newborn with young animals. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007, 47:296-307)が、当雑誌の2007年度最優秀リスク評価論文に選考された。また、変異遺伝部の増村健一主任研究官が日本環境変異原学会研究奨励賞、食品部の渡邊敬浩第三室長が日本食品衛生学会奨励賞、総合評価室の平田睦子主任研究官が日本先天異常学会奨励賞を受賞した。これらは、国立衛研の研究レベルが高いことを示すものであり、今後も研究所のミッションを支える先導的な研究が一層活発に行われるよう取り組んでゆきたい。

なお、中澤憲一薬理部長が主任研究官に降格し、大野副所長が薬理部の事務取扱いを勤めることとなった。

総 務 部

部 長 高見澤 博
前部長 千葉信雄

1. 組織・定員

平成19年度末定員は、223名であったが、20年度においては、①高機能性製剤の開発、承認審査の促進のための研究業務の強化に伴う増として1名(室長・研3級)、②後発医薬品の活用促進に関する研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、③器具又は容器包装に使用される合成樹脂の規格基準整備に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、④先端的低分子医薬品の評価技術開発に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)が認められた。

また、平成20年度見直し時期到来分の①天然系食品添加物の化学的安全性評価に係る研究業務の強化に伴う定員1名(研究員・研2級)、②食物アレルギー表示に伴う食品中の特定原材料検出法の開発に係る研究業務の強化に伴う定員1名(室長・研3級)については、それぞれ5年後再見直しとして認められた。

一方、第10次後期定員削減計画に基づき6名の削減が行われた結果、20年度末定員は指定職2名、行政職(一)31名、行政職(二)3名、研究職185名、計221名となった。

2. 人事異動

(1)平成20年7月11日付で伏見環企画調整主幹が退職し、同日付で植村展生医薬食品局血液対策課血液対策企画官が企画調整主幹に就任した。

(2)平成21年3月31日付で千葉信雄総務部長が退職し、同年4月1日付で高見澤博独立行政法人医薬品医療

機器総合機構総務部長が総務部長に就任した。

また、同年3月31日付で土屋利江療品部長、棚元憲一食品添加物部長及び澤田純一機能生化学部長が定年退職し、同年4月1日付で松岡厚子療品部第三室長が療品部長に、河村葉子食品添加物部第三室長が食品添加物部長にそれぞれ昇任し、内藤幹彦東京大学分子細胞生物学研究所准教授が機能生化学部長に就任した。

3. 予 算

平成20年度予算の概要は、別紙のとおりである。

平成20年度予算は「平成20年度予算編成の基本方針(平成19年12月閣議決定)」にあるとおり、「歳出全般にわたる徹底した見直しを行い、一般歳出及び一般会計歳出について厳しく抑制を図る」との方針から、裁量的経費は対前年度約2百万円の減額となったが、非裁量的経費(施設整備費等)が府中移転予定地の解体物撤去工事として約11億7千万円が手当されたこともあり、増額となったため、全体としては約9億4千万円の増額となった。

個別の研究費については、新たに平成20年度からは、「高機能性製剤の開発、承認審査の促進のための研究」35,015千円が認められた。

4. 競争的研究費の機関経理

競争的研究費である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の経理に関する事務については、機関経理により行っている。

平成20年度は、厚生労働科学研究費補助金1,367,454千円及び文部科学省所管の補助金69,160千円等、総計1,840,614千円(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。

また、平成20年度において、競争的研究資金等の適正な執行を確保するとともに、不正使用を防止することを目的として、「競争的研究資金等に係る不正防止計画」を策定した。

5. 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開催される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20年度海外派遣研究者は、延べ198名であった。内訳は行政に関する国際会議への出席が延べ31名、その他会議・学会への出席が延べ141名、二国間共同研究への参加が延べ3名、JICAのプロジェクトによる外国への技術指導に1名のほか、その他(諸外国の研究活動調査・打合せ等)22名であった。行政に関する国際会議への出

席内訳は、OECDが12名、ICHが9名、FAO/WHO合同会議が9名、IPCSが1名であった。

6. 移転関係

当所の移転計画については、厚生労働本省や財務省等と協議を行い、移転時期は平成25年度末とし、新研究所建築工事費などの経費は特々会計及び一般会計別に平成21年度から平成25年度までの5カ年計画を策定し、平成21年4月1日付で財務省より特定国有財産整備計画の決定通知(敷地約46,000㎡、建物延べ床約33,300㎡)を受けた。

一方、移転先である府中市米軍基地跡地の周辺住民に対しては、バイオセーフティ関連施設等に係る安全対策への不安を払拭する等のため、地域自治会への説明、府中市議会基地跡地対策特別委員会との懇談会出席、小金井市住民への説明、「衛生研問題を考える会」主催の討論会参加など積極的に対応した。また、府中市長からの要望書(積極的な市民説明への取組み、第三者機関による安全性検証の実施)の提出に対しても、真摯に対応する旨回答した。

なお、各種調査については、10月から生態系調査を、21年3月から測量を開始した。測量終了後に地質・土壌調査を開始する予定である。

7. 厚生労働科学研究費補助金の配分機関

厚生労働科学研究費補助金については、平成15年4月総合科学技術会議及び同年10月厚生科学審議会において、独立した配分機関(Funding Agency)にその配分機能を委ねる方向で検討することとされ、厚生労働本省所管課及び施設等機関の調整が得られたものから、平成18年度より段階的に施設等機関へ業務移管することとされた。

当所においては、平成19年3月30日厚生労働省告示第67号で平成19年度より「化学物質リスク研究事業」について配分業務を委任され、平成20年度は17機関に対し、計1,230,197千円配分した。

8. 一般公開の開催

一般公開については、一般市民を対象として毎年1回実施されており、平成20年度は7月25日(10:00～16:00)に開催した。見学者数は120名であった。

公開内容は、各研究部のパネル展示等による研究内容の紹介や、衛研講座として「食品中の残留農薬の検査について」と「ナノマテリアルの安全性評価について」の講演を行った。

平成20年度予算額

別紙

事 項	平成19年度	平成20年度	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)
	(A)	(B)	(千円)
	(千円)	(千円)	(千円)
(組織) 厚生労働本省試験研究機関	3,553,195	4,496,094	942,899
(項) 厚生労働本省試験研究所共通費	2,267,499	2,231,161	△36,338
国立医薬品食品衛生研究所に必要な経費	2,267,499	2,231,161	△36,338
既定定員に伴う経費	2,019,841	2,019,481	△360
定員削減に伴う経費	0	△40,505	△40,505
増員要求に伴う経費	0	11,361	11,361
国立医薬品食品衛生研究所運営経費	66,652	68,744	2,092
安全性生物試験研究センター運営費	91,739	91,492	△247
施設管理事務経費	48,034	47,657	△377
移転調査検討費	839	839	0
研究情報基盤整備費	40,394	32,092	△8,302
(項) 厚生労働本省試験研究所施設費	242,003	1,216,187	974,184
国立医薬品食品衛生研究所施設整備に必要な経費	242,003	1,216,187	974,184
国立医薬品食品衛生研究所施設整備費経費			
(項) 厚生労働本省試験研究所試験研究費	1,026,239	1,032,241	6,002
国立医薬品食品衛生研究所の試験研究に必要な経費	1,026,239	1,032,241	6,002
増員要求に伴う経費	0	17	17
国立医薬品食品衛生研究所運営経費	58,184	58,580	396
基盤的研究費	201,315	196,241	△5,074
特別研究費	6,072	6,072	0
安全性生物試験研究センター運営費	48,267	48,267	0
施設管理事務経費	24,512	24,512	0
受託研究費	104,678	104,678	0
乱用薬物基礎研究費	14,455	14,455	0
総合化学物質安全性研究費	82,987	82,429	△558
共同利用型高額研究機器整備費	156,593	156,593	0
研究情報基盤整備費	33,083	32,603	△480
化学物質による緊急の危害対策を支援する知識情報 基盤事業費	11,397	10,297	△1,100
競争的研究事務経費	56,787	55,928	△859
食品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集, 解析, 評価及び提供に係る研究事業費	34,332	30,980	△3,352
天然食品添加物の規格基準策定に関する研究費	20,169	0	△20,169
医薬品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集, 解析, 評価及び提供に係る研究事業費	26,404	28,681	2,277
健康安全確保のための研究費	147,004	181,908	34,904
(項) 血清等製造及検定費	17,454	16,505	△949
医薬品等の国家検定及び検査等に必要な経費	17,454	16,505	△949
一般事務経費	5,299	5,163	△136
事業費	12,155	11,342	△813
(移替予算)			
(組織) 厚生労働本省試験研究機関	118,983	68,942	△50,041
(項) 地球環境保全等試験研究費	72,696	29,489	△43,207
(項) 原子力試験研究費	46,287	39,453	△6,834

* 予算額については両年度とも当初予算額

薬 品 部

部 長 川 西 徹

概 要

国家公務員の定員削減については当所も例外ではなく、引き続き極めて厳しい状況下にある中、平成20年度10月から「高機能性製剤の品質評価研究」を実施する室の設置が認められ、当部は三室体制から四室体制となった。これは当部が所掌とする医薬品に関する課題の中で、今後重要度が増すであろうDDS製剤等の高機能性製剤の品質確保の方策の検討の核となるべき室の必要性が認められたものである。当該室の設置に対して様々な立場からご尽力いただきました方々に心から感謝の意を表しますとともに、新しい時代にむけた当部の対応として、当該業務の充実を図る所存であります。さらに当部の新たな役割として、ジェネリック医薬品品質情報検討会事務局としての役割があげられる。これは、ジェネリック医薬品の品質の信頼性向上にむけ、厚生労働省の委託をうけて当所の所長を座長として設置された検討会であり、ジェネリック医薬品の品質にかかる懸念に対して、学術的な課題となるものを選定し、必要に応じて当該品目に関する試験研究を実施し品質の確認を行うというものである。その他ICH-Q8-Q10合意後の国内外インプリメンテーションに伴う医薬品品質管理の新しい方策に関連する研究等、医薬品を巡る環境の変化に対応した新しい研究体制が必要となっている。このように、当部の役割は拡大しているものの、既存の試験研究業務の必要性が減じたということではない。従来からある業務を継続的かつ確実に実施するとともに、新しい時代への対応を図るよう、心せねばならないと考えている。

平成20年11月10日付けで高機能性製剤の品質評価研究を行う第四室が新設され、加藤くみ子博士が室長に着任した。また平成21年4月1日付けで吉田寛幸博士が研究員として採用された。平成20年5月31日をもって水飼恵子氏が派遣職員の任期を終了した。平成20年6月23日付けで周利氏が派遣職員として採用された。平成20年6月30日をもって大迫努氏が派遣職員の任期を終了した。平成20年7月22日より太田鋼氏が派遣職員として採用された。平成21年2月1日より石倉恵子氏が派遣職員として採用され、引き続き平成21年4月1日付けで非常勤職員となった。平成21年3月30日をもって斎藤はる奈氏が派遣職員を終了し、引き続き平成21年4月1日付けで非常勤職員として採用された。平成21年4月1日付けで齋藤栄子氏が派遣職員として採用された。

また医薬品の品質保証の研究を推進するため、緒方宏泰博士（明治薬科大学名誉教授）に平成21年4月1日より

客員研究員としてご指導、ご協力をお願いした。

短期の海外出張については次の通りである： 檜山行雄室長はISPEシンポジウムにおいて特別講演を行うためデンマークへ出張した（平成20年4月）； 川西徹部長、檜山行雄室長はICH専門家会議出席のため米国に出張した（平成20年6月）； 四方田千佳子室長はJAICAの国際協力のためインドネシアに出張した（平成20年6月～7月）； 四方田千佳子室長は韓国FDAで講演のため韓国に出張した（平成20年7月）； 四方田千佳子室長、坂本知昭主任研究官、柴田寛子研究員は2008国際薬学連合国際会議で研究発表のためスイスへ出張した（平成20年9月）； 四方田室長は特殊製剤の溶出試験及び後発医薬品に関わる規制の国際調和のための国際薬学連合シンポジウムで講演のため英国に出張した（平成21年10月）； 香取典子主任研究官は国際薬物動態学会第15回北米大会（ISSX2008NA）で研究発表のため米国に出張した（平成20年10月）； 檜山行雄室長はISPE年会において特別講演を行うため米国へ出張した（平成20年10月）； 川西徹、檜山行雄室長はICH専門家会議出席のためベルギーに出張した（平成20年11月）； 四方田千佳子室長、阿曾幸男室長、宮崎玉樹主任研究官、小出達夫主任研究官は米国薬剤学会年会で研究発表のため米国へ出張した（平成20年11月）； 檜山行雄室長はICHワークショップにおいて講演を行うため中国に出張した（平成20年12月）； 坂本知昭主任研究官は共同研究のためイギリスに出張した（平成20年12月）； 伊豆津健一主任研究官は医薬品の物理化学特性に基づく膜透過評価法に関する研究会での研究発表のためスイスに出張した（平成21年2月）。

業務成績

1. 一斉取締試験

イブプロフェン顆粒 3品目、イブプロフェン錠 4品目、ボグリボース錠 36品目、ボグリボース口腔内崩壊錠 18品目、ボグリボースフィルム 2品目、トコフェロール酢酸エステル内用剤 7品目

2. 後発医薬品品質情報に基づく検討

平成21年度より設置されたジェネリック医薬品品質情報検討会で、品質に対する不安要素の大きな製剤として、イトラコナゾール製剤及び球状吸着炭について科学ベースで検討することとされたため、それらの品質評価を開始した。

3. 薬事法に基づく登録試験検査機関の外部精度管理

薬事法施行規則に規定する厚生労働大臣の登録を受けた試験検査機関のうち、75機関につき、外部精度管理としてISO17025に準拠した医薬品分析の技能試験を

実施した。

4. 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、坂本主任研究官及び小出主任研究官は、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、医薬品等製造所のGMP/QMS査察に当たっている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20年5月19日～6月20日)。また四方田室長、阿曾室長、檜山室長、香取主任研究官、坂本主任研究官、小出主任研究官は上記コース中の講義の講師を務めた。

5. 国際協力

国際厚生事業団(JICWELS)の第24回アジア諸国薬事行政官研修および第19回必須医薬品製造管理研修(平成20年11月)に協力して、アジア諸国の薬事行政官ならびに医薬品GMP査察官に対する研修を行った。

6. 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、医薬品医療機器総合機構)、日本薬局方、日本薬局方外医薬品規格、後発医薬品等の同等性試験ガイドライン作成作業、溶出試験規格作成、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。

産官学の方が参加し、品質保証のあり方について討論する医薬品品質フォーラムに関しては、「原薬を考える - ドラッグマスターファイルと委託について -」(平成21年1月)、をテーマに第8回のシンポジウムを開催した。また、初めての試みとして、医薬品品質フォーラムワークショップ2008「局所皮膚適用製剤の生物学的同等性試験における放出試験、透過試験のあり方」(平成20年11月)を開催した。

研究業績

1. 医薬品の分析法に関する研究

稀少疾病(赤痢アメーバ感染症)用の未承認医薬品であるヒューマチンカプセル(パロモマイシン硫酸塩製剤)の品質に関する研究を引き続いて行った。プレカラム誘導体化法を導入し、汎用性の高い紫外外部検出器による定量法について超高速液体クロマトグラフィー(UHPLC)を導入し、研究班で供給する医薬品中のパロモマイシンの迅速定量法の開発を行った(政策創薬総合研究事業)。

近赤外イメージングシステムを用いた医薬品品質評価

を目的として、高速攪拌造粒のモデル実験を行い、その造粒メカニズムについて詳細な検討及び考察を行った。その結果、造粒することにより含量の不均一は伴わないにもかかわらず顆粒中での成分の偏析が生じることを明らかにした。この偏析は品質が変化する造粒条件において生じたため、これを目安にした品質管理が可能であると考えた。また、合成工程のリアルタイム分析へのUHPLCの適用性を引き続き検討し、重要反応工程パラメータである反応温度、溶媒量を変化させた場合の反応溶液中の原料、生成物及び副生成物の挙動の変化を追跡した。これらの研究成果から、特に個々の不純物に特徴的な挙動を示すことが明らかとなり、条件の変化に対応する管理対象不純物の抽出が可能であり、品質頑健の高い範囲を推定するアプローチを示すことができた(政策創薬総合研究事業)。

UHPLC技術を導入し、従来の分離分析で迅速な分析が困難であった医薬品の分析に適用した。キノロン系合成抗菌薬の同時スクリーニング手法の開発について検討し、8分以内での13種類のキノロン系化合物の同時迅速スクリーニング条件の開発及び16種類のキノロン系医薬品の簡易定量法の開発を行った。

2. 日本薬局方の規格及び試験方法に関する研究

近赤外分光分析法(NIRS)を用いた医薬品の基準・規格の設定及び品質の評価に必要な定量手法について研究を行った。錠剤含量へのNIRS適用における高精度な検量線作製に必要なサンプル数の検討並びに検量モデルの構築アプローチについて、モデル製剤を用いて検討した。

薬局方化学薬品、生物薬品、生薬等の一般試験法、医薬品添加物各条、一般名称等の国際調和に向けた試験研究を実施した。医薬品添加剤関係では、医薬品添加剤のFRCの局方記載の意義と記載方法について検討し、FRCの日局への取込に関する基本的な考え方をまとめた。また製剤試験関係では、溶出試験におけるベッセル形状の影響についてUSPカリブレーター錠を用いて検討し、形状のばらつきはそれほど大きな要因ではないことを明らかとした。また、ピークベッセルを用いて、パドルの回転数と攪拌力等の関係について検討した(厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。

3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

リポソーム製剤の血中薬物放出性を予測可能な*in vitro*評価法の設定を目的に、試験液に界面活性剤および細胞培養液・上清を添加し、リポソームからの薬物放出性を評価したところ、界面活性剤では脂質組成の識別性に優れていることが判明した。また、培養液・上清を添加し

た場合では、条件によって血中安定性と相関する試験法を設定できる可能性が示された（厚生労働科学研究費補助金／政策創薬総合研究事業）。

高機能性製剤の評価を指向した人工膜系の開発を目的に、合成リン脂質ベジクルを展開した人工膜の熱測定およびモデル医薬品の透過性検討から、相転移にともなう境界領域の乱れが脂溶性の低い医薬品の透過に寄与することを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金／政策創薬総合研究事業）。

経口固形製剤の評価法として従来から提案されている消化管内を模した試験液を用いて、難溶性薬物の溶出性を検討し、同種の製剤でも、溶出性が製剤間で大きく異なることを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金／政策創薬総合研究事業）。

抗体医薬等の市販Fcドメイン含有タンパク質性医薬品と胎児性Fc受容体との結合性を測定し、製剤によってそれぞれ異なる結合特性を示すことを明らかにした。

医薬品の分子標的技術あるいは体内動態捕捉手法への応用をめざし、超臨界ハイブリ量子ドット（QD）を結合させたTNF- α を画像に捉え、細胞内への取り込みを明らかにした。

ナノ粒子DDS製剤の品質確保のために必須となる物性評価法に関して検討を開始し、高分子ミセル製剤を用い、その粒子径と凝集性に関する解析を行った。また、薬効と安定性に直結する体内動態評価法の開発を目指し、高分子ミセル製剤と標的細胞との相互作用に関する評価系の構築に着手した。

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と患者について、薬物排出に関与し、抗がん剤の耐性と関連するトランスポーターのMDR1(P-gp)およびMRP2をコードする遺伝子ABCB1およびABCC2の遺伝子変異とPKパラメーターおよび副作用の相関解析を行い、これら遺伝子多型が異なったメカニズムで薬剤反応性に影響を与えていることを示唆する結果を得た（医薬品機構基礎研究推進事業研究費）。

5. 医薬品の物性と安定性に関する研究

種々の糖を含有する β -ガラクトシダーゼ凍結乾燥製剤について、等温マイクロ熱量測定により分解に伴う微小な熱を測定できた。NMR緩和時間によって表わされる小さなスケールの分子運動性が高い製剤ほど発熱量が大きく、ガラクトシダーゼの安定性はスケールの小さな運動性と関連することが示唆された（厚生労働省科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

光学活性な高分子添加剤は、(-)-ニトレンジピンに比

べ(+)-ニトレンジピンに対して大きな安定化作用を示すことを明らかにした。エナンチオマーに対する添加剤の影響は、結晶成長速度よりも核生成速度に対してより顕著であることがわかった。また、原子間力顕微鏡が表面における結晶化過程の解析に有用であることを明らかにした（政策創薬総合研究事業）。

炭酸エステル結合やエステル結合などの分解速度の異なる結合を介してメタクリル酸をデキストランに修飾する手法を確立し、反応性の高い炭酸エステル結合の比率の高いゲルほど速やかな放出速度を示すことを明らかにした（国立機関原子力試験研究費）。

6. 医薬品の品質保証に関する研究

医薬品の品質管理監督システムに関する研究では、医薬品規制国際調和会議(ICH) Q10（医薬品品質システム）モデルの導入に関して、国際的な共通課題と国内導入の課題を検討した。共通課題として、原材料・委受託の品質管理、医薬品品質システム全体の理解が課題であることが再認識され、Q10では、任意とされるマネジメントレビュー、委受託の契約などが、日本においては、法的な（GMP及びGQP）要件であることが認識された。変更管理システムガイドライン案を公表し、広く意見を求め、これを基に修正の方向性を決めた。調査広報活動として、国内外における会議・講演会において、本研究の成果を示すとともに意見を聴取し医薬品品質システムへの課題を抽出した（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

テラヘルツ分光法及びNIRSを用いて結晶レジボアシステムをもつTDDS製剤基剤中における主薬結晶化過程の解析を試みた。また、テラヘルツパルスイメージング技術を用いてフィルムコーティング錠におけるコーティング状態ならびに錠剤内部の構成成分の圧密状態の検討手法を開発するとともに、未解明な部分が多いテラヘルツスペクトルの分光学的性質の解析を行い、製造工程でのテラヘルツ波技術の導入適用性及びデータ解析の適切なアプローチについて検討した（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

製剤開発における処方成分量のフレキシビリティの可能性について、浸透圧ポンプを利用した特殊な錠剤をモデルとして取り上げ、幅記載の方法について取り上げ方と記載方法を検討した（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

効率的なGMP監査手法のあり方に関わる研究においては、前年度までの研究の情報整理を行い、リスク評価に基づいたシステム査察の考え方やその実施方法、ま

た、査察実施後の報告書の作成及び次回査察時のポイントの記載などの体系化の検討を実施した。検討を進めるにあたり、都道府県・機構の調査担当で構成されるGMP/QMS調査・監視指導整合性検討会と連携し、「システム査察実施シナリオ」としてまとめた。さらに、製法変更時の生物学的同等性ガイドライン案を改定し発出のための準備を開始した（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

医薬品製造開発・承認審査の確実かつ効率的なプロセス構築に関する研究では、19年度に作成したMockP2に対する意見募集を内外に対し行った。コメント等に基づき改訂版を作成した。意見を取り入れることに加え、リアルタイムリリース（RTR）の運営に対する議論を追加しMockP2を完成させた。スケールアップ、製造プロセスの変更などを予測的に行うためには、製剤の品質に重要な影響を与える、原料、中間製品の品質特性（Quality Attribute）の理解およびそれらの管理手法の同定が不可欠であること、RTRのためには製造工程試験・監視の検出能と品質試験の検出能を検証しておくことが必要であることを確認した。MockP2をもとに承認申請書の記載例を作成した。RTRについては、製品出荷判断に用いるNIRSによる工程試験の記述については、検量線の作成プロトコルを試験法内に規定する必要があること、並びに製品出荷判断に用いる工程試験に合わせ対応する製品試験を設定しておくことが必要であると結論した。また、工程試験と製品試験の使い分けをあらかじめ規定しておくことが運営上重要であると認識した（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

7 国際動向を踏まえた医薬品の品質確保に関する研究

ICHにおけるPharmaceutical Quality System（PQS 医薬品品質システムQ10）の議論に参加しガイドラインを完成させた。また、Q8（製剤開発）、Q9（品質リスクマネジメント）、Q10実践導入の議論にも参加し、日本において導入した場合におけるメリットおよび問題点について明らかにした（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

ICHにおける医薬品品質ガイドラインQ8-Q10の考え方をバイオ医薬品へ応用する試みに関する欧米の研究動向を調査し、その可能性を考察した（厚生労働科学研究費補助金／医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

生物薬品部

部長 山口 照 英

概 要

バイオ医薬品の開発は急速に進展しており、特に抗体医薬品開発が進んでいる。世界的にも新薬として承認される中でのバイオ医薬品の比率は、増大してきており、米国では2007年の新薬に占めるバイオ医薬品の比率は47%にも上ると報告されている。また、このバイオ医薬品の多くが抗体医薬品とされている。わが国でも、バイオ医薬品の比率は増大しており、また、多くが抗体医薬品であることは同様である。従って、バイオ医薬品の品質・安全性・有効性評価における抗体医薬のウエイトはより増していくものと考えられる。国内製薬企業が相次いで抗体医薬品開発に参入してきており、このような開発が進む抗体医薬品について適切な評価基準や試験法を先導的に開発していくことは審査の迅速化にもつながり、国研としての重要な課題となってきた。

もう一つのバイオ医薬品の大きな潮流としてバイオ後続品（バイオシミラー）の品質・安全性・有効性評価をどのように行うかが挙げられる。EUでのバイオ後続品の開発は急速に進んでおり、現在エリスロポエチンやG-CSF等13品目のバイオシミラー製品（EUでの呼称）が承認されている。また、WHOやHealth Canadaでもバイオシミラー／バイオ後続品ガイドラインの作成が進められている。わが国でも、既に複数の製品の承認申請が出されており、バイオ後続品の評価のための指針作成が急務であった。そこで一昨年から衛研の生物薬品部が中心となり、総合機構、臨床専門家を含めた研究班が組織された。1年半に及ぶ議論を経て、昨年9月に指針案が示され、パブリックコメントによる修正を経て、平成21年3月4日に4件の関連通知として指針が発出された。しかし、バイオ後続品については日本ではまだ黎明期であり、開発する側も審査をする側も経験が多いとはいえない。むしろ、今後の経験の蓄積や関連する技術開発の進展に伴い、より適切な改定が必要になってくると予想される。また、EUで出されているような個別品目のガイドラインの必要性も出てくる可能性がある。

新たなバイオ医薬品に関連する課題として、バイオ医薬品の臨床開発早期における品質・安全性確保のあり方が、欧米で本格的に議論され始めている。すなわち、臨床試験に用いる治験薬のウイルス安全性や品質確保のあり方、さらには初期臨床投与量の設定も安全性上重要な課題となってきた。当部において、従来行ってきた生物薬品の特性解析技術や品質・安全性担保のために基盤研究をさらに進め、時代に即応した治験薬の安全性や

品質管理に関する研究も今後必要となってくると考えられる。特に、品質面から見た安全性評価のための基盤技術開発もこのような治験薬の安全性確保においては重要な課題となりつつある。

以上のようないくつかの新たな潮流に対応し、かつより適切なバイオ医薬品の開発を促進し、かつ審査における科学的根拠を与えるための有用な技術開発、評価研究が当部に求められている。

人事面では、平成20年4月1日付けで、鈴木琢雄研究員が主任研究官に昇格した。平成21年4月1日付けで大野彰子研究員が有機化学部に異動した。また、同日付で橋井則貴研究員が主任研究官に昇格した。平成20年6月23日付けで黄 笑宇氏が第1室の研究補助員として、また平成20年7月1日から秦 艶氏が非常勤職員として採用された。平成20年9月1日付けで、北川博子氏が(財)ヒューマンサイエンス振興財団研究支援者として採用され、生物薬品部に配属された。中島 紫氏は平成20年9月30日付で独立行政法人科学技術振興機構の技術員を、また篠原 聡氏は平成21年2月28日付で非常勤職員を退職した。平成20年8月1日付けで、日本大学総合科学研究所の原島 瑞博士を協力研究員として受け入れた。

海外出張は以下のとおりであった。山口部長は、WHOバイオシミラーガイドライン作成のための専門家会議に出席した(韓国・ソウル、平成20年5月26日～29日)。川崎室長は、ヘパリン製剤に関するワークショップに出席した(フランス・ストラスブール：平成20年6月19、20日)。山口部長は2回のICH遺伝子治療専門家会議に出席した(米国・ポートランド、平成20年6月2日～7日、及びベルギー・ブラッセル、平成20年11月8日～15日)。川崎室長は、バイオ医薬品の一般名称に関する意見交換のために、第47回及び第48回医薬品国際一般名称専門家会議に出席した(スイス・ジュネーブ：平成20年11月18日、平成21年4月1日)。石井室長は、組換えタンパク質性医薬品の免疫原性評価に関するシンポジウムに参加した(アメリカ・ベセスダ：平成20年9月10～12日)。

業務成績

1. ヘパリンの海外での有害事象を受けて開催された医薬品等安全対策部会・安全対策調査会(平成20年4月22日)の答申に基づき、ヘパリンナトリウムの局方試験を追加するための試験研究を実施し、緊急改定に貢献した。

2. その他

薬事・食品衛生審議会の各種部会および約20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や確認申請の専門協議(医薬品医療機器総合機構)に参画した。また、日本薬局方および試験法の改正作業、国際調和作

業(医薬食品局審査管理課)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) バイオ医薬品の特性解析及び品質・安全性評価法の開発の一環として、アフィニティークロマトグラフィー(Protein A)工程のウイルスクリアランス評価へのNATの適用を検討し、ウイルスの除去とウイルス不活化を区別できるNATの利点及び問題点を明らかにした。また、糖鎖試験法整備の一環として、単糖遊離、アセチル化、誘導体化及びHPLCの工程からなる単糖試験法を作成し、多機関共同検定により直線性と特異性を検証した。(HS財団創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)
- 2) 再生医療実用化に向けた細胞組織加工医薬品の安全性・品質等の確保に関する基盤技術開発研究の一環として、① ヒト間葉系幹細胞(hMSC)の糖鎖構造及び分布を明らかにした。また分化能保持予測指標の探索のための基礎的研究として、hMSCの軟骨、骨、脂肪細胞、及び神経細胞への分化能を定性的・定量的に評価する方法を検討した。② 血液単核球由来の2種類の血管内皮前駆細胞の遺伝子発現プロファイルの差異を明らかにし、特性指標候補分子を見出した。(厚生労働省科学研究費補助金)
- 3) 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の一環として、ストローマ細胞の造血支持能を担う候補タンパク質4種類について、過剰発現系を用いて造血支持能への関与を検討したところ、その中の3種類のタンパク質がNIH3T3細胞の造血支持能に関与する可能性を示した。
- 4) 医薬品等の品質・安全性に係る国際的動向を踏まえた評価に関する研究の一環として、① 抗体医薬品の開発の急速な発展に対応する品質・安全性確保に関する各国の規制に関する新たな動向について明らかにした。② 低分子量ヘパリンを酸加水分解し、高性能陰イオン交換クロマトグラフィーパルス電気化学検出法を行うことにより、還元末端及び非還元末端の構造、及び平均分子量に関する類似性を評価できること、並びにコンドロイチン硫酸エステル/デルマタン硫酸エステル等の混入を検出できることを見出した。③ トランスジェニック植物を用いて生産される組換えタンパク質医薬品の品質・安全性確保について、EUのガイドラインを参考に検討し、生産期間を通じて適格な出発原料を供給するための要件を考察した。④ RNA interferenceを用いた医薬品開発の現状と問題点について調査した。その結果、いくつかの臨床試験である程度の有効性が示されているが、臨床適応症、用いる投

与ルート、標的細胞に着目したデリバリーのアプローチ並びに本法に関連した飽和、競合、免疫反応の惹起を含めた毒性の克服が課題であることが明らかになった。(厚生労働省科学研究費補助金)

- 5) 血漿由来製剤のウイルス安全性に関する研究を実施し、血液製剤の安全性確保に関して、昨年度に引き続き新規ウイルス不活化剤の有用性を評価した。またHEV参照パネル作成のための予備的検討を行った。(厚生労働省科学研究費補助金)
- 6) 医薬品を巡る環境の変化に対応した日本薬局方の改正に関する研究の一環として、バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保に関する要件や、局方収載バイオ医薬品との整合性を図るための課題を明らかにした。(厚生労働省科学研究費補助金)
- 7) 遺伝子組換え医薬品等のプリオン安全性確保のための検出手法の標準化及びプリオン除去工程評価への適応に関する研究を実施し、① 異常プリオンの感染性検出のために新たな手法について調査研究を行い、その問題点と有用性を明らかにした。② 異常プリオン検出法確立のための基盤技術として、モデル組織ラット脳からプリオンタンパク質画分を濃縮する方法、並びに電気泳動及びLC/MS/MSによってプリオンタンパク質を検出・同定する手法を確立した。(厚生労働省科学研究費補助金)
- 8) ヘパリン製剤純度試験に関する研究の一環として、核磁気共鳴スペクトル法、陰イオン交換HPLC、及び蛍光標識法によるガラクトサミン定量法を用いた日局ヘパリンナトリウム及びヘパリンカルシウム確認試験法並びに純度試験法の策定と検証を行った。(厚生労働本省医薬品等審査業務庁費)

2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

- 1) 血中微量タンパク質の代謝に関する研究を実施し、MALDI-TOF MSによって血中微量タンパク質の代謝を検討するに当たり、適切なマトリックスを検討した。
- 2) QD標識タンパク質の細胞内動態解析に関する研究を行い、ヒトTNF α 、マウスTNF α のQD標識を行い、TNF α の血管内皮細胞への結合について検討を行った。
- 3) 発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関する研究の一環として、VEGF刺激による血管内皮前駆細胞の遊走に関するPI3-kinaseアイソフォームを明らかにした。(厚生労働省特別研究費)
- 4) HIV感染を阻害するシュードプロテオグリカン型薬剤の作用メカニズムに関する研究の一環として、2次元NMRによりHIV-1感染抑制効果の認められた硫酸化したグリコサミノグリカン及びシュードプロテオグリカンの構造解析を行い、硫酸基の結合位置を明らかに

した。(厚生労働省科学研究費補助金)

- 5) Fc受容体との相互作用に着目したTNF阻害抗体医薬の生物学的特性に関する研究の一環として、表面プラズモン共鳴法によりFcRnとFcドメイン含有タンパク質の結合性を解析し、一部の抗体を除いたFcドメイン含有医薬品の血中半減期とFcRn結合親和性の間に高い相関があることを明らかにした。またTNF α との結合がTNF阻害薬とFcRn間の親和性に影響を及ぼす可能性を示唆した。(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研究

- 1) ホルモン等の作用発現に関与する諸因子に関する研究の一環として、培養肝細胞においてアネキシンIIIのノックダウンにより発現が変化する増殖関連遺伝子を網羅的に解析した結果、P16^{INK4a}が増加しCyclin A1、Protamine 1が低下することが明らかになった。
- 2) グライコミクス及びプロテオミクスの手法を用いたバイオマーカーの探索に関する研究の一環として、大腸癌細胞に発現しているシアリルルイスX結合タンパク質を同定した。また、この糖タンパク質は、他の癌細胞にも発現しているが、正常細胞には発現していないことを明らかにした。(科学研究費補助金)
- 3) ヒト幹細胞の分化における糖鎖機能の解明に関する研究の一環として、¹³C置換フェニルヒドラジンを用いた糖鎖標識法及びLC/MSを組み合わせた分析法によりhMSCの糖鎖プロファイリングを行い、培養条件の違いにより糖鎖プロファイルが変化することを明らかにした。(科学研究費補助金)
- 4) 細胞内反応を可視化し解析する技術の開発に関する研究として、2種類のFRET型プローブを同時使用し、各種小胞体ストレス誘発物質添加時のカスパーゼ活性化について比較を行った。
- 5) アネキシンIIIを標的とした癌治療に関する基礎的研究を実施し、アネキシンIIIのノックダウンは、ヒト肝癌由来HuH7細胞の腫瘍形成を抑制することをヌードマウスの皮下移植モデルで明らかにし、その分子機構としてCOX2の発現抑制の可能性を示した。(厚生労働省がん助成金)
- 6) 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を実施し、食細胞の活性酸素生成酵素の制御に重要な役割を果たすことを見出したS100A8タンパク質の機能を解析するためにcDNAを取得し、発現タンパク質作成を行った。
- 7) Notch および Notch リガンドタンパク質の糖鎖修飾とその生理機能に関する研究の一環として、ヒト培養細胞を用いたNotchリガンドタンパク質の発現系を構築し、これらタンパク質の精製方法を確立した。

Notchシグナル伝達経路の活性化を評価するアッセイ系を構築し、糖転移酵素のノックダウンがNotchリガンドタンパク質の機能に与える影響を検討した。

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を利用して製造されたタンパク質性医薬品に関する研究の一環として、モデル植物としてヒメツリガネゴケを用いたタンパク質発現系を構築するにあたり、培養環境の整備、培養条件の検討、及び遺伝子組換え体の作製に使用するプラスミドベクターの構築を行った。
- 2) ラジオイムノセラピーに適した放射線増感剤-抗体コンジュゲートに関する研究を実施し、2-ニトロイミダゾール誘導体-抗体コンジュゲートは、EGFR高発現ヒト肺癌由来A549細胞の低酸素放射線抵抗性を解除したが、EGFR低発現ヒト乳癌由来SKBR3細胞では解除しないことを明らかにした。(国立機関原子力試験研究費)

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等に関する試験・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に関する研究を行っている。

平成20年度で特筆すべきことは「一般用漢方製剤承認基準」が平成20年9月30日に医薬食品局審査管理課長通知として発出されたことである。この通知は、昭和47年、薬務局審査課の内規として出された「一般用漢方処方210処方の承認審査内規」(旧基準)の初めての改定であるばかりでなく、内容を一新した全面的な改定で、漢方に関連する分野においてエポックメイキングなものと考えられる。生薬部では、平成14年より6年間(厚生労働科学研究としては5年間)にわたり本改定に向けて継続的な研究と作業を行ってきた。一方で、本改定は、あくまでも旧基準210処方の見直しに相当するものであり、従前に完成させた「新一般用漢方処方の手引き案」

で収載を提案した新規処方については、「一般用漢方処方に関する検討会」レベルで議論されている段階である。このような手引き案で挙げた新処方が、引き続き部会等で検討され新基準に追加収載されてこそ、これまでの研究成果が反映され、漢方処方が、現代の国民のニーズにあったセルフメディケーションに貢献できるものと考えている。日本薬局方関連では、日本薬局方の第二追補に関する原案が全て日本薬局方フォーラムで公開された。このうち生薬関係の新規収載処方は、カッコウ、ニクズク、ボクソク、リュウガンニク、ローヤルゼリー、リュウコツ末及び、牛車腎気丸、真武湯、八味地黄丸の各エキスである。

監視指導麻薬対策課関連で特筆すべきことは、違法薬物の世界で流通している製品より複数の合成カンナビノイドを単離同定したことである。本内容については、速報等で世界に先駆けて論文発表を行っている。また、平成21年1月に第3次分として新たに6化合物が指定薬物に指定されたが、これらの薬物について、指定薬物として指定するために必要な科学的データの収集、分析用標品の合成・準備、分析法の確立等を行った。また本年度も、地方衛研担当者及び麻薬取締部の鑑定官に対し分析・鑑定に関する研修を行うとともに、分析用標品の公立機関への配布を行った。さらに麻薬・向精神薬では、*N*-OH MDMAが麻薬指定されたが、当部において指定のための様々な研究、対応を行った。特に、生体内で本化合物は代謝され、脱水酸化されることは興味深い知見である。

生薬部では、所掌にないが、国立医薬品食品衛生研究所のミッションのひとつと考え「科学的な知見に基づく食薬区分」に関し厚生労働科学研究等で対応している。近年、特にED治療薬類似無承認無許可医薬品の摘発が増えているが、平成20年度では、シクロペンチナフィル、*N*-オクチルノルタダラフィル、キサントアントラフィル、チオキナピペリフィルについて当部で構造決定の論文報告等を行うとともに、厚生労働省等で報道発表がなされた。また、シクロペンチナフィル、*N*-オクチルノルタダラフィルの論文報告は、学術誌の表紙に採用された。またこれまでの対応を反映して、平成21年2月20日に医薬品の範囲に関する基準が改正され、7品目が専ら医薬品成分として追加された。

生薬の国際調和関連では、Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH)の日本事務局として、FHHの活動に関与するとともに、平成20年11月4日韓国ソウル大学で開催されたStanding Committee Meeting, Sub-Committee I Meetingに参加した(合田、川原)。さらに、11月5日の第3回FHH国際シンポジウムに参加し発表(合田)を行った。またASEAN伝統薬製造品質管理研修等JICWELSの活動等に積極的に関

与した。特にASEANの研修では、当部で行っている薬局ベースの使用実態調査研究について、伝統薬の有用性評価法として強い興味を持たれた。さらに、JSTアジア研究教育拠点事業「日中における薬用植物の育種と標準化および創薬に関する研究教育交流拠点」に協力した。

学会関連では、安食協力研究員及び川原室長らが研究を行った「雪茶を例とした味認識装置による味のプロファイル分析」が日本食品化学学会第3回論文賞を受賞した。また、勢ノ流動研究員及び袴塚室長らが行った「新規漢方処方品の品質規格に関する基礎的検討(8)嫌気性腸内細菌の影響に及ぼす漢方処方」が、日本薬学会第129年会の注目演題として講演ハイライトに採用された。また合田は、平成20年6月に韓国広江陵市で行われた第4回KSP-JSP-CCTCMの合同シンポジウムで、日本生薬学会の代表の一人として講演を行った。

平成20年度の人事面の移動は以下の通りである。平成20年10月1日付けで勢ノ康代博士が公定書協会流動研究員に採用された。また平成20年7月1日より若菜大悟博士が、平成20年10月1日より岩下恵子博士が国立医薬品食品衛生研究所派遣研究員として勤務している。川原信夫第一室長は、独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター長に就任(出向)するため平成21年3月31日に退職した。

前述したもの以外の海外出張は、以下の通りであった。6月1日～6月10日フランス領マルティニークで行われたThe international association of forensic toxicologists 46th international meeting (TIAFT 2008)に参加し、研究発表を行った(花尻)。12月18日～21日中国、上海で開催された2008' Shanghai International Symposium for Pharmaceutical Sciences (JSTアジア研究教育拠点事業)に参加し、研究発表を行った(川原)。

試験・製造・調査・国際協力等の業務

1. ソウジュツ及びソウジュツを含む漢方処方製剤(平胃散及び胃苓湯)、ガジュツ及びガジュツを含む生薬製剤57品目59検体について重金属及びヒ素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(「強壮用製品」)、瘦身効果を標ぼうする製品(「瘦身用製品」)及び近年乱用が問題となっているいわゆる「違法ドラッグ」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を実施し、当部で医薬品成分等の分析試験を行った。分析を行った製品は、強壮用製品156製品(重複を除くと144製品)、瘦身用製品72製品82試料(1製品2試料2, 1製品3試料1, 1製品7試料1, 重複2製品)、違法ドラッグ製品28製品29試料である。これらのうち、強壮用製品24製品から

分析対象化合物が、違法ドラッグ4製品から新規流通化合物1-(2,5-dimethoxy-4-nitrophenyl) propan-2-amine (DON)を含む違法ドラッグ4化合物が検出された。以上の結果は、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。

3. あへん(国産あへん11件, 輸入あへん69件, 計80件)中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、LSD 70 mg (1 mg/mLメタノール溶液1 mLアンプル70本)及びオキシコドン塩酸塩3 gを確保し、各種定性データと共に医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。また、鑑識用標準品として92化合物を管理し、平成20年度はのべ61化合物を全国の鑑識機関に交付した。
5. 違法ドラッグの麻薬指定調査に係わり、分析用標品として*N*-OH MDMAシュウ酸塩(平成21年1月16日より麻薬として規制)を製造し、定性・純度試験を行うとともに、構造類似麻薬MDMA, MDA及び*N*-OH MDAとの識別法を検討した。以上の結果は、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
6. 違法ドラッグの分析法等の調査に係わり、指定薬物の分析用標品としてDOI塩酸塩, bk-MDEA (Ethylone)塩酸塩, MDPV 塩酸塩, bk-MBDB塩酸塩, Indan-2-amine 塩酸塩, Ethcathinone塩酸塩, MDBP (1-piperonylpiperazine) 塩酸塩の7化合物を大量製造・確保し、定性試験結果と共に、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。また、1-(8-bromobenzofuro[5,6-b]furan-4-yl)propan-2-amine (Bromo-Dragonfly, BDFLY) 及び1-(8-bromo-2,3,6,7-tetrahydrobenzofuro[5,6-b]furan-4-yl)propan-2-amine (3C-B-FLY, BFLY)について合成を検討した。なお、指定薬物分析用標品として39化合物を管理し、平成20年度はのべ22化合物を全国の分析機関に交付した。
7. 平成21年1月に新たに指定薬物に指定された6化合物5-MeO-EIPT, Ethcathinone, DOC, ALEPH-2, *N*-Methyl-4-FMP, MDPVについて分析マニュアルを作成し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。本報告は、厚生労働省より全国に通知された。(平成21年1月26日厚生労働省監視指導・麻薬対策課長通知「指定薬物の分析法について」薬食監麻発第0126001号)。また別にMethylone, bk-MDEA, bk-MBDB, MDPVについて、定性・定量分析並びに各薬物の解説を記し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
8. 麻薬及び乱用薬物に関する情報収集を行い、関係部局(医薬食品局監視指導・麻薬対策課及び地方厚生局麻薬取締部)に情報提供を行った。特に、平成20年度に指定薬物として緊急に対応すべき薬物については、

リスト化し、有害性情報を収集整理し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。なお本報告は、平成20年8月に行われた薬事・食品衛生審議会指定薬物部会において、審議参考資料として利用された。

9. 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課の依頼により、1月26日に36都道府県51名の担当者を対象として、平成20年度指定薬物分析・鑑定に関する研修を国立衛研で開催した。また、2月26日に、全国の地方厚生局麻薬取締部の鑑定官17名を対象として、指定薬物、新規指定麻薬化合物及び大麻種子発芽試験に関する研修を国立衛研で開催した。
10. 地方衛生研究所等に対し、分析用標品（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、オリスタット、シルデナフィル、バルデナフィル、タダラフィル、ホンデナフィル、キサントアントラフィル、チオキナピペリフィル、イデベノン、ユビデカレノン他）の配布（のべ108件）を行うとともに、違法ドラッグ成分、強壮成分等の分析に協力した。
11. いわゆる健康食品から検出されたED治療薬類似化合物等の法的規制に協力した。
12. 社団法人国際厚生事業団及び厚生労働省国際課国際協力室が行う、アセアン伝統薬製造品質管理研修に協力した。
13. 薬事・食品衛生審議会の部会、調査会等の委員及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員として日本薬局方の改訂作業、動物用医薬品及び一般用医薬品の承認審査、指定薬物の指定、新開発食品の評価等に協力した（合田、川原、袴塚、花尻）。また、内閣府の食品安全委員会専門委員（合田）および厚生労働省医薬食品局長等が主催する各種検討会等の委員として、審議に参画した（合田、花尻）。
14. 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. 生薬の品質確保に関する研究として、タンジン、トウジン等の試験法等を検討した。また、漢方処方の方局収載のための原案作成WG会議を実施し、十五局第二追補及び十六局収載をめざす漢方処方について、各種試験法の検討を行うとともに、原案のとりまとめ、修正を行った。
2. 漢方処方の品質評価と味認識に関する研究として、半夏厚朴湯エキスを試料とし、味と成分含量の関係を明らかにした。また、生薬中の残留二酸化硫黄が味に与える影響について検討した。
3. クリーンアナリシスを指向した国際調和の観点から、日本、中国、韓国、ベトナム4カ国の薬局方に収載さ

れる共通生薬について、TLCを用いた確認試験法で使用される各種有害試薬の比較表を作成し、比較試験を行った。また、11月にソウルで開催されたFHH関連の会議に参加し、活動報告等を行った。

4. 薬局方の薄層クロマトグラフィー用試薬としてのシャゼンシ、ゴシツの規格並びに、認定手続きを検討した。また、ガイヨウに関し、同様な試薬の可能性について検討した。
5. 生薬の不純物に関する研究として、重金属やヒ素の含有値のばらつきの原因解明を行った。また、加味逍遙散、半夏厚朴湯を用いた有機リン系農薬の煎液への移行率ならびに処方エキス乾燥工程での有機リン系農薬の消長について明らかにした。
6. 一般用漢方処方の品質確保に関する研究として、新一般用漢方処方の手引き案（改訂版）を基盤として「一般用漢方製剤承認基準の制定について」（薬食審査発第0930001号）が発出されるまでの段階で、213全処方について、効能・効果、しぼり等について、整理、取りまとめ等を行った。
7. 漢方処方麗沢通気湯及び当帰芍薬散加附子の品質評価法について検討し、TLCによる確認試験とHPLCによる成分定量法を確立した。
8. 一般用漢方処方の有用性及び安全性に関する研究として、漢方処方甘露飲の抽出エキスがヒト小腸上皮細胞株細胞Caco-2の薬物排出トランスポーターMRP2のタンパク質レベルを減少させることを見出した。
9. ヒト腸内常在菌の育成に対する漢方処方の影響について検討し、小承気湯、大黃甘草湯、麻子仁丸等がある種の乳酸菌の生育を阻害し、乳酸の生産を強く抑制することを見出した。
10. 医療用漢方処方後発品の同等性評価に関する研究として、補中益気湯、桂枝茯苓丸、大黃甘草湯及び苓桂朮甘湯を材料に、漢方処方エキス収量を指標とする品質評価法について検討した。
11. 依頼のあった新規な植物由来物質10品目及び化学物質6品目、動物由来物1品目の本質について専ら医薬品として使用される成分本質（原材料）であるかどうか調査を行った。
12. 専ら医薬品として区分されるトウジンについて、成分研究を行った。
13. 強壯を謳った「いわゆる健康食品」中の未知物質について、単離、構造決定を行い、PDE5阻害剤として報告されていたKF31327であることを報告するとともに、チオキナピペリフィルと命名し、その分析法について検討した。
14. 「いわゆる健康食品」から分離された未知物質について、絶対構造も含め構造解析を行い、シルデナフィ

- ル新規類似化合物, タダラフィル新規類似化合物と
同定し, それぞれシクロペンチナフィル, *N*-オクチルノ
ルタダラフィルと命名した.
15. 3-*n*-butylphthalide を主成分とするセロリ種子及び
coumarin 類を主成分とするセロリ種子について, 外
部形態比較及び DNA 配列解析による基原種鑑別を
行った. その結果, 前者は, 真正のセロリ (*Apium*
graveolens) を基原とし, 後者は, 同じセリ科の *Seseli*
diffusum を基原としていることを示唆する結果を得
た.
 16. 健康食品として流通するトケイソウ属植物関連製品
の安全性評価のため, 成分のプロファイル分析による
基原種調査を行った.
 17. テトラゾリウム塩試薬発色法を用いた大麻 (*Cannabis*
sativa L.) 種子発芽能力の迅速鑑別法を確立した. なお,
本法に関しては, 複数の報道機関より取材があった.
 18. 市場に流通する *Lophophora* 属のサボテン 27 個体
について, DNA 配列解析による基原種分類を行う
とともに, LC-PDA-MS による mescaline の定性分析
を行い, 基原種と含有成分の相互関係を調査した.
 19. 麻薬であるMMDA, MDA及びTMAの前駆体myristi-
cin, safrole及びelemicinを含有するニクズク科 (*Myristi-*
caceae) 植物について調査研究を行った.
 20. クエン酸フェンタニル中毒患者の薬物使用歴推定
を目的として, LC-MS/MSを用いた毛髪中のクエン酸
フェンタニル及びその代謝物ノルフェンタニルの高感
度分析法を開発した.
 21. *N*-OH MDMAについて, 呈色反応, TLC, IR,
HPLC (LC-MS) 及びGC-MSの分析データを示し, 構
造類似麻薬であるMDMA, MDA, *N*-OH MDAとの識
別法を示した. また, 本化合物の各pHの溶液におけ
る安定性及びに固相抽出カラムを用いた効率の良い抽
出法を示し, 分析を行う上で注意すべき点について考
察を加えた. さらに, 実際の*N*-OH MDMA含有市場流
通製品の分析結果を示した.
 22. DART-TOF/MSを用いて, 覚せい剤メタンフェタミ
ン及び合成麻薬MDMA, また, 両化合物の代謝物ア
ンフェタミン及びMDAを対象化合物として, 尿中乱
用薬物のスクリーニング法を検討し, 本法がこれら化
合物の簡易分析法の一手段となる可能性を示した.
 23. 植物系違法ドラッグ, シニクイチ (*Heimia salicifo-*
lia) について, DNA 塩基配列解析による基原種鑑別を
行った.
 24. 植物系違法ドラッグ市場に流通するロータス系製品
について園芸 (交配) 種を含めた DNA 配列解析によ
る流通実態調査を行った.
 25. 違法ドラッグ市場に流通するファラリス製品 (栽培
用種子) および国内自生ファラリスについて, *tmL-*
*tmF*領域配列解析を利用した基原種鑑別を行った.
 26. NMRおよびESRを用い, *N*-OH MDMA及び構造類似
麻薬*N*-OH MDAの分解メカニズムを検討し, これら
化合物の分析の際には, アルカリを用いない方法が重
要であることを示した.
 27. *N*-OH MDMAのUPLC-MS/MSを用いた生体試料中
分析法を検討すると共に, 薬物投与ラット血漿, 尿,
毛髪中の挙動を検討した.
 28. 平成20年度新規指定薬物6化合物について, 呈色反
応, TLC, LC-MS及びGC-MSの分析データを示し, 他
化合物との識別法を検討した. また, インターネット
上の記載や文献報告から日本においても流通の恐れ
のある違法ドラッグ成分, 実際に流通が認められた新規
違法ドラッグ成分5化合物について分析データを示し
た. さらに, 買い上げ製品の中から, 指定薬物及び麻
薬成分が検出された事例について検討を加えた.
 29. 平成20年度に買い上げられた違法ドラッグ製品より,
新規流通違法ドラッグ成分として, 1-(4-methylphenyl)-
2-methylaminopropan-1-one(4-methyl-methcathinone)を
同定した.
 30. 平成20年度に買い上げられた植物系違法ドラッグ製品
より, 合成カンナビノイドである (1*RS*,3*SR*) -3-[2-hy-
droxy-4-(2-methylnonan-2-yl)phenyl]cyclohexan-1-ol及
び 1-naphthalenyl(1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)methanone (JWH-
018) を単離, 同定した.
 31. 分析用標品として使用する目的で, 平成21年1月か
ら指定薬物として規制された*N*-Methyl-4-FMP塩酸塩
を合成し, 構造確認および品質試験を行った.
 32. 指定薬物候補化合物5-MeO-EIPT, DOC及び
ALEPH-2について, G タンパク質結合受容体とCa²⁺感
受性発光蛋白エクオリンを安定に共発現する組換え細
胞を用いたAequorin/GPCRs cell-based Ca²⁺ functional
assayを行い, GPCRs (5HT2a) 活性を検討した.
 33. 指定薬物4-FMP, *N*-Methyl-4-FMPをラットに投与し,
脳波, 覚醒-睡眠時間, 自発運動量の変化について検
討を行った. その結果, 両化合物ともにラットの脳波
に有意な変化を与え, 投与量依存的に覚醒量および自
発運動量が有意に増加することが明らかとなった.
(以上, 厚生労働科学研究費・医薬品・医療機器レギュ
ラトリーサイエンス総合研究事業, 健康安全確保研究
費及び乱用薬物基礎研究費)
 34. PCR-RFLP 法を利用したビャクジュツのソウジュ
ツに対する純度試験法案を作成し, 7機関による分析
法バリデーション試験を行った. その結果, 全機関,
全試料において正しい結果を導き, 同方法は, 高い
精度と簡便性を有する優れた方法であることが確認

出来た。

35. 西洋ハーブの品質確保に関する研究として、欧米の薬局方等を参考にしながら、国内に健康食品として流通するブラックコホシユ及びイチョウ葉についてTLCあるいはLC-ELSDによる品質評価を行った。
36. 西洋ハーブの品質確保に関する研究として、チェストツリー及びブラックコホシユについてPCR-RFLP法による遺伝子鑑定法を確立した。
37. いわゆる健康食品として市場に流通する西洋ハーブチェストツリーについて、日本薬局方一般試験法に準じた崩壊試験を実施し、品質に問題のある西洋ハーブ製品が存在することを示した。
38. 西洋ハーブブラックコホシユを投与した乳酸菌*Lactobacillus reuteri*における遺伝子発現の変動をマイクロアレイによって網羅的に解析し、一連の細胞増殖関連遺伝子の発現が増大することを見出した。
(以上、厚生労働科学研究費政策創薬総合研究事業)
39. 17種の精油について味認識装置を用いて香り成分の水溶液中における味測定を行い、各種精油類の味分布、味強度に関するプロファイル分析を行った。
40. 第15改正日本薬局方第二追補及び十六局新規収載の生薬の性状、内部形態について検討した。
41. 徳川家康の薬「烏犀圓」に配合される生薬について、引き続き、類似する生薬の異同に対する疑問点の解明と動物を基原とする生薬について鑑別の特徴となる要素の整理を行なった。また、類似する組織を比較するために必要となる写真のデジタル化を行い、基本組写真の作成に取り組んだ。

遺伝子細胞医薬部

部 長 鈴 木 和 博

概 要

遺伝子細胞医薬部は遺伝子治療、細胞治療、診断等に係わる医薬品の安全性、有効性に関する研究業務を担っている。社会的な注目度の高い「再生医療」の中心となる細胞治療薬は言うまでもなく、遺伝子治療薬、核酸医薬、診断薬等もバイオ技術の急速な発展に伴って、新しい製品の開発が急速に進んでいる。このような先端的な医療技術を実用化・普及させるには、それにふさわしい新しい視点に基づく規制を整備し、安全性を確保することが欠かせない。

行政面では平成12年に発せられた指針「ヒト細胞組織利用医薬品等の指針」(医薬発第1314号)が大きな役割を果たしてきたが、この分野の研究の進歩に合わせて改

訂作業が進められ、平成20年2月には「ヒト(自己)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」、同年9月には「ヒト(同種)由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保について」が発出された。また、いずれについても内容を具体的に解説したQ&Aが出され、免疫応答や感染のおそれが異なる「自己由来」と「同種(他家)由来」の細胞・組織を区別して取り扱うことが理解しやすくなっている。また、臨床研究がシーズを生み出すことが多いこの分野で、その成果が切れ目なく治験や実用化に繋げられる要件を示すべく「再生医療における制度的枠組みに関する検討会」が平成21年4月よりスタートし、省庁、企業、患者を含めた横断的な議論を2年計画でまとめることになった。

当部は以下のような実験研究や調査を展開して科学的なデータを提示するとともに、当該分野の指針等の立案・策定に貢献してきている。

人事面では、平成20年11月9日から12月12日の間、日本学術振興会二国間交流事業共同研究(研究課題名:プロテオーム解析を用いたインド産植物ギムネマの抗糖尿病作用メカニズムの解析)の研究打合せ及びサンプル分析のため、インド、アンナ大学生物工学部のラジャグル博士を受け入れた。平成21年4月1日付けで内田恵理子第一室長の厚生労働省大臣官房厚生科学課の併任が解除され、田邊思帆里研究員に併任が発令された。

海外出張としては、鈴木孝昌室長が平成20年9月に第38回欧州環境変異原学会(European Environmental Mutagen Society)(カブタット/クロアチア)に参加して研究発表を行い、平成21年2月に日本学術振興会二国間交流事業共同研究にてインド、タミルナド州ティルチラパリのアンナ大学、ラジャグル博士を訪問し、プロテオーム解析を用いたインド産植物ギムネマの抗糖尿病作用メカニズムの解析に関する共同研究打ち合わせおよびサンプル調製を行った。平成21年1月には中国科学院、上海薬物研究所より招聘を受け、「ゲノミクスおよびプロテオミクスを用いた安全性研究」について講演を行うとともに、共同研究打ち合わせおよび実験指導を行った。佐藤陽治室長が厚生労働省医薬食品局審査管理課の依頼により平成21年3月11日～15日に英国ロンドンの欧州医薬品庁本部を訪問し、欧州連合における先端医療製品の新しい審査体制に関する調査を実施した。

業務成績

厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員として、組換えDNA技術応用医薬品調査会、医療機器安全対策部会の審議に協力した。日本薬局方原案審議委員会生物薬品委員会及び名称委員会における局方の改正作業に協力し

た。農林水産省動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会委員として協力した。独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員として、カルタヘナ法に基づく確認申請に係る専門協議、医薬品一般名称 (JAN) に係る専門協議及び新薬の承認審査に係る専門協議 (遺伝子治療薬1品目) に協力した。人事院国家公務員採用 I 種試験 (理工 IV) 試験専門委員として協力した。

研究業績

1 遺伝子治療薬及び細胞・組織加工医薬品の特性と品質評価に関する研究

(1) 「再生医療実用化に向けた細胞組織加工医薬品の安全性・品質等の確保に関する基盤技術開発研究」

①HBVの高感度検出のためのポリ-L-リジン結合磁気ビーズを用いたウイルス濃縮法を開発し、低濃度キャリアの高感度ウイルススクリーニング法としての有用性を確認した。また、パルボウイルスB19の*in vitro*持続感染系を確立した。(厚生労働科学研究費補助金)

②細胞組織加工製品の正常細胞集団中に微量に存在する造腫瘍性細胞を特異的かつ高精度で検出可能な*in vitro*評価系の最適化を行った。すなわち、悪性細胞を検出するための*in vitro*アッセイ系として知られる軟寒天コロニー形成試験法の、細胞組織製品の造腫瘍性評価における性能を評価するために、ハイスルーブットに改良された軟寒天コロニー形成試験法の悪性細胞の検出限界、感度、悪性細胞に対する選択性、および精度のバリデーションを行うと同時に、同試験法における細胞検出系の最適化を検討した。ハイスルーブット軟寒天コロニー形成試験法の細胞検出系を、核酸結合性の蛍光色素による検出から、細胞内ATP感受性の化学発光による検出へと変更した結果、検出感度や検出限界の顕著な改善が認められたが、悪性細胞に対する選択性および検出精度に関してはむしろ低下することが明らかとなった。これらの結果より、細胞組織製品の造腫瘍性評価という観点からすれば、細胞内ATP感受性の化学発光検出系よりも核酸結合性の蛍光色素による細胞数評価系のほうが適していることが示唆された。(厚生労働科学研究費補助金)

③細胞組織加工医薬品の品質評価に向け、ナノLC-MS/MSを用いた高感度プロテオーム解析法の確立を行い、ヒト間葉系幹細胞の特異的CDマーカーを網羅的に検出することに成功した。(厚生労働科学研究費補助金)

(2) 「医薬品等の品質・安全性に係る国際的動向を踏まえた評価に関する研究」として腫瘍溶解性ウイルスの品質・安全性確保のあり方について検討し、特性解析、

非臨床試験及び臨床試験において考慮すべき事項を明らかにした。(厚生労働科学研究費補助金)

(3) 「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、ストローマ細胞の造血支持能を担う候補タンパク質4種類について、過剰発現系を用いて造血支持能への関与を検討し、その中の3種類のタンパク質がNIH3T3細胞の造血支持能に関与する可能性を示した。(一般試験研究費)

(4) 「細胞組織加工製品の品質・安全性確保基準に関する研究」として、アカデミアと連携したトランスレーショナルリサーチに規制サイドとして参画し、ヒト細胞組織加工医薬品・医療機器 (細胞組織加工製品) の品質及び安全性確保基準についての国内外の規制動向を調査し、医療としての実用化を一層促進するための、製造管理技術及び品質確保技術のあり方、および臨床研究・臨床治験のあり方について検討を行った。(国立循環器病センター・循環器病研究委託費)

(5) 「バイオ医薬品の特性解析及び品質・安全性評価法の開発に関する研究」としてアフィニティークロマトグラフィー (Protein A) 工程のウイルスクリアランス評価へのNATの適用を検討し、ウイルスの除去とウイルス不活化を区別できるNATの利点及び問題点を明らかにした。(政策創薬総合研究事業)

(6) 細胞組織加工製品の有効な利用には移植を受ける患者側の病態との関連も十分に理解することが重要であるとの観点から、その一環として、循環器領域における病態生理学的研究、特に、血管病態に対する核内受容体リガンドの作用の研究を実施し、甲状腺ホルモンの血管平滑筋への作用について詳細に検討することにより、血管弾性に関連する甲状腺ホルモンの生理的な標的遺伝子を同定することに成功した。(ヒューマンサイエンス財団・政策創薬総合研究事業)

2 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

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、多形核白血球のカルシウム結合タンパク質の機能発現機構について検討した。(一般試験研究費)

3 診断用医薬品に関する基礎的研究

(1) ギムネマを投与した糖尿病モデルマウスの肝臓、腎臓、膵臓より総タンパク質を抽出し、ナノLC-MS/MSを用いたプロテオーム解析により、特異的に変化する分子を検索した。(インド、アンナ大学との共同研究) (日本学術振興会二国間交流事業)

(2) ヒト尿を用いた高感度プロテオーム解析法の確立を行うとともに、質量分析データの効率的解析のための

ソフトウェア「mzMore」の開発を進めた。(一般試験研究費)

- (3) c-myc遺伝子の増幅を持つがん細胞株16種類を細胞バンクより入手し、独自に作成した8番染色体特異的オリゴCGHアレイを用いたc-myc領域の増幅単位に関する検討を行った。(厚生労働科学研究費補助金)
- (4) TLDA (TaqMan Low Density Array)を用いたリアルタイムPCRによる簡便迅速な遺伝子発現解析法を用いた遺伝子傷害性肝発がん物質のスクリーニング法の開発と評価を行った。(厚生労働科学研究費補助金)
- (5) 幹細胞における網羅的遺伝子解析を行った結果、EPHA5, NOV, NDN, およびRUNX2の遺伝子発現が培養継代数依存的変化を示した。(厚生労働科学研究費補助金, 厚生労働省がん研究助成金)

療 品 部

部 長 松 岡 厚 子
前部長 土 屋 利 江

概 要

療品部では多種の医療機器の多分野にわたる試験、研究、基準作成等を行っている。平成17年度より医療機器の工学的解析を強化するための増員が認められた結果、平成21年4月1日現在、10人の職員のうち工学系出身者が4名(高分子材料、力学、電気、コンピュータシミュレーション)になっている。各自の得意分野での研究を総合して、最終目標である医療機器不具合低減化に向けた業務が充実しつつある。再生医療分野の発展にともない、ヒト細胞および組織を用いる製品に社会の注目が集まる一方、従来型の医療機器も高度化し、それを使いこなす医師にも熟練が要求される時代になっている。中立公正な立場から、解明した医療機器不具合要因を公表しより良い医療機器開発に向けた提言をするとともに、特に埋植医療機器を使用されている患者さんのQOL向上に寄与したいと考えている。

人事面では、土屋利江部長が平成21年3月31日付けで定年退官し、大阪大学医学部附属病院未来医療センター上級オフィサー、九州大学客員教授、東京女子医科大学客員教授、先端医療センター研究所客員研究員として赴任された。また佐藤道夫埋植医療機器評価室長も同日付けで定年退官され、4月1日付けで同室研究員として再任用された。部長の後任には、松岡厚子第三室長が平成21年4月1日付けで昇格した。非常勤職員西川竜平博士は平成20年8月31日付けで退職され、再生医療の拠点大学に助教として採用された。平成20年9月1日付けで河上強志

研究員が採用され、第二室に配属された。平成21年4月1日付けで迫田秀行研究員は主任研究官に昇格し、福井千恵氏が非常勤職員として採用された。

土屋と中岡は、ベルリンで開かれたISO/TC 150/SC 7(再生医療機器)とISO/TC 194/SC 1(身体組織製品の安全性)の合同会議に出席し、これからの再生医療機器に関する国際標準化について討議した。また、土屋は、これに引き続いてベルリンで行われたISO/TC 150(外科用インプラント)年次総会に出席し、国際標準化文書作成に参加した(2008年9月)。松岡はISO/TC 194/WG 6(医療機器の生物学的安全性試験・遺伝毒性)出席のためウィーンに出張し、ISO文書策定の討議を行った(2008年9月)。2008年10月土屋は、ロンドンで開催されたASTMF04に出席し、提案文書の修正を行った。2008年12月植松は国際医用生体工学会議(シンガポール)に出席し発表した。

平成20年10月18日に第6回医療機器フォーラムを開催し、「医療機器審査を巡る最近の動向 次世代(細胞組織)医療機器最前線と品質・安全性」をテーマとした。ガイドワイヤ、冠動脈ステントの品質・安全性、バイオ肝臓、角膜内皮再生の最前線、および神経刺激装置の最前線について最先端の研究が紹介された。

業務成績

1. 家庭用品の規制基準に関する試験検査

家庭用品の安全性を確保するため、家庭用品に含まれる有害物質の分析法の設定及び有害物質含有家庭用品規制法が定める試験法の改訂の検討を実施した(家庭用品等試験検査費)。

2. 家庭用品による健康被害防止に関する試験検査

家庭用品による健康被害を防止するため、家庭用品からの化学物質の溶出状況等について調査した。また、重大製品事故等の原因及び対策について検討した(家庭用品等試験検査費)。

3. 細胞組織医療機器関係国際調和・国内基準

土屋と中岡は、平成19年より正式に発足したISO/TC 150/SC 7(再生医療機器)のベルリン会議に参加し、再生医療機器に関する標準化文書作成の分担をISO/TC 194/SC 1(身体組織製品の安全性)と調整した。このことで、前者は一般的事項と機器の評価技術を、後者は機器の安全性を担当することになった。また、土屋、中岡、迫田はISO/TC 150/SC 7幹事国業務委員会に委員として参加し、SC 7の幹事国としての運営及び必要な業務を行った。

4. 医療機器関係国際調和・国内基準改訂等

ISO/TC 150国内委員会（佐藤）、ISO/TC 194国内委員会（土屋、松岡、配島、中岡、加藤）、日本バイオマテリアル学会標準化委員会（土屋、中岡）に委員として参加し、国内における医療機器の標準化作業に関する業務を行った。

5. 第 42 条基準等原案作成

非視力補正用カラーコンタクトレンズが医療機器として指定され薬事法規制の対象となることを受けて、現在市販されている当該レンズの品質及び安全性の検討を行い、それらのレンズが実際に規制を受けるまでの移行措置期間中に用いられる基準原案となる手法の検討を行った。

研究業績

I. 次世代医療機器評価指標作成事業

I-1 再生医療WG：角膜内皮細胞シート評価指標素案を作成した。さらに、肝臓再生に関する現状と細胞プロセッシングセンター（CPC）の現状についての調査を行った（移替予算）。

I-2 ニューロモジュレーション分野審査WG：平成20年度より新しく始まったWGで、脳刺激療法、経頭蓋磁気刺激による神経疾患治療機器、電気刺激による血圧調節や心不全治療、人工網膜、脳情報を基に運動機能補助を行う医療機器など、脳神経系を何らかの形で利用した医療機器の評価のための指標を作成するために、それらの機器に関する調査（国内外の研究及び臨床の現状）を行った（移替予算）。

I-3 ナビゲーション医療（軟組織対象）WG：基本的事項と非臨床評価項目の整理を行うと共に、コンピュータ支援手術装置（手術ロボット）に特有の概念を取り込んで臨床評価部分を再構築することにより、軟組織に適用するコンピュータ支援手術装置のための評価指標の高度化を行った（移替予算）。

II. 医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究

II-1 プロテオミクス解析による医用材料のリスクアセスメント手法開発：ヒト正常骨芽細胞の分化促進機能を持つスルホン化プレートに吸着する血清蛋白質を解析した結果、増殖因子や細胞外マトリクス等、同細胞の分化進行に密接に関与すると思われる蛋白質が同定された（厚生労働科学研究費）。

II-2 ヒト単球由来細胞などによるアレルギーのリスクアセスメント手法開発：前年度h-CLAT (in vitro)にて感作性の有無の検討を行った数種類のポリマーを

用いてLLNA (in vivo)を行い両者の結果を比較したところ、陰性・陽性ともに相関がある傾向がみられた（厚生労働科学研究費）。

II-3 炎症反応のリスクアセスメント手法開発：2種類の官能基から構成され異なる接触角をもつ様々なモデル表面の調製を行った。さらに、これらの表面上での細胞挙動変化の検討を行い、材料表面の接触角、官能基それぞれが細胞挙動に与える影響を考察した。また、前年度に引き続き、炎症系細胞の候補探索も行った（厚生労働科学研究費）。

II-4 ナノマテリアルの遺伝毒性を指標とするリスクアセスメント手法開発：疎水性のナノマテリアルを培地に分散させる方法を考案し、適切な粒子径測定方法を選択できた。ポリスチレン粒子を用いてCHL細胞が特定の粒子径の粒子を好んで貪食することを見いだした（厚生労働科学研究費）。

II-5 骨系材料の骨結合能によるリスクアセスメント手法開発：チタン合金のアパタイト形成能をFT-IR/PAS法を用いて評価し、チタン合金に高いアパタイト形成能を付与する方法を検討した（厚生労働科学研究費）。

II-6 不具合報告データ解析による医療機器のリスクアセスメント手法開発：2008年までの米国の不具合報告のデータベースを構築すると共に、製品に問題がありAdverse Eventを生じた事例に焦点を置いて、心臓血管・整形外科系を主として、不具合の傾向を掴んだ（厚生労働科学研究費）。

II-7 ガイドワイヤの臨床利用状況を考慮したリスクアセスメント手法開発：医療機器を患者に安全に使用する環境について工学的側面から留意点を見だし提言することを目的に、セルジンガー法の中でも特にガイドワイヤ、ダイレータ挿入時にし評価系を構築し、試験を実施した（厚生労働科学研究費）。

III. 安全性評価・材質改変に関する研究

III-1 発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関する研究（骨接合材料の高度安全性評価手法の開発）：フーリエ変換赤外光音響分光法を用いて、アルカリ処理・カルシウム導入したチタン合金のアパタイト形成能を定量的に評価した（特別研究費）。

IV. 感染リスク評価に関する研究

IV-1 ヒト細胞に対するエンドトキシン規格値の設定に関する研究：コラーゲン又はポリ-L-リジンコートプレート上で培養したヒト正常骨芽細胞は、低濃度のエンドトキシンにより、その増殖能及び分化能ともに阻害され、ノーマルプレート上で培養した時と異なる

挙動を示すことが判明した（経常研究費）。

V. 医療機器・医用材料の耐久性・疲労・寿命に関する研究

V-1 不具合により抜去された人工股関節の分析を行った。多くの不具合は放射線照射に起因する材料の酸化劣化が原因と思われた。酸化劣化と部材の損傷の程度に関連性が認められ、効率的な不具合要因分析に応用が可能であると考えられた（移替予算）。

V-2 不具合により抜去された整形インプラント5例について不具合要因の推定を行った。従来クローズアップされてきた摺動面が第一要因と思われる症例はなく、生体骨との接合面に問題があると推定されたものがほとんどであった（厚生労働科学研究費）。

V-3 整形インプラント製品のうち、人工股関節で近年急速に普及している架橋ポリエチレンを対象とし、加工条件による疲労特性への影響を調べた。その結果、加工条件によっては著しい疲労特性の低下が認められた（経常研究費）。

V-4 コンピュータシミュレーションによる歯科用骨固定プレートの破損要因分析：医師が骨固定プレートで下顎骨を固定する際に骨固定プレートに加える変形を模して有限要素法によるコンピュータシミュレーションを行った。その結果、骨固定プレートの強度を大きく低下させ得るレベルの塑性ひずみが生じる結果が得られた（経常研究費）。

VI. テーラーメイド医療機器開発に関する基礎的研究

VI-1 人工心臓弁の機能不全との関わりを探るために19年度までに選定した29SNPsに加え、ワーファリン使用量の決定因子に関わる遺伝子多型について特に日本人における報告を中心に調査して新たなターゲットを探った（厚生労働科学研究費）。

VII. 医療機器の適正使用に関する研究

VII-1 医療機器の製造工程に対する監査手法に関する研究：保健医療科学院での薬事衛生管理コースの医療機器部分の企画設計・運営を行った。（経常研究費）。

VIII. 家庭用品に含まれる化学物質の安全性に関する研究

VIII-1 家庭用品による製品事故に関する研究：猫用トイレ砂、防カビ用塗料、ブラジャーによる製品事故について情報収集等を行い、原因及び対策について検討した（家庭用品等試験検査費）。

VIII-2 家庭用品に使用されるナノ材料の安全性評価：家庭用品に含まれるナノ材料としてコロイダルシリカと銀粉末を選択し、その分散液についてin vitroお

よびin vivoの安全性評価を実施した（家庭用品等試験検査費）。

IX. 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究

IX-1 家庭用品に使用される化学物質の分析法に関する研究：繊維製品以外におけるトリフェニル錫化合物及びトリブチル錫化合物の試験法について検討した。また、鉛含有金属製品の溶出試験法について検討した（家庭用品等試験検査費）。

IX-2 家庭用品に使用される化学物質による健康被害の防止に関する研究：衣類中の芳香族アミン類の分析法を検討し、市販衣類製品における芳香族アミン類の溶出量を調査した（家庭用品等試験検査費）。

X. ナビゲーション医療技術を用いたリアルタイム安心安全手術に関する研究

X-1 信頼性の高い手術支援システム構築に向けた外科医の技量評価に関する人間工学的研究：局所画像を用いたレジストレーションに手術者の慣れを要することが認められたが、大局画像を用いた開胸前レジストレーションを提案し利用したところ有用であった（文科省科学研究費）。

XI. 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発

XI-1 間葉系幹細胞を用いた再生医療早期実用化のための橋渡し研究：間葉系幹細胞の遺伝子発現に及ぼす無血清培地の影響について検討した。さらに、日本人患者由来の脂肪組織より調製された2種類の幹細胞を用いて間葉系幹細胞の品質管理に関わる遺伝子の探索を行った（NEDO）。

XI-2 新規医療機器のためのアクションプログラムのための基盤構築：FDAの審査資料データベースをもとに医療機器におけるリスクおよびベネフィットの定義を行い、機器分類の一案を示した（NEDO）。

環境衛生化学部

部長 西村 哲治

概要

生活環境中に存在する化学物質が原因となるヒトへの健康影響についての社会の関心は高く、調査・研究・業務を果たしながら、その成果を国民の健康と安全・安心の確保に結びつけていくことの重要性が増している。当部は、室内空気、化粧品および医薬部外品、水道用水に含まれる化学物質の理化学的な面での試験・研究を通じ

て国民の安心・安全の確保に貢献することを目指している。本所の各部門や各都道府県の衛生研究所の関連部門と共同して調査・研究を実施し、これらを通じて、我々の身の回りにある各種家庭用製品に起因する化学物質の経気道的、経皮的あるいは経口的な暴露に対する規格・ガイドライン作成などの厚生労働省における行政施策への技術的支援を行うとともに、関連分野における国際貢献を行っている。

平成20年度は、大形家具から室内空気へ放散される揮発性有機化学物質の負荷量を定量的に解析し、迅速かつ効率的に把握するための評価法の確立を検討した。蚊取り製品の活性成分の室内空気中濃度の実態調査並びに暴露評価を実施するとともに、防虫剤の放散試験の結果から室内空気中濃度のシミュレーションを行った。水道水塩素消毒副生成物であるジハロアセトニトリル類の分析法を開発し、公衆浴場、遊泳プール等の空気中及び水中濃度を調査し、複合経路からの総合的な暴露量の推計を実施した。

アトピーを標榜する化粧品についてステロイドの配合の有無を調査し、1製品にプロピオン酸クロベタゾールが含まれていることを確認した。また、化粧品に配合が禁止されている化学物質について分析法を検討した。

水道法第20条の水道水検査機関を対象として、統一試験外部精度管理調査を実施した。水質基準項目であるハロ酢酸類の新たな公定分析法の検討を行った。農薬の塩素処理生成物や環境汚染化学物質とその塩素処理生成物質などの未規制物質について、分析法および健康影響に関する検討を行った。さらに、医薬品類の分析法の確立および環境実態調査を実施し、浄水処理工程における挙動把握を行った。また、塩素処理により生成する臭気原因物質の生成機構および同定に関する検討を行った。

使用量および適用使用品目の増加が見込まれているナノ材料に関して、暴露評価手法の確立および吸収・体内分布・代謝・排泄の挙動について検討を行った。化粧品及び医薬品部外品の品質確保に関して、酸化チタンナノ粒子の各種媒体中での分散度を調べた。また、安全性評価として、酸化チタンの香料成分のアレルギー誘導反応に及ぼす影響や、皮膚感作性について非RI-LLNA法により評価した。ラットへの反復経皮暴露した酸化亜鉛および酸化チタンや、経口投与、尾静脈投与または気管内投与したフラーレンC60の体内分布および挙動について検討した。in vitro法による酸化チタンやフラーレンの細胞毒性、細胞内への取り込み、また3次元ヒト皮膚モデルを用いて皮膚透過性を調べた。

化学物質による生理作用および機能に関する検討として、室内空気中の揮発性有機化合物によるTRPイオンチャンネルの活性化および感作を引き起こす室内環境要因

の評価手法を開発、および温度感受性のイオンチャンネルに対する白金系抗がん剤の影響を解析した。また、CES分子種発現量の臓器特異性、常温揮散性ピレスロイドを対象としたCES分子種による加水分解反応の選択性を解析した。皮膚炎に有効な黒糖抽出物の活性物質として5種類のフェニルグルコース類を見出し、あわせて3次元培養ヒト皮膚モデルを用い、過酸化脂質による細胞毒性やサイトカイン放出に及ぼす影響を評価した。

東京都内3カ所の国設自動車排ガス測定局において、二酸化硫黄、窒素酸化物、オキシダント、一酸化炭素、炭化水素、浮遊粒子状物質及びPM 2.5の常時監視を実施した。

人事面では、平成20年8月1日付けで、杉本直樹氏が第三室長として食品添加物部主任研究官から昇格異動した。武蔵野大学薬学部大河原 晋博士を昨年度に引き続き協力研究員として受け入れ、生活環境化学物質の毒性発現機構に関する共同研究を実施した。

短期海外出張は、以下の通りであった。西村哲治部長が、平成20年9月にフランス、パリで開催されたOECD工業用ナノ材料作業部会第7ステアリンググループ会合、平成21年3月にフランス、パリで開催された第5回OECD工業用ナノ材料作業部会会合およびSG3 DDPレビュー会議、実験動物代替法打ち合わせ会議に出席し、ナノマテリアルの健康影響評価手法に関する情報交換および打ち合わせを行った。西村哲治部長が、平成20年8月に英国、バーミンガムで開催されたダイオキシン2008：第28回ハロゲン難分解性環境汚染物質国際シンポジウム(Dioxin 2008:28th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants(POPs))、平成20年9月にオーストリア、ウィーンで開催された2008年国際水協議会国際水会議(2008 IWA World Water Congress)、西村哲治部長及び久保田領志主任研究官が、平成20年11月に米国、タンパで開催された第29回北アメリカ環境毒性化学会年会(SETAC North America 29th Annual Meeting)に参加し、研究発表、打ち合わせ等を行った。西村哲治部長、久保田領志主任研究官及び内野正主任研究官が、平成20年10月にギリシャ、ロードスで開催された第45回ヨーロッパ毒性学会年会(The 45th Congress of the European Societies of Toxicology)に参加し、それぞれ研究発表、打ち合わせ等を行った。

業務成績

1. 室内空気関係

1) 前年度の調査で特に化学物質の放散量が高いことが明らかになった大形家具として、ダイニングテーブル、タンス及びソファについて、大形チャンパー法による放散試験を実施し、アルデヒド類を含む揮発性有機

化合物64物質並びにTVOCの放散速度を測定し室内空気へのVOC負荷量を定量的に解析した。さらに大形家具から放散される化学物質を迅速かつ効率的に把握するための評価法の確立を目指し、それぞれの大形家具の素材及び加工方法等を考慮して3区分に分割した各部分からの放散量を、小形チャンパー法により調査した。(厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室)

2) 東京都内3カ所(霞ヶ関、新宿御苑、北の丸公園)の国設自動車排ガス測定局において、二酸化硫黄、窒素酸化物、オキシダント、一酸化炭素、炭化水素、浮遊粒子状物質及びPM 2.5の常時監視を実施した。(環境省水・大気環境局自動車環境対策課)

2. 化粧品・医薬部外品関係

1) 医薬品等一斉監視指導に係わる試験検査として、アトピーを標榜する化粧品についてステロイドの配合の有無を調査した結果、1製品にプロピオン酸クロバゾールを確認した。(医薬品審査等業務庁費、医薬安全局監視指導・麻薬対策課)。

2) 化粧品に配合が禁止されている成分、トリブロムサラン、塩化ストロンチウム及びニトロフラン系化合物のうちニトロフラゾンについて分析法を策定した(医薬品審査等業務庁費、医薬安全局審査管理課)。

3) 医薬部外品原料規格検討委員会(医薬安全局審査管理課)、殺虫剤・殺そ剤分野及び化粧品・部外品分野審査専門協議(医薬品医療機器総合機構)、及びISO/TC194国内委員会に協力した。

3. 水道関係

1) 水道法第20条に基づく水質検査を実施する検査機関を対象として、登録検査機関211機関、水道事業者136機関および公的研究機関42機関に対して、塩素酸、ジェオスミンおよび2-メチルイソボルネオール(3項目)について統一試料外部精度管理調査を実施し、統計解析、水道水質検査の分析技術向上と信頼性確保のための改善点の提言を行った。(食品等試験研究費水道水質分析に係る外部精度管理調査費、健康局水道課)

2) 水質基準等検査方法検討調査として、ハロ酢酸類の液体クロマトグラフィー/質量分析計で測定する方法を検討し、現行の方法よりも簡便かつ迅速な方法を構築した。(食品等試験研究費水道管理調整費、健康局水道課)

3) 水質基準逐次改正検討会、水道水質検査精度管理検討会、水道水質検査法検討会に協力した。

研究業績

1. 室内空気関係

1) 生活環境化学物質の分析化学的研究

ダイナミックヘッドスペース-GC/MSによるジハロアセトニトリル類の分析法を開発した。

2) 生活環境化学物質の安全性評価に関する研究

(1) 主要なTRPイオンチャンネル(TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1及びTRPM8)を対象として、哺乳動物細胞で安定的発現系を構築し、室内空気中の揮発性有機化合物によるTRPイオンチャンネルの活性化について検討するとともに、TRPイオンチャンネルの感作を引き起こす室内環境要因の評価手法を開発した。(科学研究費)

(2) 肺、皮膚及び小腸におけるCES分子種発現量の臓器特異性を明らかにするとともに、フッ素置換芳香族構造をもつ常温揮散性ピレスロイドを対象としてCES分子種による加水分解反応の選択性を検討した。(厚生労働科学研究費)

3) 生活環境化学物質の暴露評価に関する研究

(1) 蚊取り製品の活性成分として特に近年使用量の増大しているピレスロイド系殺虫剤の熱蒸散性ピレスロイド剤であるプラレトリン、及び常温揮散性ピレスロイド剤であるトランスフルトリンとメトフルトリンを対象に、室内空気中濃度の実態調査並びに暴露評価を実施した。(厚生労働科学研究費)

(2) ジハロアセトニトリル類を対象に、公衆浴場、遊泳プール等の空気中及び水中濃度を調査し、複合経路からの総合的な暴露量の推計を実施した。(厚生労働科学研究費)

4) 化学物質の暴露評価手法に関する研究

エンペントリンを含む防虫剤を対象にモデルルームでの放散試験を実施し、実験的に求めた活性成分の放散速度及び衣類収納容器の換気回数をもとに、室内空気中濃度のシミュレーションを行った。(厚生労働科学研究費)

2. 化粧品・医薬部外品関係

1) 化粧品・医薬部外品の分析化学的研究

(1) 化粧品配合禁止成分に関して、塩化ストロンチウムのキャピラリー電気泳動による分析法、トリブロムサランのHPLCによる分析法を開発した。ニトロフラゾンについてHPLC条件を検討した。

(2) 化粧品配合制限成分の殺菌防腐剤クロルフェネシンのHPLCによる試験法を確立した

(3) 化粧品中の副腎皮質ホルモンの分析法を検討した。

2) 化粧品・医薬部外品の健康影響評価に関する研究

(1) 化粧品及び医薬部外品中の半揮発性成分の健康影

響に関する研究として、香料成分のけい皮アルデヒドのアレルギー誘導反応に及ぼす酸化チタンの影響について検討した。

- (2) ナノ物質等を配合した化粧品及び医薬品部外品の安全性及び品質確保に係わる試験法に関する研究として、酸化チタン粒子の各種媒体中での分散度を調べた。マイクロウェーブ分解-ICP-MSを用いる酸化チタンの分析法として各種条件検討をした。酸化チタンの皮膚感作性を非RI-LLNA法により評価した。(厚生労働科学研究費)
- (3) 生活関連化学物質の皮膚感作性等のインビトロ評価法に関する研究として、構築した3次元培養ヒト皮膚モデルに皮膚感作性物質及び非感作性物質を暴露してCD86発現強度やサイトカイン放出量等を測定し、in vivo試験法との相関性を検討した。また、本皮膚モデルの化粧品製品への応用を試みた。(科学研究費)

3. 水道関係

1) 水道水の安全性評価に関する研究

(1) 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究として、有機リン系農薬イソキサチオンのオキソン体標準品の品質評価にqNMRを応用し、SIトレーサブルな純度測定を行った。さらに、クロロピリホスメチルのオキソン体の分析法を確立した。有機フッ素化合物の河川水中の実態調査を実施した。(厚生労働科学研究費)

(2) 水道水源への人用医薬品等に由来する微量化学物質の排出状況および存在状況と制御方法に関して、ニューキノロン系抗菌剤10種について分析条件の検討を行い、河川水を対象とした実態調査、塩素との反応性、粉末活性炭による処理性の評価を行った。(環境省地球環境保全等試験研究費)

(3) 飲料水に係る健康危機の適正管理手法の開発に関して、未規制物質であるアクリロニトリル、1,2-エポキシプロパン及びε-カプロラクタムの分析方法の検討を行い、水試料からの1,2-エポキシプロパンとε-カプロラクタムについては分析方法を設定することが困難であることが明らかとなった。アクリロニトリルは、GC/MSによる分析条件を設定した。(厚生労働科学研究費)

(4) 多環芳香族炭化水素類塩素置換体の発現期に対する影響に関して、ベンゾ(a)ピレン等の塩素置換体の高純度標品を化学合成した。マウスES細胞が心筋細胞に分化する際、ベンゾ(a)ピレン塩素置換体が分化特異的であるGATA-4遺伝子の発現を増強する傾向が見られた。(科学研究費)

(5) 水道水異臭被害を及ぼす原因物質の同定・評価および低減技術に関して、環境水中から検出された医薬品類やアミノ酸類の塩素処理により生成する揮発性有機物質(VOC)の同定を行い、構造により共通したVOCと物質特有のVOCがそれぞれ複数で生成し、反応時間とともに種類が増加することを明らかにした。(厚生労働科学研究費)

(6) 発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関して、環境水中から検出事例のある医薬品類を水溶液中で塩素処理し、固相抽出した混合塩素反応生成物によるマウスES細胞の心筋分化誘導過程における影響を、心筋への分化を特異的に制御する遺伝子の発現誘導活性を指標として評価した。(厚生労働省試験研究費特別研究費)

(7) 医薬品生態影響評価法の確立として、九州地方の浄化センター放流口下流地点において河川水試料の春夏秋冬一回ずつ採水し、13種類の医薬品について実態調査を行った。(財団法人化学物質評価研究機構(CERI)提案型共同研究助成金)

(8) 環境中微量汚染物質による神経系発達への影響評価に関して、マウスES細胞の神経系細胞への分化試験系を確立した。神経系前駆細胞に分化する過程で、神経細胞の分化特異的遺伝子の発現誘導を指標として環境汚染物質が及ぼす影響の評価をすすめた。(環境省地球環境保全等試験研究費)

4. ナノマテリアルの健康影響評価手法に関する研究

1) ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価および体内動態評価に関して、経口投与又は気管内投与したフラーレンC60の実験動物における組織分布を評価した。(厚生労働科学研究費)

2) 生体試料中フラーレン類の高感度測定法の開発と健康影響評価として、尾静脈投与によるフラーレンC60の組織及び経時的な分布、挙動について評価した。また胎盤経由の胎児へのフラーレンC60の移行について評価した。(科学研究費)

3) ナノマテリアルの経皮的な吸収・分布及び皮膚上での存在形態に関する研究として、各種酸化亜鉛及び酸化チタンをラットに反復経皮暴露した後、臓器中の亜鉛及びチタン濃度を測定した。また、血液学的検査、各臓器の病理検査、並びに皮膚の電顕観察を行った。シリコンやステアリン酸でコーティングした酸化チタンは細胞毒性が強く、細胞内への取り込み量も多かった。3次元ヒト皮膚モデルを用いたin vitroの検討では、表面コーティングのない酸化チタンに皮膚透過性は認めなかった。(厚生労働科学研究費)

5. 薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究

温度感受性のイオンチャンネルに対する白金系抗がん剤の影響を解析した。

6. チオレドキシンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発に関する研究

酸化ストレスの誘導物質としてジ-*n*-ブチルヒドロキノンを用い、RBL-2H3細胞からの脱顆粒反応に対する黒糖抽出物の防御効果を評価し、皮膚炎に有効な活性物質として5種類のフェニルグルコース類を見出した。更に、3次元培養ヒト皮膚モデルを用い、過酸化脂質による細胞毒性やサイトカイン放出に及ぼす影響を評価した。(HS委託研究)

食 品 部

部 長 松 田 りえ子

概 要

平成20年度には、中国産の牛乳にメラミンが加えられるという事件が発生し、食の安心・安全に関心が高まった。当部ではこのような食品中の有害物質等の試験検査に係わる研究を通して、食品の安全性に関する研究を行っている。これらの研究は、全国の地方衛生研究所や食品衛生登録検査機関とも協力しながら進めている。食品衛生法に基づく規格・基準に関連する分析法の開発及び評価に関する研究は、当部の業務の大きな部分を占めており、さらに規格基準のないダイオキシン類、トランス脂肪酸、過塩素酸のような有害物質による健康リスクの評価と危害防止のための分析法整備を行うと共に、これらの汚染の実態調査を実施している。農薬及び動物用医薬品（農薬等）の分析法開発研究業務は、平成18年度からのポジティブリスト制度施行に伴い大幅に業務量が増加している所であるが、上記のメラミンによる事案では中国産の牛乳を原料とした各種の加工食品の分析が必要となり、平成19年度末に発生した冷凍餃子への農薬混入事件とともに、加工食品を対象とした農薬等の分析法開発が求められるようになったことから、さらに業務量が増加した。

当部においては、上述の食品中の汚染物質の分析法の開発等の他に、サンプリング法の性能に係わる研究、不確かさ推定法に係わる研究を含めた分析値の信頼性保証に関する研究、有害試薬を用いる既存の公定分析法の見直しに係わる研究、照射食品の検知法の開発研究を行っ

ている。また、トータルダイエット試料を用いた食品からの汚染物質の摂取量調査、全国の衛生研究所における食品汚染物質分析データを収集する汚染物モニタリングは、昭和52年から30年間継続して実施している。

人事面では、平成21年3月31日付けで村山三徳主任研究官が退職した。また、平成21年4月1日付けで坂井隆敏研究員が主任研究官に昇格した。

海外出張としては、堤智昭主任研究官が第28回ダイオキシン国際会議で研究成果を発表するため、パーミンガム（イギリス）に出張した（平成20年8月17～23日）。宮原誠室長が第15回IMRP総会で研究成果を発表するためロンドン（英国）に出張した（平成20年9月20日～26日）。渡邊敬浩室長は第30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、バラトンアルマーディ（ハンガリー）に出張した（平成20年3月9日～13日）。

業務成績

1. 農産物中の殺鼠剤ピンドン、クマフリル、ワルファリン、クマテトラリル、クロロファシノン、ダイファシノン、プロマジオロン及びプロディファコウムのグループ試験法を開発した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
2. 農産物中のジクロロミド、ワルファリン、ヒドラメチルノン、アリドクロール、プロモブチド、ニトラピリン、ジクロン、チアジニル、カルベンダジム、チオフアネート、チオフアネートメチル及びベノミルの個別・グループ試験法の検討開発を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関等と協力して実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
3. 畜水産物中のクロフェンセット、メタクリホス、メトリブジン、アセフェート、オメトエート、メタミドホス、クマホス、ニトラピリン、チフェンスルフロン、キャプタン、クロロタロニル、カプタホール、カルベンダジム、チオフアネート、チオフアネートメチル、ベノミル及びイソキサフルトールの個別・グループ試験法の検討開発を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関等と協力して実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
4. 畜水産物中のエンロフロキサシン、オキシロニック酸、オフロキサシン、オルピフロキサシン、サラフロキサシン、ジフロキサシン、ダノフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン及びフルメキン公定試験法の見直し及び測定対象化合物としてマルボフロキサシンを追加した新規グループ試験法を開発した（食品・

- 添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
5. 畜水産物中のヒドロコルチゾン公定試験法を見直し，ヒドロコルチゾン及びそのエステル類の試験法を開発した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 6. マラカイトグリーン個別試験法の開発及び妥当性評価試験を食品衛生登録検査機関と協力して実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 7. 畜水産物中のアピラマイシン，フラボフォスフォリポール，ロキサルゾン，カナマイシン，アバメクチン，エマメクチン安息香酸塩，イベルメクチン，エプリノメクチン，ドラメクチン，モキシデクチン，ベダプロフェン及びチオプロニンの個別・グループ試験法の検討開発を地方衛生研究所，食品衛生登録検査機関及び大学と協力して実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 8. 加工食品中に農薬等が通常よりも高濃度に残留していることが確認できる迅速試験法の開発を目的として，優先度の高い農薬等を対象に，迅速・簡便な加工食品中の一斉試験法について検討し，抽出液を試験管内で分配操作を行うだけの非常に簡便な操作でLC-MS/MS測定可能な，加工食品中に高濃度に残留する中極性～高極性の農薬等を対象とした簡易迅速な加工食品中の農薬等の一斉試験法（スクリーニング法）を開発した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 9. 加工食品中に農薬等が通常よりも高濃度に残留していることが確認できる迅速試験法の開発を目的として，優先度の高い農薬等を対象に，迅速・簡便な加工食品中の一斉試験法（スクリーニング法）の検討開発を埼玉県衛生研究所及び東京都健康安全研究センターと協力して実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 10. 残留基準への適合性を確認することができる加工食品試験法の開発を目的として，GC-MS測定可能な404農薬及びLC-MS測定可能な205農薬を対象として，通知一斉試験法の加工食品への適用性検証試験を，冷凍餃子等8種類の加工食品を用いて食品衛生登録検査機関と協力して実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 11. 食品・添加物等の規格基準の一般規則8が適用されるヒドロコルチゾンのバックグラウンドデータを得るために，薬剤の投与履歴の明らかな国産牛の組織（筋肉，脂肪，肝臓及び腎臓）中のヒドロコルチゾン濃度の調査を行った（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 12. 食品へのメラミン混入事件に伴い，米国FDAのメラミン試験法を翻訳するとともに，食品中のメラミン及びメラミン関連物質（アンメリン，アンメリド及びシアヌル酸）の試験法に関する調査を行った。
 13. アセトニトリルの供給不足に伴う，食品中の残留農薬等試験におけるアセトニトリル代替溶媒への変更に関して，代替試験法等の調査及び代替溶媒使用時の考え方についてまとめた。
 14. 放射線照射された食品を対象とした検知法の整備を目的として，EU標準分析法である2-アルキルシクロブタノン法（GC/MS法）を検証した（食品等試験検査費，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）。
 15. 米やワイン等に含まれる過塩素酸濃度の実態調査を行った（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 16. 摂食量から勘案して寄与率の高い米，魚介類，海藻類中に含まれるヒ素濃度の実態調査を行った（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 17. 告示分析法の見直しを目的とし，即席めんを対象とする過酸化物品試験法を開発しその妥当性を確認した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費，厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課）。
 18. ニコチノイド殺殺虫剤であるアセタミプリドの汚染実態と検出頻度について調査した（食品等試験検査費，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）。
 19. 一食として喫食される食事試料中のトランス脂肪酸含量を調査し，一日摂取量を推定した（食品等試験検査費，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）。
 20. 種実を原材料とする焼き菓子中に含まれるシアン濃度について汚染実態を調査した（食品等試験検査費，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）。
 21. ダイオキシン，MCPD等の化学物質を対象とした緊急調査を1300検体について実施した（食品等試験検査費，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）。
 22. 将来，特定の有害物質の汚染が明らかになった場合に，保管検体を用いてその暴露状況を把握することを目的に，当該年度の一日摂取量調査のための試料および個別食品を収集し保管した（食品等試験検査費，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課）。

23. 照射食品の安全性について、三菱総研とともに調査を行い、リスクプロファイルを作製した。(食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)
24. 厚生労働省医薬食品局食品安全部平成20年度食品安全行政講習会(平成20年5月)において、食品中の残留農薬試験法について、照射食品の検知法について、並びに食品に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて講習を行った。また、厚生労働省医薬食品局食品安全部平成20年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会(平成20年8月)において、食品中の残留農薬試験法について、並びに生化学的試験法の信頼性確保について講習を行った。国立保健医療科学院短期研修食肉衛生検査研修(平成20年7月)において食品中の残留農薬、動物用医薬品等の動向について、特別過程食品衛生管理コース(平成21年2月)において食品中の汚染物モニタリング検査と摂取量調査について講習を行った。食品衛生登録検査機関協会・業務管理研修会(平成21年2月)において食品分析の信頼性保証と分析の妥当性評価について、食品衛生登録検査機関協会残留農薬・動物用医薬品研修会(平成21年3月)において残留農薬等に関する最近の話題について、残留農薬等試験法の開発について、並びに試験法の妥当性評価について講習を行った。
25. 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、残留農薬等分析法検討会、残留農薬等公示分析法検討会、加工食品中の残留農薬等分析法検討会、(以上厚生労働省医薬食品局食品安全部)、食品の表示に関する共同会議(厚生労働省・農林水産省合同)に協力した。他省庁関係では、ダイオキシン類環境測定調査受注資格審査検討会(環境省)、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、輸入畜産物検査最適化検討会(以上農林水産省)に協力した。

研究業績

1. 食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の精密化に関する研究(厚生労働科学研究、食品の安心・安全確保推進研究事業)
- 1) 畜水産食品中の残留農薬の実態把握として、愛知県で市販の畜水産食品62検体について、302農薬の調査を実施したところ、基準値未満であるが一部の食品からBHC類、DDT類、イソプロチオラン、オキサジアゾン、ダイアジノンなど32種類の農薬が痕跡量~9 ng/g 検出された。
- 2) 厚生労働省で開発中の畜水産物を対象とした塩酸添

加アセトニトリル抽出一斉試験法の検証試験として、固体試料として牛筋肉及び牛肝臓を用いて、抽出時のセライト及び塩酸添加の影響、塩析時の塩酸添加の影響等について検討した。

2. 食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究(厚生労働科学研究、食品の安心・安全確保推進研究事業)

1) 食品中の残留農薬の迅速で効率的なスクリーニング分析法の開発を目的として、GC-MS/MS法の残留農薬分析への適用について検討するために、GC-MS/MS測定におけるMS/MS条件の最適化について検討し、従来のシグナル強度による方法よりも選択性及び感度において良好なMS/MS条件を求めめる方法を開発した。

2) 畜水産物中の農薬及び動物用医薬品の包括的な一斉分析法の開発を目的として、log P_{ow}等を指標として種々の物性を有する広範囲の農薬及び動物用医薬品を効率的に抽出可能な方法について検討した。

3. 食品からの塩素化ダイオキシン類及び有機フッ素化合物の摂取量調査(厚生労働科学研究、食品の安心・安全確保推進研究事業)

1) マーケットバスケット方式によるトータルダイエツト試料を用いて、ダイオキシン類の国民平均1日摂取量を算出した。平成20年度調査では0.92 pgTEQ/kg/dayであることを明らかにした。また、畜水産物及び健康食品(計45試料)を対象にダイオキシン類汚染調査を実施した。さらに、有機フッ素化合物(パーフルオロオクタンスルホン酸及びパーフルオロオクタン酸)の食品汚染実態を明らかにするため、汚染が懸念される肝臓を原料とする個別食品(計21試料)を対象に汚染調査を実施した。

2) ダイオキシン類に対する高感度レポータージーンアッセイを開発した。高感度化を図るため、ダイオキシン類応答性DNA領域(DRE)を最大20個まで組み込んだダイオキシン応答性レポーターベクターを開発した。レポーター遺伝子にはホタルルシフェラーゼ及び緑色蛍光タンパク質を利用した。これらのベクターを使用して安定発現細胞株の作製を行った結果、ダイオキシンに対し高応答性の測定系が開発できた。

4. 食品の規格基準に係る測定値に伴う不確かさに関する研究(厚生労働科学研究費・食品の安心安全確保推進研究)

1) 平成15-19年の5年間に実施された、食品中の食品添加物、重金属、農薬、動物用医薬品を対象とした技能試験結果を解析し、平均、併行精度、室間精度を求めた。アナライト毎に、代表的な分析法別に解析を行い、それぞれの室間精度から不確かさを推定した。この値から推定した拡張不確かさは、分析法を特定し、また

技能試験で満足できる成績を得た機関の分析に適用可能であると判断された。

2) 生化学的分析法の一例として組換えDNA技術応用食品を対象としたリアルタイムPCR法を取り上げ、1)検量線の繰り返し測定、2)規定濃度の組換えDNA配列を含む溶液の多重測定を、全国25機関の地方衛生研究所等の協力の下、複数種のリアルタイムPCR機器を用いた共同試験として実施した。その結果、リアルタイムPCR機器の性能や検量線のデザインが測定値の偏りやばらつきに影響を与える主要因の一つとなっていることが明らかになった。また、その大きさはリアルタイムPCR機器によって異なっており、機器を個別に考えた場合には推定される不確かさもまた異なると予測された。

5. 食品中の有害物質等の摂取量の調査及び評価に関する研究（厚生労働科学研究費・食品の安心安全確保推進研究）

1) 国内に流通している食品に含まれる汚染物質の量と、摂食によるそれらの摂取量を明らかにすることを目的に、全国の衛生研究所の協力を得て、汚染物質モニタリング調査とマーケットバスケット方式による摂取量調査を実施した。汚染物質モニタリングにおいては、全国45箇所の機関から報告された食品中の汚染物質検査データ約60万件を集計し、検出率、複数の汚染物質による汚染状況を調査した。汚染物質摂取量調査では、全国10カ所でトータルダイエツト試料を調製し、当該試料中の有機塩素系農薬、有害金属、PCB等の濃度を測定した上で、摂取量を推定した。

2) 個別食品試料、トータルダイエツト試料並びに一回に喫食する食事試料中のトランス脂肪酸濃度を測定し、異なる方式により推定された摂取量を比較することで、推定方法の精密化を検討した。

3) 硝酸塩濃度が高いと予想される大根、レタス、ホウレンソウ中の硝酸塩濃度の周年変動を調査した。その結果、大根とレタスでは冬季に硝酸塩濃度が高く、ホウレンソウでは逆に夏季に硝酸塩濃度が上昇することが明らかとなった。また、我が国のホウレンソウから摂取される硝酸塩の量は77 mg (1.54 mg/kg bw/day)で、一日の総摂取量の1/3以上を占めており、ホウレンソウ中の硝酸塩濃度を低下させることが、硝酸塩摂取量を引き下げる有効な方策と考えられた。

6. 検査におけるサンプリング計画並びに手順のハーモナイゼーションに関する研究（厚生労働科学研究、食品の安心・安全確保推進研究事業）

1) 国内で実施されている検査に採用されているサンプリング計画及び手順の現状把握と妥当性の検証を目的とし、厚生労働省所管の検疫所により実施されている

モニタリング検査において指示されているサンプリング計画ならびに、サンプリングに関する国際ガイドラインの一つであるCAC/GL33 (Recommended methods of sampling for the determination of pesticide residues for compliance with MRLs) を取り上げ、検査の目的や信頼水準に視点をおき整理した。その結果、少なくとも母標準偏差を0.2、分析精度をRSD 20%と設定して行ったシミュレーションの結果からは、正規分布を仮定した両サンプリング計画の妥当性（誤判定率）に違いがあるとは考えられなかった。

2) 規定したサンプリング計画及び手順に従い、圃場から種々の生鮮野菜を採取しそこに残留する農薬濃度の測定値を求め詳細に解析することで、分析による測定値のばらつき（併行精度）、個別サンプルに含まれる農薬濃度のばらつき（サンプル間のばらつき）の大きさ及び、測定値に含まれる全てのばらつきの大きさ（総標準偏差）について推定した。その結果、サンプル間での農薬濃度のばらつきは、併行精度の1.5～8.0倍の大きさとして推定され、総標準偏差への寄与が非常に高い事が明らかとなった。さらに、サンプル間での農薬濃度のばらつきを母集団である圃場中での農薬濃度の分布とし、サンプリングに由来する不確かさの推定を試みた。その結果得られた不確かさは非常に大きく、これを考慮して母集団の規格基準への適合を判定しようとするれば、分析の実効性が損なわれると考えられた。

3) 理想的な正規分布に従わない分布を持つロットからサンプリングした場合に、それに基づく検査結果がどのような分布を示すかについて、モンテカルロシミュレーションにより検討した。また、分析による変動を考慮し、サンプルを個々に分析した場合と、コンポジットサンプルとして分析した場合のOC曲線についてもシミュレーションにより検討し、現実に実施されているサンプリング法の有効性を評価した。

4) 分析対象物質が個体内や集団内において偏在している例として、今後のサンプリング計画の検討において考慮すべき食品／分析対象化合物の組み合わせについて調査した。

7. 放射線照射食品の検知技術に関する研究（厚生労働科学研究、食品の安心・安全確保推進研究事業）

1) TL法の適用拡大を、乾燥野菜、生鮮野菜を中心に検討し、30余りの食品について本法が適用可能であることを示した。

2) 骨を対象とするESR法による検知について、その前処理法などの基礎的な検討を行った。牛肉、貝等についてそれらのスペクトルの特徴等を調べた。

3) セルロースを対象とするESR法による検知について、イチゴの前処理法など基礎的な検討を行った。さらに、

保存期間等の影響を調べ、比較的短いことが分かった。

- 4) 糖を対象とするESR法による検知について、含有糖の量を推定する方法などの基礎的な検討を行った。試料中の糖の量を推定することが可能であることが分かった。
- 5) 微生物学的方法による確認試験について、B.メガテリウム等の耐性菌について検討を行った。メガテリウム、セレウス等の細菌の存在比率が高いと照射された食品であると判断できることが分かった。
- 6) GC法のうちシクロブタノン法について、文献収集並びに標品作成を行う予定であったが、さらに標準物質の作成等に関する基礎検討が必要であることが分かった。炭化水素法については、原法が十分な性能を持っていることがわかった。

8. ESR法による放射線照射ジャガイモの線量管理に関する研究（厚生労働科学研究、食品の安心・安全確保推進研究事業）

フリック線量計とアラニン線量計のそれぞれの指示値の平行性を確かめ、線量分布測定を現地で実施した。その結果、アラニン線量計で線量測定を実施しても、従前通りに線量管理が行えることを確認した。

9. 照射食品のリスク管理に関する研究（一般研究費）

照射食品のリスクについて、文献調査等を行った。食品の酸化劣化、誘導放射能、放射性分解物、栄養素の欠如等のリスクがあることが分かった。

10. 放射線照射食品の製造基準に関する研究（一般研究費）

線量管理の方法について、食品ごとに留意するべきものがないかなどを調べた。生鮮食品については十分な線量管理が必要であることなどが分かった。ISOの調査に対する検討を行い、中性子量の基準など照射装置の安全基準の拡充が必要であることが分かり、食品照射の観点をもり込むように意見書を提出した。

食品添加物部

部長 河村 葉子
前部長 棚元 憲一

概要

当部では、食品添加物（指定添加物、既存添加物等）、器具・容器包装、玩具、洗浄剤等の規格基準の策定や試験法の開発、成分、溶出物、モニタリング等に関する試験・研究を行っている。

平成20年度も、食品の安全性等に関わる社会問題が頻発し、指定外の食品添加物や容器包装由来または透過し

た揮発性物質が問題となった。また、食品添加物や器具・容器包装に関わる規格基準の改正も相次いだ。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として、ポリソルベート、加工デンプン等19品目が新規に指定され、器具・容器包装に使用される金属やハンドの鉛含有量やガラス、陶磁器、ホウロウ引き製器具・容器包装の鉛溶出量の規格値の引き下げが行われた。平成21年度も引き続き多数の食品添加物や器具・容器包装の規格基準改正が予定されている。これらに対応するための試験法開発、規格基準設定、製品調査等の試験研究業務のほかに、食品中の食品添加物分析法の設定、食品添加物の一日摂取量調査、香料の安全性評価法の検討、既存添加物の成分解析及び安全性の見直し、器具・容器包装、玩具、洗浄剤の残存物質や溶出量の調査等を行った。また、第8版食品添加物公定書英文版の編纂作業が行われ、平成21年5月に刊行された。現在、食品添加物公定書の一層の充実を図るため、第9版の改正に向けた検討を進めている。

人事面では、平成20年8月1日付けで杉本直樹主任研究官が環境衛生化学部第三室長に昇任した。また、平成20年11月1日付けで第三室研究員として阿部裕博士が採用され、平成21年3月1日付けで第一室研究員として大槻崇博士が採用された。さらに、当部の部長を7年間勤めた棚元憲一部長は平成21年3月31日付けで定年退官し、武蔵野大学薬学部教授に就任された。後任には河村葉子第三室長が平成21年4月1日付けで昇任した。

海外出張としては、棚元憲一部長が国際エンドトキシン学会出席のためエジンバラ（平成20年7月29日～8月4日）に、佐藤恭子第一室長がFAO/WHO合同食品規格計画第41回食品添加物部会に出席のため上海（平成21年3月13日～21日）に出張した。河村葉子第三室長はFAO/WHO合同食品添加物専門家委員会第69回会議に出席のためローマ（平成20年6月15日～28日）に、台湾の行政院衛生署薬物食品検査局における技術指導のため台北（平成20年10月19日～23日）に出張した。また、河村葉子室長及び六鹿元雄主任研究官は第4回国際シンポジウム食品容器包装—安全性と品質をサポートする科学的進歩における研究発表のためプラハ（平成20年11月18日～23日）に出張した。

業務成績

- (1) 食品中の食品添加物分析法の設定では、亜塩素酸水及びナイシンの分析法について検討を行った（食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (2) 未指定添加物等対策では、地方衛生研究所1機関、指定検査機関4機関の参加により、食品中のピコリン酸クロムの試験法に関する検討を行った（食品等試験

検査費，医薬食品局食品安全部監視安全課）。

- (3) 国際的に汎用されている添加物の指定に向けた調査研究等では，2-メチルブチルアルデヒド等につき規格設定に関する検討を実施した（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (4) 食品添加物一日摂取量調査では，地方衛生研究所6機関の協力により，マーケットバスケット方式による酸化防止剤及び防ばい剤等の一日摂取量調査を実施した（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (5) 食品添加物の規格基準の設定及び改良並びに製造基準の改良等では，タール色素の規格試験法等について，国際規格及び試験法について調査研究を行った（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (6) 既存添加物の成分規格の設定に関する検討では，近年流通実態が確認された既存添加物の成分解析を行った。また，既存添加物の安全性試験（遺伝毒性試験，反復経口投与毒性試験）と連携して，試験試料の含有成分の確認，動物餌中の試験試料の含有量と安定性の確認を行った。（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (7) 第9版食品添加物公定書策定に向けた一般試験法等の検討では，増粘安定剤9品目につき製品中の微生物限度試験法の妥当性確認を実施し，品目ごとの試験法素案を検討した。食品添加物中の鉛・カドミウム，ヒ素等の有害元素の含有量実態調査のための試験法素案を検討した。食品添加物製造・取扱い企業を対象にして，通則及び一般試験法に対する問題点及び改正要望をアンケート調査した（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (8) 器具・容器包装に使用される金属の規格改正のため，スズ合金製食器の鉛溶出について調査を行った（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (9) 竹及び木製の割りばし等について，含有する鉛，カドミウムなどの金属類の調査を行った（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。
- (10) ポリ塩化ビニル製品中のフタル酸ビス（2-エチルヘキシル），フタル酸ジブチル，フタル酸ベンジルブチル等6種類のフタル酸エステルの試験法を開発した。さらに登録検査機関の協力を得てバリデーションを実施した（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。

研究業績

1. 食品添加物の規格基準に関する研究

- (1) 国際的動向を踏まえた食品添加物の規格，基準の向上に関する調査研究

食品添加物の規格及び規格試験法の向上を目指し，混合物の赤外吸収スペクトルについての検討，NMRを用いた新規定量法の有用性及び妥当性についての検証，高粘度の増粘安定剤中の残留溶媒分析法の検討を行った。また，香料化合物の自主規格の策定，生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量推定，食品中の食品添加物の変化に伴う生成化合物に関する研究等により，食品添加物行政の安心・安全の確保に資する知見が得られた（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) 既存添加物の有効性と品質を確保するための規格試験法の開発

既存添加物について品質評価の指標として有効性（活性）を測定する手法の開発と成分解析を行うことをめざした。定量NMR分析法を既存添加物の分析に応用した。抗菌もしくは静菌作用があるとされている国内で流通実績のある既存添加物を収集し，抗菌・抗かび活性をスクリーニングした。イソアルファー苦味酸，ホップ抽出物，およびドクダミ抽出物の成分分析法を検討し，基原の確かさを確認した。それぞれ複数の基原に由来する8品目の酵素製品を収集し，SDS-PAGEによって予備的検討を行った（厚生労働科学研究費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。

- (3) 既存添加物褐色系フラボノイド色素群の化学構造の解明

フラボノイド系褐色色素であるタマネギ色素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）。

- (4) 既存添加物の成分規格の設定に関する研究

近年安全性試験（遺伝毒性試験および反復経口投与毒性試験）が行われ，有害性を示すおそれのある所見が認められた既存添加物2品目を対象にして，変異原性を担う成分および発がんプロモーション活性を担う成分について研究を行った（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。

- (5) 構造活性相関に基づく食品香料化合物の安全性予測調査

JECFAで安全性評価済であり遺伝毒性試験結果の文献がある食品香料化合物407品目を対象にして，3種類のQSARソフトウェアを組み合わせた遺伝毒性予測システムによる毒性予測結果の評価を行った（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。

2. 器具・容器包装等に関する研究

- (1) 合成樹脂製器具・容器包装の安全性確保に関する研究

各種合成樹脂について，残存化学物質を指標として

オリーブ油と代替溶媒による溶出試験を行い、合成樹脂毎に最適な代替溶媒と試験条件を示した（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) ナイロン製品からの溶出物質に関する研究

ナイロン製品から溶出するモノマーとアミン類の分析法を検討し、市販ナイロン製器具類の調査を行った（食品等試験検査費，医薬食品局食品安全部基準審査課）。

(3) ゴム製乳首等のニトロソアミン類に関する研究

ゴム乳首等中のニトロソアミン類のGC/MSを用いた試験法を開発するとともに、前駆体である第二級アミン類のLC/MSによる試験法も検討した。これらを用いて市販乳首等の調査を行った（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) 洗剤に関する研究

市場に流通する洗剤剤について、洗剤の種類、成分、それらの安全性、製品中の重金属及びヒ素含有量、使用実態の変化など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）。

食品衛生管理部

部長 山本茂貴

概要

平成20年度は、調査研究として1) 食中毒菌に関する基礎的研究、2) アフラトキシンの検出に関する研究、3) 食品の微生物学的リスク評価に関する研究、4) 食品製造の高度衛生管理に関する研究、5) 遺伝子組換え微生物の安全に関する研究、6) 貝毒検査における精度管理に関する研究を進展させ、7) 食品のバイオテロに関する研究を新たに始めた。業務関連では貝毒検査の精度管理、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令に規定する乳の殺菌条件に関する調査、ノロウイルスの不活化条件に関する調査を行った。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た。前記3名に加え春日第3室長、野田第4室長も講義を担当した。また、町井室長は、専門課程選択科目の「毒性学（基礎）」において、「天然毒」の講義を担当した。

人事面では、賃金職員としてエトガ中川路子氏、加藤光徳氏、派遣職員として3名を採用した。協力研究員として北村勝博士、影山亜紀子博士、梶川場申博士を受け入れ、その他、岡山県や大学から研究生7名、実習生3名を受け入れた。

海外出張では、山本茂貴部長は、2008.10.6-12に米国・ハワイ州コナのハワイ州立エネルギー研究所で輸入食品の安全性に関する研究打ち合わせ会議、2008.10.18-20に中国・上海の上海交通大学で開催された第4回食品安全フォーラムにおいて日本の食品安全行政機構について講演、2008.10.22-25にベトナム・ハノイのハノイ農業大学で輸入食品の安全性に関する研究打ち合わせ会議、引き続きタイ・バンコクに移動し10.30まで鈴木穂高主任研究官と第15回アジア獣医師会に出席、2008.11.1-11.8に米国・ニューオーリンズで開催された第43回UJNR日米会議に五十君室長、衛生微生物部の小西部長、鎌田室長とともに参加、2009.1.28-31にニュージーランドでHACCPの導入状況調査、2009.2.2-6にフランス・パリで開催されたOIEのBSEステータス評価アドホックグループ会議に参加、2008.3.22-25にベトナム・ハノイのハノイ農業大学で輸入食品の安全性に関する研究打ち合わせ会議に参加した。五十君静信室長は、2008.8.30～9.6にオランダ・エドモンドアンジーで開催された第9回国際乳酸菌シンポジウム（LAB9）に参加した。

春日文字室長は、2008.4.27-5.1にマレーシア・クアラルンプールで開催されたWHOによる「食品由来疾病疫学レファレンスグループ(FERB)疾病原因究明タスクフォース会議」に参加、2008.6.25-7.2にオーストラリア・キャンベラ、ホバート並びにシドニーにおいてオーストラリアにおける食中毒調査のための疫学的手法等に関する調査を実施、2008.8.2-8.10に米国・コロンバス開催された第95回国際食品保全学会年次大会で座長を務めるとともにピッツバーグで食品安全のリスク管理に関する調査を行った。2008.8.30-9.7にイギリス・アバディーンで開催された第5回腸管感染症推定に関する国際協力会議に出席及び食品微生物会議2008で座長を務め、またロンドン王立獣医大学で講義を行った。2008.10.20-11.1にインド・ニューデリーで開催された国際食品微生物規格委員会(ICMSF)年次会議並びにICMSF/ILSI-India共催食品安全シンポジウムに参加、2008.11.16-11.23にスイス・ジュネーブで開催されたWHO食品由来疾病被害レファレンスグループ会議に出席した。野田衛室長は、2008.9.21-28に米国における食中毒調査の疫学的手法等に関して、CDC、ジョージア州立公衆衛生研究所(アトランタ市)、ワシントン州立公衆衛生研究所(シアトル市)で調査を行った。また、2009.3.24-29にオランダ・ビルソーベンで開催されたコーデックスCCFH部会の「食品中のウイルス制御」に関する規範作成のための第1回物理的作業部会に出席した。鈴木穂高主任研究官は、2008.10.26-30にタイで開催された第15回アジア獣医師会に山本部長とともに参加した。

業務成績

食品等の調査として、厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の依頼により対EU輸出用ホタテの検査法の精度管理として麻痺性、下痢性、記憶喪失性貝毒の検査用試料を調製し、精度管理を行った。

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課の依頼により、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令に規定する乳の殺菌条件に関する調査として、乳の殺菌条件に関する情報収集と実験データでの検証を行った。

ノロウイルスの不活化条件に関する調査として、厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の依頼により、ノロウイルスの不活化条件について種々の消毒剤等を用いて調べるとともに、文献を整理した。

研究業績

平成20年度は以下の研究を行った。

- (1) 食中毒菌に関する基礎的研究として、1. 食品の微生物迅速検査法の開発及びその精度評価システムに関する研究 食品における信頼度の高い迅速検査法をどのように導入してゆくか検討した。また、カチオン系ビーズを用いた濃縮法を検討した。2. 薬剤耐性食中毒菌サーベイランスに関する研究 鶏肉と牛肉由来のカンピロバクターにつき、耐性獲得状況を比較し、生産の場で用いた抗菌剤の影響を評価した。3. 食品中のウイルスの制御に関する研究 Tris-glycine緩衝液等を用いて種々食品からノロウイルスの回収率を調べた。4. 食品製造における食中毒菌汚染防止のための高度衛生管理に関する研究 リステリアとカンピロバクターの高度衛生管理に必要な検出法を検討した。5. 食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究 検討委員会を組織し、標準法作成方法の方針を決定し、それに従って食品由来の食中毒起因細菌及び衛生指標菌の標準試験法の検討を開始した。6. 薬剤耐性食中毒菌に係る解析技術の開発及びサーベイランスシステムの高度化に関する研究 今年度始める新規研究で、生産現場で用いられた抗菌剤による食中毒起因細菌のニューキノロン薬剤耐性獲得をモニターする方法論の検討を開始した。7. リステリアの増殖性に関する研究 リステリアの定常増殖における*rpoN*遺伝子の役割について解析し、活性酸素耐性機構の関与を示した。8. 食中毒の毒素産生食中毒細菌および毒素の直接試験法の研究 ウェルシュ菌の毒素を食品から直接検出する方法の基礎的検討を行った。9. カンピロバクターのバイオフィーム形成に関する研究 カンピロバクターが環境中で形成するバイオフィームに関するプロテオーム解析を行った。10. 腸管出血性大腸菌O157の宿主環境適応に関する研究 腸管出血性大

腸菌O157のompW変異株のマクロファージ生存性について解析を行った。

- (2) アフラトキシンの検出に関する研究として、1. 食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究 主要なカビ毒（アフラトキシン類、オクラトキシンA）による食品の汚染実態調査を行った。2. 腸内細菌によるアフラトキシンB1の分解に関する研究 8種類のアフラトキシンB1分解産物の性状を検討した。3. 近赤外波長領域を利用した選別機によるDON・NIV汚染小麦の選別 近赤外波長領域を利用した選別機を用い、国内産小麦を対象として選別効果を検討した。
- (3) 食品の微生物学的リスク評価に関する研究として、1. vCJDリスク評価のための効果的BSEサーベイランス手法に関する研究 日本におけるvCJD発生リスクを推計するためのBSEサーベイランス手法について検討した。さらに、BsurvEのポイントについて検討し、30ヶ月齢以上の検査のみでも獲得するポイントにほとんど変化がないことが分かった。2. 輸入食品における食中毒菌サーベイランス及びモニタリングシステム構築に関する研究 輸入食品の食中毒菌汚染実態を調査した。海外での実態調査について情報を収集した。輸入サラミにおけるリステリア汚染が検出された。タイにおいてサルモネラ、腸管出血性大腸菌O157の汚染実態を調査した。3. 生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究 新たに開発したアミラーゼ処理の有用性をコラボ研究により公定法と比較し、検出率、定量値が改善されることを確認した。4. 非加熱喫食食品から検出されるリステリア・モノサイトゲネスの危険株・安全株の識別に関する研究 国内外の菌株につき検討を行い、評価した。5. 冷凍食品の安全性確保に関する研究 冷凍流通食品の微生物汚染調査や海外の低温流通食品の規格基準の調査を行い、冷凍流通食品の規格基準見直しのための基礎となる知見を得た。6. 食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究 サルモネラ、カンピロバクター、腸炎ビブリオの患者について、報告されない患者数の実態を推定するとともに、電話調査とインターネット調査の比較を行った。7. 科学を基礎とした食品安全行政/リスクアナリシスの課題とそれを支える専門職業、職業倫理のあり方に関する研究 リスクアセスメント、リスクマネジメントに必要な科学的情報を習得するために、食品安全ならびに動物衛生分野に勤務する獣医師の情報収集方法や意識を調査した。8. 腸管免疫系の発生・発達と腸内細菌との相互作用に関する研究 マウスの腸管免疫系、特に小腸、大腸における腸上皮細胞間リンパ球の性質、パイエル板の機能について研究した。9. 細菌性食中毒の防止対策に関する

研究 流通時の温度管理(コールドチェーン)による食中毒防止効果による経済的効果を推定した。10. 食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究 食品媒介感染経路の占める比率や原因食品を推定する疫学的手法、ならびに広域散発食中毒事例の効率的な調査体制について、海外調査に基づき整理し、わが国での応用について考察した。地方衛生研究所のノロウイルス検査におけるシーケンス検査の導入状況等に関する調査を行うとともにノロウイルス集団事例における食品媒介事例の割合推定を試みた。11. 定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究 カンピロバクターのリスク評価を実践しつつ、データの確率論的処理、不確実性分析、感度分析、用量反応分析等の技術開発を行った。12. 輸入食品の食中毒菌モニタリングプラン策定手法に関する研究 輸入食品中の赤痢菌、腸管出血性大腸菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ、リステリア・モノサイトゲネスなどの海外及び輸入食品での汚染実態等を検討した。

- (4) 食品製造の高度衛生管理に関する研究として、1. 食品製造における食中毒菌汚染防止のための高度衛生管理に関する研究 衛生管理における食中毒菌のモニタリング法としてカンピロバクターの標準検査法を試みた。
- (5) 遺伝子組換え微生物の安全性に関する研究として、1. モダンバイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関する研究 化学的処理による変異と遺伝子組換えによる遺伝子の変異についてゲノム解析により検討した。2. 非食用バイオテクノロジー応用生物の食品への混入危害防止に関する安全性確保のための研究 産業用及び環境浄化目的の遺伝子組換え微生物のベクターに関する情報収集を継続し、組換え微生物の検知法を検討した。3. 遺伝子組換え食品等のアレルゲン性・腸管免疫影響のインビトロ評価法の開発腸管上皮細胞を用いた、アジュバント活性評価法の検討を進めた。
- (6) 貝毒検査における精度管理に関する研究として、1. 貝毒におけるマウスへの試験液注射時間帯の違いによるマウスの感受性の差に関する研究 マウスの生理的状況の日周期における変化について、血液生化学値について試験データを収集した。2. 検査機関の信頼性確保に関する研究 外部精度管理試料に添加するオカダ酸(OA)の貝ホモジネート試料への効率良い、かつ有効な添加方法につき、例数は少ないが、その効果が確認できた。3. 麻痺性貝毒検査用精度管理試料作製にかかわる種々の問題点解決のための研究 貝毒等の標準物質の効率的な収集、実用的な標準試料作製のためのシステム構築の検討に関して情報収集を行った。

4. 貝毒の機器分析法及び簡易分析法のバリデーションに関する研究 現行の貝毒試験方法等につき、その確認、検証に関して情報収集、及び検証の実施、また、標準毒の作製に関し情報収集と対策の検討を行った。
- (7) 食品のバイオテロに関する研究として、1. 食品防衛における脆弱性評価手法について検討し、生物学的危害要因について実行可能性を含め検討した。

衛生微生物部

部長 小西 良子

概要

当部の主要業務は、医薬品、医薬部外品、医療用具、食品等に関連する有害微生物およびその産生毒に関する試験研究である。また食品部、食品添加物部、食品衛生管理部および代謝生化学部とともに当研究所の食品部門に属し、食品の安心・安全確保に係る業務を精力的に進めている。真菌を含む食品微生物およびその毒素の規格基準策定に関連するリスク評価に資する科学的データを始め、検査法および分析法の策定およびその評価のための妥当性試験等を全国の地方衛生研究所や食品衛生登録検査機関と協力体制のもとに行っている。特に食品中のカビ毒の試験法に関しては、通知法の妥当性を評価するために、今年度から「カビ毒試験法評価委員会」を設立した。本委員会はカビ毒試験法を対象に、その妥当性を複数の専門委員により評価するシステムである。本年度は、デオキシニバレノールおよびニバレノールの一斉分析を確立し妥当性試験を実施した。真菌およびその毒素に対しては、国際機関の動向に適切に対応していくための科学的根拠を集積している。食品中の食中毒菌や汚染指標菌の検査法は、食品衛生管理部と連携し「食品からの微生物検査標準法検討委員会」を設立し、ガイドライン作製等を検討している。

今後は、標準品のない微生物毒素および真菌毒素、標準菌株などを対象にした整備を視野に入れた研究体制も築いていくべき課題である。

人事面では、平成20年6月1日付けで渡辺麻衣子博士を任期付研究員として採用した。平成21年3月31日付けで当部第1室室井正志室長が退職し、同職に平成21年4月1日付けで当部第3室菊池裕主任研究員が任命された。

客員研究員である高鳥浩介東京農大客員教授、小沼博隆東海大学海洋学部教授、協力研究員として、畑尾 史彦 東京大学医学部助教、角田正史北里大学医学部准教授、尾上洋一前神奈川衛生研究所部長とともに、精力的に共同研究を進展させた。

海外出張は、以下の通りである。

平成20年7月27日から7月28日までヨーク大学サウスゲート博士を訪問し、自然免疫機構について討議した(小西)。平成20年7月30日から8月1日にかけて英国のエジンバラで開催されたThe International Endotoxin and Innate Immunity Society, 10th Biennial Meetingに参加し研究発表を行った〔小西, 室井, 大西, 杉山〕。

平成20年8月からの4ヶ月間に米国食品医薬品局 ガルフコースト水産食品研究所での水産食品の危害微生物汚染に関する研究を行った(工藤)。平成20年11月2日から11月7日まで米国ニューオリンズにて開催されたUnited States-Japan Cooperative Program on Development & Utilization of Natural Resources, Joint Panel on Toxic Microorganisms, 43rd toxic microorganisms joint meetingにパネルメンバーとして参画した(小西, 鎌田)。

所外業務として、小西部長は、国立保健医療科学院を併任し、食品衛生に関する自治体職員の指導を担当し、小西部長, 工藤第3室長, 鎌田第4室長は同院の研修講師を務めた。

業務成績

1. 平成20年度 食中毒汚染実態調査の検査法に係る調査

平成20年度食品中のカビ毒の分析法にかかる試験検査ツリーナツ中の総アフラトキシン量の分析法の開発とその妥当性を複数機関コラボラティブスタディにより評価し通知法を作成した。

2. 平成20年度 カビ毒同時試験法開発と分布調査

カビ毒の複合汚染が起きやすい、とうもろこし加工食品を対象にカビ毒の一斉分析法を確立し実態調査を行った。

3. 平成20年度 食品中のカビ毒にかかる試験検査

牛乳加工品中のアフラトキシンM1の分析法を検討するとともにチーズ, ヨーグルトへのカビ毒の移行を測定, 暴露評価を行った。

4. 平成20年度 食中毒菌汚染実態調査

地方衛研で行う取査検査に用いる試験法を提示し各地研からの主な食中毒菌汚染実態調査のとりまとめを行った。

5. その他

食品安全委員会専門委員として、カビ毒・自然毒部会専門委員として、総アフラトキシン評価書の作成に参画した〔平成21年3月19日 厚生労働省に通知〕。食品中の危害微生物のリスクアセスメント, 食中毒原因微生物

のリスク評価案件に関するワーキンググループの座長を務めた。また、参考人として専門委員会に参画した。

薬事・食品衛生審議会臨時委員, 農林水産省農業資材審議会委員, 農林水産消費技術センター食品安全管理システム(ISO/TC34WG8)専門分科会委員においては、試験法評価, 規格基準審査等に関わる専門協議に従事した。

日本薬局方部会生物試験法委員および独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員として、試験法改正作業, 国際調和作業, 対外診断薬の承認審査等に関わる専門協議に従事した。JICA派遣研修生を対象にマイコトキシン技術講習を行った。

研究業績

1. 内毒素に関する研究

(1) 細菌内毒素の活性発現における情報伝達因子の役割に関する研究

MyD88によるNF- κ Bの活性化にはTRAF6の多量体化が必要なくIRAK-1による活性化にはTRAF6の多量体化が必要であることを明らかにした。

(2) エンドトキシンショック発症における血管内皮細胞死の役割に関する研究

これまでの通説とは異なり、蛋白合成を阻害しない条件下でもエンドトキシンによる血管内皮細胞のアポシス誘導が起きることを見出した。

(3) ヒト免疫細胞における細菌内毒素の活性発現に関与するとされている蛋白MyD88とIRAK-1はどちらもTRAF6を介してシグナルを伝達するとされていたが、両者は異なる様式でTRAF6を動員することを明らかにし、細菌内毒素の活性発現にIRAK-1が関与しない可能性を示唆した。

(4) 内分泌かく乱作用が疑われている37種の農薬または樹脂関連化合物について、細菌内毒素により惹起される自然免疫応答に対する効果を検討し、17種の化合物が内毒素により誘発される転写因子IRFの活性化を抑制することを見出し、これらの化合物が非病原性細菌に対する自然免疫による防御機構に影響を与える可能性があることを示唆した。

(5) 非病原性細菌の感染症発症を誘導する要因としての内分泌かく乱物質の作用に関する研究

内分泌かく乱物質の感作により恒常性を失った生体が非病原性グラム陽性細菌による感染攻撃に対してどのような影響を受けるのかを作成したin vivoの系を用いて検討した。(地球環境保全等試験研究費)

(6) TLR4シグナル阻害ペプチドを用いた感染認識機構の解析及び敗血症治療薬への応用

エンドトキシン受容体のTLR4の細胞外領域に結合するペプチドがエンドトキシン誘導性NF- κ Bの活性化

を抑制し、またエンドトキシンショックに対しても保護作用を有すことを明らかにした。(文部科学省科学研究費補助金)

- (7) リムルス試験を用いたミネラルウォーター類水源における細菌汚染評価法の確立

ミネラルウォーターの水源における細菌汚染状況をリムルス試験によって定量化する方法を確立した。(文部科学省科学研究費補助金)

2. 生物ゲノムの分子生物学的研究

- (1) 原核生物の反復配列の転写機構に関する研究

大腸菌反復配列に作用する新規転写因子蛋白質を精製し、DNA上の結合部位や他の蛋白質との相互作用を解析した。

- (2) 真核生物の反復配列の転写機構

真核生物のRNAポリメラーゼIIIプロモーターと大腸菌転写因子が結合することを、フィルターバインディングアッセイにより明らかにした。

3. 真菌の生態および制御に関する研究

- (1) 医薬品、食品にみる真菌の分布・汚染に関する研究

医薬品、食品から分離される真菌の特性を研究した。

- (2) 食品から分離される真菌 DNA塩基配列による同定法に関する研究

*Fusarium*属菌種同定法の開発のために、効率の良いDNA抽出方法を検討した。

- (3) 真菌の保存法に関する研究

TSY株の保存・性状確認を行った。現在約800株を保存している。

- (4) イヌアレルゲンの性状分析を通じてのイヌアレギーのリスク評価とその制御法開発

ヒトと共に生活しているペットの代表としてイヌを選択し、イヌが産生するアレルゲンを新たな病原体として位置づけ、そのアレルゲン性の評価や制御法を検討した。(文部科学省科学研究費補助金)

- (5) 清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究

消費者の苦情とその原因について解析した。(厚生労働科学研究費補助金)

4. 食品微生物に関する研究

- (1) 畜水産食品の試験方法に関する研究

サルモネラの液卵検査での検査法について、従来法と新しく設定した検査法で差が出るかどうか検討したが、差は見られなかった。従来法と同等以上の感度で、他の食品サルモネラ検査に設定した新しい改良サルモネラ法が液卵にも使用可能であることを検証した。

- (2) 腸炎ビブリオの迅速判定法の検討

腸炎ビブリオを迅速に判定できるPCR系を開発した。Positive control templateの開発も行い、数機関での検討を共同で行った。結果は良好であった。

- (3) 細菌性食中毒の予防に関する研究

細菌性食中毒の防止対策の分担研究として腸炎ビブリオの国内の二枚貝と鮮魚での汚染を調査した。(厚生労働科学研究費補助金)

- (4) 食品における衛生管理手法およびその精度管理に関する研究

食品検体の処理手法の検討を行った。一般に細菌検査には様々な希釈液が指定され使われているが、病原細菌の検出の場合には培養液による希釈が最高の検出感度を引き出すと考えられる。そこで、細菌数検査を行う場合の希釈液として、一般的なものの他、培養液で希釈した場合の細菌数の比較検討を行った。希釈水として、生理食塩水あるいはPBSの場合とBPWあるいはAPWの場合の細菌数の比較検討を行ったが、細菌数には統計的処理を行っても、差は見られなかった。(厚生労働科学研究費補助金分担)

- (5) 食品中の毒素産生食中毒細菌および毒素の直接試験法の研究

セレウス菌、ブドウ球菌およびウェルシュ菌とそれら食中毒細菌が産生する毒素を食品から直接検出するための基礎的応用的研究を行った。ウェルシュ菌に関しては毒素産生遺伝子の検出法の検討を行った。ウェルシュ菌食中毒は、毒素産生のウェルシュ菌のみが食中毒の原因となることが知られていることから、毒素産生遺伝子の検出により、食中毒予防につながる検査系を確率ウェルシュ菌食中毒事件で原因食品となることが多い、カレーの材料についてウェルシュ菌が検出できるかについて検討も行った。毒素産生ウェルシュ菌による接種実験を行い、25gあたり数個の毒素産生遺伝子を持ったウェルシュ菌を検出分離できる系を確立した。その検査系により、上記のカレー材料(香辛料および肉)を検討したが、毒素産生性ウェルシュ菌を検出できなかった。(厚生労働科学研究費補助金)

- (6) 腸管出血性大腸菌の牛肉を介したリスクに及ぼす要因についての解析

牛肉の保存と調理時における腸管出血性大腸菌の生存の関連性について検討した。(内閣府食品健康影響評価技術研究)

5. 真菌由来の整理活性物質に関する研究

- (1) 調理・加工による食品中有害物質のデトックス法と新しい安全性評価法の構築

果実類などからカビ毒を減毒させる成分を見だし、その応用を試みた。(文部科学省科学研究費補助金)

(2) カロテノイド摂取による食物アレルギー感作成立の抑制に関する研究

カロテノイドを胎児期または乳児期に与え、次世代におけるアレルギー感受性に与える影響を検討した。(文部科学省科学研究費補助金分担)

(3) タイにおけるカビ毒分解酵素の探索と家畜カビ毒疾病防除に関する研究

マイコトキシンを解毒化する新規細菌成分を検索した。(文部科学省科学研究費補助金分担)

(4) カビによる室内空気感染に関する研究

カビとアレルギーとの関連を環境汚染カビの標準機を用いて研究した。(文部科学省科学研究費補助金分担)

(5) カビ毒を含む食品の安全性に関する研究

我が国の食品中のトリコテセン系カビ毒、オクラトキシンA、フモニシンの実態調査、毒性評価、減衰試験を行い、一部について暴露評価を行った。「カビ毒を含む食品の安全性に関する研究」を分担し、小麦等でのその共汚染が認められるカビ毒のデオキシニバレノールとニバレノールの複合毒性について検討を行った。

6. 新興感染症に関する研究

(1) 神経変性疾患の放射標識抗体を用いた非侵襲性診断に関する研究

マウスプリオン蛋白質を認識するニワトリ1本鎖抗体(scFv抗体)遺伝子をCHO細胞に導入し、産生した抗体がプリオン蛋白質を認識することを確認した。(文科省原子力研究費分担)

(2) 遺伝子組換え医薬品等のプリオン安全性確保のための検出手法の標準化及びプリオン除去工程評価への適用に関する研究

ウシ血液からtotal RNAを調製し、RT-PCR法によるスプライス変異型プリオン蛋白質遺伝子の発現を確認した。(厚生労働省科学研究費補助金分担)

有機化学部

部 長 奥 田 晴 宏

概 要

有機化学部では医薬品等の各種化学物質の有効性及び安全性に関する有機化学的試験及び研究を行うとともに、生理活性物質の合成、構造と機能、反応性、構造活性相関並びに生体分子との相互作用に関する有機化学的研究を実施している。

当部は、厚生労働省所管の研究所の中で唯一の有機化

学を研究分野している部であり、当研究所の中では機能生化学部及び代謝生化学部とともに「基礎支援」と位置づけられている。有機化学は極めて広い分野であるが、その中核は、生体を構成する基本的なユニットである炭素-炭素結合を有する物質の特性あるいはその作用を分子レベルで理解し・記述する研究分野であると解釈される。当部ではその中で、特に生体に影響を与えうる化学物質に焦点を当て、有機化学的研究を実施することが中心的な課題である。

当部は、基礎支援部門として本所の各研究部門と共同し、他部の業務を有機化学的な立場から支援している。比較的最近では、アガリクスの安全性評価のためにアガリチンの大量合成法の確立等の業務や計算機を用いた違法ドラッグの活性予測等の業務をそれぞれ変異遺伝部や生薬部と実施した。

人事のうれしい動きとしては、平成20年12月付けで出水博士が研究員として着任し、第二室も室長1室員1の体制に復帰することが出来た。出水博士の活躍を期待したい。

平成20年度は業務あるいは研究業績欄に記載したように多くの成果を挙げる事が出来た。

平成20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) 医薬品の品質確保に関する研究などを行った。これらのテーマに関連して「フェノール性抗酸化剤をテンプレートとした生活習慣病の予防および治療薬の開発」が本年度から新たに研究費(文部科学省)を獲得し、スタートした。

研究員の受け入れに関しては、宮田直樹博士(名古屋市立大学薬学部教授、前当研究所有機化学部長)が新たに客員研究員となられた。また昨年度に引き続き末吉祥子博士及び丹野雅幸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准教授)、田中直子博士(大妻女子大学家政学部准教授)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(中村学園講師)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メタボロミクス・プロテオミクスに関する研究に従事された。貝沼(岡本)章子博士(東京農業大学応用生物科学部准教授)、西川可穂子博士(防衛医科大学校助教)は、協力研究員としてリンのNMRを用いた生体機能解明のための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20年6月2日～5日にポートランド(米国)および同年11月

8～13日にブラッセル（ベルギー）において開催された日米EU医薬品規制調和専門家会議(ICH)に出席し、「製剤開発」ガイドラインの補遺および「原薬の開発と製造」に関する検討に協力した。

また、奥田はWHOの臨時委員としてジュネーブ(スイス)で開催された第46回（平成20年4月1日～3日）、第47回（平成20年11月18日～20日）国際一般名称(INN)専門家会議に出席し、INNの策定作業に従事した。

また国際学会参加のための海外出張として、奥田は平成20年6月22日～26日ボストン（米国）で開催された第43回DIA年次大会でわが国の医薬品品質保証の現状に関して講演した。

厚生労働省の共同利用型大型機器の管理に関しては、高分解能核磁気共鳴装置（バリアン400MHzNMR及び高感度プローブ付600MHzNMR)の管理・運営を行った。

業務成績

日本薬局方の化学薬品に関して各条規格の作成並びに収載品の化学名や構造式の決定作業を実施した。また、薬事食品衛生審議会薬事分科会の薬局方部会および化粧品・医薬部外品部会、毒物劇物調査会、食品安全委員会、医薬品国際調和作業、WHO事業に協力した。（独）医薬品医療機器総合機構専門協議において新医薬品審査および医薬品一般名称(JAN)の作成に協力した。

研究業績

1. 有用生理活性物質の合成及び化学反応性に関する研究

- 1) 強力なNOドナーの開発を目的としてニトロアクリジン誘導体の設計・合成を行った。さらにDNAに対する光切断活性を明らかにした。（一般研究費、平成11～20年）
- 2) 放射線増感作用を有するtirapazamineのN-オキシド構造に着目して、抗体との結合部位を有するアクリジンN-オキシド誘導体の設計・合成を行った。（文部科学省原子力研究費、平成17～20年）
- 3) エイズウイルス糖鎖構築酵素阻害候補の濃縮された化合物ライブラリーの酵素阻害活性の測定を行った。（厚生労働科学研究費補助金、平成18～20年）
- 4) 細胞間情報因子(糖鎖)制御物質の探索を行った。（厚生労働省特別研究費、平成18～20年）
- 5) PET合成用固相反応の自動化装置の構築を検討した。（文部科学省原子力研究費、平成18～22年）
- 6) 合成したニトロフラン誘導体を用いて、蛍光誘導体の合成を行った。（一般研究費、平成19～20年）
- 7) 天然アミノ酸から有機化学的手法と電気化学的手法を併せたハイブリット手法により、人工アミノ酸の効

率的合成に成功した。また、合成したアミノ酸とその誘導体は、酸化触媒として機能することを明らかにした。（文部科学省科学研究費補助金、平成19～20年）

- 8) レスベラトロールのラジカル消去活性の向上を目的として5種類のメチル誘導体を設計・合成した。トリメチル体はレスベラトロールと比べて60倍以上のラジカル消去活性を示した。（文部科学省科学研究費補助金、平成20～24年）
- 9) 硫酸転移酵素可視化プローブの開発のためベンジルアルコールを反応点とした種々の誘導体を合成し、その反応性を検討した。（一般研究費、平成19～21年）
- 10) 光アフィニティーラベル化剤として利用されているベンゾフェノンモチーフとした誘導体を合成し、その光学特性を解析した。（一般研究費、平成20～21年）

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) レスベラトロールの毒性について化学的な解析を行った結果、スチルベン骨格の二重結合と4位の水酸基が遺伝毒性の発現に大きく影響していることを明らかにした。（一般研究費、平成12～19年）
- 2) フェナジンおよびそのN-オキシド体の活性酸素毒性について化学的な解析を行った結果、生体内還元物質による一電子還元反応を経て酸素を還元活性化することがわかった。また嫌気的条件下では、N-オキシド体はヒドロキシルラジカルを発生することを明らかにした。（一般研究費、平成14～19年）
- 3) マジックマッシュルーム中に含まれるシロシングルクロン酸抱合体を酵素法によって合成した。また、シロシンはヒトUGT1A8および1A9によって抱合化されることを明らかにし、速度論的パラメーターを算出した。（厚生労働科学研究費補助金、平成14～21年）
- 4) 2D-QSAR法を用いて違法ドラッグの活性予測法を行った。（厚生労働科学研究費補助金、平成18～20年）
- 5) シロシングルクロン酸抱合体に関して、NMRによる解析を行い、その結合位置を明らかにした。（一般研究費、平成20～21年）
- 6) MDMA錠剤のプロファイリングに関してATR-IRの有効性を調査した。（一般研究費、平成20年）

3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

- 1) 天然カテキンの立体構造を化学的に固定化した平面型カテキンについて細胞増殖抑制作用の詳細な解析を行った結果、アポトーシスの誘導が関与していることを明らかにした。（一般研究費、平成17～21年）
- 2) 分子設計したノンセコステロイド型リガンドの合成を行い、その転写活性の評価を行った。高活性なノン

セコステロイド型リガンドYR301を開発した。さらにリガンドとレセプターの複合体のX線構造解析に成功した。(文部科学省科学研究費補助金,平成19~20年)

3) コンフォメーション病治療薬の創製を目的としアミロイド産生酵素である β -セクレターゼの阻害剤の設計と合成を行った。(一般研究費,平成20~21年)

4. 医薬品の品質確保に関する研究

1) 製剤開発研究の我が国の実体に即したBaselineとしての取り組みに関するモック案を精密化した。(厚生労働科学研究費補助金,平成18~20年)

2) First-in-man試験に用いる治験薬の製造・品質管理の現状を調査した(厚生労働科学研究費補助金,平成19~21年)

以上の研究は,中西聡美(慶應義塾大学薬学部:増野匡彦教授),今井耕平(芝浦工業大学工学部:中村朝夫教授),金子文也,岩井すみれ,(日本大学生物資源科学部:奥忠武教授),佐野嘉一,山縣奈々子(東京薬科大学生命科学部:井上英史教授)の学部学生あるいは大学院生及び所内関連各部の協力を得て行った。

研究の成果は,下記学会等で発表した。Drug Information Association 44th Annual Meeting, Boston, USA (2008.6), 第61回日本酸化ストレス学会学術集会,京都(2008.6), 第8回AOB (Antioxidant Biofactor)研究会,東京(2008.6), 第18回金属の関与する生体関連反応シンポジウム,名古屋(2008.6), 第45回化学関連支部合同九州大会,北九州(2008.7), 30th European Peptide Symposium, Helsinki, Finland(2008.8), 第45回ペプチド討論会,東京(2008.9), 第25回有機合成化学セミナー,熊本(2008.9), 日本分析化学会第57年会,福岡(2008.9), 第3回バイオ関連化学合同シンポジウム,東京(2008.9), 第52回日本薬学会関東支部大会,千葉(2008.10), 第47回電子スピンスサイエンス学会年会(SEST2008),福岡(2008.10), XIV Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research International, Beijing, China, (2008.10), 第27回メディシナルケミストリーシンポジウム,大阪(2008.10), 第34回反応と合成の進歩シンポジウム,京都(2008.11), 第41回酸化反応討論会,福岡(2008.11), 15th Annual Meeting of the Society for Free Radical Biology and Medicine (SFRBM), Indianapolis, USA, (2008.11), 第25回日本薬学会九州支部大会,宮崎(2008.12), 日本薬学会第5回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム,東京(2008.12), 日本環境変異原学会第37回大会,沖縄(2008.12), 第23回日本酸化ストレス学会関東支部会,横浜(2008.12), 第20回ビタミンE研究会,奈良(2009.1), 日本薬学会第129年会,京都(2009.3)

また論文及び総説・解説の発表としては, Chem.

Pharm. Bull., Acta Crystallogr. F, Org. Lett., Curr. Top. Med. Chem., J. Med. Chem., Peptide Science 2008, Peptide 2008, Chem. Res. Toxicol., J. Neurochem, Food Chem. Toxicol., Chem. Commun. PHAM TECH JAPAN及び医薬品研究並びに厚生労働科学研究費補助金報告書, 国立機関等原子力試験研究費成果報告書, 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 内藤 幹彦
前部長 澤田 純一

概要

研究業務として,昨年度に引き続き,2つの大課題,薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究,脂質代謝の生体機能制御と創薬・安全性評価への応用に関する研究を中心に行った。

薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究では,引き続き所内プロジェクト「薬物応答予測プロジェクト」チームの中核となり,5種の抗がん剤への応答性に関連する遺伝子の多型解析及び機能解析を担当した。これまでに,約80種の薬物応答関連遺伝子につき詳細な遺伝子型の解析を行い,今後の医薬品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を蓄積している。

脂質代謝の生体機能制御と創薬・安全性評価への応用に関する研究に関しては,血中HDLの大部分を産生する肝の膜輸送担体の遺伝子発現制御機構の詳細を明らかとし,今後の創薬・安全性評価への応用において重要な研究成果を得ている。

人事面では,17年の長きにわたり,部長として生化学・細胞生物学,免疫毒性学,薬理遺伝学研究の分野で貢献された澤田純一前部長が平成21年3月に定年退官された。長きにわたるご活躍に深く感謝申し上げる。代わって,平成21年4月より内藤幹彦部長が,東京大学より着任した。また同月,斎藤嘉朗第二室長は,医薬安全科学部第三室長に配置換えとなった。前川京子主任研究官は,平成20年9月より米国カリフォルニア大学サンディエゴ校に,シトクロムP450タンパク質の立体構造解析研究のため留学し,平成21年3月に帰国した。同氏は引き続き,半年の予定で同校でのシトクロムP450タンパク質の物理化学的解析のため,再渡米した。

外国出張については,斎藤嘉朗室長および佐井君江主任研究官が第15回国際薬物動態学会北米大会(平成20年10月12日~18日,アメリカ・サンディエゴ)にて研究

発表を行った。

その他、食品安全委員会の遺伝子組換え食品等専門調査会、新開発食品専門調査会ワーキンググループ、薬事・食品衛生審議会の医薬品第一部会、生物由来技術部会、動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会における審議・立案に専門家としての立場から参画・協力した。

研究業績

1. 薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究

1) 「薬物応答予測プロジェクト」(保健医療分野における基礎研究推進事業)の一環として、以下の研究を行った。

- a) 抗がん剤(イリノテカン、パクリタキセル、ゲムシタビン、5-FU系抗がん剤、オキサリプラチン、イマチニブ)の応答性・副作用に関連する約35種の遺伝子を対象に、シーケンシングにて一塩基多型を主とする多型の検出を行った。また数種の遺伝子多型に関して、迅速・簡便なタイピング法を開発した。さらに検出した遺伝子多型情報を基に、ハプロタイプ解析を行った。
- b) 機能低下を伴うCYP2C9の遺伝子多型3種を対象に、プローブ化合物に対する酵素活性の阻害影響解析を、約15種の基質を用いて行い、基質及び多型依存性を示唆する結果を得た。
- c) 抗がん剤イリノテカンの体外排出に関わる数種の薬物トランスポーター分子種について、これらの遺伝子多型とイリノテカン体内動態および有害事象への影響を明らかにした。

2) CYP3A4の2種の遺伝子多型に関し、イリノテカン を基質として機能影響をインビトロで明らかとした。薬物トランスポーター ABCC4等の遺伝子につき、日本人における有用多型のタイピング系を開発した。薬物トランスポーターを対象に、機能変化を有する有用多型の一覧を作成した(政策創薬総合研究事業)。

3) インシリコ解析で、4種の薬物トランスポーター及び転写因子のマイクロRNA結合推定領域に、遺伝子多型が存在することを明らかにし、機能解析実験を開始した(文部科学省科学研究費)。

4) 重症薬疹(スティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮壊死症)と相関するHLA型を同定するため、主として発症患者検体の遺伝子多型解析を行い、有意に相関するHLA型を2種同定した(厚生労働科学研究費)。

2. 脂質代謝の生体機能制御と創薬・安全性評価への応用に関する研究

1) 抗動脈硬化薬創成に関する基礎研究としてHDL生産

に最重要の肝の膜トランスポーター ABCA1に着目し、ラット肝臓型プロモーター活性制御でのSREBP2の役割を解析するとともに、肝型・末梢型による二重制御の機構をスタチン・胆汁酸吸着樹脂投与ラット肝で示した(政策創薬総合研究事業)。

2) 相互作用タンパク質GEFによるRhoAの活性化により、ABCA1発現が安定化し、HDL形成を促進することを明らかにした(政策創薬総合研究事業)。

3) 神経細胞の実験系の構築と、細胞体における膜輸送担体の発現について解析した(文部科学省科学研究費)。

4) 核内受容体選択的モジュレーター機能発現に関する研究の一環として、サブタイプ選択的LXRリガンドの機能発現に関わるドメインをLXR α ・LXR β キメラ受容体を調製して同定した。また細胞選択的にLXR標的遺伝子発現を促進するRXR合成アゴニストにつき、LXR/RXRヘテロダイマー選択性に基づく作用機序を明らかにした(文部科学省科学研究費)。

5) HDL形成を制御するタンパク質の異化により、新しい機能ドメインを有した分解産物が産生されることを明らかにした(一般研究費)。

6) ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発の一環として肺サーファクタント脂質を用いた多層カーボンナノチューブの分散方法と、マクロファージでの炎症性サイトカイン産生への影響を検討した(厚生科学研究費補助金)。

代謝生化学部

部長 手島玲子

概要

業務関連物質の代謝生化学的試験及びこれに必要な研究を推進して行くこと、新規に開発されてくる食品に対応できる評価研究を手がけてゆくこと、食品等のアレルギーに関する評価研究を行うことを当部の大きな目標としてかかっているが、平成20年度、当部において、具体的には、以下の6つの課題に従って研究業務を行った。すなわち、(i)免疫系細胞の機能に関する研究、(ii)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、(iii)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、(iv)新開発食品の安全性・有用性に関する研究及び遺伝子組換え食品の定性、定量検査法に関する研究、(v)天然有害化学物質に関する研究、(vi)食物成分とその変質物に関する研究及び特定原材料等のアレルギーの検査法に関する研究である。

人事面では、松山大学薬学部、好村守生助教、千葉大学大学院薬学研究院、細山沙織助教を協力研究員として、また、大阪薬科大学薬学部、天野富美夫教授を客員研究員として前年度に引き続き受け入れた。また、平成21年4月1日付けで、中村公亮博士、中村厚博士を研究助手として、坂田こずえ氏を研究補助員として採用した。

外国出張は、以下の通りである。手島部長は、(平成20年9月24日～28日) 12th International Paul-Ehrlich-Seminarでアレルギーの標準化に関する招待講演を行うためドイツ・フランクフルトに出張し、同部長は(平成21年4月26日～30日) WHO/IPCS 免疫毒性ガイドライン作成グループ会合への参加並びに討論を行うため、オランダ・ビルトーベンに出張した。穂山浩室長(平成20年6月23日～6月28日)は1st global conference on GMO analysisで研究成果発表のため、イタリア・コモに出張した。また同室長(平成20年9月7日～9月10日)は、Katsart UniversityのInstitute of Food Research and Product Development (IFRPD)の国際シンポジウムの招待講演でタイ・バンコクに出張し、同室長(平成20年9月16日～9月21日)は第122回AOACインターナショナル年会のシンポジウムの招待講演のため、米国・ダラスに出張した。また同室長(平成21年3月7日～3月13日)は第30回CCMASにおける参加及び情報収集でハンガリー・パラトナマディに出張した。近藤一成主任研究官は、35th FACSS, the Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies conferenceで研究成果発表を行うため、米国のレノ(平成20年9月28日から10月2日)へ出張した。中村亮介主任研究官は、OECD-EOGRS(拡張一世代生殖毒性研究テストガイドライン)専門家会合(平成20年10月14日～18日)への参加のためフランス・パリに出張した。酒井信夫主任研究官は第122回AOACインターナショナル年会で研究成果発表のため、米国・ダラスに出張した(平成20年9月21日～9月24日)。

業務成績

1. 水産加工食品中に含まれるアレルギー物質に関する研究として、魚肉すり身等の食品原材料及びいわゆる健康食品に含まれるエビ・カニに関する実態調査を行った(食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課)。
2. 遺伝子組換え食品検査法の外部精度管理のため、複数機関による安全性未審査DAS59132トウモロコシのリアルタイムPCR並びにBtトウモロコシの定性PCR法の外部精度管理試験を実施した(食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、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)。
3. 安全性未承認GM食品監視対策(1)未承認カナダ産

GMナタネの検知法の開発、(2)GMトマトの検知法の開発検討を実施した(食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課)。

4. 保健医療科学院食品衛生管理コース(平成20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。JICA特別研修コースで遺伝子組換え食品について講義を行った。
5. 薬事・食品衛生審議会の新開発食品調査部会並びに表示部会(厚生労働省医薬食品局食品安全部)に協力した。他省庁関係では、食品安全委員会専門調査会(内閣府)、農林物資規格調査会(農林水産省)、ISO/TC34/WG7遺伝子組換え分析法専門分科会、(独)医薬品医療機器総合機構における専門協議に専門家としての立場から参画・協力した。

研究業績

1. 免疫系細胞の機能に関する研究

- 1) 遺伝子組換え食品に導入され発現しているタンパク質並びに既存のアレルゲンのアレルギー性評価法に関して、以下の研究を行った。(a)導入タンパク質のアレルゲン性予測に必要とされる既存アレルゲンとの構造相同性の評価に利用する目的で、アレルゲンデータベース(ADFS)のアレルゲンデータの整備、モチーフ検索法のバリデーションを行い、エピトープ情報の追加も行った(厚生労働科学研究費)。(b)GFP導入遺伝子組換えニワトリ肉のアレルゲノーム解析を実施し、既存並びに新しいアレルゲン1種を同定した。なお、遺伝子組換えの有無でのアレルゲンの量的な変動は見られなかった(厚生労働科学研究費)。(c)そばの主要アレルゲンのエピトープ部位の同定を行うため変異体の作成を行い、そばアレルギー患者血清との反応性について検討を行った(文科省科学研究費)。また、そばの主要アレルゲンの結晶化を行い、X線回折による立体構造の解析を行った(一般試験研究費)。(d)遺伝子組換え食品に導入されているタンパク質とアレルギー患者血清中IgE抗体の反応を調べるため、大腸菌を用いて抗原(Cry1F, Cry3Bb1)の発現を行った(厚生労働科学研究費)。(e)「遺伝子組換え食品等のアレルギー性・腸管免疫影響のインビトロ評価系の開発」の研究の一環として、感受性の評価のためのパイエル板のインビトロ培養系、アジュバント活性評価のためのヒト腸管上皮細胞並びにヒト樹状細胞の培養系の開発、また惹起の評価のための抗原特異的IgE抗体の測定に用いる新規産生タンパク質アレルゲンチップの開発並びに好塩基球細胞の開発を行った(食品健康影響評価技術研究委託・内閣府食品安全委員会)。
- 2) 消化管免疫細胞及び肥満細胞分化を規定する因子の

探索のため、骨髄由来幹細胞並びに消化管免疫細胞の培養並びに分化条件の検討を行った（特別研究費）。

3) ネガティブシグナルを誘導する抗アレルギー性IgEの開発のため、ネガティブシグナルを伝達するラット免疫系受容体に対する抗体の可変部遺伝子を単離し、マウスIgEの定常部遺伝子と融合させ、哺乳動物培養細胞に発現させて、その抗原特異性を確認した（文科省科学研究費）。

2. 生体高次機能に及ぼす薬物等の影響の分子論的解析技術の開発

血液脳関門透過性抗体の調製を目的に、ニワトリ抗マウスプリオンscFv抗体の作製を行い、塩基性ペプチドを結合させ、培養細胞で膜透過性を調べると同時に、動物実験に供し、体内での動態を解析した（原子力試験研究費）。

3. 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) 「発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関する研究」の一環として、破骨細胞のインビトロ分化系を構築し、分化および形態維持における細胞骨格の重要性に関する検討を行った（厚生労働省特別研究費）。

4. 新開発食品の安全性・有用性に関する研究及び遺伝子組換え食品の定性、定量検査法に関する研究

1) 「カロテノイド摂取による食物アレルギー感作成立の抑制に関する研究」の一環として、リコピン等のカロテノイド類の経口摂取による食物アレルギーの感作成立の抑制の作用機構の検討をした（文科省科学研究費）。

2) 「モダンバイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関する研究」（厚生労働科学研究費）で、以下の研究を行った。(a)リアルタイムPCRアレイ分析法を利用した遺伝子組換え食品推定法の開発、(b)遺伝子組換え魚の検出法の開発、(c)未知配列の組換え食品の配列解析法の検討である。

3) 「非食用バイオテクノロジー応用生物の食品への混入危害防止に関する安全性確保のための研究」（厚生労働科学研究費）の一環で、非食用バイオテクノロジー応用植物・生物に関する開発の実用化の動向を調査し、検知法の確立を検討した。

4) 「食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究」（厚生労働科学研究費）の一環で、スタック系統GM食品へ対応した検査体制の検査法の確立と検証を行った。また、各国の組換え食品の表示

について調査を行い、表示のあり方についての検討を行った。

5. 天然有害化学物質に関する研究

1) 「健康食品による健康被害防止のための研究」の一環として、天然植物をもちいた健康食品について、産地、年度別の成分変化をHPLC及びLC/MSを用いて検討を行った。また、インビトロ細胞培養系で毒性評価を行った（一般試験研究費）。

2) 「特異な脂肪酸の神経細胞のプログラム細胞死に関する研究」においてキノコ由来の特異な脂肪酸の神経細胞死の作用機構について検討し、これまでとは異なるアポトーシス経路で細胞死することが分かった（文科省科学研究費）。

6. 食品成分とその変質物に関する研究及び特定原材料等のアレルゲンの検査法に関する研究

1) 「アレルギー性疾患の発症・進展・重症化の予防に関する研究」の一環として、以下の研究を行った（厚生労働科学研究費）。(a)アルファカロテン、ベータカロテン摂取マウスにおけるアレルギー感作抑制のメカニズムを検討した。(b)コチニール色素及び魚卵の抗原解析を行い、アレルギーの発症予防に関して検討した。

2) 「調理・加工による食品中有害物質のデトックス法と新しい安全性評価法の構築」の研究の一環として、調理食品中の理化学的手法による有毒物質、分解物および生成物の分析評価系を確立した（文部科学省科学研究費）。

3) 「科学的知見に基づく食品表示に関する研究」の一環として、以下の研究を行った（厚生労働科学研究費）。(a)アレルギー物質を含む食品として新たに特定原材料に指定されたえび・かにの定性検査法について多機関バリデーションによる検証を行った。(b)キウイフルーツ、バナナELISA法の確立を検討した。

4) 「多次元HPLCシステムを用いた食物アレルギー原因物質の抗原性解析」の一環として、2次元HPLCシステムを用いた食物アレルゲンの新規分析法を確立した（文部科学省科学研究費）。

R | 管理業務

平成20年度放射線業務従事者91名、取扱等業務従事者11名の登録があった。

安全情報部

部 長 森 川 馨

概 要

安全情報部は、医薬品、食品、化学物質の安全性確保のための安全性情報の科学的、体系的な情報の集積、解析、評価、提供及びそれらに係わる研究業務を行っている。平成20年の業務としては、前年度に引き続き、医薬品及び食品の安全性に関する海外の最新情報、緊急情報及び学術情報を調査し、「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ともにwebサイトにおいて提供した。化学物質の安全性に関しては国際協力事業等をおこなった。さらに、図書情報サービス、及び国立医薬品食品衛生研究所報告編集業務等を行った。

人事面では、平成20年6月1日付で天沼喜美子第一室室長が採用された。また、平成20年7月1日付で窪田邦宏主任研究官が、第二室長に昇任した。平成21年3月31日付で芦澤一英第一室主任研究官が退職した。

海外出張は、以下のとおりである。森川部長は、第24回国際薬剤疫学会（デンマーク・コペンハーゲン、平成20年8月16日～20日）に出席した。森田室長は、国際化学物質安全性カード（ICSC）の原案検討会議（フィンランド・ヘルシンキ、平成20年4月6日～13日；スイス・ジュネーブ、平成20年11月9日～15日）、第15回及び第16回国連GHS小委員会（スイス・ジュネーブ、平成20年7月7日～12日及び平成20年12月9日～14日）、第1回日中韓GHS専門家会合（ソウル・韓国、平成20年8月31日～9月1日）に出席した。天沼室長は、英国医薬品医療機器庁での医薬品安全性情報に関する会合（英国ロンドン：平成21年1月27日）、英国医薬品安全性研究ユニットでの研修（英国サザンプトン：平成21年1月28日～30日）に出席した。窪田室長は、米国・オハイオで開催された第95回国際食品保全学会総会（平成20年8月3日～6日）において日本における胃腸炎疾患被害実態に関し発表した。また、英国・アバディーンで開催された第5回胃腸炎疾患被害実態研究国際協力会議（平成20年8月31日）ならびに食品微生物2008学術集会（平成20年9月1日～4日）に参加し、胃腸炎疾患被害実態研究に関する情報交換を行った。登田技官は、米国・ホノルルで開催された第4回環太平洋農薬科学会議（平成20年6月1日～5日）に参加し、本邦における輸入食品中の残留農薬について発表した。

業務業績

1. 医薬品の安全性情報に関する業務

1) 米国FDA, EU EMEA, WHOなどの海外の規制機関

から発行される医薬品に関する安全性情報を収集し、「医薬品安全性情報」として隔週で発行すると共にホームページに掲載した。また、海外の臨床系学術雑誌から医薬品の安全性に関する重要な論文を収集して検討し、隔週で行政や国立病院などの関連部署に情報を提供した。海外で新たに発生した医薬品に関する安全性問題や新たな規制・政策に伴う課題については、随時根拠となるエビデンスを調査し、情報提供を行った。

2. 食品の安全性情報に関する業務

1) 食品の安全性に関わる国際機関（WHO, FAO, コーデックス委員会, IARC等）や各国担当機関（EUのDG-SANCOやEFSA, 米国FDA, 英国FSA, カナダ保健省その他）の最新情報、規制情報、評価情報等、及び主要な学術雑誌を調査し、重要な情報を要約した「食品安全情報」（隔週刊）を定期的に発行した。また、国内外で新たに生じた食品安全上の課題について詳細な調査を行い、行政のリスク管理に反映させると共に、関連機関における情報共有をはかった。「食品の安全性に関する情報」webサイトを作成し、調査した情報を提供した。

3. 化学物質の安全性に関する国際協力

1) 国際化学物質簡潔評価文書(CICAD)の作成

国際化学物質安全性計画(IPCS)からCICADとして出版された化学物質評価文書のうち、9の評価文書（1,3-Butadiene, N-Nitrosodimethylamine, Carbon disulfide, 4-Chloroaniline, Ethylene oxide, Manganese and its compounds: Environmental aspects, Tin and inorganic tin compounds, 2,4,6-Tribromophenol and other simple brominated phenols, Heptachlor）について全文翻訳を行い、webサイトに掲載した。

2) 国際化学物質安全性カード（ICSC）の作成

9物質（1,4-Dioxane, Benzotrichloride, Chloroprene, 1,1-Dimethylhydrazine, Dimethyl sulfate, Propylene oxide, Cycloheximide, 3-Chloro-1,2-propanediol, 1,3-Dichloro-2-propanol）についてICSC英語原案（新規あるいは更新）を作成あるいは追加改訂し、内5物質が最終化された。また、新規43物質ならびに更新34物質（計77物質）のICSCを日本語に翻訳し、webサイトで提供した。加えて約100のICSCについて専門用語を修正整備した。フィンランドのヘルシンキ（平成20年4月）ならびにスイスのジュネーブ（平成20年11月）でのICSC原案検討会議に森田健室長が出席し、最終検討を行った。

3) 化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）への対応

スイスのジュネーブで開催された第15回（平成20年7月）および第16回GHS小委員会（平成20年12月）に、また、韓国のソウルで開催された第1回（平成20年9月）および東京で開催された第2回日中韓GHS専門家会合（平成21年3月）に森田健室長が出席した。また、GHS分類JIS原案作成、GHS分類マニュアル作成ならびに労働安全衛生法および化管法関連化学物質のGHS分類を支援した。

4) 国際的化学品評価文書の翻訳

2つのEUリスク評価書（Musk ketone, Sodium hydroxide）および4つのNTP-CERHRモノグラフ（1-Bromopropane, 2-Bromopropane, Ethylene glycol, Propylene glycol）について、主要部分を翻訳し、webサイトに掲載した。

4. 図書・情報サービス

1) 雑誌類の管理と相互貸借

雑誌については前年に引き続き購入することとし、単行本212冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は141タイトル、管理している単行本は13,698冊となった。文献の相互貸借事業に関しては、外部から254件の依頼を受け、外部へ1,116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

国立医薬品食品衛生研究所報告（平成20年、第126号）の作成と配布に関し、当所の国立衛研報告編集委員会に協力した。

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する海外規制機関や国際機関の最新の勧告、緊急情報、規制情報及び国際的学術雑誌からの論文情報を調査・収集、解析・評価し、「医薬品安全性情報」を26報（総ページ数684ページ、規制機関情報240件、文献情報35件）を発行すると共に、海外規制機関や国際機関の安全性情報についてはweb上での情報提供を行った。医薬品の安全性に関して国際的に問題となった事例としては、エリスロポエチン製剤の癌患者への使用による死亡率上昇や癌の進行、禁煙補助薬Vareniclineによる自殺念慮などの精神神経系症状、複数の免疫抑制薬による進行性多巣性白質脳症の発症、小児用OTC咳止め・かぜ薬の安全性問題、ヘパリン製剤への不純物混入、喘息吸入薬と有害事象などがあり、これらについてはさらに詳細な調査を行

い、情報提供を行った。

2) 医薬品の安全性監視と安全性監視計画立案のための医薬品安全性情報の解析、評価に関する研究

現在、世界で唯一公開されている米国FDAの大規模副作用報告データベースAdverse Event Reporting System 12年分(1997～2008 3rdQTR; 報告数約280万件2,154,247症例)を用いて、抗精神病薬として定型抗精神病薬2種、非定型抗精神病薬5種、また、抗パーキンソン治療薬として麦角系ドパミン作動薬、また、循環器領域、内分泌領域、眼科領域における医薬品の有害事象を解析した。また、併用による医薬品の有害事象の解析として、抗精神病薬、及び抗HIV治療薬の解析を行った（政策創薬総合研究事業）。

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、アラート情報及び文献等を調査・収集し、「食品安全情報」（隔週刊）を26報発行した。「食品安全情報」はwebで一般公開している。また、国内外で新たに生じた食品安全上の問題や健康への影響が懸念される課題等について、網羅的に情報を収集し、詳細に検討した（例：中国産乳及び乳製品のメラミン汚染、米国におけるトマト／ハラペーニョ唐辛子／セラーノ唐辛子のサルモネラ汚染、米国におけるピーナッツおよびピーナッツ製品のサルモネラ汚染等）。食中毒事件調査結果詳細データベース、食品添加物データベース及びwebサイトで提供している食品関連情報について、情報の追加・更新を行った。

2) 食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究

a) 国内外の原因不明食中毒事例を調査し、原因解明のための各国関係機関の対応、分析対象品目、原因物質による発症時間の差などについて分析した。b) 急性下痢症疾患による被害実態推定のモデル研究として、M県における積極的サーベイランス及び電話住民調査を行い、そのデータ解析を行った。c) 中国における乳および乳製品のメラミン汚染に関する情報、及び国内外のヒスタミン食中毒に関する情報を調査・分析した。d) 農薬のADIデータベースのデータ追加及び更新を行い、webサイトより提供した。e) 国及び地方衛研、検疫所、保健所等の関係者によるメーリングリストを活用し、国内外の最新情報やアラート情報の共有を図った（厚生労働科学研究費）。

3) 輸出国における農薬及び動物用医薬品の使用状況等に関する調査研究

ポジティブリスト制の導入に伴いより効率的かつ効

果的な輸入食品検査体制の確立をはかるため、わが国の輸入量の多い農畜水産物/原産国における農薬及び動物用医薬品の使用状況や検出状況を調査・分析した。またわが国の輸入食品モニタリング検査における違反状況や検出状況について、ポジティブリスト制施行前後における傾向の変化を分析した。(食品等試験検査費, 医薬食品局食品安全部監視安全課)。

- 4) クローン動物由来食品に関するリスク評価のため、米国食品医薬品局(FDA)のリスク評価最終版で引用されている文献の収集・調査を平成20年5月に行った。さらに、平成11年度の厚生科学研究「クローン技術を利用した動物性食品の安全性について」の報告書および平成11～13年度クローン牛利用緊急調査事業「クローン牛の生産物性状調査事業」の報告書で引用されている文献の収集・調査を平成20年6月に行った(食品等試験検査費, 医薬食品局食品安全部基準審査課開発食品保健対策室)。

3. 化学物質の安全性に関する研究

- 1) 化学物質安全性情報の収集と発信に関する研究

ICSCを利用したGHS簡易分類法による化学物質分類結果と専門的見解も考慮したGHS分類結果とを比較検討し、その有用性を確認した。加えて、GHS動向のフォローアップ、GHS導入における問題点の検証、IPCS文書策定への支援を行った(厚生労働科学研究費)。

- 2) 化学物質管理における世界戦略へ対応するための法規制等基盤整備に関する調査研究

国連GHS分類において妥当性評価の鍵となる毒性試験に関連した国連危険物輸送勧告ならびにOECD試験ガイドラインの翻訳を行った(厚生労働科学研究費)。

- 3) 毒物劇物指定調査のための有害性情報の収集・評価

現在薬事法の指定薬物に指定(脱法ドラッグ)されている、トリプタミン類5物質(4-アセトキシ-N,N-ジイソプロピルトリプタミン, N-イソプロピル-N-メチルトリプタミン, N-イソプロピル-5-メトキシ-N-メチルトリプタミン, N,N-ジイソプロピルトリプタミン, N,N-ジエチル-5-メトキシトリプタミン), フェンタミン類2物質(2-(4-エチル-2,5-ジメトキシフェニル)エタンアミン, 2-(4-クロロ-2,5-ジメトキシフェニル)エタンアミン), およびサルピノリンAの8物質について、物性, 急性毒性及び刺激性に関する情報を収集・評価し, 毒劇物指定に係る評価原案を提供した(業務庁費)。

- 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

大規模化学災害等への対応に関する最新情報の調査, 及び「健康危機管理関連情報webページ」掲載情報の追加・更新を行った。また, 大規模化学災害等の

対応について, 専門家や関係者による専門家会合を開催し, 問題点や課題等について検討した。「毒物劇物取締法データベース」についてデータの追加・更新を行った。

- 5) 国際連携ネットワークを活用した健康危機管理体制構築に関する研究—優先化学物質の選定基準に関する検討

世界健康安全保障行動グループ(GHSAG)作業部会による化学テロ対策のための優先化学物質選定基準で提示されているマトリックスの有用性について検討すると共に, 選定基準のサブ項目及び候補物質について検討を行った(厚生労働科学研究費)。

医薬安全科学部

部長 長谷川 隆一

概要

当部の研究業務目標は医薬品の適正使用に資する研究で, 重篤副作用の遺伝子バイオマーカー探索研究について, 今後数年にわたる当部の柱として実施することを目指し, 平成20年度は特に, その予算的措置, 並びに研究員確保の面で基盤整備が構築できた年度であった。

平成20年度に行った主要な研究は次の6項目である。重症薬疹と遺伝子マーカーに関する研究ではステーブンス・ジョンソン症候群(SJS)あるいは中毒性表皮壊死融解症(TEN)を発症した患者からDNA及び診療情報を集積し, HLAのタイピング及びDNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子多型解析を行った。向精神薬の薬物応答性に対する遺伝子マーカーの研究では, 解析対象とする臨床検体を集積するための基盤整備を行い, 集積した症例の一部については, 網羅的遺伝子多型解析及び関連解析を行った。医薬品による有害事象の発生における個人差の要因に関する研究では, 抗がん剤による副作用の発現に影響を与える患者背景因子の探索およびP-糖蛋白質の発現量の個人差に影響を与える遺伝子多型の探索を, 審議参加に関する遵守事項の運用上の課題に関する研究では, 国内の奨学寄附金等の実態調査と海外関連情報の収集解析を行った。また, 薬物応答予測プロジェクトでは, 抗がん剤の薬物動態, 抗腫瘍効果及び副作用発現と遺伝子多型・血漿中の生体成分等のバイオマーカーとの関連解析を行った。日中韓の臨床データにおける民族的要因を評価するための研究では, 日中韓の3民族における臨床薬物動態試験に関するデータを収集し, 民族差が生じる要因について検討を加えた。

人事面では, 鹿庭なほ子第三室長は平成21年3月31日

付けで定年退官し、平成21年4月1日付けで当部研究員として再任用された。齋藤嘉朗機能生化学部第二室長は平成21年4月1日付けで当部第三室長に就任した。齋藤充生主任研究官は平成21年3月31日付けで厚生労働省医薬食品局安全対策課長補佐へ出向となり、(独)医薬品医療機器総合機構生物系審査第二部の東雄一郎氏は平成21年4月1日付けで第一室研究員として採用された。瀬川勝智博士は平成21年3月31日付けで研究補助員を退職し、平成21年4月1日付けで非常勤職員の身分で研究助手として採用された。宮本晃子博士は平成20年9月1日付けで、また、小泉朋子氏は平成20年11月1日付けで研究補助員として採用された。

海外出張としては、長谷川隆一部長は欧州トキシコロジー学会(平成20年10月、ギリシャ)に出席し、また、頭金正博第二室長、鹿庭なほ子第三室長、黒瀬光一主任研究官は国際薬物動態学会(平成20年10月、米国)に出席し、それぞれ研究成果を発表した。林譲第4室長はISOのTC/69分科会(平成20年10月、中国)にプロジェクトリーダーとして出席し、ISO規格118433-7の作成を企画・実行した。

厚生労働科学研究補助金による研究事業では、特別研究事業として「副作用症例の生体試料バイオバンクシステム構築に向けた基盤整備研究」、創薬基盤推進研究事業として「重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究」、政策創薬総合研究事業として「ファーマコゲノミクス情報に基づいた医薬品の有効性及び安全性評価系の開発と医薬品開発への応用」、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業として「医薬品による有害事象の発生における個人差の要因に関する研究」および「薬事・食品衛生審議会における「審議参加に関する遵守事項」の運用上の課題に関する研究」、並びに、地域健康危機管理研究事業として「最新の科学的知見に基づく水質基準の見直し等に関する研究」を行った。また、(独)医薬基盤研究所の保健医療分野における基礎研究推進事業として「抗がん剤の薬物応答予測法の開発と創薬への応用」を、内閣府食品安全委員会の食品健康影響評価技術研究として「毒性データの不確実性とヒトへの外挿法に関する研究」を、さらにJST-CREST「フラグメント分子軌道法による生体分子計算システムの開発」及び文部科学省「イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発」を行った。

業務成績

1. 医薬品等の安全性評価に関する業務

(独)医薬品医療機器総合機構の医薬品GLP評価委員会、医療機器GLP評価委員会、新添加物専門協議及び医薬品名称専門協議、及び(財)日本公定書協会の標準品

評価委員会に出席し、安全性等の評価を行った。

2. 生物学的同等性試験ガイドライン作成委員会に参加し、昨年度に引き続き、「皮膚適用製剤の剤形追加のための生物学的同等性試験ガイドライン」及び同Q&Aの作成作業を行った。また、昨年度より、ジェネリック医薬品品質情報検討会ワーキンググループに参加し、品質に問題があると指摘されているジェネリック医薬品の品質確保に関する検討を行った。

3. 内閣府食品安全委員会

化学物質・汚染物質専門調査会、添加物専門調査会及び動物用医薬品専門調査会に出席し、安全性の評価を行った。

4. ISO 11843 Part 7 (測定方法の検出能力)の提案と作成

ISO 11843の第7部Methodology based on stochastic properties of instrumental noiseのプロジェクトリーダーとして国際会議に参加し、企画・作成を行った。

5. FUMI理論を用いた生物テロ事態の早期検出法の開発

防衛省技術研究本部先進技術推進センターNBC検知技術推進室と共同で、FUMI理論を用いた早期発見システムの実践アルゴリズムを研究開発している。

6. 日本薬局方及び日本医薬品一般の名称データベースの開発

医薬品名称委員会及び医薬品名称専門協議と連携し、有機化学部と共同で日本薬局方及び日本医薬品一般の名称データベースの開発を行った。

研究業績

1. 医薬品の安全性情報の解析に関する研究

a) 有害事象の発症に関連した患者背景因子に関する薬剤疫学的解析

血管新生阻害作用を有する抗がん剤であるベバシズマブについて、レセプトデータを用いて有害事象に関連するデータ集積を行い、有害事象の発症と関連する患者背景因子を探索する調査方法を確立した。

b) 医療用医薬品添付文書に対する医師、薬剤師及び製薬企業の意識比較解析

医療従事者への添付文書等による有用な情報提供のあり方の調査のため、医師、薬剤師及び製薬企業に対して、添付文書情報の利用・提供法、必要とされる情報のあり方等についてアンケート調査を実施した結果、添付文書の利用者である医師、薬剤師と提供者

である製薬企業との間で、主に薬物相互作用に関する情報提供のあり方に対する認識が異なることが示唆された。

c) 副作用症例報告の解析及び注意喚起の方法に関する研究

現時点での日本の安全対策は制度面では欧米に遜色ない水準にあると考えられるものの、審査業務との連携として、承認審査段階からの安全対策が必要であり、ライフサイクルを通じた安全性監視活動、市販後調査スタッフの審査チームへの参画などが必要と考えられた。また、副作用症例報告への対応として、副作用症例報告の調査分析、データマイニング手法の活用、頻度情報と薬剤疫学的手法の導入、予測予防型安全対策への強化が必要と考えられた。さらに、人的資源の質、量の両面での充実、医療従事者や患者への情報提供、海外との連携も必要と考えられた。

d) 一般用総合感冒薬の配合剤成分間同士の薬物相互作用の可能性に関する調査研究

一般用医薬品は医療用医薬品と異なり、配合剤として使用されることが多く、その代表としてかぜ薬が挙げられる。そこで、かぜ薬を対象に配合成分の代謝経路を調査することで成分間の相互作用の可能性について検討した。その結果、解熱鎮痛薬の代謝にはグルクロン酸転移酵素、抗ヒスタミン薬及び鎮咳薬の代謝にはCYP2D6が重複して関与していることが明らかとなった。

e) 病院情報システムを用いたスタチン系薬剤の使用実態と副作用の発生状況に関する調査

横紋筋融解症の原因となるスタチン系薬剤について、4医療機関を対象に電子カルテ等の病院情報システムを用いて、全てのスタチン系薬剤服用患者での処方状況と横紋筋融解症の指標であるクレアチンキナーゼ値および腎機能に関する臨床検査値、年齢、性別などについての情報を収集し、横紋筋融解症の発症に影響を与える要因を解析するためのパイロット調査を行った。

f) 市販レセプト情報を活用した医薬品適正使用に関する研究

(株)日本医療データセンターの複数健保組合(約64万人)のレセプトデータより、結腸・直腸・大腸がん患者での投薬と併発症、スタチン系薬剤使用者の横紋筋融解症関連検査実施状況、医療用医薬品の銘柄別販売金額等の情報を入手し、解析を実施した。

g) 日中韓の臨床データにおける民族的要因を評価するための研究

日中韓の3民族およびコケージアン民族における臨床薬物動態試験データを広範囲に収集し、各民族での

薬物動態を比較した。民族差が見られた医薬品については、民族差を生じる要因について考察を加えた。また、東アジア諸国での治験に関する情報を収集し、中国および韓国の規制当局と情報交換を行った。

2. 医薬品の安全性に関する薬剤学的研究

a) *MDR1* 遺伝子の発現に対する転写調節領域の遺伝子多型の影響

MDR1 遺伝子によってコードされる薬物トランスポーター、P-糖蛋白質は、薬物体内動態に深く関与しており、その発現誘導は薬効や副作用の現れ方に大きな影響を与えると考えられる。そこで、*MDR1* の5'-上流領域に存在している遺伝子多型が、*MDR1* の発現量の変化に及ぼす影響を、変異導入レポータープラスミドを作成し、レポータージーンアッセイ法により検討した。-1211 T>C多型は低酸素応答誘導に何らかの影響を及ぼす可能性が推測されたが、検討の結果、当該多型はこの誘導に対して影響を与えなかった。一方、-1459G>A多型は東アジア人において25%と高頻度で存在している。転写因子の結合を予測するデータベースでこの周囲の配列を検索すると、転写因子GATAファミリーが結合する可能性が示唆された。そこで、この多型のbasal転写活性への影響を、4種類の細胞株を用いて影響を検討したが、多型による影響は認められなかった。

b) 甲状腺ホルモン受容体を介したヒト*MDR1* 遺伝子の発現誘導機構

甲状腺ホルモンレセプターTRによる*MDR1* の発現誘導には、*MDR1* 上流-7.9 kb ~ -7.8kbに位置する2つのTR結合クラスターに加えて、さらに下流の数百bpの領域が必須であることを、腸上皮モデル細胞であるCaco-2細胞を用いたreporter gene assayを行い、明らかにした。また、Caco-2細胞の核抽出液を用いてゲルシフトアッセイを行ったところ、この領域に結合する核蛋白質が認められた。

3. 薬物応答予測プロジェクトにおける研究

a) 日本人がん患者におけるゲムシタピンの薬物動態解析

CDA活性に関連するバイオマーカーとしてPKパラメータ、血漿中CDA活性及び*CDA*3*が、ゲムシタピン治療における有効性及び安全性の予測に有用であることが判明した。また、ゲムシタピン投与後に重篤な骨髄抑制を経験した症例3例について、CDA遺伝子多型、薬物動態、血漿中CDA活性を測定し、2例は*CDA*3*をホモ接合体で有するためにCDA活性が著しく低下したことが原因であること、残る1例はCDA活性の低下が関与していないこと、を確認した。

b) 日本人がん患者におけるオキサリプラチンの薬理ゲノム学

昨年度に引き続き、オキサリプラチン服用患者の血液中のオキサリプラチン及びその代謝物の測定を行った。オキサリプラチン服用後の血液毒性、アレルギー反応、知覚神経毒性について、*GST*遺伝子の多型との関連を解析した。

c) パクリタキセル、カルボプラチン併用投与患者のメタボノミクス解析

パクリタキセル、カルボプラチン併用投与患者で、グレード4以上の好中球減少症を発症した患者と好中球減少症を経験しなかった患者の血漿中の生体成分をLC/TOF-MSで測定し、両薬併用時の重篤な骨髄抑制を予測するバイオマーカーの探索（メタボノミクス）を行った。

d) その他の抗がん剤の薬理ゲノム学研究

イリノテカンについては、トランスポーターと薬物動態や副作用との関連を多変量解析的アプローチで検討を行った。セツキシマブの薬理ゲノム学を実施するためのプロトコールを作成、倫理委員会の承認を得ると共に、症例の集積を開始した。5-FUについても、引き続き副作用・効果と代謝関連の遺伝子多型との関連を検討した。

4. 副作用のバイオマーカーに関する研究

a) 重症薬疹発症に関連する遺伝子マーカーの探索

薬物による重篤な副作用のひとつに重症薬疹ステーブンス・ジョンソン症候群(SJS)、中毒性表皮壊死(TEN)があり、重篤な場合には死に至り、また、眼や肺に重い後遺症が残る、その後のQOLが著しく低下することがある。SJS/TENの発症と関連する遺伝子マーカーを探索する目的で、ケース・コントロール研究を開始した。平成20年度は引き続き、症例の集積を行うと共に、HLAのタイピング及びDNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子多型解析を行った。カルバマゼピンによるSJS/TENでは、台湾の漢民族において遺伝子マーカーであると報告されたHLA-B*1502との関連は見出されなかったが、アロプリノールによるSJS/TENでは、一部の患者が台湾の漢民族において遺伝子マーカーであると報告されたHLA-B*5801を有していることが確認され、Pharmacogenomicsに論文を発表した。また、DNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子多型解析では、原因医薬品別に解析を行うと、SJS/TENの発症と関連するSNPが検出された。

b) 副作用症例の生体試料バイオバンクシステム構築に向けた基盤整備研究

複数の重篤副作用を対象とした新規生体試料バイオ

バンクを構築するためには、全国の医療機関において患者の生体試料と診療情報を取得できる制度を設立すると共に、それを実施・維持する事業費が必要であると結論した。

c) 抗うつ薬SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) の薬剤応答性の指標となる遺伝子マーカーの探索

本研究はうつ病・不安障害の薬物療法において第一選択薬とされている向精神薬SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) に関して、その臨床効果や副作用の発現と関連する遺伝子マーカーを全ゲノムに渡り網羅的に検索・同定してその有用性を評価すると共に、マーカーを利用した臨床効果や副作用予測のための評価系の開発を行う事を目的としている。今年度は、解析対象とする臨床検体を集積するための基盤整備を行うことに加えて、集積した症例の一部である150例の検体を用いて、網羅的遺伝子多型解析および関連解析を行った。関連性の有無は、「リスクアレルの個数」と「副作用の発現割合」との間に減少または増加傾向が有るか否かをCochran-Armitage testにより検定し、p値の確率点-確率点プロット(QQ-plot)によって有意水準を設定し、統計的に有意なSNPを同定した。「性機能障害有り、無し」「嘔気有り、無し」、「投与5~6週時点で有効性有り、無し」で行った関連解析の結果、いずれも有意なSNPsが検出された。

5. システム開発と分析法の解析・評価手法に関する研究

a) インフルエンザ大流行の早期発見のアルゴリズム

調剤薬局における感染症医薬品の販売量時系列はマルコフ過程であることを利用し、FUMI理論を用いてインフルエンザ大流行の早期発見のモデルシミュレーションを関東近辺の薬局データに基づいて行った。

b) フラグメント分子軌道法による生体分子計算システムの開発

三体項まで考慮したFMO3(Fragment Molecular Orbital 3)法の開発を行い、FMO法プログラムABINIT-MPXへ実装し、生体系における溶媒分子(水分子やカウンターイオン)を考慮した高精度計算を可能にした。

c) イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発

文部科学省「イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発」プロジェクトでバイオ分子相互作用シミュレーターの研究開発を行った。

d) 所内基盤ネットワークシステムの維持管理

昨年度構築した、国立医薬品食品衛生研究所ネットワーク(NIHS-NET)システムの維持管理を行った。また、ネットワークセキュリティ監査を実施し、セキュ

リティ強化のための対策を行った。

e) 薬局情報に基づくインフルエンザと風邪の流行状況の観測

調剤薬局における風邪薬と抗インフルエンザ薬の販売量から、関東エリアの風邪とインフルエンザの感染状況をリアルタイムで追跡するシステムを構築する研究を行った。

6. 健康影響の評価法に関する研究

a) 飲料水の水質リスク管理に関する総合研究

Perfluoroalkylcarboxylic acid (PFAC) や perfluoroalkylsulfonic acid (PFAS) 類について、その毒性情報を収集し整理すると共に、最新の安全性評価手法に関する研究として、新規の不確実係数 (Uncertainty Factor: UF) を提案した。新規UFを提案するために、最も適切な実験的実データを用いて確率論的アプローチによる計算を実施した。その結果から、2主要素 (種差とヒトのばらつき) に対応するUFとしては、各々の要素の中央値と幾何標準偏差値を用いた計算により、掛け合わせ後の分布の95%タイル値を用いるのが適切であると考えられた。

b) 毒性データの不確実性とヒトへの外挿法に関する研究

安全性評価手法の原則案と解説を作成した。その中に種差及びヒトのばらつきに関して最新の実験データを適用したこと、確率論的アプローチを導入したこと、ベンチマークドースアプローチを採用したこと、UF分割手法をそれぞれの不確実係数に適用したこと、遺伝毒性試験が不十分な場合に効果的な遺伝毒性試験の実施指示を採用したこと、最終的に総合的再評価の実施を取り入れたことの6点が科学的根拠に基づいた新規性の高い点である。

7. その他の研究

a) 企業からの資金提供と利益相反に関する学部、教授、審議会委員へのアンケート調査及び欧米における利益相反の取り扱いに関する研究

国内での奨学寄附金等の管理の実態及び利益相反への影響を明らかにするため、大学の医・薬学部及びそこに所属する研究者並びに審議会委員に対して、アンケート調査を実施した他、医師・薬剤師に対して産学連携活動と利益相反に関するアンケート調査を実施した。また、海外規制当局及び業界団体から関連情報の収集・解析を行った。

b) 産学連携活動に対する医師及び薬剤師の意識調査に関する研究

医学研究のための産学連携活動については、医師では50.6%、薬剤師では35.3%が是非必要、企業から大

学などへの奨学寄附金の必要性については、医師では44.4%、薬剤師では18.0%が是非必要と回答し、全般に、産学連携活動については、医師の方が受容する回答が多く、実際の産学連携活動の経験等を反映している可能性が考えられた。

c) 周産期母子の薬物治療の安全性

授乳婦に対する薬物療法の安全性に関するエビデンスを収集する目的で、周産期授乳婦に投与される機会の多い薬物について、母乳への分泌を含む母体における薬物動態を検討することとした。平成20年度は、アムロジピンの定量法を完成させるとともに、生育医療センターよりアムロジピン等の薬物を服用した授乳婦及びその乳児の生体試料の受け入れを開始した。

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

試験・研究業務

安全センターの試験・研究業務は、1) 医薬品関連 (麻薬・劇毒物等を含む関連物質の安全性評価、ならびにGLPの審査業務など)、2) 食品・食品添加物関連、3) 農薬・残留農薬関連、および、4) 生活化学物質を含む新規ならびに既存の化学物質に関わる安全性評価 (リスク・アセスメント) と、それら全般に亘る試験手法の開発・改良やリスク管理に関連する諸課題によって構成されている。

医薬品関連については、安全センターは平成16年4月に発足した医薬品医療機器総合機構の審査担当各部門の事前審査等に、過去5年にわたって内部審査の形で協力してきた。GLPの審査は、医薬品GLPと、医療機器GLPとで別々に審査が行われている。こうした中で医薬品のそれは、著しく内容の普及が進み、調査成績が向上している。医療機器GLPについては、始まってから間もないこともあり、普及のための広報活動が求められている。医薬品の安全性にかかる研究業務としては、山西弘一医薬基盤研究所長を主任研究者とした「ワクチン開発における臨床ガイドライン等の作成に関する研究」が、ワクチンならびにアジュヴァントに関するガイドラインの作成に向けて引き続き検討され、欧州(EU)に於ける審査状況の調査などが進んだ。これと別に、国産ワクチンの製造と非臨床試験に関する検討もはじまるようとしている。平成17年度より継続していた「医薬品の環境影響リスク評価手法に関する調査研究」は、平成19年度末をもって最終報告をまとめ終了したが、今後については、西村環境

衛生化学部長を主任研究者とするガイドライン作成に向けた研究の発足への含みを残している。医薬品等国際ハルチイェイション促進事業は、第6期2年目に入り、安全性部門では、S2遺伝毒性試験の見直し、M3非臨床試験の実施時期、S9抗がん剤の非臨床安全性試験、S6バイオ医薬品の安全性試験の追加検討、など検討すべき課題も出そろい、米国オレゴン州ポートランド市(5月31日～6月7日)、およびベルギー・ブラッセル市(11月10日～11月14日)における国際会議を重ねて着実に前進している(調査業務の項を参照)。

食品・食品添加物関連では、第6回食品安全フォーラムは食品表示の動向を巡って種々のトピックが取り上げられ、手島代謝生化学部長を世話人として11月28日に長井記念ホールで開催された。食品・食品添加物の安全性評価については、本年度はツヤブリシン、プロポリス抽出物、没食子酸、モンタンロウ、および焙煎コメヌカ抽出物の5品目の検討が終了し、報告書の作成が進んでいる。1昨年度平成18年5月29日付けで施行された残留農薬規制のためのポジティブリスト制については、食品分析分野での測定法の公定化が引き続き進められつゝ順調に進行している。なお、平成21年度のフォーラムは、松田食品部長を世話人として進められることが内定した。平成19年度以降ad hocで検討されている放射線照射の食品への適用の安全性評価については、一般市民、生産者、学識経験者の認識に関する調査結果が集計され、報告書のまとめが終了した。また2月には、フタル酸エステル含有おもちゃ等の取り扱いに関する検討会が行われ、すでに評価のなされているDEHPと共に、BBP、DBP、DINP、DIDP、DnOPを併せた都合6品目についての安全性評価がなされた。

農薬・残留農薬関連での安全性評価業務(いわゆる農薬安評)は、食品安全委員会の所掌に移行したが、当・安全センターの専門家は引き続き、日夜これに協力している。またJECFA/JMPR関連の国際調整会議への当センター専門家の貢献は、高く評価されている。その他(中国産食品への混入とも関連して行われた)メタミドフォスに関連した試験研究など、時宜に応じた行政対応研究も引き続き活発に行われている。なお、食品安全委員会の評価の対象とならない街路樹などに用いられる非食農薬の安全性評価業務は、環境省の所掌として別途審査が行われており、当安全センターの専門家が協力して進められている。

生活化学物質関連では、平成15年4月より行われている経済・環境・厚労の三省による化学物質の化審法合同評価は、分解性・蓄積性、スクリーニング毒性試験、および遺伝毒性にかかる(Q)SARのデータの試行的提示などをデータとして、順調に進行している。環境毒性を取

り込んだ前回5年前の化審法の改訂に引き続き、平成20年度中を目途として新たな見直し作業が行われ改訂文書がまとまり、国会へ提出の運びとなった。今回の焦点は、有害性評価中心であった従来の評価法を、曝露評価データを取り込んだリスク評価へ移行しようとするところにあった。ナノマテリアルの安全性評価については、総合評価研究室や毒性部にて本省試験研究費、厚生労働科学研究費補助金などによる研究が進行中であり、異物発がんとしてのナノチューブの造腫瘍性などに対する、リスク管理上の検討も進んでいる。内分泌かく乱化学物質研究関連では、ビスフェノールAの低用量かつ子供への影響研究が進んでいる。EUで準備の進められてきた化学物質の登録・評価・認可・制限に関する制度(REACH)が実際に始まり、その本邦への影響についても議論が具体化している。これに関係して、当センターの専門家が成立に尽力してきたHershberger Assay および Stably Transfected Transcriptional Activation Assayが本年4月にOECDガイドラインとして認証された。

調査業務としては、種々の国際機関(ICH, OECD, JECFA, JMPR, IPCS, ICCR, いわゆるVAM組織の活動、等)での各々の行政関連国際活動に対応したリスクアセスメント業務が行われている。WHO/IPCSとOECDはJointでトキシコゲノミクスの化学物質の安全性へのマイクロアレイなどゲノム科学の利用の検討を始めこれへの対応を進めている。WHO/IPCSによる遺伝毒性評価手法の国際標準化に関する会議へも、当センターから専門家を派遣し対応した。欧米日間の医薬品許認可要件に関する国際協調のための研究活動(医薬品等国際ハルチイェイション促進事業)に関しては、第6期厚労科研「国際的動向を踏まえた医薬品の新たな有効性及び安全性評価等に関する研究(井上班)」が第2年目となり、当センターが中心となっている安全性トピック(コードとEWGメンバー)については、臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期に関する課題(M3; 大野, 中澤), 遺伝毒性試験の改善に関する課題(S2; 林, 本間), 抗がん剤についての非臨床安全性試験(S9; 小野寺, 中江), バイオ医薬品の安全性試験の追加検討(S6; 平林, 真木)などの構成で協調研究が進んでいる。また宇宙航空研究開発機構(JAXA)が仲介する宇宙空間に打ち上げて実験される物質の安全性に関する文書評価(助言)については、本年度より安全センターの非公式所掌業務として受け入れ協力する旨の判断となった。

業務活動総括

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、種々の化学物質の安全性評価とリスク管理である。このため安全センターの各部では、昨

年も記したように先端技術の導入をも含む安全性評価手法の改善の努力が不断に続けられている。因みに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研究などもその1例であり、これに伴って毒性オミクス担当室の設立が認められるなど日々新たな進展がはかられている。1昨年度制定された「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」に基づく、動物実験の適正化への取り組みはその後3Rを目指した改善を重ね、本年度は、ヒューマンサイエンス財団の主催する「適正な動物実験の行われている施設」を相互に認証する取り組みからの審査を受け、3月25日付けをもって第08-001号の認証を得た。

なお当所の府中市への移転・移築については、平成26年度竣工の目途で府中市への折衝や移転計画が進んでいる。安全センター特異的に特記すべき事柄はないが、移転を控えて様々の準備活動に各分野毎に構成員の活動が逼迫しつつある。

人事と研究交流等の行事

最後に安全センターの人事では、平成21年3月31日付をもって児玉幸夫実験動物管理室長が定年退官し、後任に、毒性部より関田清司第2室長が翌4月1日付にて就任した(児玉幸夫元室長は、再任用として引き続き動物管理に参画)。また中澤憲一薬理部長が部長職を勇退した。これにより平成21年5月末現在の当センターの構成は、室数が平成17年10月の薬理部の新規試験法評価(JaCVAM)室の1増、および平成18年10月の毒性部における毒性オミクス室の1増、他方平成16年4月の変異遺伝部細胞バンクの基盤研への移行に伴う1減以来増減はなく、4部、1省令室、16室となっている。主任研究官などに欠員もあるが、一昨年認められたナノマテリアルに関する対応の為の増も補充され、5月末現在、センター長1、部長3(欠員1)、省令室長1、室長15(欠員1)、主任研究官18、(任期つきや再任用を含む)研究員9、動物飼育長1で、客員研究員18名を合わせると66名である。加えて、協力・流動研究員11、研究生・実習生14、および、技術・事務補助員34名の他、13名の短時間勤務職員等が在籍しており、総計は、138名である。安全センターは、平成15年前後の人事の凍結が解除され徐々に欠員の補充がなされつつあり、18年中端以降は16室体制となっているが、欠員の補充が遅れているほか、変異遺伝部の1室減の回復や毒性部動物管理室の省令室化、総合評価研究室のさらなる増員などに課題を残しており、引き続いてセンターの希求する将来へ向けてこれらの実現が期待されている。

最後に、慶事として、高橋道人元病理部長と中館正弘元総合評価研究室長が春期、祖父尼俊雄元変異遺伝部長が秋期の叙勲で、それぞれ栄に浴した。他方、訃報とし

て、当センター第3代センター長を務められ退官後も審査会等での審議に尽くしてこられた戸部満寿夫先生におかれては11月23日消化管腫瘍のため逝去され、また、当センター元動物管理室川崎 靖室長におかれても、脳卒中のため8月6日永眠された。

研究交流等の招聘事業としては、本年度は7月29日にILSI/HESIのMichael Holsapple博士を迎えたほか、9月3日には米国より来日予定であった米国カリフォルニア大学サンディエゴ校のFumio Matsumura 教授を迎え、西村環境衛生化学部長の主催による特別講演が行われた。

当センターからの海外出張・国際会議への出席については、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、安全性センターを構成するメンバーによる積極的な参加がなされた。それらについては各部の報告に記載されるのでここでは省略する。なお本年度センター長は、国際トキシコロジー連盟の副理事長として欧州トキシコロジー学会(10/2～9ギリシャのロードス島)に出席したほか、米国トキシコロジー学会(3/13～20メリーランド州ボルチモア市)に出張し、それぞれ安全センターの学術研究活動の一部を発信した。

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、医療機器又は衛生材料、一般化学物質(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加え、実験動物の開発と飼育管理、これらに必要な各種の研究、時宜に応じた安全性調査・リスクアセスメント、並びに必要な毒性試験法開発研究、等であり、これらを下から支える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を加えて、センター内はもとより、所内関連部署及び厚生労働省との連携のもと、これらを遂行している。平成18年10月1日付にて、毒性部第五室(所掌:先端生命科学技術を取り入れた分子毒性学的試験及びこれの研究に関連すること)が室長1名とともに認められ、Percellomeトキシコゲノミクス等を基盤とする分子毒性学の応用体制を整えつつあり、これらの基盤研究の上に、近年では新開発物質(ナノマテリアル等)対応を含む安全性評価のための毒性学分野の諸試験の開発を行い、新しい問題への対応支援を実施している。

人事面では、平成20年7月1日付けで小野敦主任研究官が総合評価研究室へ異動した。化学物質リスク推進事業（若手研究者育成活用事業）による流動研究員として、東京医科歯科大学より松上稔子博士を迎えた（（社）日本食品衛生協会）（8月1日付）。研究補助員として大塚まき技術吏員、片桐利恵事務補助員が入所（4月1日付）し、木越恵子事務補助員が退職した（8月31日付）。平成21年3月31日付けで動物管理室長児玉幸夫技官が定年退職した。（尚、後任に第二室長関田清司技官が翌4月1日付けで就任した（児玉技官は毒性部再任用非常勤職員として引き続き採用）。相崎健一博士が第二室長に昇任、新たに高橋祐次博士を主任研究官として迎え第五室に加わった。）

国外から、Haward Krug博士（スイス連邦材料研究所、2月20日）が来訪し研究交流を行った。特にナノマテリアル研究について本邦の進捗状況を伝えた。

業務関連での海外出張では、平林容子第四室長が、国際シンポジウムBenzene 2009の準備委員会（5月14日～18日、米国サンフランシスコ）、日米欧の医薬品に関する規制の国際協調ポータランド会議（5月31日～6月7日、米国ポータランド）、第6回国際幹細胞研究会議（6月10日～16日、米国フィラデルフィア）、Bridgeport病院での研究打ち合わせ及び国際実験血液学会（7月6日～14日、米国ボストン）、第28回ハロゲン化残留有機汚染物質に関する国際シンポジウム（ダイオキシン2008）（8月16日～23日、英国バーミンガム）、韓国毒性病理学会年会（9月8日～10日、韓国清州市）、日米欧の医薬品に関する規制の国際協調ブラッセル会議（11月8日～14日、ベルギー・ブラッセル）への出席と発表を行った。

安彦行人主任研究官が、フランス発生生物学学会・日本発生生物学会合同年会（9月13日～17日、フランス・ジアン）に参加し発表を行った。

試験業務

1. 既存化学物質の毒性試験

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として期待されるトキシコゲノミクスに関する研究として、「化学物質リスク評価の基盤整備におけるトキシコゲノミクスの利用に関する研究－反復暴露影響及び多臓器連関性（発達過程を含む）に重点を置いた解析研究－」（厚生労働科学研究費）を実施し、反復暴露影響及び多臓器に関するデータを蓄積した。

加えて、シックハウス症候群を考慮した高精度な極低濃度吸入毒性の評価システムを構築することを目的とした「化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化に関する研究」（厚生労働科学研究費）という先

行3年間の研究成果を踏まえ、平成20年度より「化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化、定量化、高精度化に関する研究－シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを核とする評価体系の開発－」（厚生労働科学研究費）を開始し、暴露条件の設定が比較的難しい昇華性化学物質パラジクロルベンゼンおよびテトラデカンについて、室内濃度指針値を参考に決定した極低濃度にて、2時間単回吸入暴露及び6または22時間合計7日間吸入暴露し、経時的にサンプリングしたマウス肺・肝について網羅的遺伝子発現変動解析を実施し、それぞれの遺伝子発現プロファイルの特徴を明らかにした。尚、個別的な試験の実施はなかった。

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、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、トランスジェニックラットを用いる遺伝子突然変異試験を開始した（食品安全部基準審査課）。加えて、いわゆる健康食品クルクミンおよびフォルスコリンをマウスに単回強制経口投与した際の肝を中心に多臓器にわたる網羅的遺伝子発現変動解析を検討した（食品健康影響評価技術研究委託・内閣府食品安全委員会）。

食品添加物に関して、3品目についての慢性/発がん性併用試験、1品目の繁殖試験、催奇形性試験および5品目の90日間反復投与毒性試験を継続実施あるいは開始した。加えて、マイクロアレイ技術等を利用し、既に使用が認められている指定添加物等について安全性確認に資するデータを得ることを目的として、硫酸アルミニウムアンモニウム等4品目について検討した（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

4化学物質について、*in vitro*皮膚腐食性試験、ラットにおける急性経口毒性試験及び急性経皮毒性試験を実施し、急性毒性に関する情報を提供した（医薬食品局審査管理課）。

調査業務

1. 化学物質及び食品などによる健康リスク評価

1) 内分泌関係

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシン類を含む）の胎児・新生児暴露に於いて、受容体原性毒性のメカニズムに基づくと理解される低用量影響が神経・内分泌・免疫系にまたがること、それを含めた作用の検出の為の「確定試験」として一生涯（発生、発達、成熟、老化）

の全ての段階に於いて懸念される毒性指標を網羅的に確認する「齧歯類一生涯試験法」を提案し、その開発とその支援基礎研究としての分子毒性メカニズム研究を実施している。

この詳細試験は、厚生労働省の内分泌かく乱化学物質・試験スキームに則り、内分泌かく乱性を検討する必要がある数十万種の対象化合物について、ホルモン活性に焦点を置いたスクリーニング手法の開発と確立と詳細試験に資する優先リストの作成を進めることと並行して実施するものである。

また、この問題の国際協力の重要性を考慮し、OECD対応を含む内分泌かく乱化学物質問題対応の国際及び国内で進められている試験法策定の作業に関わり、研究成果に基づいて作業に貢献した。(1) 2008年3月に厚生労働省医薬食品局が開催した「第20回内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会」に参加し、「齧歯類一生涯試験の開発の現状」及び「内分泌かく乱化学物質のリスク評価、特にBPAのリスク評価と低用量問題の今後の動向」について述べた。この内容は、今後「内分泌かく乱化学物質問題の現状と今後の取組 中間報告書 追補その3」として文書にまとめられ、総合評価スキームの構築に用いられる予定である。(2) OECDの設置するEDTA（内分泌かく乱物質試験法特別研究班）及び、その下部に位置するVMG-Mammalian（哺乳類試験検証班）に於いて、先行研究班の成果である子宮肥大試験がOECD試験法ガイドラインに採択された（2007年10月、TG440）。成果を提供したHershberger試験（去勢動物法、未成熟動物法）についてもガイドラインの最終案が提案され、2009年4月のNational Coordinators Meeting（WNT 21）で承認される見込みである。

2) 化学物質の安全性評価

化学物質審査規制法に基づき産業用途などに用いられている化学物質のうち、これまで我が国で製造、輸入が行われたことがない新規化学物質、または生産量が多く、これまでに十分な安全性評価が行われていない既存化学物質について、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、指定化学物質や特定化学物質に相当するかについて安全性評価のための調査を行った。

研究業務

1. 毒性試験法の実験的研究

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基に基礎的研究を行っている。

平成20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を継続実施し、平成17年度に終了した「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」の成果を受け、「化学物質リスク評価の基盤整備におけるトキシコゲノミクスの利用に関する研究—反復暴露影響及び多臓器連関性（発達過程を含む）に重点を置いた解析研究—」（厚生労働科学研究費）の最終年度研究計画を遂行した。これは、先行研究に於いて構築した約90種類の化学物質を対象にした単回（急性）暴露マウス肝トキシコゲノミクスデータベースに対し、反復（慢性）暴露データベース、多種臓器間の連関性を検討するトキシコゲノミクスデータベースを新たに構築し、また臓器内の遺伝子発現部位（細胞別、又は組織内領域別）の可視化を効率よく実施するハイスループット *in situ hybridization* データベースを加え、さらにデータベースの検証と有機的活用を促進するための個別テーマに則った基盤研究、及び、大量データから生物学的に有意な情報を効率的に抽出するインフォマティクス開発研究を配し、安全性評価に於けるトキシコゲノミクスの有機的利用を相乗的に促進させるものである。NTTデータ・日本テラデータと共同実施してきたデータベース解析に関する研究を引き続き実施し、マイクロアレイ測定における飽和問題等の系統誤差を補正する基礎理論開発を中心にその第七段階を終了した。また並行して既知毒物の情報を元に、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推進してきた。

2) タール色素等毒性試験法のための研究

「タール色素」に関する安全性確保の観点から、「青色1号」に関し、マウスに強制単回経口投与し、肝における網羅的遺伝子発現変動解析を検討した(医薬食品局審査管理課)。

3) ナノマテリアルの安全性評価に関する調査研究

高生産量（HPV）ナノマテリアルに対する安全性評価手法の開発検討を優先して行うことを通して、ナノマテリアルの安全性評価に必要な条件を探ることを目的に、ナノマテリアルの短期発がんモデルとして、雄 p53(+/-)マウスにMWCNT、フラーレン、青アスベストをそれぞれ3mg/animalの用量で単回腹腔内投与し、26週間観察した。その結果、MWCNT群で腹腔内に中皮腫が発生し、その程度はアスベストと同程度である

ことを明らかにした。一方、フラーレン投与では中皮腫は観られなかった。さらに、MWCNTの用量を1/10, 1/100あるいは1/1000に下げた発がん性試験を同様のプロトコールにて実施したところ、中皮腫発生率に用量相関性が観られた。MWCNT投与による病理形態学的変化は、凝集塊に対する組織反応も含めて、アスベストのそれと類似していた。動物実験でMWCNTで腫瘍発生が認められたことから、これを用いた新製品開発においてはこのような特性を想定することが望まれると共に、現時点では、MWCNTを扱うヒトは暴露を最小限にすることが重要であると思われた。また、フラーレンの慢性毒性を調べるため、雄C57BL/6マウスにフラーレンを3mg/animalの用量にて単回腹腔内投与した結果、フラーレンが腎障害を起こすことを明らかにした。また、アスベストによる中皮腫誘発メカニズムを明らかにするため、中皮反応モデルとして、アスベストを単回腹腔内投与したマウス腸間膜を対象にマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、細胞膜の水の通過に関わる蛋白、アクアポリンの増加、Wntシグナルに関連する遺伝子発現増加、細胞増殖、DNA複製、DNA修復関連遺伝子等の増加を認めた（厚生労働科学研究費）。

4) 毒性オミクスによる化学物質安全性確保の国際的動向に対応した緊急整備研究

行政対応に耐えうる実用性を備えた毒性オミクスシステムの構築を目的として、当毒性部で得られた毒性オミクス情報を元に、網羅性、定量性、再現性、互換性の向上に必要な基本的精度管理研究、毒性評価に必須なITシステムの開発研究に加えて、多臓器に関する毒性ゲノミクス研究（反復暴露を含む）の実験体制の確立ならびに情動認知毒性への応用を考慮した基礎的検討を行った。

2. 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・維持を行った。

2) 内分泌かく乱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を網羅的に解析するための基盤整備として構築したマウス成体雌性周期変動に伴う視床下部、下垂体、卵巣、子宮、膣の網羅的遺伝子発現データベースと、生後発達に伴う卵巣、子宮の網羅的遺伝子発現データベースを参照し、Estrogen receptor alphaのcDNAをノックインした

マウスの妊娠維持不良のメカニズムを解析した。

(2) BPAの5及び50 μ g/kgをSDラット妊娠6日目～離乳期（PND20）まで母動物に強制経口投与し、雌性F1の晩発影響について視床下部、下垂体、卵巣、膣及び乳腺等を詳細に検査する。その結果、BPA投与群において性周期異常、卵巣重量の低値及び黄体形成不全、膣開口遅延、乳腺terminal end budsの拡張等、遅延性影響が誘発されることが示唆された。現在、経時的に採取したサンプルについて引き続き検査を実施している。

(3) ホルモン様活性を有する化学物質検出系として、1) 50化合物について、HeLa-9903細胞を用いて、ヒトエストロゲン受容体 α （hER α ）アゴニスト及びアンタゴニスト活性を測定した。その結果、hER α アゴニスト活性として14物質を、アンタゴニスト活性として8物質を検出した。2) 70化学物質について、ルシフェラーゼ遺伝子を用いたレポーター遺伝子アッセイ法により、アンドロゲン受容体（Androgen receptor, AR）アゴニスト及びアンタゴニスト活性を測定した。その結果、アゴニスト活性として6物質、アンタゴニスト活性として9物質を検出した（厚生労働科学研究費）。

(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、マウス胎児脳細胞を分離・初代培養（ニューロスフェア培養）して得られる神経幹細胞を対象とした解析を、細胞増殖、RNAiによる特異的遺伝子発現抑制、分化マーカー発現定量等を用い継続実施した。グルココルチコイド受容体の胎生14日由来胎児神経幹細胞における機能を解析した。

(5) 表面プラズモン共鳴高速分析法：受容体相互作用解析による評価手法の開発においては、活性型、非活性型受容体と特異的に相互作用するペプチドを用いた相互作用解析のスクリーニングにおける有用性をSPR系において検証した。また、細胞核タンパク抽出物中における核内受容体リガンド特異的相互作用因子の解析を行った（厚生労働科学研究費）。

(6) 3D-QSAR：3000化合物について、自動ドッキング法ADAMを核とした*in silico*スクリーニングによりアンドロゲン受容体（AR）の三次元構造情報に基づく化学物質の結合様式の推定及び結合性予測を行った。その結果、2132化合物についてARに対するlogRBA予測値を算出した（厚生労働科学研究費）。

(7) 毒性発現メカニズムに支えられた新たな神経行動毒性評価系を確立する目的で、マウスを用いて、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験を用いて、アセフェート、ドーモイ酸暴露による脳高次機能への遅発影響解析と、異常行動時の脳遺伝子発現様式についてPercellome解析を実施した。

- (8) エストロゲン受容体の神経系に関する知見を個体レベルで調べ、神経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、複数種のエストロゲン受容体遺伝子改変マウスの行動解析を行った。また、それと並行して神経伝達物質調節機構への影響を検討するとともに脳構造解析を実施した。
- (9) ドーモイ酸による遅発性の記憶毒性発現メカニズムを解明する目的で、マウスを用いて、条件付け学習記憶試験を行った。その結果、早期に生じる場所-連想記憶障害に加えて、遅発的に顕在化する音-連想記憶障害が生じることを見いだした(学振科研補助 基盤研究B)。
- (10) 社会性形成モデルとしてマウスを用いて、集団化様式を経時的に解析するとともに、集団化に対応して学習記憶能が向上することを見いだした(学振科研補助 挑戦的萌芽研究)。
- (11) 胎生期低酸素性虚血による後発的脳高次機能障害の病態解明モデルとして、マウスを用いて胎生期虚血に起因とする海馬層構造の構築及びシナプス形成への影響を検討した(学振科研補助 若手研究B)。
- (12) エストロゲン受容体の神経系に関する知見を個体レベルで調べ、神経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 α ノックダウンマウスの行動解析を行った。また、それと並行して神経伝達物質調節機構への影響を検討するとともに脳構造解析についてPercellome解析を実施した。
- (13) 内分泌かく乱化学物質の作用機序に関する基礎的知見を得るため、東京大学と共同で破骨細胞に対するエストロゲンの作用を分子レベルで詳細に解析した。エストロゲンが個体内で破骨細胞にFas ligandを誘導し、破骨細胞をアポトーシスさせることが明らかになり、CELL誌に発表した。
- (14) 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かく乱化学物質の発生毒性への影響を評価する方法を遺伝子レベルで検討するため、マイクロアレイを用いた変動遺伝子のデータベースの作成を行ない、内分泌かく乱化学物質としてBisphenol-A(BPA)の影響について検索した結果、神経、心筋分化、アンドロゲン、エストロゲン代謝等の影響を受ける遺伝子を同定した(厚生労働科学研究費)。

3. 胎児、新生児、子供の健康に関する研究

- 1) 胎児・発生障害に関する基礎的研究
- (1) 体節形成に重要なMesp2遺伝子の代わりにLunatic fringeを発現するマウスやHes7の発現領域でLunatic fringeを発現するマウスの解析から、体節の境界形成

と前後極性にはLunatic fringeよりもMesp2がより直接に働いていることが示唆された。

Dll1遺伝子座にDll3遺伝子をノックインしたマウスの表現型を解析した結果、ホモ胚では体節形成の異常が回復せず、またDll3を過剰に発現するヘテロ胚では脊椎骨の形態に異常が観察された。これらのことから、Dll3はDll1の機能を代替するリガンドではなく、Notchシグナルに対する調節因子であることがわかった。さらにホモ胚では体節が形成されないにもかかわらず、脊椎骨の椎体には分節性がみられたことから、Notchシグナル以外の機構の関与が示唆された。

- (2) 体節特異的に発現する転写因子であるMesp2遺伝子の発現が、転写因子Tbx6依存的に制御されており、かつこの制御機構が生物種を超えて進化的に保存されていることを見いだした。この制御には複数のTbx6結合配列が必要であり、ゲノム上のTbx6結合配列の配置も重要な役割を果たしていることを示唆する結果を得た。
- (3) 遺伝子発現変動に立脚した高精度な発生毒性評価系の確立を目的として、胚性幹(ES)細胞を分化させた胚様体(EB)を用いる*in vitro*の系を導入し、この遺伝子発現経時データベースを構築後、催奇形性の種差が著しいサリドマイドをEBに持続適用した際の遺伝子発現変動を網羅的に解析し、肢部での背腹軸形成異常の報告がある遺伝子の発現増加などを見いだした。EBは、より早期の胚の代替モデルとなり得ることからも、この実験系は発生毒性評価系として有用な方法であるものと考えられた(厚生労働科学研究費)。
- (4) 胚性幹(ES)細胞を用いた*in vitro*試験法に関わる国際動向の調査研究を目的として、マウス由来及びヒト由来のES細胞を用いた*in vitro*試験法に関わる文献検索・調査により、人工多能性幹(iPS)細胞に関し、マウスとヒトのものでは由来する発生ステージが異なること、加えてヒトiPS細胞では*injection*法および*aggregation*法いずれでもキメラマウス作製が出来ない可能性があることが明らかとなった(成育医療研究委託研究)。
- 2) 化学物質による子どもの健康影響に関する研究
- (1) 化学物質による子どもへの健康影響に関する研究として構築した、マウス胎児脳発達に伴う遺伝子発現変化のデータベースを元に、胎児神経幹細胞に化学物質を暴露させた際の影響を検討する目的で、アザシチジン妊娠マウスに投与し、胎児脳における網羅的遺伝子発現を解析した。その結果、インターフェロン応答が惹起されることを見出し、その生理学的意義を検討している。
- (2) 「化学物質による子どもへの健康影響に関する研究」研究班(厚生労働科学研究費)への分担研究として、

化学物質の大人への影響評価結果を子どもへの影響評価に外挿するための研究を継続実施した。記憶障害を引き起こすことが知られているDomoic acid (DA)が、成人期投与より子ども期投与の方が、認知障害の程度が激しく、かつ多動を伴う行動変化を引き起こすことが明らかとなった。また、DAの脳に対する遅発影響を網羅的遺伝子発現解析により調べた。

(3)「化学物質による子どもへの健康影響に関する研究」研究班(厚生労働科学研究費)の分担研究として、化学物質による子どもの神経系への影響に関する研究を遂行する目的で、脳形成・発達過程における神経伝達物質シグナルの外因性かく乱による脳障害に関する研究を実施した。特に胎生期マウスへのサリドマイドのヒト型代謝物(フタルルグルタミン)の経胎盤暴露による神経系への影響について検討した。

(4)「化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒学的評価法に関する研究」研究班(厚生労働科学研究費)の分担研究として、化学物質による子どもの神経系への影響に関する研究を遂行する目的で、胎生期、幼若期、成熟期のマウスに対するバルプロ酸ナトリウム投与による神経影響について、行動学的に検討した。

(5)「化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒学的評価法に関する研究」研究班(厚生労働科学研究費)の分担研究として、化学物質による子どもの神経系への影響に関する研究を遂行する目的で、脳形成・発達過程における神経伝達物質シグナルの外因性かく乱による脳障害に関する研究を実施した。特に幼若期マウスへのトリアゾラム投与による神経系への影響について検討した。

4. 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, 厚生労働科学研究費, 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、末梢血をモニターするといったことだけでは、前駆細胞に局限した潜在的障害や、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。ここでは網羅的遺伝子発現解析法を用いて、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遺伝子発現変化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捉えることにより、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。即ち、障害性誘発モデル物質としては、放射線及びベンゼンなど、ヒトでの白血病原性の知られる生活・環境物質に注目し、酸化的ストレスに対する過剰反応モデルマウスや、耐性モデルマウスなどを用い、野生型との定常状態や、処置後の遺伝子発現プロファイルの比較検討を逐次進めている。これまでの結果から、放射線の照射において発現する遺伝子発現プロファイルの特徴には、その確率論的(stochastic)な個別変化に基づいた多様変化の側面と、他方おそらく対放射線脆弱サイトのような構造とリンクして発現すると思われる同属性(commonality)が共存し、この点で、遺伝子発現プロファイルは無処置・加齢対照群と有意に異なっていることが示唆されており、こうした特異のプロファイルと抽出遺伝子のプロファイルの、生物学的バイオマーカーとしての機能の検討を継続する。

2) 造血幹細胞維持機構/生体異物相互作用の場としてのいわゆる造血幹細胞ニッチを介した活性酸素障害発現機構に関する研究(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)

生体は高用量の活性酸素を消去する機構を備えて初めて生存が可能となったが、他方、低用量反応としての酸化的ストレスに対する生体応答は、種々の転写因子の遺伝子発現調節に関わり、生体の調節維持機構として必須の役割を担っていることがわかってきた。ここでは、造血幹細胞の維持機構に関与する低用量活性酸素種の生理的分子機構と、その調節障害の発生に関わる分子機構を、生理機構と病的障害機構の両面から検討することを目的として、以下3点について逐次検討を進めている。1) 低酸素状態で維持される幹細胞の静止期[dormancy]における維持機構と、細胞周期内における自己複製の調節機構、2) 造血幹細胞の細胞周期静止機構の成立とこれにかかる新生児期の造血動態変化の分子機構、3) 造血幹細胞特異的細胞周期測定法と定常状態における細胞周期静止分画の酸化的ストレス蓄積過程としての加齢・老化に伴う変化。これまでの結果から、セルソータによって得られる骨髓細胞の未分化な造血幹細胞は、分化抗原(Lin)陰性、c-kit及びSca-1陽性のLKS分画として得られるが、このうち造血ニッチとの接着を維持する $\alpha 2$ -integrin (CD49)高発現分画は、ニッチにおける酸素分圧の勾配を想定させる比較的低酸素状態のチオレドキシン(Trx)過剰発現マウスでの分画から、野生型、Trx欠乏状態のマウスと、酸化的ストレスの増加に従って、2', 7' -dichlorodihydro- fluorescein diacetateで検出される細胞内活性酸素種量を反映する蛍光強度の高い亜分画の増大が認められた。

3) 遺伝子改変動物を用いた発がん特性を含む生体異物応答に関する研究 (学振科研補助 基盤研究C, HS委託研究)

無処置のアリールハイドロカーボン受容体 (AhR) ホモおよびヘテロ欠失マウスと野生型マウスの死亡曲線を比較すると、ホモ欠失群の寿命は明らかに短く、ゴンペルツ表現による寿命関数は、エピジェネティックな促進加齢型を示し、AhRのがん抑制機能を示唆した。また、AhRは未分化幹細胞に発現し、細胞動態を抑制することでそのdormancyとゲノムの安定性に関係すること、ホモ欠失の未分化な細胞では、DCFH-DAの蛍光量で測定される細胞内酸化ストレスが高く、AhR機能の間接的抗酸化能は明瞭であり、その寿命への効果が分子進化的役割を担っていると考えられる。また、AhR欠失マウスでベンゼン毒性が除去されるが、造血前駆細胞と末梢血との障害性発現機構がそれぞれ臓器特異的に生じることを示唆する結果が得られていたが、これに対する裏実験の結果も得られたので、分化型血球の障害がAhRを介さない、おそらく肝におけるCYP2E1による直接的な臓器特異的障害性と考えられることを初めて見出す結果となった。

4) 生体内埋設型医療機器の素材に係わる生物学的な安全性評価に関する研究—発がん性を主体とした再評価と国際調和— (厚生労働科学研究費)

本研究課題は整形外科、循環器、口腔外科領域等において、人体に埋設される生体由来を含む種々の人工材料の安全性に関する従来の動物実験の問題点を見直すこと、および、可能性としての「細菌共存環境」がげっ歯類特有の異物好発がん性の誘因であることを検証すること、及び、異物発がんメカニズムを遺伝子レベルで明らかにすることを目的とする。これにより、今後の埋設物安全性評価の正確性の向上が期待される。これまでに、p53^{+/+}-マウスを用いた埋植実験の結果、「細菌共存環境」が埋植材料の発がんを修飾することが示唆された。さらに、異物発がんの差異を追加検討するとともに、術野の厳重消毒と簡易消毒の異物発がんに及ぼす影響を調べるため、p53ヘテロ欠失マウスを用いた比較実験を開始した。

薬 理 部

部長事務取扱 大野 泰 雄

概 要

有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究、医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理学的

研究、生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究、医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究、および医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究を行った。

防衛医科大学校・薬理学講座の助教として血管平滑筋細胞の増殖機構について研究してきた諫田泰成博士が第二室・室長として採用され、4月1日に着任し、「幹細胞を用いた医薬品等の有効性および安全性評価系の構築」に関する研究を開始した。育児休業中の大久保聡子研究員の代理として、(財)医療機器センター・リサーチレジデント (兼 国立成育医療センター・臨床研究開発部 臨床研究員) で「エコーガンによる低侵襲の胎児期遺伝子治療」について研究を行ってきた栗脇淳一博士が12月1日に任期付き厚生労働技官として採用され、「Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI)のアストロサイトグルタミン酸トランスポーターに対する作用」に関する研究を行っている。また、薬理部長として神経科学、電気生理学、薬物代謝学等についての研究の指導・統括を行ってきた中澤憲一部長が1月28日に退任し、以後、大野泰雄副所長が薬理部長事務取扱に就任した。なお、昨年度に引き続き、客員研究員として小澤正吾岩手医科大学教授、増田光輝博士を、協力研究員として(財)乙卯研究所の中込まどか博士を迎え入れた。

行政協力としては、昨年引き続き、中澤部長は中央薬事審議会臨時委員として専門協議に、また、内閣府食品安全委員会の農薬専門調査会専門委員会における食品添加物のリスク評価ガイドライン作成に協力した。また、中澤部長、紅林室長、小島室長は医薬品医療機器総合機構の専門委員として、医薬品、医療機器等の承認審査あるいは安全対策業務の専門委員として協力した。また、中澤部長は医薬品・医療機器GLPの評価に協力した。宮島主任研究官は厚生労働省、環境省、および経済産業省による新規および既存化学物質の安全性評価及び厚生労働省による化学物質GLPの評価に協力している。なお、新たに、石田室長が21年1月24日に薬事・食品衛生審議会専門委員に任命され、毒物劇物調査会に指名された。

国際協力としては、石田室長は、日本学術振興会二国間交流事業により、フランスINSERMと課題名「樹立ヒト肝前駆細胞株HepaRGを用いたヒト肝幹細胞の機能維持・分化の機構解明」で共同研究を開始した。それに伴い、相手国研究室よりPh.D. candidateであるClaire Legendre氏を7月26日から8月26日まで受け入れた。また、上記共同研究の打ち合わせのため、石田室長が7月20日から26日まで相手国研究室を訪問した。また、小島室長はOECD-EDTA (内分泌かく乱物質タスクフォース) VMG (バリデーションマネージメントチーム) NA (非動物実験) のメンバーとしてガイドラインの作成に、

ICCR（化粧品国際規制会議）の動物実験代替法バリデーション専門家として国際組織の構築に貢献した。また、米国SACATM（動物実験代替法毒性試験顧問会議）、ESAC（欧州動物実験代替法バリデーションセンター顧問会議）及びICH S2のオブザーバーとして参加し、審議に協力した。

国際会議のための短期海外出張としては、中澤部長はICHにおける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議論するため、米国オレゴン州ポートランド（5月31 - 6月7日）およびベルギー国ブリュッセル（11月9-15日）に出席した。小島室長は化粧品の国際規制会議（ICCR）のプレ行政官会議（米国、メリーランド州ベセスダ市、4月8-12日）およびICCRの行政官会議（米国、ワシントンD.C.、7月29日-8月2日）に動物実験代替法バリデーション専門家として参加した。ESAC第28回会議（イタリア、イスプラ市：5月6日-10日）、ESAC第29回会議（ベルギー、ブリュッセル市：11月2-7日）、ESAC第30回会議（イタリア、イスプラ市：3月8-12日）に招待され日本の動物実験代替法の状況を発表した。SACATM会議（米国、ノースカロライナ州リサーチトライアングル市：6月18-22日）に招待され、日本の動物実験代替法の状況を発表した。皮膚感作性試験LLNAの性能基準の協調会議および日米欧動物実験代替法協力会議（イタリア、イスプラ市：9月22-27日）に日本の専門家として招待され、ガイドラインの作成のための協議に参加した。OECDの皮膚刺激性試験専門家会議（ドイツ、ベルリン市：10月19-23日）ではガイドラインの作成のための協議に参加した。OECD EDTA-VMG-NA会議（フランス、パリ市：11月18-22日）ではガイドラインの作成のための協議に参加した。OECD試験法ガイドラインプログラムの国家コーディネーターワーキンググループ第21回会議（フランス、パリ市：3月30日-4月3日）ではガイドラインの作成のための協議に参加した。

学会等のための海外出張としては、佐藤室長は北米神経科学学会（ワシントン D.C. 11月14-20日）において、「タモキシフェンと関連化合物のグルタミン酸トランスポーターに対する作用」の発表を行った。また、「アストロサイトエストロゲン膜受容体を介したエストロゲンの神経機能調節機構の解明」のための研究のため、米国コロムビア大学に11月20-23日に出張し、ウィルスベクター技術について研究打合せを行った。簾内主任研究官及び宮島主任研究官は第48回米国毒科学学会年会（米国、ボルチモア市；3月14-21日）に参加し、N-OH MDMAのヒト肝における代謝についての研究成果を発表した。紅林室長は第2回アジア太平洋薬物動態学会（中国、上海市；5月11日-13日）に参加し「ビスフェノールAのヒト、サ

ル、ラットの凍結肝細胞を用いた代謝」について発表し、第48回米国毒科学学会（米国、ボルチモア市；3月15-19日）に参加し「幼若ならびに成熟雌性ラットにおける[2,3-14C]Acrylamide経口投与後の体内動態」について発表した。小島室長は*in vitro*生物学国際会議（米国、アリゾナ州ツーソン市、6月14-17日）に招待され、動物実験代替法における日本の共同研究について発表した。また、韓国動物実験代替法学会2009年冬季大会（韓国、ソウル市：2月27-28日）に招待され、皮膚感作性代替法LLNA-DAおよびLLNA-BrdUの日本における現状について発表した。更に、第48回米国毒科学学会（米国、ボルチモア市、3月15-19日）において、安定的に移入されたエストロジェン受容体転写活性化試験における国際的バリデーション研究のためのデータベースの確立およびICCVAM/NICEATM/ECVAM/JaCVAM 急性毒性ワークショップについて発表した。

研究業績

1. 有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究

国際的整合性を目指す医薬品等の品質、有効性及び安全性に関する研究において、臨床試験および申請との関係における必要な非臨床安全性試験の内容と実施タイミングについて詳細に検討し、ICHでの議論に反映させた。また、ICCRの代替法ワーキンググループ活動に協力し、化粧品の安全性評価の国際協調について議論した。また、ヒトiPS細胞を用いた新規*in vitro*毒性評価系を、可能ならば行政的に受け入れるため、*In vitro*毒性評価系のガイドライン案作成のための情報交換を行った。また、iPS細胞に由来する安全性試験がバリデートされた場合には、行政的に取り入れるべきとICH-M3検討班にコメントした。

安全性評価のための動物実験代替法の開発および評価体制の確立に関する研究においては、化粧品や医薬部外品、医薬品等の安全性評価のために用いられ、代替法の開発が十分でない皮膚刺激性、眼刺激性、および感作性の代替法の開発を継続し、バリデーション研究に移行できる目処がたった。また、代替法を用いた場合における安全性評価のあり方について有識者と検討し、全体的な方向性を明確にした。眼刺激性試験代替法（BCOD：ウシ摘出角膜の混濁および透過試験、ICE：ニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法）の第三者評価を行い、両試験法は化学物質等の眼刺激性の安全性評価試験として、条件付きながら適用可能であることを示した。更に、毒性動態と代謝分野におけるECVAM *in vitro*バリデーションの構築に協力した。

構造活性相関手法による有害性評価手法の開発NEDO

プロジェクトにおいて、毒性データベースの構築について協力した。

化学物質リスク評価法の国際的バリデーションに関する研究においては、内分泌かく乱化学物質試験法および遺伝毒性試験法の一つであるコメットアッセイについて欧米の動物実験代替法の専門機関と協力して国際共同研究を企画し、バリデーション研究を継続して実施した。バリデーション研究を通して、施設内および施設間再現性の高い結果を得て、プロトコールの統一とデータ採用基準を決定した。成果の一つとして、本年4月に内分泌かく乱物質試験法のスクリーニング法であるOECDテストガイドラインNo.455を成立させた。

2. 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

「ナノマテリアルの細胞機能影響に対する評価手法の開発に関する研究」において、CNTのGLAST機能ならびにP2X2受容体機能に対する影響評価を行い、CNTがアストロサイト細胞毒性を持つこと、GLAST機能を亢進すること、P2X2電流を抑制する傾向をもつことを明らかにした。

「アストロサイトエストロゲン膜受容体を介したエストロゲンの脳神経機能調節機構の解明」においては、初代培養アストロサイトを用いてmERリガンド候補物質を見いだした。Xenopus oocyte強制発現系を用いてGLASTのNOによる調節機構を明らかにし、NSAIDsによる調節部位を見いだした。

「グリア細胞をターゲットとした創薬のための評価科学基盤の確立」においては、ミクログリアの集積機構、P2X4発現増加機構、神経新生調節機構、アストロサイトのエネルギー供給機構、SSRIの薬効との関連に関する新知見を得た。グリア創薬標的分子の構造変化—機能連関評価系を確立した。

3. 生体機能における情報伝達に関する薬理学的研究

間葉系幹細胞を用いた生活習慣病治療薬の探索を行い、幹細胞の増殖および分化が抗酸化剤によって抑制されることを明らかにした。この結果により、活性酸素が幹細胞の機能に重要な役割を果たしていること、また、活性酸素は新たな治療薬の標的となることが示唆された。

4. 医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究

Biphenylのヒト肝ミクロソームにおける代謝では3,4-dihydroxybiphenyl等が生成し、ラットとは種差があることを確認した。

ライフステージに対応したアクリルアミドの体内動態の特性を明らかにするために、幼若および成熟雌性ラッ

トに¹⁴C-アクリルアミドを低用量で経口投与し尿糞呼気への排泄および体内動態を検討し、あまり差がないことが判明した。

5. 医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

医薬品開発の効率化を指向したヒトCYP分子種発現細胞系を用いる新規ヒト肝薬物代謝評価系の確立を目的に、ヒト肝薬物代謝酵素CYP2D6単独や各種CYP分子種のカクテル発現系を構築し、種々の代謝試験への応用が可能であることを示した。三次元培養したヒト肝前駆細胞は、薬物代謝酵素などにおいて平面培養時とは異なる機能を持つ可能性が示唆された。HepG2細胞における解析は、この変化が細胞骨格の変化に由来することを示唆していた。

また、樹立ヒト肝前駆細胞株HepaRGを用いたヒト肝幹細胞の機能維持・分化の機構を解明するため、ヒト肝前駆細胞株HepaRGの分化の各過程における遺伝子発現を網羅的に解析した結果、分化後期では薬物代謝に関連する多くの遺伝子の発現誘導が観察された。

遺伝子コピー数多型に基づく薬物動態関連遺伝子の個人差を解析するため、網羅的に遺伝子コピー数を測定する手法について検討した。その結果、発現解析用アレイによっても、array-CGHと同様の結果が得られることが明らかとなった。

「麻薬関連物質のヒト肝における代謝に関する研究」においては、生薬部と共同研究を行い、ヒト肝細胞および細胞画分を用いてN-(1-(3,4-methylenedioxyphenyl)propan-2-yl)-N-methylhydroxylamine (N-OH MDMA)の代謝について検討し、麻薬として規制されているMDMAが代謝物として生成することを示した。

6. その他

プロテオミクスによる化学物質の発生毒性に関与する分子の同定に関する研究において、インジウムおよびセレンの発生毒性に関与すると予想される、同様なタンパクの発現変化を見いだした。

国際的動向を見据えた先端的安全性試験の開発と評価に関する研究の一環として、試験法を検証・評価する組織JaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)の事務局として、腐食性試験代替法、皮膚感作性試験LLNA-DAの導入を行政に提案するとともに、ホームページを立ち上げた。ヒト培養角膜モデルを用いた眼毒性試験、ヒト培養皮膚モデルを用いた遺伝毒性試験の開発研究を行った。

佐藤室長は「グルタミン酸トランスポーター阻害剤」について、東京大学薬学部薬化学教室の大和田智彦教授

と共同で国際特許を出願した (PCT (TU0003))。

病 理 部

部 長 西 川 秋 佳

概 要

病理部では、病理学的解析を基盤とした安全性評価に係る研究を行っているが、特に化学物質の毒性・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、動物発がんモデルに関する研究、発がん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中心に業務を遂行した。

人事面として平成20年度は2名の着任および2名の退任があった。まず、平成20年5月1日付けで小松芳美が非常勤職員として平成20年3月1日付けで石井雄二が研究員として採用された。退任では、平成20年12月1日付けで今井俊夫第三室長が12月1日付けで国立がんセンター研究所実験動物管理室長に異動となり、引き続き客員研究員として研究協力を仰ぐことになった。さらに平成21年3月31日付で前田真智子非常勤職員が退職した。

短期海外出張として、3名の室長が、以下のFAO/WHO合同会議に参加した。まず、梅村隆志第一室長はイタリア・ローマで開催された第69回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会(JECFA)に出席し、食品添加物の評価および関連の討議を行った(平成20年6月17日～6月26日)。吉田緑第二室長は、イタリア・ローマで開催された2008年FAO/WHO合同農薬専門家委員会(JMPR)に出席し、農薬の評価および関連の討議を行った(平成20年9月9日～9月18日)。今井俊夫第三室長は、スイス・ジュネーブで開催された第70回FAO/WHO合同動物薬専門家委員会(JECFA)に出席し、動物薬の評価および関連の討議を行った(平成20年10月20日～10月30日)。

国際学会への参加として、西川秋佳部長は、米国・ローリーダーラムにおいて第27回米国毒性病理学会NTPサテライトシンポジウムのための打合せを行い(平成20年4月27日～5月1日)、米国・サンフランシスコで開催された第27回米国毒性病理学会においてNTPサテライトシンポジウムではシンポジストとして講演を行い関連する内容について討議を行った(平成20年6月16日～6月25日)、同学会には今井俊夫第三室長も参加し、発表および討議を行った(平成20年6月16日～6月25日)。また、井上薫研究員および高橋美和研究員がイギリス・エジンバラで開催された第6回欧州毒性病理学会に参加し、発表および討議を行った(平成20年9月24日～9月26日)。吉田緑第二室長は、米国・リサーチトライアングルパークで開催され

たNTPワークショップで講演を行った(平成20年10月29日～10月30日)。吉田緑第二室長は、米国ボルチモアで開催された第48回米国トキシコロジー学会(平成21年3月17日～3月20日)に出席し、発表および討議を行った。

その他の短期海外出張として、吉田緑第二室長はフランス・パリおよび米国・サンフランシスコで開催されたOECD農薬ステアリング会合(平成20年6月10日～6月11日、平成21年2月26日～2月27日)に専門家として出席し、討議を行った。

研究業績

1. 化学物質の臓器障害性に関する研究

1) 食品中の遺伝毒性を有する有害物質のリスク管理に関する研究

アクリルアミドの乳幼児期投与による多臓器を対象にしたラット中期発がん性試験の結果、明らかな影響は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。また、アクリルアミドの発育期暴露による精巣・神経毒性をラットで検索した。その結果、神経毒性は発育期と成熟期で差は認められなかったが、精巣毒性は発達期で重度であったことから、発育期はアクリルアミドの精巣毒性に高感受性であることが示唆された(厚生労働科学研究費補助金)。

2. 食品添加物、農薬、医薬品の安全性に関する研究

1) 食品添加物の毒性並びに発がん性の研究

レバミゾールおよび塩化マグネシウムのラットを用いた慢性毒性/発がん性試験結果より、いずれの物質についても発がん性は認められなかった(食品等試験検査費)。新規の試験として、セミカルバジドの慢性毒性/発がん性試験をラットおよびマウスを用いてそれぞれ開始した(食品等試験検査費)。西洋わさび抽出物をラットに給水瓶にて飲水投与する発がん性試験を継続した(食品等試験検査費)。没食子酸のラットを用いた慢性毒性試験の結果より、雌雄とも高用量群で軽度な血液および肝臓への毒性が認められた(食品等試験検査費)。ラットを用いたシコン色素の90日間慢性毒性試験の動物実験を終了した(食品等試験検査費)。

2) 既存添加物の慢性毒性および発がん性に関する研究

トコリエノールのラットを用いた発がん性試験の結果より、低頻度ながら雌の肝臓への発がん性が認められた(厚生労働科学研究費補助金)。さらに、投与により増加した肝臓の結節性病変の解析し、*gpt delta*ラットを用いて肝臓の*gpt*アッセイを実施した結果、変異頻度について有意な増加は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。

ラットの腎臓に発がん性を示したアカネ色素につい

て、アカネ色素成分アリザリンと代謝産物ルピアディンの中期多臓器発がんモデルを用いた発がんプロモーション作用を検索した結果、ルピアディンは肝臓、腎臓に発がん標的性を有することが明らかとなった。アリザリンは弱いながらも腎臓に対し、発がんプロモーション作用を有することが示唆された(厚生労働科学研究費補助金)。また、F344 *gpt delta*ラットを用いてアカネ色素成分の*in vivo*変異原性を検索した結果、ルシジン配糖体とルピアディンで突然変異頻度の増加が認められた。さらに、ルシジンおよびルピアディン特異的DNA付加体の構造解析を行った(厚生労働科学研究費補助金)。

オゾケライトのラットを用いた慢性毒性/発がん性試験の動物実験を終了した(厚生労働科学研究費補助金)。

3) 食品中の複数の化学物質による健康影響被害にする調査研究

*gpt delta*ラットにMeIQxとフルメキンを13週間併用投与する実験を終了し、標的臓器の肝臓を採取した(厚生労働科学研究費補助金)。また、*gpt delta*ラットに臭素酸カリウムとニトリロ三酢酸を13週間併用投与する実験を終了し、腎臓の解析を開始した(厚生労働科学研究費補助金)。

3. 化学物質の安全性評価に関する研究

1) 動物用医薬品等に関する畜水産物の安全性確保に係わる研究

ジサイクラニルを*nrf2*欠損マウスに投与した結果、酸化DNA損傷は*nrf2*量に逆相関して上昇したが、*GSH*、*Trdx*、*HO-1*のmRNAレベルに変化は観察されなかった(厚生労働科学研究費補助金)。

ピペロニルプトキサイドを*nrf2*欠損マウスに投与する実験を継続した(厚生労働科学研究費補助金)。

2) 胎児期・新生児期化学物質曝露による新たな毒性評価手法の確立とその高度化に関する研究

臭素化難燃剤の乳児期投与による甲状腺への発がん感受性を比較するために、成熟期投与によるラット中期発がん性試験を継続した(一般試験研究費)。

3) 化学物質による肝肥大誘導機序の解析を基盤とした肝発がんリスク評価系の構築

肝肥大を誘発する非発がん物質に動物実験を終了し解析した結果、細胞増殖活性の亢進や酸化DNA損傷の関与は認められなかった(食品健康影響評価技術研究委託)。

4) 動物モデルを用いた卵巣毒性評価法の確立と毒性発現機序に関する研究

ラットを用いて化学物質投与による卵巣毒性の評価法を確立した(一般試験研究費)。

5) ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価および体内動態評価に関する基盤研究

酸化チタンの単回経鼻、経気道投与、カーボンナノチューブのミストの単回吸入曝露およびフラーレンの単回吸入曝露によるラット脳への影響を検索した結果、これらのナノマテリアルの曝露による中枢神経系への影響は光学顕微鏡レベルでは認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。

4. 有害性評価の生体指標に関する研究

1) 酸化ストレスの発がん過程に及ぼす影響に関する研究

*nrf2*欠損マウスを用いた臭素酸カリウムの発がん性を検索する動物実験を終了し、解析を開始した(一般試験研究費)。その結果、臭素酸カリウムが引き起こす酸化ストレスに*nrf2*遺伝子の関与は認められなかった(一般試験研究費)。

2) 微生物毒素のハイリスクグループへの慢性的な健康影響に関する研究

離乳期のネフローゼモデルICGNマウスにニパレノールを投与し腎臓に対する影響をICRマウスと比較した結果、ICGNマウスはニパレノール高感受性であった(厚生労働科学研究費補助金)。

5. 動物発がんモデルの確立に関する研究

1) 個体レベルでの発がん予知と予防に関する基礎的研究

ラット大腸中期発がん(DMH-DSS)モデルを用いて、桂ウリ成分であるMTPEの発がん修飾作用を検討した結果、明らかな作用は示さなかった(一般試験研究費)。

2) 発がんイニシエーション活性の臓器特異性に関する研究

肝発がんプロモーターの投与により、PhIPのマウス肝に対する発がん性を検討した結果、肝発がんイニシエーション作用は明らかにはならなかった(一般試験研究費)。

3) 代替毒性試験法の評価と開発に関する研究

DSS誘発マウス大腸障害時におけるMeIQx投与による突然変異誘発ならびに発がん性への*p53*の影響を検討するために、*p53*遺伝子欠損*gpt delta*マウスにDSSとMeIQxを併用投与した結果、DSS誘発大腸炎はMeIQxの*in vivo*変異原性に影響を与えなかった。また*p53*の関与も認められなかった(HS財団受託研究費)。

四塩化炭素誘発マウス肝障害時のMeIQx投与による突然変異誘発ならびに発がん性への*p53*の影響を検

討するため、*p53*遺伝子欠損*gpt delta*マウスにDSSとMeIQxを併用投与した結果、四塩化炭素誘発肝炎によりMeIQxの*in vivo*変異原性が有意に上昇し、本モデルは炎症と発がんとの関連性を検索する優れた実験系であることが示唆された(政策創薬総合研究事業)。

2,4-ジアミノトルエン(DAT)ならびに2,6-DATの*in vivo* 変異原性を*gpt delta*ラットを用いて検討した結果、*gpt*遺伝子突然変異頻度は2,4-DATで増加し、非発がん物質の2,6-DATでは変化しなかったことから、本試験法は発がん性予測に有用であることが示された(政策創薬総合研究事業)。

6. 発がん過程に影響を及ぼす諸因子の研究

1) 代謝酵素の誘導と発がんの修飾に関する研究

ラットおよびハムスターにタバコ煙曝露とエタノールを併用処置した結果、両動物種とも代謝酵素誘導に対する相乗効果は認められなかった(喫煙科学研究)。

2) 肥満・高脂血症・糖尿病モデル動物の発がん感受性と発がん機構に関する研究

Zucker (Fa/fa)ラットはDMBA誘発乳腺発がんの高い感受性を有し、その機序として乳腺脂肪組織中の高レプチン濃度の関与が示唆された(厚生労働省がん研究助成金)。

3) 毒性データの不確実性と人への外挿法に関する研究

作用機序に基づいた発がんの種特異性について文献調査した(食品健康影響評価技術研究委託)。

7. 化学物質データベースシステムの作成に関する研究

1) 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

システムの構築、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(食品等試験検査費)。

変異遺伝部

部 長 能 美 健 彦

概 要

前年度に引き続き、研究面では、遺伝毒性の評価と解析に関する研究、遺伝毒性試験法の改良と新しい手法の開発に関する研究、突然変異誘発機構に関する基礎的研究、化学物質による遺伝毒性の構造活性相関に関する研究を行った。遺伝毒性発がん物質の閾値に関する問題(厚生労働科学研究費)については、平成20年7月22-23日に国際シンポジウムを開催し、その成果を日本環境変

異原学会機関誌Genes and Environmentに特集号として発表した。放射線医学総合研究所等との共同研究として進められたクロスオーバー研究(文部科学省原子力試験研究費、分担研究課題「化学物質と放射線の複合遺伝毒性に関する問題」)は、平成20年度で最終年度を迎え、平成20年11月18-19日に国際シンポジウム「低線量放射線に対する生物反応」が開催され、5年間の研究成果を報告した。この他、トランスリージョンDNA合成に関する問題(文部科学省科学研究費)、代替遺伝毒性試験法の開発(ヒューマンサイエンス重点研究)、発がん性と遺伝毒性の相関(厚生労働省がん研究助成金)などに取り組んだ。遺伝毒性試験ガイドラインの改訂に関しては、平成20年7月に英国において国際保健機関/化学物質安全性国際防護委員会(WHO/IPCS)が開催され、その成果は、英国環境変異原学会機関誌Mutagenesisに発表された。また、ICH(International Conference on Harmonization of Technical Requirement for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)では医薬品に関する遺伝毒性ガイドラインの改訂作業が平成18年より行われているが平成20年にStep2に達し、現在新しいガイドラインの策定に向けて最終調整を行っている(厚生労働研究医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。

第一室ではほ乳類培養細胞およびラット個体を用いた(1)遺伝毒性メカニズムの研究、(2)遺伝毒性評価系の開発、(3)環境化学物質の遺伝毒性の評価の研究を引き続き行った。また、新たに(4)構造活性相関(QSAR)による化学物質の遺伝毒性の予測に関する研究も行った。

(1)ターゲッティングミュータジェネシスによりゲノムの特定部位に、特定のDNA損傷を発生させ、その修復メカニズムを解析する研究を進めている。放射線によるDNA損傷のモデルとしては、昨年度に引き続き、制限酵素によるDNA切断を利用した培養細胞系の研究を行った。本年度は2つの制限酵素部位を逆向きに配列させることにより単純な再結合を防ぎ、より放射線損傷に近いモデルの構築に成功した。また、DNAの酸化損傷である8-オキシグアニンをヒト細胞のゲノム内に導入させるターゲッティングミュータジェネシスにも成功した。その細胞を数回分裂させ、解析した結果、8-オキシグアニンはゲノム内でも高頻度にG:C→T:Aトランスバージョン突然変異を引き起こすことを明らかにした(文部科学省科学研究費)。放射線によるDNA損傷に関しては、Comparative Genomic Hybridization (CGH)法を利用することにより全ゲノムでおこる染色体レベルの変異を網羅的に解析することにも成功した。放射線は体細胞に対してBreakage-Fusion-Bridge (BFB) cycleを介して欠失、増幅、転座等の複雑な染色体異常を引き起こすことを明らかにした。CGH解析を生殖細胞での遺伝的変異の検出

にも応用した。雄ラットに放射線を照射すると、低頻度であるが精子を介して仔ラットに欠失型の突然変異が引き起こされることがわかった。これらの研究成果を第38回欧州環境変異原学会、キーストーンシンポジウム等で発表した。また、遺伝毒性の指標の一つである小核の誘発機構について、ライブセルイメージング技術を導入し、解析を行った。核、チュブリン、中心体等が蛍光発光するトランスジェニック細胞を開発し、細胞分裂期に生じる小核の可視化、及びビデオでの撮影に成功した。この方法を利用し、性質の異なる遺伝毒性物質（アルキル化剤、放射線、細胞分裂阻害剤）によって誘発される小核発生の特徴と、そのメカニズムを明らかにした。

(2) 新しい遺伝毒性評価系の開発として、ヒト細胞、ヒト代謝系からなるヒト型遺伝毒性試験系の確立とその評価に関する研究を行った。これまでの遺伝毒性試験は、細菌、げっ歯類細胞、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。日本環境変異原学会・ほ乳類動物試験分科会の協力のもとに共同研究を立ち上げ、これまで40種類の化学物質を試験し、ヒトでの遺伝毒性の特異性を明らかにした（厚生労働研究政策創薬総合研究事業）。この研究は、平成20年5月に開催されたILSI Health and Environmental Science Instituteのワークショップで報告され、標準化可能な新たな*in vitro*遺伝毒性試験法候補として注目された。遺伝子損傷試験としてコメット試験も注目されている。*In vitro*コメット試験の簡便化、ハイ・スループット化を目指して、ヒトリンパ球細胞を用いたコメット試験法の開発と、バリデーションを行った。*In vitro*コメット試験の結果はエームス試験の結果とよく相関し、遺伝毒性試験法として利用できるだけでなく、試験条件（温度、pH）の違いによるコメット泳動のパターンから化学物質の特徴を知ることができるため、メカニズムの解析にも有効であることがわかった。これらの研究成果は日本環境変異原学会第36回大会、第48回米国毒科学会で発表された。現在、本研究はJaCVAMの支援を受けて国際共同研究に発展している。共同研究は標準的な試験法と評価法の確立を目的とし、最終的にはOECDでのガイドライン化を目指す。

(3)*In vitro*ヒト型遺伝毒性試験、もしくは*in vivo*遺伝毒性試験系を用い、実際の環境化学物質の遺伝毒性評価を行った。生活環境中に存在し、健康リスクに懸念がある、アクリルアミド（食品中発生物質）、フリルフラマイド（食品添加物）、フラーレン、カーボンナノチューブ、酸化チタン（微粒子ナノ物質）を試験した。アクリルアミドはラット精巣に対して高い遺伝毒性が認められ、特に仔ラットで強く発現し、その毒性は代謝物であるグリ

シダミドによって形成されるDNAアダクト量と強く相関することが明らかとなった。また、フリルフラマイドは細菌での変異原性が強く使用禁止となった食品添加物であるが、ヒト培養細胞での遺伝毒性はそれほど強くないこと、ナノ物質の遺伝毒性リスクは高くないものと評価された。なお、これら研究の大部分は厚生労働科学研究の一環として行われた（食品の安心・安全確保推進研究事業、化学物質リスク研究事業）。

(4)QSARによる化学物質の遺伝毒性の予測の研究に関しては、DEREK, Mcase, Aworksの3種類のプラットフォームを用いて一般化学物質、食品香料等を予測した（厚生労働科学化学物質リスク研究事業）。3つのうち2つの予測結果の一致から、エームス試験を90%程度の確立で予測することに成功した。染色体異常試験の予測についてもDEREKの開発元である英国ラーサ社と共同研究により、新たなアラート構造を提供予測精度の向上を行った。

第二室では、(1)遺伝毒性試験用サルモネラ株のDNA修復欠損株を用いた遺伝毒性における閾値の形成機構、(2)変異誘発に関わるDNAポリメラーゼの作用機構、(3)ヒト細胞を用いた放射線と化学物質の相互作用、(4)トランスジェニック動物を用いる遺伝毒性試験のバリデーション、(5)ヒト細胞を用いた代替遺伝毒性試験法の開発を進めた。

(1)に関しては、樹立したピリミジン塩基の酸化損傷を修復するEndoIII/EndoIVを欠損したサルモネラ株を用いて、40化合物の変異原性に対する感受性を調べ、修復酵素の閾値形成における役割を考察した。この結果は、第38回欧州環境変異原学会および日本環境変異原学会第37回大会において発表した（厚生労働省がん研究助成金）。(2)については、DNA損傷の乗り越え（トランスリージョンDNA合成）に関与するヒトDNAポリメラーゼ κ の171番目のフェニルアラニンを変えた変異体(F171A)が、ベンツピレンDNA付加体の乗り越え効率が高くなっていることを見出し第31回日本分子生物学会年会で発表した（文部科学省科学研究費補助金）。(3)については、クロスオーバー研究の5年度目として、化学物質と放射線の複合影響についてヒト細胞を用いて検討し、メチル化剤処理が放射線による欠失変異の誘発に対して適応応答を誘発するメカニズムを調べた（文部科学省原子力試験研究費）。(4)については、F344系 *gpt delta transgenic* ラットに2,4-diaminotolueneと2,6-diaminotolueneを混餌投与し、遺伝子突然変異頻度の誘発と発がん標的臓器との相関を明らかにした。この結果は、第67回日本癌学会学術総会において発表した（厚生労働省がん研究助成金）。(5)については、樹立したヒト細胞のDNAポリメラーゼ κ 遺伝子をノックアウトあるいはノックインした細胞を用いて、数種類の変異原に対する感受性を

調べた (HS財団受託研究費)。

人事面では、平成20年6月1日付けで山田雅巳主任研究官が第二室長に昇格した。10月31日にフィンランドから Pasi Hakulinen博士が日本学術振興会外国人特別研究員として招聘され、研究を開始した。平成21年3月1日に大阪大学大学院生命機能研究科助教であった堀端克良博士を研究員として採用した。3月末に、非常勤職員であった山本歩博士が退職した。平成21年4月1日付けで、安井学研究員が主任研究官に昇格した。また、同日、新見直子博士、佐治哲矢博士を非常勤職員 (研究助手) として採用した。また、水澤博博士 (前医薬基盤研究所)、青木康展博士 (国立環境研究所) を客員研究員として受け入れ、清水雅富博士 (東京医療保健大学) を引き続き協力研究員として受け入れた。

短期海外出張としては、安井研究員は平成20年4月13日から18日まで米国・サンディエゴへ出張し、第99回米国癌研究学会に参加、ポスター発表をした。能美部長は5月13日から20日まで中国科学院上海薬物研究所と中国科学アカデミー、プラズマ物理学研究所 (安徽省合肥) を訪問し講演した。本間室長は5月14日から18日までオランダ・ユトレヒトに出張し、構造活性相関に関するOECDワークショップに参加した。本間室長は5月20日から24日まで米国・ワシントンDCに出張し、ILSI/HESIが主催する*in vitro*遺伝毒性試験に関する新規技術と、その利用に関するワークショップに参加し、発表を行った。本間室長は5月31日から6月8日まで米国・ポートランドに出張し、ICHでの遺伝毒性試験の国際的ガイドラインの改訂作業に、日本側専門家として参加し、論議した。6月29日から7月3日まで、能美部長は英国へ出張し、WHO/IPCS会議に出席した。本間室長は7月28日から8月1日まで英国・リーズに出張し、ラーサ社、コバンス社を訪問し、構造活性相関、及び*in vitro*遺伝毒性試験に関する共同研究の打ち合わせを行った。増村主任研究官は9月12日から10月10日まで米国へ出張し、マサチューセッツ工科大にて*gpt delta*マウスを用いた遺伝毒性試験法の技術指導を行った。本間室長と山田室長は9月19日から28日までクロアチア・カプタットに出張し、第38回欧州環境変異原学会へ参加し、ポスター発表をした。能美部長は10月17日から25日まで、プエルトリコで開催された第39回米国環境変異原学会に出席して、座長と講演を行なった。能美部長は、12月9日から14日まで、インド、コルカタで開催された遺伝毒性に関するAlexander Hollaenderコースに参加し、講演を行った。本間室長は1月7日から15日まで中国、北京・上海に出張し、北京国家薬物安全評価監視センターおよび中国科学院上海薬物研究所で講演を行った。また、北京薬品検定所から客員教授を拝命した。本間室長は1月24日から30日までブル

ガリア・ブルガスに出張し、ブルガス大学メケニアン博士と構造活性相関手法による有害性評価手法開発に関する共同研究について打ち合わせを行った。本間室長は2月5日から9日まで米国・ワシントンDCに出張し、ILSI/HESIが主催する*in vitro*遺伝毒性試験陽性に対するフォローアップ試験に関する委員会に出席した。本間室長は2月28日から3月8日まで米国・タオスに出張し、キーストーンシンポジウムに参加し、放射線による遺伝的不安定化に関する研究発表を行った。本間室長は3月14日から20日まで米国・ボルチモアに出張し、米国毒科学会第48回年会に参加し、アクリルアミドの遺伝毒性に関する研究発表を行った。

研究業績

1. 食品添加物等における遺伝毒性評価のための戦略構築に関する研究

遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際シンポジウムを開催し、その成果を日本環境変異原学会機関誌の特集号として発表した (厚生労働科学研究費)。

2. 毒性データの不確実性とヒトへの外挿法に関する研究

遺伝毒性試験の結果をヒトに外挿する際に生ずる不確実性について遺伝毒性に関する評価手法案を作成した (内閣府食品安全委員会研究費)

3. 代替毒性試験法の評価と開発に関する研究

損傷乗り越えDNAポリメラーゼ活性を欠失したヒト細胞株を作出した (HS財団受託研究費)。

4. 個体レベルでの発がんの予知と予防に関する基盤的研究

*gpt delta*ラットに2,4-diaminotolueneと2,6-diaminotolueneを投与し変異を解析した (厚生労働省がん研究助成金)

5. 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

アルキル化剤によるDNA損傷 (3-methyladenine) の修復に関わる遺伝子を破壊したサルモネラ株を作製した。 (厚生労働省がん研究助成金)

6. 化学物質リスク評価の基盤整備におけるトキシコゲノミクス利用に関する研究－反復暴露影響および多臓器関連性 (発達過程を含む) に重点を置いた解析研究－

遺伝毒性物質、もしくは非遺伝毒性物質に特異的に反応する遺伝子群からなるマイクロアレイチップを用いて多くの物質を検討し、本手法の評価を行うとともに、遺

伝子傷害性のはっきりしない化合物については、そのメカニズムの解析を行った。(厚生労働科学研究費)。

7. 国際的整合性を旨す医薬品等の品質、有効性および安全性に関する研究

遺伝毒性試験における組み合わせ試験の最適化条件を検討するとともに、適切なオプション試験の選択基準を検討する。また、既存の試験の代替法についても検討を行った。(厚生労働科学研究費)。

8. 遺伝毒性物質の閾値形成におけるトランスリージョンDNA合成の役割に関する研究

DNAポリメラーゼ κ および η の変異体を用いて8-OH-dGTPの取り込みについて検討した(文部科学省科学研究費補助金)

9. 化学物質の作用を勘案した放射線生物影響評価法の開発に関する研究

メチル化剤で処理したヒト細胞に起こる欠失変異を、分子生物学的手法を用いて検討した(文部科学省国立機関原子力試験研究費)。

10. 環境化学物質の生殖細胞に対する遺伝毒性リスク評価法の開発に関する研究(環境省地球環境保全等試験研究費)

ディーゼル排ガスの精巢に対する変異原性を*gpt delta*マウスを用いて検討した。

11. 食品中の遺伝毒性を有する有害物質のリスク管理に資する総合研究

アクリルアミドは*in vitro*で代謝活性化されないことが明らかとなった。また、*in vivo*での遺伝毒性は低濃度のときに精巣で強く発現され、その程度は成熟動物より、幼若動物で顕著に表れることがわかった。(厚生労働科学研究費)。

12. ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価および体内動態評価に関する基盤研究

ほ乳類培養細胞からなる遺伝毒性試験系を用いて、フラーレン、および酸化チタンの*in vitro*遺伝毒性を評価した。フラーレンは染色体の異数性の誘発作用、アナテート型の酸化チタンは強い光毒性作用を持つことが明らかとなった。(厚生労働科学研究費)。

13. ヒトリンパ球細胞TK6のゲノム内に導入させたDNA付加体の突然変異誘発機構

8-オキソグアニンをヒトTK6細胞のゲノム内に導入さ

せることに成功した。その細胞を数回分裂させ、解析した結果、8-オキソグアニンはゲノム内でも突然変異誘発能を有することが明らかとなった。(文部科学省科学研究費補助金)

14. 水道中汚染物質であるMXの発がん性に関する細胞メカニズムの研究

ヒト培養細胞を用いてMXの細胞毒性、遺伝子傷害性(コメット試験)、染色体異常誘発性(小核試験)、突然変異誘発性(TK遺伝子試験)を検討した。MXのDNAに対する直接の損傷作用はあっても弱いものと考えられた。(文部科学省科学研究費補助金)

15. 化学物質リスク評価における(定量的)構造活性相関(Q)SARに関する研究

肝毒性、腎毒性の*in silico*評価法の開発、改良を行った。種々のデータベースから試験結果を検索し、その化学構造をデータベース化し、パターン分析ソフトで分類を行い、それらの情報に基づいて(Q)SARモデルの構築または既存モデルの改良を行った。(厚生労働科学研究費)。

総合評価研究室

室長 広瀬明彦

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、4名で構成されている。

本年度は前年度に引き続き、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化審法の新規化学物質届出業務の電子化に伴う業務を行うとともに、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として初期評価文書の作成等を行っている。

研究面では内分泌かく乱化学物質、環境化学物質、水道汚染物質及びナノマテリアルの毒性評価及びこれらの化学物質による一般毒性及び生殖発生毒性に関する研究、毒性データの不確実性とヒトへの外挿法に関する研究、新生児動物における毒性影響に関する研究及び化学物質リスク評価における定量的構造活性相関とカテゴリー・アプローチ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ている。

人事面では、平成20年7月1日付けで小野敦主任研究官

が安全性生物試験研究センター毒性部より当室に異動となった。平成21年3月31日付で鎌田栄一主任研究官が定年退官し、4月1日付け再任用された。

海外出張としてはOECD関連で、広瀬室長が「第27回OECD高生産量化学物質初期評価会議」（平成20年10月、カナダ・オタワ）および「スポンサーシッププログラム会議及び第5回OECD工業用ナノ材料作業部会会議」（平成21年3月、フランス・パリ）、「OECD化学物質有害性評価プログラム臨時専門家会合およびOECD第一回有害性評価タスクフォース会議」（平成21年3月、フランス・パリ）、「第28回OECD高生産量化学物質初期評価会議」（平成21年4月、フランス・パリ）に出席した。小野主任研究官は、「内分泌かく乱物質の試験・評価プログラムタスクフォースにおける第6回VMG-NA（非動物試験検証管理グループ）会議およびED-QSARワーキンググループ会議」（平成20年11月、フランス、パリ）および「第1回OECD QSARアプリケーションツールボックス管理のための専門家会議およびエストロゲンレセプター結合モデルについての専門家レビュー会議」（平成21年2月、フランス、パリ）に出席した。広瀬室長と小野主任研究官は、「非遺伝毒性発癌物質に対するMoE (Margin of Exposure) アプローチの適用」に関するワークショップ」に出席するとともに「第45回欧州トキシコロジー学会」（平成20年10月、ギリシャ・ロードス）において、構造活性相関による工業化合物の*in vivo*肝毒性予測手法の開発について発表した。小野主任研究官は、「第48回米国トキシコロジー学会」（平成21年3月、米国・ボルチモア）および「ドイツ食品安全評議委員会シンポジウム」（平成21年3月、ドイツ・カイザースラウテルン）に出席して、遺伝子発現解析による肝毒性・腎毒性予測に関する研究について共同発表した。また、広瀬室長は、「WHO飲料水水質ガイドライン第4版のための専門家会議（平成20年6月、シンガポール）、「第28回残留性ハロゲン化有機化学汚染物質に関する国際シンポジウム」（平成20年8月、英国・バーミンガム）および「毒性予測の新しい視点シンポジウム」（平成20年12月、英国・ケンブリッジ）に出席するとともに共同研究の打ち合わせのためLhasa研究所およびコバンス研究所を訪問（平成20年7月、英国・リーズ）した。

業務成績

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20年10月に開催された第27回高生産量化学物質初期評価会議では、日本政府として3物質の評価文書を提出し合意された。平成21年4月に開催され

た第28回高生産量化学物質初期評価会議では、日本政府として3物質の評価文書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ピアレビュー及び評価会議での支援を行った。その結果、日本産業界から提出された各1物質の評価文書が同会議で合意された。高生産量化学物質の初期評価の概要及び会議の内容については学術誌に公表した（化学生物総合管理, 4, 136-143, 2008; 4, 225-236, 237-245, 2009; 5, 105-115, 2009）。

2. 新規化学物質の安全性評価業務

昭和48年10月16日に制定され、昭和49年4月に施行された「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について、人健康影響に関して第2種監視化学物質に相当するか否かの判定を行い、その結果が公表されている。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20年度は計421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について、厚生労働省では国内の受託試験機関に委託して実施している。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20年度は20物質についての33試験の試験計画書確認作業を行い、試験結果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、昨年に引き続き、構築した化審法新規化学物質データベースにデータを入力し、試験法、評価法等についての問題点を検討するとともに、新たに申請された新規化学物質の評価作業をサポートし、三省（経済産業、環境、厚生労働）合同のデータベースに協力した。

5. その他（各種調査会等）

OECD高生産量化学物質初期評価会議及び国内レビュー委員会、WHO飲料水水質ガイドライン改定専門家会合の活動、薬事・食品衛生審議会（器具・容器包装部会）、既存化学物質安全性点検事業におけるピアレ

ビュー委員会, 安衛法GLP査察専門家, 安衛法GLP評価会議, 化学物質GLP評価会議, 食品添加物安全性評価検討会, 水質基準逐次改正検討会, 化学物質安全性評価委員会, 内閣府食品安全委員会 (器具・容器包装専門調査会, 汚染物質専門調査会), 新規POPs等研究会, 科学技術振興機構化学物質リンクセンタープロトタイプ委員会, 産業技術総合研究所ナノリスク研究のあり方に関する識者のご意見を伺う会, 製品評価技術基盤機構「化審法における監視化学物質リスク評価スキームに関する調査」のレビュー等に協力した。

研究業績

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5試験データ及び新規化学物質の24試験データをデータベースに入力し, 安全性評価業務と評価手法の研究のため構造活性相関解析用のデータベースに化学物質構造の入力作業を行った。

2. 内分泌かく乱化学物質の毒性評価に関する研究

「高感受性集団に於ける化学物質の有害性発現メカニズムの解明及び評価手法開発にかかる総合研究」において, 有害性検出手法に関する国際動向調査のためOECD内分泌かく乱化学物質非動物試験検証管理グループ (VMG-NA) 会議およびED-QSAR会議において我が国における開発の現状を報告し, 関連情報の収集を行った [厚生労働科学研究分担研究]。また, 「化学物質リスク評価法の国際的バリデーションに関する研究」において, 内分泌かく乱物質スクリーニング法であるHeLa9903細胞を用いたアンタゴニスト検出法およびLumicell法のOECDガイドライン化に向けた国際バリデーションを実施している [厚生労働科学研究分担研究]。

3. 水道水に係わる毒性情報評価に関する研究

平成15年の水質基準改定以後, 食品安全委員会で実施された評価の状況やWHOでの逐次改訂作業 (ローリングレビュー) を考慮しつつ, 最新の毒性情報や評価手法に関する情報の収集及び整理を行い, 健康影響評価値の設定や基準改定のための検討を行ってきた。本年度は, WHO第4版作成等に向けた毒性情報の収集, パーフルオロアルキルカルボン酸類について, その毒性情報を収集し整理すると共に, 最新の安全性評価手法に関する研究として確率論的不確実係数について検討した [厚生労働科学研究分担研究]。

4. 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, 核内受容体を介する物質として, 有機スズを選択し, 受容体との反応性や遺伝子発現変化を基にして, 生殖異常発現メカニズムに基づく評価手法に関する研究を行っている。本年度は, トリブチルスズとジブチルスズについて, 受容体との反応性に対する検討を行い, 共通の反応性としてPPAR- γ の関与が示唆された。

5. ナノマテリアルの安全性確認における健康影響試験法に関する研究

ナノテクノロジーは, その新機能や優れた特性を持つ物質を作り出す技術により国家戦略としてその開発が進められており, その中心的な役割を果たす, ナノマテリアルの生体影響に関しては, 多くの点で未知である。本研究では, これらナノマテリアルの安全性確認に必要な健康影響試験法に関する調査, 開発検討を行っている。「ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価および体内動態評価に関する基盤研究」においては, これまで3年度にわたるナノマテリアルの安全性評価に関わるOECD等における国際的活動の調査や, 本研究班の総括を行ってきた結果, 長期体内残留による慢性影響研究の重要性や体内動態や発現メカニズム研究の必要性を明らかにすることができた。また, 本年度は新たに職業暴露や吸入暴露による健康影響の評価のため, 炭素系ナノマテリアル (フラーレン及びカーボンナノチューブ) に焦点を当て, 職業暴露および吸入暴露実験に関しての各国の情報, 文献情報等の公開情報の収集・整理を行った。吸入暴露による動態解析に関わる研究として酸化チタンの投与後一ヶ月までの体内動態解析試験を行うための単回気管内投与実験を行った。また, フランスで開催された「第5回OECD工業用ナノ材料作業部会会議」に出席し, 情報収集を行う共に, 本研究での取り組みについての紹介および意見交換を行った [厚生労働科学研究主任研究]。

6. 化学物質リスク評価における定量的構造活性相関とカテゴリー・アプローチに関する研究

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や, 数多くの物質を効率的に精査するための物質のカテゴリ化に関する研究を行っている。本年度は, 「化学物質リスク評価における(定量的)構造活性相関(Q)SARに関する研究」において

は、AMES試験、染色体試験モデルについて精度・汎用性向上のためのモデルの改良を行うと共に、肝毒性および腎毒性についてそれぞれいくつかの毒性指標を対象として予測モデルを構築した〔厚生労働科学研究分担研究〕。また、「構造活性相関に基づく食品香料化合物の安全性予測調査」においてJECFAで安全性評価済みであり遺伝毒性試験結果の文献がある食品香料物質407物質を対象にして、3種類のQSARソフトウェアを使った遺伝毒性予測システムの毒性予測結果の評価を行った。化学物質の評価におけるカテゴリー・アプローチの適用について検討するため、構造等の類似性から化合物のカテゴリー化を行い、カテゴリー化された個々の物質について、毒性情報等を収集し、毒性情報のマトリックス化を行った。

平成20年度所外研究員等の受け入れ名簿

Researchers List in Fiscal Year 2008

平成20年度所外研究員等の受け入れ名簿

平成21年3月31日現在

(客員研究員) 40名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
下 村 裕 子	東京薬科大学名誉教授	生 薬 部	4.10.1		女	
福 岡 正 道	帝京平成大学薬学部教授	生 物 薬 品 部	9.4.1		男	
降 矢 強	(独)医薬品医療機器総合機構顧問	セ ン タ ー	12.6.1		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	
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	
金 子 豊 蔵	元当所毒性部	毒 性 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	
小 嶋 茂 雄	(独)医薬品医療機器総合機構顧問	薬 品 部	16.8.1		男	
井 上 和 秀	元当所代謝生化学部	薬 理 部	17.3.1		男	
柴 田 敏 郎	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
熊 谷 健 夫	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
木 内 文 之	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
飯 田 修	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
吉 松 嘉 代	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		女	
淵 野 裕 之	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
菱 田 敦 之	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
河 野 徳 昭	(独)医薬基盤研究所	生 薬 部	17.4.1		男	
漆 谷 徹 郎	同志社女子大学薬学部病態生理学教室教授	毒 性 部	17.4.1		男	
高 田 幸 一	(独)医薬品医療機器総合機構顧問	セ ン タ ー	17.4.1		男	
丹 野 雅 幸	元当所有機化学部	有 機 化 学 部	17.5.1		男	
青 柳 伸 男	元当所薬品部	薬 品 部	18.4.1		男	
前 川 昭 彦	(独)製品評価技術基盤機構化学物質管理センター技術顧問	毒 性 部	18.8.1		男	
増 田 光 輝	元(財)ライオン歯科衛生研究所	薬 理 部	18.10.1		男	
小 泉 修 一	山梨大学大学院医学工学総合研究部教授	薬 理 部	19.1.1		男	
波 谷 淳	東京農工大学大学院共生科学技術院助教授	病 理 部	19.4.1		男	
高 鳥 浩 介	東京農業大学客員教授	衛 生 微 生 物 部	19.5.1		男	
小 澤 正 吾	岩手医科大学薬学部教授	薬 理 部	19.5.1		男	
三 森 国 敏	東京農工大学農学部教授	病 理 部	20.1.1		男	
田 中 光	東邦大学薬学部教授	薬 品 部	20.4.1		男	
鹿 野 真 弓	(独)医薬品医療機器総合機構生物系審査第二部部长	生 物 薬 品 部	20.4.1		女	
小 木 美 恵 子	金沢工業大学教授	遺 伝 子 細 胞 医 薬 部	20.4.1		女	
天 野 富 美 夫	大阪薬科大学薬学部教授	代 謝 生 化 学 部	20.4.1		男	
藤 田 昌 彦	元国立公衆衛生院衛生薬学部長	安 全 情 報 部	20.4.1		男	
竹 村 玲 子	国立看護大学校教授	安 全 情 報 部	20.4.1		女	
江 馬 眞	(独)産業技術総合研究所招聘研究員	総 合 評 価 研 究 室	20.7.1		男	
今 井 俊 夫	国立がんセンター研究所実験動物管理室長	病 理 部	20.12.1		男	
海老塚 豊	東京大学大学院教授	生 薬 部	21.2.1		男	
宮 田 直 樹	名古屋市立大学教授	有 機 化 学 部	21.3.1		男	

(協力研究員) 33名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
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	
田 中 直 子	大妻女子大学家政学部	有 機 化 学 部	13.7.1		女	
治 京 玉 記	(財)ヒューマンサイエンス振興財団	有 機 化 学 部	15.3.1		女	
角 田 正 史	北里大学医学部公衆衛生学教室助教授	衛 生 微 生 物 部	15.7.1		男	
貝 沼 章 子	東京農業大学応用生物科学部助教授	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助手	有 機 化 学 部	16.1.1		女	
中 村 高 敏	(独)医薬品医療機器総合機構	生 薬 部	16.4.1		男	
吉 谷 隆 志	(独)医薬品医療機器総合機構	医 薬 安 全 科 学 部	16.6.1		男	
清 水 雅 富	東京医療保健大学助手	変 異 遺 伝 部	16.7.1		男	
水 川 裕 美 子	同志社女子大学薬学部医療薬学科助手	毒 性 部	17.4.1		女	

畑 尾 史 彦	東京大学医学部附属病院胃食道外科助手	衛生微生物部	17. 5. 1			男	
大 槻 崇	千葉大学大学院薬学研究院活性構造化学研究室助手	生 薬 部	17. 5. 1			男	
大河原 晋	武蔵野大学薬学部助手	環境衛生化学部	17. 5. 1			男	
糸 数 七 重	武蔵野大学薬学部助手	生 薬 部	18. 4. 1			女	
平 澤 祐 介	星薬科大学薬学教室助手	生 薬 部	18. 5. 1			男	
天 倉 吉 章	松山大学薬学部助教授	食 品 部	18. 5. 1			男	
細 野 哲 司	横浜薬科大学講師	生 物 薬 品 部	19. 4. 1			男	
木 下 奈津美	(独) 医薬品医療機器総合機構	生 物 薬 品 部	19. 4. 1			女	
袴 田 航	日本大学生物資源科学部農芸化学科専任講師	有 機 化 学 部	19. 5. 1			男	
中 津 則 之	(独) 医薬基盤研究所基盤の研究部特任研究員	毒 性 部	19. 6. 1			男	
中 込 まどか	(財) 乙卯研究所	薬 理 部	19. 6. 1			女	
好 村 守 生	松山大学薬学部助教	代 謝 生 化 学 部	19.11. 1			男	
安 食 菜穂子	金沢大学大学院自然科学研究科研究生	生 薬 部	19.11. 1			女	
細 江 智 夫	星薬科大学薬化学教室講師	生 薬 部	19.11. 1			男	
尾 上 洋 一	神奈川県衛生研究所微生物部長	衛生微生物部	20. 3. 1	21. 2. 28		男	
朴 奉 柱	特定非営利活動法人カピ相談センター技術研修所長	衛生微生物部	20. 3. 1	21. 1. 19		男	
荒 戸 照 世	(独) 医薬品医療機器総合機構生物系審査第一部審査役	薬 品 部	20. 4. 1			女	
安 藤 剛	(独) 医薬品医療機器総合機構生物系審査第一部審査専門員	生 物 薬 品 部	20. 4. 1			男	
細 山 沙 織	千葉大学大学院助教	代 謝 生 化 学 部	20. 4. 1			女	
石 黒 昭 博	(独) 医薬品医療機器総合機構安全部医薬品安全課主査	医 薬 安 全 科 学 部	20. 4. 1			男	
北 村 勝	名古屋大学大学院招聘教員	食 品 衛 生 管 理 部	20. 8. 1			男	
原 島 瑞	日本大学総合科学研究所研究員	生 物 薬 品 部	20. 8. 1			女	

(流動研究員) 8名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
伊 藤 さつき	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 物 薬 品 部	19.10. 1		女	
埴 美 玲	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 物 薬 品 部	19.10. 1		女	
末 永 恵 美	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 薬 部	19.10. 1		女	
堀 環	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	薬 理 部	19.10. 1		男	
片 渕 淳	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変 異 遺 伝 部	19.10. 1		男	
佐 伯 真 弓	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	医 薬 安 全 科 学 部	19.11. 1		女	
最 上 由香里	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	薬 理 部	20. 4. 1		女	
大 岡 伸 通	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	機 能 生 化 学 部	20. 4. 1		男	

(リサーチ・レジデント) 10名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
高 倉 大 輔	(財) 日本公定書協会	生 物 薬 品 部	19.10. 1		男	
鄭 連 淑	(財) 日本公定書協会	療 品 部	19.10. 1		男	
佐 藤 里 絵	(社) 日本食品衛生協会	機 能 生 化 学 部	18. 6. 1		女	
石 田 亜紀子	(社) 日本食品衛生協会	食 品 衛 生 管 理 部	19. 4. 1		女	
新 見 直 子	(社) 日本食品衛生協会	変 異 遺 伝 部	20. 4. 1		女	
石 井 雄 二	(社) 日本食品衛生協会	病 理 部	20. 7. 1		男	
梶 川 揚 申	(社) 日本食品衛生協会	食 品 衛 生 管 理 部	20. 7. 1		男	
松 上 穂 子	(社) 日本食品衛生協会	毒 性 部	20. 8. 1		女	
李 勤	(社) 日本食品衛生協会	生 物 薬 品 部	20. 8. 1		女	
勢 康 代	(財) 日本公定書協会	生 薬 部	20.10. 1		女	

(研究支援者) 1名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
北 川 博 子	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	生 物 薬 品 部	20. 8. 1		女	

(外国人特別研究員) 1名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
HAKURINEN, P. A	(独) 日本学術振興会	変 異 遺 伝 部	20.11. 4		男	

(研究生) 51名

氏 名	依 頼 者	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
原 島 瑞	日本大学生物資源科学部教授	生 物 薬 品 部	15. 4. 1	20. 7. 31	女	
阿 部 裕	東京農工大学工学部生命工学科教授	生 薬 部	16. 1. 1	20.10. 31	男	
塩 入 利 一	東京大学消化管外科代謝栄養内分泌外科教授	衛生微生物部	17. 4. 1	21. 3. 31	男	
濱 田 美 影	東京大学大学院教授	衛生微生物部	17. 8. 1		女	

富士本 仁	昭和大学薬学部教授	病 理 部	17.10.1	20.9.30	男	
佐々 彰	東京薬科大学生命科学研究科教授	変異遺伝部	18.4.1		男	
田崎 雅子	日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻主任教授	病 理 部	18.4.3		女	
岡村 俊也	東京農工大学農学部獣医学科教授	病 理 部	18.7.1	21.3.31	男	
原田 友昭	東京農工大学大学院	総合評価研究室	18.10.1	20.9.30	男	
内山 麻衣子	日本大学生物資源科学部教授	生 物 薬 品 部	19.4.1	21.3.10	女	
大沼 美貴	東京理科大学教授	生 薬 部	19.4.1	21.3.31	女	
柳野 紗智子	東邦大学薬学部助教授	遺伝子細胞医薬部	19.4.1	21.3.31	女	
井上 知紀	東京農工大学農学部獣医学科教授	病 理 部	19.4.1		男	
木村 葵	鹿児島大学大学院歯学総合研究科	変異遺伝部	19.4.1	20.6.30	女	
小山 直己	静岡県立大学生生活健康科学研究科長	変異遺伝部	19.4.1		男	
今津 恭平	北里大学教授	環境衛生化学部	19.4.9	21.2.28	男	
榊田 和彌	岐阜連合大学大学院教授	食品衛生管理部	19.4.16		男	
高橋 華奈子	明治薬科大学臨床薬理学教授	薬 理 部	19.4.23		女	
鈴木 克彦	東京農業大学教授	食品衛生管理部	19.5.21	21.3.31	男	
今井 耕平	芝浦工業大学教授	有機化学部	19.5.22	21.2.28	男	
大塚 健介	(財)電子中央研究所原子力技術研究所所長	セ ン タ ー	19.6.18		男	
菊地 博之	千葉大学大学院薬学研究院	生 薬 部	19.8.1	20.7.31	男	
石渡 和也	大阪大学大学院薬学研究科長	医薬安全科学部	19.8.27		男	
小林 咲子	首都大学東京大学院人間健康科学研究科教授	衛生微生物部	19.9.1	20.6.30	女	
鈴木 浩子	共立薬科大学学長	生 物 薬 品 部	19.10.1	21.3.31	女	
李 勤	東京医科歯科大学教授	生 物 薬 品 部	19.10.15	20.9.30	女	
吉田 朋高	(財)食品分析開発センター Sunatec 理事長	食品衛生管理部	19.12.1	20.5.31	男	
野口 真行	(財)乙卯研究所長	薬 理 部	20.1.1		男	
斉藤 善彦	東京理科大学薬理学研究室教授	薬 理 部	20.4.1	21.3.31	男	
李 謙一	東京大学大学院農学生命科学研究科教授	衛生微生物部	20.4.1		男	
櫻井 智子	共立薬科大学学長	代謝生化学部	20.4.1		女	
佐野 嘉一	東京薬科大学生命科学部長	有機化学部	20.4.1		男	
金子 文也	日本大学生物資源科学部長	有機化学部	20.4.1		男	
門田 修子	帯広畜産大学教授	食品衛生管理部	20.4.1	21.3.31	女	
竹村 壘	(財)日本冷凍食品検査協会理事長	食品衛生管理部	20.4.8	20.7.4	男	
橋田 規	(財)日本冷凍食品検査協会理事長	食 品 部	20.4.8	20.7.7	男	
藤井 香穂梨	東邦大学薬学部教授	薬 品 部	20.4.14	21.3.31	女	
Poapolathep Amnart	東京大学大学院農学生命科学研究科教授	衛生微生物部	20.5.20	20.10.16	男	
Poapolathep Saranya	東京大学大学院農学生命科学研究科教授	衛生微生物部	20.5.20		女	
大塚 亮一	(財)残留農薬研究所理事長	食品衛生管理部	20.6.1		男	
仲原 聡	北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科教授	薬 理 部	20.6.1		男	
泉水 美香	昭和薬科大学学長	環境衛生化学部	20.6.2	21.2.25	女	
伊 関 寛	金沢工業大学学長	遺伝子細胞医薬部	20.7.14	20.8.8	男	
眞田 由親	金沢工業大学学長	遺伝子細胞医薬部	20.7.14	20.8.8	男	
長田 共未	(財)日本冷凍食品検査協会理事長	食品衛生管理部	20.7.7	20.10.3	女	
原 周平	芝浦工業大学工学部	有機化学部	20.8.1		男	
岩 渕 まり	お茶の水女子大学	有機化学部	20.8.1	21.3.31	女	
鈴木 裕太	岐阜大学応用生物科学部教授	病 理 部	20.10.1		男	
宮崎 祐典	麻布大学大学院環境保健学研究科長	衛生微生物部	20.11.1	21.3.31	男	
綿谷 鮎子	東京農業大学大学院教授	衛生微生物部	20.11.1	21.3.19	女	
芦田 顕彦	岡山県知事	食品衛生管理部	20.11.1	21.1.31	男	

(実習生) 41名

氏 名	依 頼 者	受 入 部	入 所	退 所	性 別	備 考
岩井 すみれ	日本大学生物資源科学部長	有機化学部	20.2.1	21.3.31	女	
中西 聡美	共立薬科大学学長	有機化学部	20.2.12	20.10.31	女	
山縣 奈々子	東京薬科大学生命科学部長	有機化学部	20.2.12	21.3.31	女	
吾月 遙	東邦大学薬学部准教授	遺伝子細胞医薬部	20.2.25	21.2.24	女	
立石 ゆり	東邦大学薬学部准教授	遺伝子細胞医薬部	20.2.25	21.2.24	女	
曾我 康太	北里大学理学部生物科学科	衛生微生物部	20.3.1	21.2.28	男	
石井 絢子	関東学院大学工学部社会環境システム学科長	環境衛生化学部	20.3.3	21.3.2	女	
奥秋 菜央	東京医薬専門学校長	環境衛生化学部	20.3.3	21.2.27	女	
江添 悠	日本大学生物資源科学部農芸化学科教授	生 物 薬 品 部	20.3.6	21.3.5	男	
杉本 大輔	東京医薬専門学校長	環境衛生化学部	20.3.24	21.3.19	男	
瀧田 葉子	北里大学理学部 教授	環境衛生化学部	20.4.1	21.2.16	女	

堤 史 行	東海大学海洋学部学部長	衛生微生物部	20. 4. 1	21. 3. 30	男	
堂 原 寿 人	東海大学海洋学部学部長	衛生微生物部	20. 4. 1	21. 3. 24	男	
久保田 純 平	共立薬科大学学長	薬 理 部	20. 4. 1	20.11. 7	男	
高 木 淳 平	共立薬科大学学長	薬 理 部	20. 4. 1	20.11. 7	男	
油 井 美 紀	日本大学生物資源科学学部長	食 品 添 加 物 部	20. 4. 1	21. 3. 24	女	
内 田 好 海	東京海洋大学保健管理センター教授	代 謝 生 化 学 部	20. 4. 1	21. 2. 27	女	
辰 巳 成 文	桐蔭横浜大学医用工学部 助教授	環 境 衛 生 化 学 部	20. 4. 1	20.12.26	男	
成 井 貴 裕	東京農業大学教授	衛生微生物部	20. 4. 1	21. 2. 27	女	
内 藤 理 恵 子	北里大学医療衛生学部学部長	衛生微生物部	20. 4. 7	21. 2. 10	女	
野 口 陽 一 郎	東海大学海洋学部学部長	衛生微生物部	20. 4. 7	21. 2. 27	男	
斉 藤 実 希 子	東京農業大学短期大学部学長	食 品 添 加 物 部	20. 5. 1	21. 2. 24	女	
佐 藤 真 耶	東京農業大学短期大学部学長	食 品 添 加 物 部	20. 5. 1	21. 2. 24	女	
池 野 早 加	共立女子大学准教授	衛生微生物部	20. 5. 1	21. 2. 27	女	
内 田 江 里	共立女子大学准教授	衛生微生物部	20. 5. 1	21. 2. 27	女	
鈴 木 佑 佳	共立女子大学准教授	衛生微生物部	20. 5. 1	21. 2. 27	女	
山 田 千 尋	共立女子大学准教授	代 謝 生 化 学 部	20. 5. 1	21. 3. 31	女	
若 宮 朋 子	共立女子大学准教授	代 謝 生 化 学 部	20. 5. 1		女	
本 間 史 朗	東京農業大学准教授	食 品 衛 生 管 理 部	20. 7. 14		男	
比 企 基 高	麻布大学獣医学部長	食 品 衛 生 管 理 部	20. 8. 4		男	
日 向 愛	お茶の水女子大学准教授	有 機 化 学 部	20. 8. 1		女	
曾 我 未 海	昭和女子大学大学院教授	食 品 衛 生 管 理 部	20. 8. 4		女	
佐 藤 忠 昭	桐蔭横浜大学准教授	環 境 衛 生 化 学 部	20. 8. 18	20. 8. 26	男	
古 山 大 亮	麻布大学准教授	衛生微生物部	20. 9. 1		男	
近 藤 浩 太 郎	東海大学准教授	衛生微生物部	20.10.14	20.10.20	男	
渡 邊 憲 一	栃木県保健福祉部部長	衛生微生物部	21. 1. 26	21. 2. 20	男	
中 津 亜 紀	日本大学生物資源科学学部長	有 機 化 学 部	21. 2. 23		女	
大 山 亮	日本大学生物資源科学部教授	生 物 薬 品 部	21. 3. 1		男	
川 島 健	日本大学生物資源科学部教授	生 物 薬 品 部	21. 3. 1		男	
高 野 晴 奈	東京医薬専門学校学校長	機 能 生 化 学 部	21. 3. 9		女	
大 田 悠 紀 子	東京医薬専門学校学校長	環 境 衛 生 化 学 部	21. 3. 16		女	

Kudo, N. ^{*1}, Kumagai, K. ^{*2}, Tomishige, N. ^{*2}, Yamaji, T. ^{*2}, Wakatsuki, S. ^{*1}, Nishijima, M. , Hanada, K. ^{*2}, and Kato, R. ^{*1} : **Structural basis for specific lipid recognition by CERT responsible for nonvesicular trafficking of ceramide**

Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **105**, 488-493 (2008)

In mammalian cells, ceramide is synthesized in the endoplasmic reticulum and transferred to the Golgi apparatus for conversion to sphingomyelin. Ceramide transport occurs in a nonvesicular manner and is mediated by CERT, a cytosolic 68-kDa protein with a C-terminal steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer (START) domain. The CERT START domain efficiently transfers natural D-erythro-C₁₆-ceramide, but not lipids with longer (C₂₀) amide-acyl chains. The molecular mechanisms of ceramide specificity, both stereo-specific recognition and length limit, are not well understood. Here we report the crystal structures of the CERT START domain in its apo-form and in complex with ceramides having different acyl chain lengths. In these complex structures, one ceramide molecule is buried in a long amphiphilic cavity. At the far end of the cavity, the amide and hydroxyl groups of ceramide form a hydrogen bond network with specific amino acid residues that play key roles in stereo-specific ceramide recognition. At the head of the ceramide molecule, there is no extra space to accommodate additional bulky groups. The two aliphatic chains of ceramide are surrounded by the hydrophobic wall of the cavity, whose size and shape dictate the length limit for cognate ceramides. Furthermore, local high-crystallographic B-factors suggest that the α -3 and the Ω 1 loop might work as a gate to incorporate the ceramide into the cavity. Thus, the structures demonstrate the structural basis for the mechanism by which CERT can distinguish ceramide from other lipid types yet still recognize multiple species of ceramides.

Keywords: crystal structure, lipid transport, ceramide

^{*1} Structural Biology Research Center, Photon Factory, Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)

^{*2} Department of Biochemistry and Cell Biology, National Institute of Infectious Diseases

Aizaki, H. ^{*1}, Morikawa, K. ^{*1}, Fukasawa, M. ^{*2}, Hara, H. ^{*1},

Inoue, Y. ^{*1}, H. Tani, H. ^{*3}, Saito, K. ^{*2}, Nishijima, M. , Hanada, K. ^{*2}, Matuura, Y. ^{*3}, M. M. Lai. ^{*4}, Miyamura, T. ^{*1}, Wakita, T. ^{*1}, and Suzuki, T. ^{*1} : **Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection**

J. Virol., **82**, 5715-5724 (2008)

In this study, we establish that cholesterol and sphingolipid associated with hepatitis C virus (HCV) particles are important for virion maturation and infectivity. In a recently developed culture system enabling study of the complete life cycle of HCV, mature virions were enriched with cholesterol as assessed by the molar ratio of cholesterol to phospholipid in virion and cell membranes. Depletion of cholesterol from the virus or hydrolysis of virion-associated sphingomyelin almost completely abolished HCV infectivity. Supplementation of cholesterol-depleted virus with exogenous cholesterol enhanced infectivity to a level equivalent to that of the untreated control. Cholesterol-depleted or sphingomyelin-hydrolyzed virus had markedly defective internalization, but no influence on cell attachment was observed. Significant portions of HCV structural proteins partitioned into cellular detergent-resistant, lipid-raft-like membranes. Combined with the observation that inhibitors of the sphingolipid biosynthetic pathway block virion production, but not RNA accumulation, in a JFH-1 isolate, our findings suggest that alteration of the lipid composition of HCV particles might be a useful approach in the design of anti-HCV therapy.

Keywords: hepatitis C virus, cholesterol, sphingolipid

^{*1} Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases

^{*2} Department of Biochemistry and Cell Biology, National Institute of Infectious Diseases

^{*3} Department of Molecular Virology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

^{*4} Department of Molecular Microbiology and Immunology, University of Southern California

Okemoto-Nakamura, Y. ^{*1}, Yamakawa, Y. ^{*1}, Hanada, K. ^{*1}, Tanaka, K. ^{*2}, Miura, M. ^{*1}, Tanida, I. ^{*1}, Nishijima, M. , and Hagiwara, K. ^{*1} : **Synthetic fibril peptide promotes clearance of scrapie prion protein by lysosomal degradation.**

Microbiol. Immunol., **52**, 357-365 (2008)

Transmissible spongiform encephalopathies are infectious and neurodegenerative disorders that cause neural deposition of aggregates of the disease-associated form of PrP(Sc). PrP(Sc) reproduces by recruiting and converting the cellular PrP(C), and ScN2a cells support PrP(Sc) propagation. We found that incubation of ScN2a cells with a fibril peptide named P9, which comprises an intrinsic sequence of residues 167-184 of mouse PrP(C), significantly reduced the amount of PrP(Sc) in 24 hr. P9 did not affect the rates of synthesis and degradation of PrP(C). Interestingly, immunofluorescence analysis showed that the incubation of ScN2a cells with P9 induced colocalization of the accumulation of PrP with cathepsin D-positive compartments, whereas the accumulation of PrP in the cells without P9 colocalized mainly with lysosomal associated membrane proteins (LAMP)-1-positive compartments but rarely with cathepsin D-positive compartments in perinuclear regions. Lysosomal enzyme inhibitors attenuated the anti-PrP(Sc) activity; however, a proteasome inhibitor did not impair P9 activity. In addition, P9 neither promoted the ubiquitination of cellular proteins nor caused the accumulation of LC3-II, a biochemical marker of autophagy. These results indicate that P9 promotes PrP(Sc) redistribution from late endosomes to lysosomes, thereby attaining PrP(Sc) degradation.

Keywords: endosomal-lysosomal degradation pathway, fibril peptide, prion protein

ide (DMSO) secreted much TNF-alpha, but very little IL-1beta. These results, taken together, indicate that how an endotoxin is prepared affects its biological activities. In addition, electromicroscopic analysis revealed that sonication of air-dried OL or lipid A in DMSO produced larger particles than those produced in saline, suggesting that the process of preparing lipidic TLR4-ligands affects their physical state including particle size, and that the physical state might be an important determinant of biological activity.

Keywords: endotoxin, lipopolysaccharide, Toll-like receptor 4

^{*1} Department of Biochemistry and Cell Biology, National Institute of Infectious Diseases

^{*2} National Institute of Health Sciences

^{*3} Faculty of Pharmaceutical Sciences, Doshisha Women's College

Takao Ashikaga^{*1}, Hitoshi Sakaguchi^{*2}, Kenji Okamoto^{*3}, Makoto Mizuno^{*4}, Jun Sato^{*5}, Takaaki Yamada^{*6}, Mayumi Yoshida^{*7}, Naoko Ota^{*7}, Seiji Hasegawa^{*6}, Tatsuji Kodama^{*5}, Yuko Okamoto^{*4}, Hirofumi Kuwahara^{*3}, Nanae Kosaka^{*2}, Sakiko Sono^{*1}, Yasuo Ohno : **Assessment of the human cell line activation test (h-CLAT) for skin sensitization; Results of the first Japanese inter-laboratory study**

AATEX, 13, 27-35 (2008)

The human Cell Line Activation Test (h-CLAT) is an in vitro skin sensitization test based on the enhancement by sensitizers of CD86 and/or CD54 expression on THP-1 cells. The aim of this study is to confirm the transferability and reproducibility of the h-CLAT protocol. Seven Japanese laboratories participated in this h-CLAT ring study. First, two well-known sensitizers (dinitrochlorobenzene (DNCB) and nickel sulfate (Ni) and one non-sensitizer (sodium lauryl sulfate (SLS)) were evaluated at each laboratory with the same protocol at the same application dose. All laboratories correctly evaluated the skin sensitization potential of these three chemicals. Next, four sensitizers and one non-sensitizer were tested as a second trial. There were two false-negatives (ethylene diamine and eugenol) in some laboratories. Finally, chemicals tested in the second trial were re-evaluated with doses individually determined by each laboratory as a third trial. The results were almost the same as the results obtained when all the laboratories tested the same application doses. These results suggest that for more precise evaluation of difficult samples (e.g., unstable or water-insoluble chemicals), modifications of the protocol

^{*1} Department of Biochemistry and Cell Biology, National Institute of Infectious Diseases

^{*2} Department of Pathology, National Institute of Infectious Diseases

Okemoto, K. ^{*1}, Hanada, K. ^{*1}, Nishijima, M. , and Kawasaki, K. ^{*1,3} : **The preparation of a lipidic endotoxin affects its biological activities.**

Biol. Pharm.Bull., 31, 1952-1954 (2008)

Bacterial membrane constituents, such as Ornithine-containing lipid (OL) and the lipid A portion of lipopolysaccharide, trigger various immune responses through recognition by Toll-like receptor (TLR) 4. Usually, these lipids are dissolved in a small amount of aqueous or organic solvent before being added to the culture medium for examination of their biological activities. Macrophages stimulated with OL or lipid A sonically dissolved in saline released both interleukin-1beta (IL-1beta) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha). In contrast, macrophages stimulated with OL or lipid A sonically dissolved in ethanol or dimethyl sulfox-

and prediction model are needed. However, the protocol was easily transferred to all laboratories and there were only a few false-negatives among 56 tests (8 chemicals and 7 laboratories).

Keywords: h-CLAT, skin sensitization test, validation, DCNB, SLS

*1 Shiseido Corporation

*2 Kao Corporation

*3 Kanebo COSMETICS INC.

*4 KOSE Corporation

*5 LION Corporation

*6 NIPPON MENARD COSMETIC CO., LTD.

*7 POLA CORPORATION

Nanae Kosaka^{*1}, Kenji Okamoto^{*2}, Makoto Mizuno^{*3}, Takaaki Yamada^{*4}, Mayumi Yoshida^{*5}, Tatsuji Kodama^{*6}, Sakiko Sono^{*7}, Takao Ashikaga^{*7}, Jun Sato^{*6}, Naoko Ota^{*5}, Seiji Hasegawa^{*4}, Yuko Okamoto^{*3}, Hirofumi Kuwahara^{*2}, Hitoshi Sakaguchi^{*1}, Yasuo Ohno: **A study of the criteria for selection of THP-1 cells in the human cell line activation test (h-CLAT) : Results of the 2nd Japanese inter-laboratory study** *AATEX*, **13**, 55-62 (2008)

The Human Cell Line Activation Test (h-CLAT) is an in vitro skin sensitization method based on augmentation of CD86 and CD54 expression in THP-1 cells (human monocytic leukemia cell line). In our previous Japanese inter-laboratory study, we reported that the transferability and reproducibility of the h-CLAT is basically good. The aim of this study was to define the criteria for selecting appropriate THP-1 cells in the h-CLAT. In this study, new THP-1 cell lots were obtained from three cell banks: one in America, Europe and Japan. Using these three lots plus the cell lot we had previously used and obtained from ATCC we investigated the CD86/CD54 expression following exposure to two allergens (DNCB and Ni) and one non-allergen (SLS). Compared with the previous ATCC lot, two new lots showed similar results. Meanwhile, the third new lot showed distinctly different result in cell viability and CD86/CD54 augmentation induced by Ni compared to the other three lots. These results showed that the variability of cellular responses in the THP-1 cells depended on the cell source. In conducting the h-CLAT, it would be important to select appropriate THP cells to predict correctly the skin sensitization potential.

Keywords: h-CLAT, skin sensitization test, validation,

DCNB, Ni, SLS

*1 Kao Corp.,

*2 Kanebo Cosmetics inc.,

*3 Kose Corp.,

*4 Nippon Menard Cosmetic Co., Ltd.,

*5 Pola Chemical Industries, Inc.

*6 Lion Corp.,

*7 Shiseido Co. Ltd.

Sakiko Sono^{*1}, Takaaki Yamada^{*2}, Nanae Kosaka^{*3}, Kenji Okamoto^{*4}, Makoto Mizuno^{*5}, Jun Sato^{*6}, Mayumi Yoshida^{*7}, Naoko Ota^{*7}, Tatsuji Kodama^{*6}, Yuko Okamoto^{*5}, Hirofumi Kuwahara^{*4}, Hitoshi Sakaguchi^{*3}, Seiji Hasegawa^{*2}, Takao Ashikaga^{*1}, Yasuo Ohno. : **A study on serum difference on test results in the human Cell Line Activation Test (h-CLAT): Results of 3rd Japanese inter-laboratory study** *AATEX*, **13**, 63-69 (2008)

The Human Cell Line Activation Test (h-CLAT) is an in vitro skin sensitization test based on enhancement of CD86 and/or CD54 expression on THP-1 cells. The aim of this study was to examine the effects of differences of serum source on the results of h-CLAT. Three different lots of serum, obtained from three sources, were compared with the serum used in the previous Japanese ring study. With each serum, cellular proliferation in subculture, cytotoxicity, and CD86/CD54 expression on THP-1 cells were measured following exposure to two known allergens (DNCB, and Ni) and one non-allergen (SLS). There was no clear difference of cellular proliferation in subculture, cytotoxicity, or CD86/54 expression among cultures in the four sera. Although the source of serum does not appear to influence the result of h-CLAT, the validity of the test should nevertheless be confirmed when serum from a new source is introduced.

Keywords: h-CLAT, skin sensitization test, validation, serum, DCNB, Ni, SLS

*1 Shiseido Co. Ltd.

*2 Nippon Menard Cosmetic Co., Ltd.

*3 Kao Corp.

*4 Kanebo Cosmetics inc.

*5 Kose Corp.

*6 Lion Corp.

*7 Pola Chemical Industries, Inc.

Makoto Mizuno^{*1}, Mayumi Yoshida^{*2}, Tatsuji Kodama^{*3}, Nanae Kosaka^{*4}, Kenji Okamoto^{*5}, Sakiko Sono^{*6}, Takaaki Yamada^{*7}, Seiji Hasegawa^{*7}, Takao Ashikaga^{*6}, Hirofumi Kuwahara^{*5}, Hitoshi Sakaguchi^{*4}, Jun Sato^{*3}, Naoko Ota^{*2}, Yuko Okamoto^{*1}, and Yasuo Ohno. : **Effect of pre-culture conditions on the human Cell Line Activation Test (h-CLAT) results: Results of the 4th Japanese inter-laboratory study**

AATEX, 13, 70-82 (2008)

The Human Cell Line Activation Test (h-CLAT) is an in vitro skin sensitization test based on enhancement of CD86 and/or CD54 in THP-1 cells. Experimental conditions for h-CLAT were optimized in our previous study. This protocol defined that THP-1 cells are seeded between 0.1×10^6 and 0.2×10^6 cells/mL, and pre-cultured for 48h or 72h before treated with a test chemical. In this study we evaluated effects of pre-culture conditions on the h-CLAT results minutely. We cultivated the cells on nine pre-culture conditions before exposure to allergens (DNCB, Ni) or non-allergen (SLS), and then measured CD86 and CD54 expressions on these cells after the exposure. All laboratories almost correctly evaluated the skin sensitization potential of these three chemicals on any pre-culture conditions. However, only low CD86 and CD54 RFI values induced by DNCB tend to be obtained as the final cell concentration on pre-culture became higher. For maintaining the response of THP-1 cells to allergens and distinguishing allergens and non-allergens more clearly, THP-1 cells should be avoided being in over-growth conditions during pre-culture. Therefore, a supplementary experimental condition about pre-culture for h-CLAT that final cell concentration in pre-culture must not exceed 1.0×10^6 cells/mL was defined.

Key words: h-CLAT, skin sensitization test, validation, culture, DNCB, Ni, SLS

^{*1} Kose Corp.

^{*2} Pola Chemical Industries, Inc.

^{*3} Lion Corp.

^{*4} Kao Corp.

^{*5} Kanebo Cosmetics inc.

^{*6} Shiseido Co. Ltd.

^{*7} Nippon Menard Cosmetic Co., Ltd.

Sanbuissho, A.^{*1}, Yoshida, M., Hisada, S.^{*2}, Sagami, F.^{*3}, Kudo, S.^{*4}, Kumazawa, T.^{*5}, Ube, M.^{*6}, Komatsu, S., Ohno, Y. : **Collaborative work on evaluation of**

ovarian toxicity by repeated-dose and fertility studies in female rats

J Toxicol Sci. 34, SP1-22 (2009)

The National Institute of Health Sciences (NIHS) and 18 pharmaceutical companies of the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) have conducted a validation study intended to evaluate whether a 2-week repeated general toxicity period with histopathological examination is sufficient to detect ovarian toxicity or not. The current repeated dose general toxicity study is considered to be insufficient in terms of evaluating female reproductive function due to a lack of evidence indicating that it is adequate. Evaluation of ovarian toxicity by comprehensive histopathological examination of the female reproductive organs based on the underlying morphology of a normal cycle of the reproductive tract including the ovary and additional immunohistochemical staining with proliferative cell nuclear antigen (PCNA) to identify small follicles may be a good tool to assess female reproductive function. In the collaborative study, 2- or 4-week repeated dose toxicity studies with ovarian histopathological examinations were conducted. A female fertility study was also conducted to compare the results with those of the ovarian histopathological findings. A total of 17 test substances were evaluated and categorized into hormone analogues, primordial follicle damaging agents, metabolite imbalance inducers, and endocrine imbalance inducers. Based on the results, ovarian toxicity could be detected by a careful histopathological examination. A 2-week dosing period may be sufficient for the evaluation of ovarian toxicity, except for cytotoxic compounds such as alkylating agents. The pathological findings of ovarian toxicity (decreases in follicles, increases in atretic follicles, increases in currently formed corpora lutea, etc) reflected the female fertility parameters (irregular estrous cycle, pre-implantation loss).

Key words: Collaborating study, ovary, toxicity

^{*1} Daichi-Sankyo Co. Ltd.

^{*2} Aska Pharmaceutical Co. Ltd.

^{*3} Eisai Co. Ltd.

^{*4} Sanwa-Kagaku Kenkyusho Co. Ltd.

^{*5} Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

^{*6} GlaxoSmithKline K.K.

Namekata, I.^{*}, Tsuneoka, Y.^{*}, Takahara, A.^{*}, Shimada, H.^{*}, Sugimoto, T.^{*}, Takeda, K.^{*}, Nagaharu, M.^{*}, Shigenobu, K.^{*},

Kawanishi, T., Tanaka, H.* : **Involvement of the Na⁺/Ca²⁺ Exchanger in the Automaticity of Guinea-Pig Pulmonary Vein Myocardium as Revealed by SEA0400**

J. Pharmacol. Sci., 110, 111-116 (2009)

We examined the involvement of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger in the automaticity of the pulmonary vein myocardium with a specific inhibitor, SEA0400. Action potentials were recorded from the myocardial layer of isolated guinea-pig pulmonary vein preparations, and Ca²⁺ transients were recorded from the cardiomyocytes. Spontaneous electrical activity was observed in 17.7% of the preparations, which was inhibited by either SEA0400 or ryanodine. In quiescent preparations, ouabain induced electrical activity and spontaneous Ca²⁺ transients, which were inhibited by SEA0400, as well as ryanodine. These results provide pharmacological evidence that the Na⁺/Ca²⁺ exchanger underlies the automaticity of the pulmonary vein myocardium.

Keywords: Na⁺-Ca²⁺ exchange, myocardium, automaticity

* 東邦大学

Tanaka, H.*, Namekata, I.*, Nouchi, H.*, Shigenobu, K.*, Kawanishi, T., Takahara, A.* : **New aspects for the treatment of cardiac diseases based on the diversity of functional controls on cardiac muscles: diversity in the excitation-contraction mechanisms of the heart**

J. Pharmacol. Sci., 109, 327-333 (2009)

The waveform of the myocardial action potential (AP) triggering contraction differs among the species, developmental stage, and pathological state. The species difference in heart rate, which inversely correlates with body size, originates in the ion-channel mechanisms responsible for diastolic depolarization of the sinoatrial node. In some cases, such as the chronically AV-blocked dog and 11- to 13-day chick embryo, the repolarization reserve is decreased making the heart useful for drug evaluation. The degree of dependence of contraction on sarcoplasmic reticulum (SR) function increases during development. The large SR dependence and short AP of the adult mouse and rat support their rapid contraction under high heart rate. The function of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger is affected by AP waveform and ion concentrations; its major role is Ca²⁺ extrusion, but under pathological conditions such as ischemia-reperfusion, it allows Ca²⁺ influx and

leads to myocardial injury, including loss of mitochondrial function. The role of mitochondria in ATP supply is less in the fetus where glycolysis plays a greater role. The pharmacological properties of the myocardium are affected by all of these factors and also by autonomic innervation and the hormonal status. Such comprehensive understanding is indispensable for the development of novel therapeutic strategies.

Keywords: cardiac muscles, excitation-contraction, action potential

* 東邦大学

四方田千佳子, 保立仁美, 伊豆津健一, 川西徹, 皮膚適用製剤の溶出試験に関する研究 (2)

医薬品研究, 39, 436-441(2008)

第一報において, 皮膚適用製剤の放出試験として, メンブランフィルター成型物を用いる方法を考案した. これらの方法を用いた試験結果を, ヘアレスマウスの皮膚を用いたフランツセルによる透過試験の結果と比較検討し, ある程度の相関を有することを明らかとした. さらに, 考案した方法が軟膏や他の製剤にも応用可能であることを示した.

Keywords: 皮膚適用製剤, 溶出試験, メンブランフィルター

柘植秀哉¹, 中島辰巳¹, 大内 正¹, 青木光夫², 大久保恒夫², 四方田千佳子 : 浸透圧測定法による機種間差による研究 (第二報)

医薬品研究, 40, 136-142 (2009)

製薬メーカー及び浸透圧測定用機器メーカーの協力を得て, 市販製剤 4 品目を用いた浸透圧測定の共同実験を実施したところ, ブドウ糖が10%を超える濃度で (600mOs/kg) 機種間差が認められた. 機種間差の原因究明のために, 特に凍結状態の異なる化合物及び高粘性溶液の測定を詳細に検討したところ, 機種間差には, 試料溶液の粘性が高いほど大きくなり, ガラス転移を有する非晶質物質で差が大きくなることが明らかとなった.

Keywords: 浸透圧, 機種間差, 粘性

¹ 社団法人東京医薬品工業協会局方委員会

² 大阪医薬品協会技術研究委員会

Izutsu, K., Kadoya, S.*, Yomota, C., Kawanishi, T., Yonemochi, E.* and Terada, K.* : **Freeze-drying of proteins in glass solids formed by basic amino acids and dicarboxylic acids**

Chem. Pharm. Bull., **57**, 43-48 (2009)

The purpose of this study was to produce and characterize glass-state amorphous solids containing amino acids and organic acids that protect co-lyophilized proteins. Thermal analysis of frozen solutions containing a basic amino acid (e.g., L-arginine, L-lysine, L-histidine) and a hydroxy di- or tricarboxylic acid (e.g., citric acid, L-tartaric acid, DL-malic acid) showed glass transition of maximally freeze-concentrated solute at temperatures (T'_g) significantly higher than those of the individual solute solutions. Mixing of the amino acid with some dicarboxylic acids (e.g., oxalic acid) also suggested an upward shift of the transition temperature. Contrarily, combinations of the amino acid with monocarboxylic acids (e.g., acetic acid) had T'_g s between those of the individual solute solutions. Co-lyophilization of the basic amino acids and citric acid or L-tartaric acid resulted in amorphous solids that have glass transition temperatures (T_g) higher than the individual components. Mid- and near-infrared analysis indicated altered environment around the functional groups of the consisting molecules. Some of the glass-state excipient combinations protected an enzyme (lactate dehydrogenase, LDH) from inactivation during freeze-drying. The glass-state excipient combinations formed by hydrogen-bonding and electrostatic interaction network would be potent alternative to stabilize therapeutic proteins in freeze-dried formulations.

Keywords: freeze-drying, protein formulation, amorphous, stabilization

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

Izutsu, K., Hiyama, Y., Yomota, C. and Kawanishi, T.
: **Near-Infrared analysis of hydrogen-bonding in glass- and rubber-state amorphous saccharide solids**

AAPS PharmSciTech, **10**, 524-529(2009)

Near-infrared (NIR) spectroscopic analysis of non-crystalline polyols and saccharides (e.g., glycerol, sorbitol, maltitol, glucose, sucrose, maltose) was performed at different temperatures (30-80 °C) to elucidate the effect of glass transition on molecular interaction. Transmission NIR spectra (4000-12000 cm^{-1}) of the liquids and cooled-melt amorphous solids showed broad absorption bands that indicate random configuration of molecules. Heating of the samples decreased an intermolecular hydrogen-bonding OH vibration band intensity (6,200-6,500 cm^{-1}), with a concomitant increase in a free and intramolecular

hydrogen-bonding OH group band (6,600-7100 cm^{-1}). Large reduction of the intermolecular hydrogen-bonding band intensity at temperatures above the glass transition (T_g) of the individual solids should explain the higher molecular mobility and lower viscosity in the rubber state. Mixing of the polyols with a high T_g saccharide (maltose) or an inorganic salt (sodium tetraborate) shifted both the glass transition and the inflection point of the hydrogen-bonding band intensity to higher temperatures. The implications of these results for pharmaceutical formulation design and process monitoring (PAT) are discussed.

Keywords: NIR, hydrogen-bond, glass transition, PAT

Shibata, H., Yoshioka, Y.^{*1}, Ohkawa, A.^{*2}, Abe, Y.^{*2}, Nomura, T.^{*3}, Mukai, Y.^{*3}, Nakagawa, S.^{*3}, Taniyai, M.^{*4}, Ohta, T.^{*4}, Mayumi, T.^{*5}, Kamada, H.^{*2}, Tsunoda, S.^{*2} and Tsutsumi, Y.^{*3} : **The therapeutic effect of TNFR1-selective antagonistic mutant TNF-alpha in murine hepatitis models**

Cytokine, **44**, 229-33 (2008)

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) is critically involved in a wide variety of inflammatory pathologies, such as hepatitis, via the TNF receptor-1 (TNFR1). To develop TNFR1-targeted anti-inflammatory drugs, we have already succeeded in creating a TNFR1-selective antagonistic mutant TNF-alpha (R1antTNF) and shown that R1antTNF efficiently inhibits TNF-alpha/TNFR1-mediated biological activity in vitro. In this study, we examined the therapeutic effect of R1antTNF in acute hepatitis using two independent experimental models, induced by carbon tetrachloride (CCl₄) or concanavalin A (ConA). In a CCl₄-induced model, treatment with R1antTNF significantly inhibited elevation in the serum level of ALT (alanine aminotransferase), a marker for liver damage. In a ConA-induced T-cell-mediated hepatitis model, R1antTNF also inhibited the production of serum immune activated markers such as IL-2 and IL-6. These R1antTNF-mediated therapeutic effects were as good as or better than those obtained using conventional anti-TNF-alpha antibody therapy. Our results suggest that R1antTNF may be a clinically useful TNF-alpha antagonist in hepatitis.

Keywords: Tumor necrosis factor- α , Liver failure, Inflammation, Therapy

*1 大阪大学MEIセンター

*2 医薬基盤研

*3 大阪大学大学院薬学研究科

*⁴ 林原生物化学研究所京都

*⁵ 神戸学院大学

Yoshida, H., Nishikawa, M.^{*}, Yasuda, S.^{*}, Mizuno, Y.^{*} and Takakura, Y.^{*} : **Cellular activation by plasmid DNA in various macrophages in primary culture**
J. Pharm. Sci., **97**, 4575-4585 (2008)

Macrophages are an important group of cells responsible for the inflammatory response to unmethylated CpG dinucleotide (CpG motif) in plasmid DNA (pDNA) via Toll-like receptor 9 (TLR9). This finding is primarily based on in vitro studies. Previous in vivo studies also have suggested that tissue macrophages are involved in inflammatory cytokine release in the circulation following intravenous administration of pDNA to mice. However, the relationship between the in vitro and in vivo studies has not been sufficiently clarified. To gain insight into which types of cells are responsible for the production of cytokines upon interaction with pDNA, peritoneal macrophages, splenic macrophages, hepatic nonparenchymal cells (NPCs) including Kupffer cells and mesangial cells were isolated from mice. All types of primary cultured cells, except for mesangial cells, express TLR9 at varying levels. Splenic macrophages and hepatic NPCs were activated to produce tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) by naked pDNA, whereas peritoneal macrophages and mesangial cells were not. pDNA complexed with N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethyl-ammonium chloride/cholesterol liposome induced TNF-alpha in the splenic macrophages but not in the other cell types. These results indicate that splenic macrophages and hepatic NPCs are closely involved in TNF-alpha production in response to pDNA.

Keywords: plasmid DNA, CpG motif, TLR9

* 京都大学大学院薬学研究科

Aso, Y., Yoshioka, S., Miyazaki, T., Kawanishi, T. : **Feasibility of ¹⁹F-NMR for assessing the molecular mobility of flufenamic acid in solid dispersions**
Chem. Pharm. Bull., **57**, 61-64 (2009)

The purpose of the present study was to clarify the feasibility of ¹⁹F-NMR for assessing the molecular mobility of flufenamic acid (FLF) in solid dispersions. Amorphous solid dispersions of FLF containing poly(vinylpyrrolidone) (PVP) or hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) were prepared by melting and rapid cooling. Spin-lattice relaxation times (T_1 and $T_{1\rho}$) of FLF fluorine atoms in the

solid dispersions were determined at various temperatures (-20 to 150°C). Correlation time (τ_c), which is a measure of rotational molecular mobility, was calculated from the observed T_1 or $T_{1\rho}$ value and that of the T_1 or $T_{1\rho}$ minimum, assuming that the relaxation mechanism of spin-lattice relaxation of FLF fluorine atoms does not change with temperature. The τ_c value for solid dispersions containing 20% PVP was 2-3 times longer than that for solid dispersions containing 20% HPMC at 50°C, indicating that the molecular mobility of FLF in solid dispersions containing 20% PVP was lower than that in solid dispersions containing 20% HPMC. The amount of amorphous FLF remaining in the solid dispersions stored at 60°C was successfully estimated by analyzing the solid echo signals of FLF fluorine atoms, and it was possible to follow the overall crystallization of amorphous FLF in the solid dispersions. The solid dispersion containing 20% PVP was more stable than that containing 20% HPMC. The difference in stability between solid dispersions containing PVP and HPMC is considered due to the difference in molecular mobility as determined by τ_c . The molecular mobility determined by ¹⁹F-NMR seems to be a useful measure for assessing the stability of drugs containing fluorine atoms in amorphous solid dispersions.

Keywords: ¹⁹F-NMR, molecular mobility, crystallization

Yoshioka, S., Aso, Y., Osako, T., Kawanishi, T. : **Wide-Ranging Molecular Mobilities of Water in Active Pharmaceutical Ingredient (API) Hydrates as Determined by NMR Relaxation Times**

J. Pharm. Sci., **97**, 4258-4268 (2008)

In order to examine the possibility of determining the molecular mobility of hydration water in API hydrates by NMR relaxation measurement, spin-spin relaxation and spin-lattice relaxation were measured for the 11 API hydrates listed in the Japanese Pharmacopoeia using pulsed ¹H-NMR. For hydration water that has relatively high mobility and shows Lorentzian decay, molecular mobility as determined by spin-spin relaxation time (T_2) was correlated with ease of evaporation under both non-isothermal and isothermal conditions, as determined by DSC and water vapor sorption isotherm analysis, respectively. Thus, T_2 may be considered a useful parameter which indicates the molecular mobility of hydration water. In contrast, for hydration water that has low mobility and shows Gaussian decay, T_2 was found not to correlate with ease of evaporation under non-isothermal conditions, which suggests that in this case, the

molecular mobility of hydration water was too low to be determined by T_2 . A wide range of water mobilities was found among API hydrates, from low mobility that could not be evaluated by NMR relaxation time, such as that of the water molecules in pipemidic acid hydrate, to high mobility that could be evaluated by this method, such as that of the water molecules in ceftazidime hydrate.

Keywords: NMR relaxation time, dynamics, hydrate

Miyazaki T., Sivaprakasam K., Tantry J., Suryanarayanan R. : **Physical characterization of dibasic calcium phosphate dihydrate and anhydrate**

J. Pharm. Sci., **98**, 905-916 (2009)

The dehydration of different commercial brands of dibasic calcium phosphate dihydrate (DCPD; $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) was examined over a range of temperatures and water vapor pressures. To determine the main factors affecting the physical stability of DCPD, the baseline characterization of DCPD and dibasic calcium phosphate anhydrate (DCPA; CaHPO_4) was conducted by thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry and X-ray diffractometry. The surface area and the DCPA content (present as an impurity) depended on the commercial source of DCPD. The larger particles contained a higher concentration of DCPA and the anhydrate exhibited a concentration-dependent acceleratory effect on the dehydration of DCPD. Unlike DCPD, DCPA is physically stable and resisted hydration even when dispersed in water for over 7 months in the temperature range of 4-50 degrees C. In dosage forms containing DCPD, there is a potential for phase transformation to DCPA, while the reverse transition, that is, DCPA \rightarrow DCPD appears to be extremely unlikely. Thus, the risk of physical transformation can be minimized by using DCPA in formulations.

Keywords: calcium phosphate, dehydration, X-ray diffractometry

Sakamoto, T., Hiyama, Y. : **Rapid method for determining of nitazoxanide in tablets using reversed-phase ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and high-performance liquid chromatography**

Pharmazie, **63**, 503-507 (2008)

A simple and rapid determination method for nitazoxanide (NTZ), an antiprotozoal agent, was developed using reverse-phase HPLC and Ultra Performance Liquid Chromatography™ (UPLC™). Only six minutes gradient

condition for NTZ analysis using UPLC was achieved. The mobile phase consisted of a mixture of phosphate buffer (pH6.0) and acetonitrile. The repeatability (relative standard deviation (RSD), n=6) and the correlation coefficient from linearity (the range from 80% to 120% of amount) were 0.25 % and 0.9963 for UPLC and 0.15 % and 0.9988 for HPLC, respectively. The quantitative values of NTZ in tablets were 103.2% for HPLC and 98.7% for UPLC. The RSDs of quantitative values of sample solution were calculated to be 4.06 % to 4.64 % for HPLC and 0.15 % to 0.36 % for UPLC.

Keywords: Nitazoxanide, UPLC, HPLC, Quantitative analysis

Sakamoto, T., Fujimaki, Y.^{*1}, Hiyama, Y. : **NIR Spectroscopic Investigation of Two Fluoroquinolones, Levofloxacin and Ofloxacin, and Their Tablets for qualitative identification of commercial products on the market**

Pharmazie, **63**, 628-632 (2008)

A rapid and nondestructive identification method for ofloxacin (OFLX) and levofloxacin (LVFX) utilizing diffusion reflectance near-infrared (NIR) spectroscopy was developed. An obvious difference in spectral patterns between LVFX that is used for commercial tablets and LVFX HCl that can be purchased as a reagent at a low price was also observed. These quinolones are especially important for use as drugs against bio-terrorism because of their effectiveness against anthrax infection. Therefore, the possibility of a distribution of counterfeit drugs containing LVFX HCl on the market would be expected. NIR spectroscopic analysis would be applicable to on-site quality analysis that can be carried out easily and nondestructively. Keywords : near-infrared spectroscopy, racemate, enantiomer, spectroscopic analysis, diffusion reflectance, counterfeit drugs

^{*1} Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute

Sakamoto, T., Matsubara, T.^{*1}, Sasakura, D.^{*1}, Takada, Y.^{*2}, Fujimaki, Y.^{*3}, Aida, K.^{*2}, Miura, T.^{*1}, Terahara T.^{*2}, Higo, N.^{*2}, Kawanishi, T., Hiyama, Y. : **Chemical mapping of tulobuterol in transdermal tapes using Microscopic Laser Raman Spectroscopy**

Pharmazie, **64**, 166-171 (2009)

Microscopic Laser Raman Spectroscopy and Mapping

(MLRSM) technique was used to investigate the distribution of tulobuterol (TBR) crystals in transdermal tapes. TBR is one of suitable compounds for the transdermal pharmaceuticals because it has high permeability into skin. In case of TBR transdermal tapes, some commercial products also contain TBR crystals in order to control a release rate from a matrix. Therefore, the presence of TBR crystals in the matrix is a critical factor for quality assurance of this type of TDDS tapes. The model tapes prepared here employed two kinds of matrices, i.e., rubber or acrylic, which are generally used for transdermal pharmaceuticals. TBR crystals in the matrix were observed by MLRSM. Accurate observation of the distribution of TBR in the tapes was achieved by creating a Raman chemical map based on detecting unique TBR peak in each pixel. Moreover, differences in the growth of TBR crystals in the two kinds of matrices were detected by microscopic observation. MLRSM also enabled the detection of TBR crystals in commercial products. The present findings suggest that Raman micro-spectroscopic analysis would be very useful for verifying and/or assessing the quality of transdermal pharmaceuticals in development, as well as for manufacturing process control.

Keywords : Raman spectroscopy, Raman mapping, TDDS, tulobuterol, transdermal tape, crystal

^{*1} Bruker Optics K.K.

^{*2} TDDS Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Co. Inc.

^{*3} Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute

Fujimaki, Y.^{*1}, Matsubara, T.^{*2}, Sakamoto, T., Sasakura, D.^{*2}, Miura, T.^{*2}, Takekawa M.^{*3}, Hiyama, Y. : **Study on distribution of ethenzamide and other ingredients on granule surfaces using Raman microspectroscopy and mapping**

Pharmazie, **64**, 316-322 (2009)

Distributions of API and medical additives in granules were analyzed using Raman microspectroscopy and mapping. In order to clearly detect ingredients present at low levels, the characteristic peak for each ingredient was used for identification. Two granulation processes, tumbling granulation and high-shear granulation were selected to examine the feasibility of Raman microspectroscopy for investigating granules. Ethenzamide, lactose monohydrate, cornstarch and methylcellulose were used to make model granules. Methylcellulose was distributed homogeneously

from the early stage in both granulation methods. Cornstarch and lactose showed similar distribution properties in high-shear granulation. It was presumed from this observation that similar chemical structures with high-hydrophilic groups in the two compounds determined their similar distribution properties. These results suggest that Raman microspectroscopy using the unique absorption peak of each ingredient can detect each ingredient in the individual pixel size ($2 \times 2 \mu\text{m}$). This analytical method can contribute to evaluation of granular conditions and granulation processes.

Keywords : Raman microspectroscopy, Raman mapping, granules, wet granulation, tumbling granulation, high-shear granulation, granulation process

^{*1} Bruker Optics K.K.

^{*2} TDDS Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Co. Inc.

^{*3} Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute

Sakai-Kato, K., Kinouchi, T.^{*1}, Fujii, N.^{*1}, Imai, K.^{*2}, and Utsunomiya-Tate, N.^{*2} : **Screening system for D-Asp-containing proteins using D-aspartyl endopeptidase and two-dimensional gel electrophoresis**
Amino Acids, **36**, 125-129 (2009)

D-Asp-containing proteins have been implicated in many aging-related diseases. To clarify the role of D-Asp-containing proteins in such diseases, we developed a screening system for these proteins using a D-aspartyl endopeptidase that specifically cleaves the proteins at the C-terminus. The digested proteins were detected by means of two-dimensional gel electrophoresis and identified using nano-liquid chromatography/tandem mass spectrometry. We were able to detect myelin basic protein, a known D-Asp-containing protein, in the brain tissues of mice; this indicates that our system is effective for screening D-Asp-containing proteins.

Keywords : D-amino acids, aging-related disease, proteomics

^{*1} 京都大学原子炉実験所

^{*2} 武蔵野大学薬学部

Akaishi, T.^{*}, Morimoto, T.^{*}, Shibao, M.^{*}, Watanabe, S.^{*}, Sakai-Kato, K., Utsunomiya-Tate, N.^{*}, Abe, K.^{*} : **Structural requirements for the flavonoid fisetin in inhibiting fibril formation of amyloid beta protein**

Neurosci. Lett. **444**, 280-285 (2008)

Fisetin (3,3',4',7-tetrahydroxyflavone) has been found to be neuroprotective, induce neuronal differentiation, enhance memory, and inhibit the aggregation of the amyloid β protein (A β) that may cause the progressive neuronal loss in Alzheimer's disease. The diverse collection of biological activities of this compound may lead to a new type of therapeutic drug for Alzheimer's disease. As the first step to design even more effective drugs based upon the structure of fisetin, the present study investigated the structural requirements for the anti-amyloidogenic activity of fisetin by comparing the effects of several structurally related flavonoids on A β fibril formation in vitro. A β 1-42 (20 μ M) and the flavonoids were incubated for 0-48h at 37°C, and fibril formation was quantitatively determined by the thioflavin T fluorescence assay. Among ten flavonoids tested, fisetin, 3',4',7-trihydroxyflavone, 3,3',4'-trihydroxyflavone, luteolin, quercetin and myricetin inhibited A β fibril formation. On the other hand, 3,3',7-trihydroxyflavone, 5-deoxykaempferol, chrysin and kaempferol enhanced A β fibril formation. These results suggest that the 3',4'-dihydroxyl group, but not the 3- or 7-hydroxyl group, is essential for the inhibitory effect of fisetin on A β fibril formation.

Keywords: amyloid β protein, Alzheimer's disease, fisetin

* 武蔵野大学薬学部

Hatayama, M.^{*1}, Tomizawa, T.^{*1}, Sakai-Kato, K., Bouvagnet, P.^{*2}, Kose, S.^{*1}, Imamoto, N.^{*1}, Yokoyama, S.^{*1,3}, Utsunomiya-Tate, N.^{*4}, Mikoshiba, K.^{*1}, Kigawa, T.^{*1,5}, Aruga, J.^{*1} : **Functional and structural basis of the nuclear localization signal in the ZIC3 zinc finger domain**

Hum. Mol. Genet. **17**, 3459-73 (2008)

Disruptions in ZIC3 cause heterotaxy, a congenital anomaly of the left-right axis. ZIC3 encodes a nuclear protein with a zinc finger (ZF) domain that contains five tandem C2H2 ZF motifs. Missense mutations in the first ZF motif (ZF1) result in defective nuclear localization, which may underlie the pathogenesis of heterotaxy. Here we revealed the structural and functional basis of the nuclear localization signal (NLS) of ZIC3 and investigated its relationship to the defect caused by ZF1 mutation. The ZIC3 NLS was located in the ZF2 and ZF3 regions, rather than ZF1. Several basic residues interspersed throughout these regions were responsible for the nuclear localization, but R320,

K337 and R350 were particularly important. NMR structure analysis revealed that ZF1-4 had a similar structure to GLI ZF, and the basic side chains of the NLS clustered together in two regions on the protein surface, similar to classical bipartite NLSs. Among the residues for the ZF1 mutations, C253 and H286 were positioned for the metal chelation, whereas W255 was positioned in the hydrophobic core formed by ZF1 and ZF2. Tryptophan 255 was a highly conserved inter-finger connector and formed part of a structural motif (tandem CXW-C-H-H) that is shared with GLI, Glis and some fungal ZF proteins. Furthermore, we found that knockdown of Karyopherin α 1/ α 6 impaired ZIC3 nuclear localization, and physical interactions between the NLS and the nuclear import adapter proteins were disturbed by mutations in the NLS but not by W255G. These results indicate that ZIC3 is imported into the cell nucleus by the Karyopherin (Importin) system and that the impaired nuclear localization by the ZF1 mutation is not due to a direct influence on the NLS.

Keywords: ZIC3, zinc finger domain, nuclear localization signal

^{*1} 理化学研究所

^{*2} INSERM, Equipe de Recherche Methodologique

^{*3} 東京大学大学院理学系研究科

^{*4} 武蔵野大学薬学部

^{*5} 東京工業大学大学院総合理工学研究科

Sakai-Kato, K., Ishiguro, A.^{*1}, Mikoshiba, K.^{*1}, Aruga, J.^{*1}, Utsunomiya-Tate, N.^{*2} : **CD spectra show the relational style between Zic-, Gli-, Glis-zinc finger protein and DNA**

Biochim. Biophys. Acta, **1784**, 1011-1019 (2008)

Zic family proteins have five C2H2-type zinc finger motifs. The Zic-zinc finger domains show high homology to the corresponding domains of the Gli and Glis families, which also contain five C2H2-type zinc finger motifs. The zinc finger motifs of the proteins of these three protein families form an α -helix conformation in solution. The addition of oligo DNA that included a Gli-binding sequence increased the α -helix content estimated by using circular dichroism spectroscopy. Comparison of the Zic-, Gli-, and Glis-zinc fingers indicated that the α -helix content after the addition of oligo DNA correlated well with the affinity of each zinc finger for the oligo DNA (correlation coefficient, 0.85). The importance of the zinc ion for protein folding was reflected in a reduction in the α -helix content upon

removal of the zinc ion. Owing to the compact globular structure, the α -helix structure of the proteins of these three protein families is extremely thermally stable. These results suggest that the α -helix structure is important for DNA binding and profoundly related to functional and structural diversity among the three families.

Key words: Zic, zinc finger motifs, circular dichroism

*1 理化学研究所

*2 武蔵野大学薬学部

Satoh, K.^{*1}, Iwata-Takakura, A.^{*1}, A. Yoshikawa, A.^{*1}, Gotanda, Y.^{*1}, T. Tanaka, T.^{*2}, T. Yamaguchi, T., Mizoguchi, H.^{*1} : **A new method of concentrating hepatitis B virus (HBV) DNA and HBV surface antigen: an application of the method to the detection of occult HBV infection**

Vox Sanguinis, **95**, 174-180 (2008)

Background The risk of post-transfusion hepatitis B virus (HBV) infection has been reduced after the implementation of HBV nucleic acid amplification technology (NAT). However, the problem of HBV DNA-positive and HBV surface antigen (HBsAg)-negative occult HBV infections remains to be solved. This is in part due to the HBV DNA load being too low to detect these occult HBV infections using mini-pool NAT. In Japan, the assay for the antibody against the HBV core antigen (anti-HBc) has not completely excluded occult HBV infection. To solve this problem, we have developed a new method of concentrating HBV DNA and HBsAg simultaneously to increase the sensitivity of detection tests. **Methods** Virus concentration is achieved by the enhancement of the agglutination of viruses using poly-L-lysine in the presence of a bivalent metal. Poly-L-lysine-coated magnetic beads are used to shorten the time of each step of the concentration procedure. Seventy-seven anti-HBc-positive and HBsAg-negative donations were examined. HBsAg and anti-HBc were tested by enzyme immunoassay (EIA) (AxSYM; Abbott) and haemagglutination inhibition test (Japanese Red Cross), respectively. **Results** HBV surface antigen and HBV DNA levels were concentrated up to four- to sevenfold. Using this method, 35 of the 77 anti-HBc-positive and HBsAg-negative donors were HBV DNA-positive by individual NAT and a further five donors became HBV DNA-positive by HBV concentration. Twenty-seven of 40 occult HBV infections became HBsAg-positive by HBsAg concentration. **Conclusion** Our new method of concentrating HBV and HBsAg increased

the sensitivities of EIA and HBV NAT, and enabled us to detect 27 of 40 occult HBV infections by HBsAg EIA.

Keywords: anti-HBc, concentration of HBV DNA, concentration of HBsAg

*1 Japanese Red Cross Saitama Blood Center

*2 Tokyo Women's Medical University, International Research and Educational Institute for Integrated Medical Sciences (IREIIMS)

Kawasaki, N.^{*1}, Lin, CW^{*2,3}, Inoue, R.^{*1}, Kay-Hooi Khoo, KH.^{*2,3}, Kawasaki, N., Ma, BY.^{*1}, Shogo Oka, S.^{*4}, Ishiguro, M.^{*5}, Sawada, T.^{*6}, Ishida, H.^{*6}, Hashimoto, T.^{*7}, Kawasaki, T.^{*1} : **Highly fucosylated N-glycan ligands for mannan-binding protein expressed specifically on CD26 (DPPVI) isolated from a human colorectal carcinoma cell line, SW1116**

Glycobiology, **19**, 430-450 (2009)

The serum mannan-binding protein (MBP) is a host defense C-type lectin specific for mannose, *N*-acetylglucosamine, and fucose residues, and exhibits growth inhibitory activity toward human colorectal carcinoma cells. The MBP-ligand oligosaccharides (MLO) isolated from a human colorectal carcinoma cell line, SW1116, are large, multiantennary *N*-glycans with highly fucosylated polylectosamine-type structures having Le^b-Le^a or tandem repeats of the Le^a structure at their nonreducing ends. In this study, we isolated the major MBP-ligand glycoproteins from SW1116 cell lysates with an MBP column and identified them as CD26/dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) (110 kDa) and CD98 heavy chain (CD98hc)/4F2hc (82 kDa). Glycosidase digestion revealed that CD26 contained such complex-type *N*-glycans that appear to mediate the MBP binding. MALDI-MS of the *N*-glycans released from CD26 by PN-Gase F demonstrated conclusively that CD26 is the major MLO-carrying protein. More interestingly, a comparison of the *N*-glycans released from the MBP-binding and non-MBP-binding glycopeptides suggested that complex-type *N*-glycans carrying a minimum of 4 Le^a/Le^b epitopes arranged either as multimeric tandem repeats or terminal epitopes on multiantennary structures are critically important for the high affinity binding to MBP. Analysis of the *N*-glycan attachment sites demonstrated that the high affinity MLO was expressed preferentially at some *N*-glycosylation sites, but this site preference was not so stringent. Finally, hypothetical 3D models of tandem repeats of the Le^a epitope and the MBP-Lewis oligosaccharide complex were presented.

Keywords: CD26, Le^a epitope, mannan-binding lectin

*1 Research Center for Glycobiotechnology, Ritsumeikan University

*2 Institute of Biological Chemistry

*3 Graduate Institute of Biochemical Sciences, National Taiwan University

*4 Human Health Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University

*5 Suntory Institute for Bioorganic Research

*6 Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University

*7 Faculty of Regional Studies, Gifu University

Itoh, S., Hachisuka, A., Kawasaki, N., Hashii, N., Teshima, R., Hayakawa, T., Kawanishi, T., Yamaguchi, T. : **Glycosylation analysis of IgLON family proteins in rat brain by liquid chromatography and multiple-stage mass spectrometry**

Biochemistry, **47**, 10132-10154 (2009)

IgLON family proteins, including limbic-associated membrane protein (LAMP), opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM), neurotrimin, and Kilon, are immunoglobulin (Ig) superfamily cell adhesion molecules. These molecules are composed of three Ig domains and a glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor and contain six or seven potential N-glycosylation sites. Although their glycosylations are supposed to be associated with the development of the central nervous system like other Ig superfamily proteins, they are still unknown because of difficulty in isolating individual proteins with a high degree of homology in performing carbohydrate analysis. In this study, we conducted simultaneous site-specific glycosylation analysis of rat brain IgLON proteins by liquid chromatography and multiple-stage mass spectrometry (LC-MS (n)). The rat brain GPI-linked proteins were enriched and separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. The four proteins were extracted from the gel, and subjected to LC-MS (n) after proteinase digestions. A set of glycopeptide MS data, including the mass spectrum, the mass spectrum in the selected ion monitoring mode, and the product ion spectra, was selected from all data based on carbohydrate-related ions in the MS/MS spectrum. The peptide portion and the carbohydrate structure were identified on the basis of peptide-related ion and carbohydrate-related ions, and the accurate mass. The site-specific glycosylations of four proteins were elucidated as follows. N-Glycans near the N-terminal were disialic acid-conjugated complex- and hybrid-

type oligosaccharides. The first Ig domains were occupied by Man-5-9. Diverse oligosaccharides, including Lewis a/x-modified glycans, a brain-specific glycan known as BA-2, and Man-5, were found to be attached to the third Ig domain. Three common structures of glycans were found in the GPI moiety of LAMP, OBCAM, and neurotrimin.

Keywords: IgLON, liquid chromatography/multiple-stage mass spectrometry, GPI-anchor

Hashii, N., Kawasaki, N., Itoh, S., Nakajima, Y., Kawaniishi, T., Yamaguchi, T. : **Alteration of N-glycosylation in the kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus: relative quantification of N-glycans using an isotope-tagging method**
Immunology, **126**, 336-345 (2009)

Changes in the glycan structures of some glycoproteins have been observed in autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis. A deficiency of alpha-mannosidase II, which is associated with branching in N-glycans, has been found to induce SLE-like glomerular nephritis in a mouse model. These findings suggest that the alteration of the glycosylation has some link with the development of SLE. An analysis of glycan alteration in the disordered tissues in SLE may lead to the development of improved diagnostic methods and may help to clarify the carbohydrate-related pathogenic mechanism of inflammation in SLE. In this study, a comprehensive and differential analysis of N-glycans in kidneys from SLE-model mice and control mice was performed by using the quantitative glycan profiling method that we have developed previously. In this method, a mixture of deuterium-labelled N-glycans from the kidneys of SLE-model mice and non-labelled N-glycans from kidneys of control mice was analysed by liquid chromatography/mass spectrometry. It was revealed that the low-molecular-mass glycans with simple structures, including agalactobiantennary and paucimannose-type oligosaccharides, markedly increased in the SLE-model mouse. On the other hand, fucosylated and galactosylated complex type glycans with high branching were decreased in the SLE-model mouse. These results suggest that the changes occurring in the N-glycan synthesis pathway may cause the aberrant glycosylations on not only specific glycoproteins but also on most of the glycoproteins in the SLE-model mouse. The changes in glycosylation might be involved in autoimmune pathogenesis in the model mouse kidney.

Keywords: isotope-tagging method, liquid chromatog-

raphy/multiple-stage mass spectrometry, systemic lupus erythematosus

Urayama, S.^{*1}, Harada, Y.^{*1}, Nakagawa, Y.^{*1}, Ban, S.^{*1,2}, Akasaka, M.^{*1}, Kawasaki, N., Sawada, H.^{*1} : **Ascidian sperm glycosylphosphatidylinositol-anchored CRISP-like protein as a binding partner for an allorecognizable sperm receptor on the vitelline coat**

J. Biol. Chem., **283**, 21725-21733 (2008)

Although ascidians are hermaphroditic, many species including *Halocynthia roretzi* are self-sterile. We previously reported that a vitelline coat polymorphic protein HrVC70, consisting of 12 EGF (epidermal growth factor)-like repeats, is a candidate allorecognition protein in *H. roretzi*, because the isolated HrVC70 shows higher affinity to nonself-sperm than to self-sperm. Here, we show that a sperm 35-kDa glycosylphosphatidylinositol-anchored CRISP (cysteine-rich secretory protein)-like protein HrUrabin in a low density detergent-insoluble membrane fraction is a physiological binding partner for HrVC70. We found that HrVC70 specifically interacts with HrUrabin, which had been separated by SDS-PAGE and transferred onto a nitrocellulose membrane. HrUrabin has an *N*-linked sugar chain, essential for binding to HrVC70. *HrUrabin* mRNA is expressed in the testis but not in the ovary, and the protein appears to be localized on the surface of sperm head and tail. Anti-HrUrabin antibody, which neutralizes the interaction between HrUrabin and HrVC70, potently inhibited fertilization and allorecognizable sperm-binding to HrVC70-agarose. However, no significant difference in the binding ability of HrUrabin to HrVC70 was observed in autologous and allogeneic combinations by Far Western analyses. These results indicate that sperm-egg binding in *H. roretzi* is mediated by the molecular interaction between HrUrabin on the sperm surface and HrVC70 on the vitelline coat, but that HrUrabin *per se* is unlikely to be a direct allorecognition protein.

Keywords: ascidian sperm, HrVC70, HrUrabin

^{*1} Sugashima Marine Biological Laboratory, Graduate School of Science, Nagoya University

^{*2} Department of Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University

Harazono, A., Kawasaki, N., Itoh, S., Hashii, N., Matsui-shi-Nakajima, Y., Kawanishi, T., Yamaguchi, T. : **Simultaneous glycosylation analysis of human serum**

glycoproteins by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry

J Chromatogr. B Analyt Technol Biomed Life Sci., **869**, 20-30 (2008)

Changes in the glycosylation of some serum proteins are associated with certain diseases. In this study, we performed simultaneous site-specific glycosylation analysis of abundant serum glycoproteins by LC/Qq-TOF MS of human serum tryptic digest, the albumin of which was depleted. The glycopeptide peaks on the chromatogram were basically assigned by database searching with modified peak-list text files of MS/MS spectra and then based on mass differences of glycan units from characterized glycopeptides. Glycopeptide of IgG, haptoglobin and ceruloplasmin were confirmed by means of a comparison of their retention times and *m/z* values with those obtained by LC/MS of commercially available glycoproteins. Mass spectrometric carbohydrate heterogeneity in the assigned glycopeptides was analyzed by an additional LC/MS. We successfully demonstrated site-specific glycosylation of 23 sites in abundant serum glycoproteins.

Keywords: glycosylation analysis, human serum, LC/MS

Sano, K.^{*}, Asahi, M.^{*}, Yanagibashi, M.^{*}, Hashii, N., Itoh, S., Kawasaki, N., Ogawa, H.^{*} : **Glycosylation and ligand-binding activities of rat plasma fibronectin during liver regeneration after partial hepatectomy**

Carbohydr. Res., **343**, 2329-2335 (2008)

Fibronectin (FN) is a multifunctional glycoprotein present in the extracellular matrix (ECM) and plasma. We previously reported that the glycosylation and ligand-binding of vitronectin (VN) change markedly after partial hepatectomy (PH). Here we show the changes of FN during liver regeneration. The yields of purified sham-operated (SH-) and PH-FN were higher than that of non-operated (NO)-FN, while binding activities of FNs to ECM ligands were changed only slightly by hepatectomy. The carbohydrate concentration of PH-FN decreased to 66% of that of NO- and SH-FN. By using LC/MS(n), eight kinds of complex-type N-glycan structures were found to be present in all FNs, and bi- and trisialobiantennary glycans were the major structures. Fucosylation was markedly increased, while O-acetylation of sialic acid was found to be decreased in PH-FN. The alterations in glycosylation and biological activities of FN after PH are different from those of VN, suggesting that these glycoproteins play different biological functions

in tissue remodeling.

Keywords: fibronectin, vitronectin, glycosylation

* Graduate School of Humanities and Sciences, Ochanomizu University

Kawasaki, N., Itoh, S., Hashii, N., Harazono, A., Takakura, D., Yamaguchi, T. : **Mass spectrometry for analysis of carbohydrate heterogeneity in characterization and evaluation of glycoprotein**

Trends. Glycosci. Glycotechnol., **20**, 97-116 (2008)

Analysis of the carbohydrate heterogeneity of glycoprotein-based substances is crucial for establishing the nomenclature and definition of biological substances, ensuring consistency in the quality of these products, comparatively assessing the products obtained after the implementation of changes in the manufacturing process, and developing bio-similar or follow-on biological products. Liquid chromatography/mass spectrometry is recognized as one of the most useful techniques for analyzing the carbohydrate heterogeneity of glycoprotein substances. Here, we demonstrate the utility of LC/MS for analyzing the carbohydrate heterogeneity by using some representative glycoproteins such as tissue-plasminogen activator, a monoclonal antibody, the folliclestimulating hormone, and human chorionic gonadotropin. Further, we demonstrate that MS-based glycoprotein analysis has potential applications in glycomics.

Keywords: LC/MS, glycoprotein, heterogeneity

Suzuki, T., Tamehiro, N., Sato, Y., Kobayashi, T., Ishii-Watabe, A., Shinozaki, Y., Nishimaki-Mogami, T., Hashimoto, T.^{*1}, Asakawa, Y.^{*1}, Inoue, K.^{*2}, Ohno, Y., Yamaguchi, T., Kawanishi, T. : **The novel compounds that activate farnesoid X receptor: the diversity of their effects on gene expression**

J. Pharmacol. Sci., **107**, 285-294 (2008)

Farnesoid X receptor (FXR) controls the expression of critical genes in bile acid and cholesterol homeostasis. To study FXR and to develop a regulator of cholesterol, some non-steroidal and steroidal ligands have been found in addition to endogenous ligands for FXR. In this study, we discovered five bile acid derivatives (methyl cholate, methyl deoxycholate, 5beta-cholanic acid, 5beta-cholanic acid-7alpha,12alpha-diol, and NIHS700) and two natural products (marchantin A and marchantin E) that activated FXR in the reporter assay. These compounds activated FXR to a high level comparable to the most potent endogenous bile

acid, chenodeoxycholic acid, although it was not predicted from their structures; five of them were similar to the lower potency bile acids, and two were structurally much different from bile acids. The elevation levels of reporter gene expression by some of the screened compounds were varied in Cos-7, HepG2, HuH-7, and Caco-2 cells. These compounds also controlled the expression of genes regulated by FXR, and some of the compounds regulated these genes in a cell-type-specific and/or gene-selective fashion. Therefore, molecular design of the compounds can cause selective modulation of the expression of FXR target genes.

Keywords: farnesoid X receptor, reporter assay, ginkgolic acid

^{*1} Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University

^{*2} Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Shibata, H.^{*}, Nakano, T.^{*}, Parvez, MA.^{*}, Furukawa, Y.^{*}, Tomoishi, A.^{*}, Niimi, S., Arakai, N.^{*}, and Higuti, T.^{*} : **Triple combinations of lower and longer alkyl gallates and oxacillin improve antibiotic synergy against methicillin-resistant Staphylococcus aureus.**

Antimicrob. Agents, Chemother., **53**, 2218-2220 (2009)

Using liposome systems, we found that gallates with short alkyl chains were located in the external medium and those with longer alkyl chains were located in the surface region of lipid bilayer. Combinations of these gallates remarkably reduced oxacillin MICs against methicillin-resistant Staphylococcus aureus to below the antibiotic breakpoint (< or = 2 microg/ml).

Keywords: gallates, oxacillin, MRSA

^{*} Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School

Parvez, MA.^{*1}, Shibata, H.^{*1}, Nakano, T.^{*1}, Niimi, S., Fujii, N.^{*2}, Arakaki, N.^{*1} and Higuti, T.^{*1} : **No relationship exists between PBP 2a amounts expressed in different MRSA strains obtained clinically and their beta-lactam MIC values**

J. Med. Inves., **55**, 246-253 (2008)

After establishing a linear relationship between the amount of penicillin-binding protein (PBP) 2a and membrane proteins of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

COL by dot-blot analysis using an antibody against PBP 2a, we determined the PBP 2a quantities in membrane fractions prepared from 14 different MRSA cells. Methicillin-sensitive *S. aureus* ATCC 6538P was used as a quality control strain. The amounts of PBP 2a diverged among the strains, and no relationship to beta-lactam MIC values were observed in the corresponding strains.

Keywords: MRSA, PBP, β -lactam, MIC values

*¹ Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School

*² Faculty of Human Life Sciences, Tokushima Bunri University

Harashima, M.^{*}, Harada K.^{*}, Ito, Y.^{*}, Hyuga, M., Seki, T.^{*}, Ariga, T.^{*}, Yamaguchi, T. and Niimi, S. : **Annexin A3 expression Increases in Hepatocytes and is regulated by hepatocyte growth factor in rat liver regeneration**

J. Biochem., **143**, 537-545 (2008)

Annexin (Anx) A3 increases and plays important roles in the signalling cascade in hepatocyte growth in cultured hepatocytes. However, no information is available on its expression and role in rat liver regeneration. In the present study, AnxA3 expression was investigated to determine whether it also plays a role in the signalling cascade in rat liver regeneration. AnxA3 protein and mRNA level both increase in liver after administration of carbon tetrachloride (CCl₄) or 70% partial hepatectomy. AnxA3 protein level increases in isolated parenchymal hepatocytes, but not in non-parenchymal liver cells, in these rat liver regeneration models. AnxA3 mRNA increases in hepatocytes after CCl₄ administration. Anti-hepatocyte growth factor antibody suppresses this increase in AnxA3 mRNA level. These results demonstrate that AnxA3 expression increases in hepatocytes through a hepatocyte growth factor-mediated pathway in rat liver regeneration models, suggesting that AnxA3 plays an important role in the signalling cascade in rat liver regeneration.

Keywords: annexin A3, carbon tetrachloride, hepatocyte growth factor, parenchymal hepatocytes, partial hepatectomy

* Nihon University College of Bioresource Sciences

橋井則貴, 川崎ナナ, 高倉大輔, 伊藤さつき, 川原信夫, 正田卓司, 杉本直樹, 齋島由二, 品川麻衣^{*1}, 榎葉信久^{*1}, 宮田一義^{*2}, 塚本秀樹^{*3}, 千秋和久^{*3}, 長谷

川泰介^{*4}, 河合健蔵^{*5}, 余田 光^{*5}, 木下充弘^{*6}, 掛樋一晃^{*6}, 合田幸広, 奥田晴宏, 棚元憲一, 山口照英 : **ヘパリン純度試験に関する研究 (第1報) ¹H-NMRによるヘパリンナトリウム純度試験に関する研究**

医薬品研究, **39**, 651-659 (2008)

¹H-NMR による 過硫酸化コンドロイチン硫酸及びデルマタン硫酸分析法を確立するとともに, 日本薬局方各条ヘパリンナトリウム純度試験としての適用可能性を検証した。

Keywords: ヘパリンナトリウム, 過硫酸化コンドロイチン硫酸, ¹H-NMR

*¹ 味の素 (株) ライフサイエンス研究所

*² (株) 大塚製薬工場

*³ テルモ (株) 研究開発センター

*⁴ 日本臓器製薬 (株) 生物活性科学研究所

*⁵ 扶桑薬品工業 (株) 研究開発センター

*⁶ 近畿大学薬学部

橋井則貴, 川崎ナナ, 高倉大輔, 伊藤さつき, 福原潔, 品川麻衣^{*1}, 榎葉信久^{*1}, 有村雅敏^{*2}, 辰巳昌史^{*2}, 奥田晴宏, 山口照英 : **ヘパリン純度試験に関する研究 (第2報) ¹H-NMRによるヘパリンカルシウム純度試験に関する研究**

医薬品研究, **39**, 660-712 (2008)

¹H-NMR による 過硫酸化コンドロイチン硫酸及びデルマタン硫酸分析法を確立するとともに, 局外規ヘパリンカルシウム純度試験としての適用可能性を検証した。

Keywords: ヘパリンカルシウム, 過硫酸化コンドロイチン硫酸, ¹H-NMR

*¹ 味の素 (株) ライフサイエンス研究所

*² 沢井製薬 (株)

掛樋一晃^{*1}, 梶 直孝^{*1}, 木下充弘^{*1}, 橋井則貴, 川崎ナナ, 寺尾敏光^{*2}, 河合健蔵^{*3}, 余田 光^{*3}, 山口照英 : **ヘパリンナトリウム純度試験に関する研究 (第3報) キャピラリー電気泳動法によるヘパリンナトリウム不純物の分析**

医薬品研究, **39**, 713-720 (2008)

キャピラリー電気泳動法による過硫酸化コンドロイチン硫酸及びデルマタン硫酸分析法を確立するとともに, 日本薬局方各条ヘパリンナトリウム純度試験としての適用可能性を検証した。

Keywords: ヘパリンナトリウム, 過硫酸化コンドロイチン硫酸, キャピラリー電気泳動

- *1 近畿大学薬学部
 *2 (株) 大塚製薬工場
 *3 扶桑薬品工業 (株) 研究開発センター

川崎ナナ, 橋井則貴, 杉本直樹, 高倉大輔, 秦 艶, 細山沙織^{*1}, 戸井田敏彦^{*1}, 山口照英: **ヘパリン純度試験に関する研究 (第4報) 合成過酸化コンドロイチン硫酸の日局標準品としての適用性の評価**

医薬品研究, **39**, 721-729 (2008)

合成した過酸化コンドロイチン硫酸 (OSCS) の OSCS標準品としての適用可能性を明らかにすることを目的として, 有害事象を引き起こしたヘパリンナトリウムから精製したOSCS及び合成OSCSの品質特性を比較した。

Keywords: ヘパリンナトリウム, 合成過酸化コンドロイチン硫酸, 日局標準品

- *1 千葉大学大学院薬学研究科

原園 景, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 小林 哲, 石川リカ^{*1}, 高井俊紀^{*1}, 古賀明子^{*2}, 岡本寿美子^{*2}, 山口秀人^{*3}, 濱詰康樹^{*4}, 佐藤貴之^{*4}, 窪田雅之^{*5}, 掛樋一晃^{*6}, 木下充弘^{*6}, 島 圭介^{*7}, 山田真希^{*7}, 山口照英: **質量分析法を用いたペプチド及びタンパク質性医薬品の確認試験法に関する研究**

医薬品研究, **39**, 627-646 (2008)

Since mass spectrometry (MS) and tandem mass spectrometry (MS/MS) make it possible to measure an accurate mass of peptides and proteins and provide structural information, they have been used for not only analysis of primary structure and post-translational modification but also identification tests of peptide and protein products. However, assay methods for identification tests have not been fully standardized due to different ionization methods, many types of analyzers and various analytical conditions. In this paper, mass spectrometry for identification tests of peptide and protein products has been standardized and validated in a collaborative study using several types of mass spectrometers equipped with ESI or MALDI sources. The results of molecular mass measurement from the collaborative study suggest the following acceptance criteria: i) 0.3 Da (monoisotopic mass) for peptides with masses <1,000 Da, ii) 300 ppm (monoisotopic mass) and 500 ppm (average mass) for peptides with masses 1,000~6,000 by ESI-MS and MALDI-MS, and iii) 500 ppm and 1,600 ppm (average mass) for proteins with masses 6,000~22,000 Da by ESI-MS and MALDI-MS, respectively. Although peptides with

masses 1,000~4,000 Da yielded 5~10 of b- and y- series fragments by CID-MS/MS and PSD, the detected ions were not identical among laboratories. Further study is necessary for setting of optimization and standardization of MS/MS conditions.

Keywords: Mass spectrometry, Peptide/Protein, Identification test

- *1 キリンファーマ (株)
 *2 中外製薬 (株)
 *3 アステラス製薬 (株)
 *4 大日本住友製薬 (株)
 *5 サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)
 *6 近畿大学薬学部
 *7 島津製作所 (株)

後藤洋子*, 新見伸吾: **ラクトース修飾フィブロイン基材上における初代培養ラット肝細胞のスフェロイド形成と維持**

高分子論文集 (Kobunshi Ronbunshu), **65**, 312-316 (2008)

We examined the formation and maintenance of spherical multicellular aggregates (spheroids) of rat primary hepatocytes on dishes coated with lactose-silk fibroin conjugates bearing galactose residues (Lac-CY-SF) as substrate materials. Rat hepatocytes that had attached onto the conjugate-coated dishes were subsequently cultured in a medium supplemented with epidermal growth factor (EGF) and insulin. After the rat hepatocytes extended flat on the conjugate-coated dishes in 2 days of culture, these hepatocytes formed spheroids about 100 to 300µm in diameter at days 4. After 6 days of culture the spheroids were maintained without any obvious change in size on the conjugate-coated dishes. However, the detachment of the spheroids from the conjugate-coated dishes began from day 8, and the spheroids clearly shrank at day 10. These results suggested that hepatocyte spheroid formation was induced on the Lac-CY-SF conjugate-coated dishes in the presence of EGF and insulin, but the conjugate-coated dishes were not capable of keeping the spheroids for more than 5 days.

Keywords: lactose-silk fibroin conjugates, rat hepatocytes, epidermal growth factor, insulin, spheroids

- * National Institute of Agrobiological Sciences

Watanabe, K.*, Hyuga, S.*, Hyuga, M., Sekiguchi, A.*, Endo, M.*, Tsuda, T.*, Oikawa, T.*, Yamaguchi, T., and Hanawa, T.* : **Unkeito, a traditional Kampo for-**

mula, exhibits a selective estrogen receptor modulator-like activity

J. Trad. Med., **26**, 18-24 (2009)

Unkeito is a Kampo formula used to treat several menstrual disorders and menopausal symptoms. Our aim was to determine the effects of unkeito on trabecular bone mineral density (BMD) and uterus in the ovariectomized (OVX) mouse to predict the effects of unkeito on women in the post-reproductive period. Design: Ten-week-old Balb/c mice were ovariectomized to induce both osteoporosis and loss of ovarian function. Two weeks after surgery, the mice were divided into control and experimental groups. The control mice were given unlimited access to tap water. The experimental mice were given an estrogen solution (6.25 or 12.5 mg/day), unkeito suspension (60, 120, 240, or 480 mg/day), or a combination of 12.5 mg/day estrogen and unkeito (240 or 480 mg/day) orally for two weeks. The trabecular BMD, uterine weight, and endometrial thickness were then measured. Results: Trabecular BMD, uterine weight, and endometrial thickness in OVX mice were markedly decreased as compared with the sham-operated mice. The trabecular BMD in OVX mice that received unkeito was significantly increased in comparison with that of OVX mice that did not receive unkeito. No significant differences in uterine weight or endometrial thickness were noted between the unkeito groups and the OVX groups. Moreover, the increment in both uterine weight and endometrial thickness in OVX mice induced by estradiol was reduced by oral administration of unkeito. Conclusion: OVX mice showed recovery from trabecular BMD loss without both uterine weight gain and increase in endometrial thickness, after treatment with unkeito for two weeks. Thus, we found for the first time that unkeito exhibits a selective estrogen receptor modulator-like activity.

Keywords: Kampo, estrogen, selective estrogen receptor modulator

* 北里研究所東洋医学総合研究所

Goda, Y., Kawahara, N., Kiuchi, F.^{*1}, Hirakura, K.^{*2}, Kikuchi, Y.^{*2}, Nishimura, H.^{*2}, Takao, M.^{*2}, Marumoto, M.^{*2}, Kitazaki, H.^{*2} : **A guanidine derivative from seeds of *Plantago asiatica***

J. Nat. Med., **63**, 58-60 (2009)

A new guanidine derivative named plantagouanidinic acid was isolated from the seeds of *Plantago asiatica*. The structure was elucidated by two-dimensional (2D) nuclear

magnetic resonance (NMR) spectral and other spectral methods.

Keywords: *Plantago asiatica*, Plantaginaceae, guanidine derivative

^{*1} Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation

^{*2} Tsumura & Co.

Makino, T.^{*1}, Hishida, A.^{*2}, Goda, Y., Mizukami, H.^{*1} : **Comparison of major flavonoid contents in *Scutellaria baicalensis*, *S. lateriflora* and their commercial products**

J. Nat. Med., **62**(3), 294-299 (2008)

According to the notification for definition of pharmaceuticals from the Director-General of the Pharmaceutical and Food Safety Bureau, Ministry of Health Labour and Welfare of Japan, the roots of *Scutellaria baicalensis* (Chinese skullcap) and *S. lateriflora* (skullcap) are classified as "the raw materials exclusively used as pharmaceuticals", but their aerial parts are classified as "non-pharmaceuticals" so, in principle, there are no health claims for these materials and no descriptions of drug-like dosages or administration directions. Dried root of *S. baicalensis* is also registered in Japanese Pharmacopoeia XV as scutellaria root. Scutellaria root is considered to have the adverse drug reactions of interstitial pneumonia and drug-induced hepatopathy in kampo medicines (Japanese traditional herbal formulations), and baicalin, its major constituent, is considered to be the cause of the adverse reaction. This study was conducted to evaluate the validity of this borderline between pharmaceuticals and non-pharmaceuticals by analyzing the amounts of four flavonoids, including baicalin, in the roots, stems, and leaves of *S. baicalensis* and *S. lateriflora*, and in the commercial products herbal tea and dietary supplements prepared from *S. lateriflora*. These flavonoids were found in the root of *S. baicalensis*; its aerial parts, however, did not contain them. On the other hand, the amounts of those flavonoids in the aerial parts of *S. lateriflora* were larger than in the root. Herbal tea and dietary supplements of *S. lateriflora* obtained commercially also contained those flavonoids, and the dietary supplements contained amounts of them comparable with that in kampo medicine. These results suggest that classification that the aerial parts of *S. lateriflora* as non-pharmaceuticals in Japan needs reconsideration.

Keywords: *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria lateriflora*, flavonoid composition

^{*1} Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University

^{*2} Tsukuba Division, Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation

Amakura, Y.^{*1}, Yoshimura, M.^{*1}, Mouri, C.^{*2}, Mikage, M.^{*2}, Kawahara, N., Goda, Y., Yoshida, T.^{*1} : **Convenient TLC-based identification test for the crude drug "Pogostemoni Herba"**

Yakugaku Zasshi, **128**(12), 1833-1837 (2008)

TLC and HPLC were used to identify possible chemical markers for evaluating the quality of the crude drug "Pogostemoni herba" (aerial part of *Pogostemon cablin*), which is a component of Kampo medicines. In addition to the reported patchouli alcohol and 2-hydroxy-6-methyl-3-(4-methylpentanoyl)-4-pyrone, three phenylethanoids were isolated from this plant material for the first time: acteoside, isoacteoside, and crenatoside. The usefulness of these compounds as indicators of the crude commercial drug under various TLC conditions was examined, and patchouli alcohol was found to give a definite spot with a reproducible R_f value. Therefore, we propose TLC of the methanol (MeOH) extract using patchouli alcohol as a marker as a convenient method for identifying the crude drug Pogostemoni herba.

Keywords: *Pogostemon cablin*, Pogostemoni herba, patchouli alcohol

^{*1} 松山大学薬学部

^{*2} 金沢大学大学院自然科学研究科

Terabayashi, S.^{*1}, Sakai, E.^{*2}, Yamaji, H.^{*3}, Kondo, K.^{*3}, Kawahara, N., Goda, Y. : **Authentication and standardization of botanical origin and morphology of Coix fruit in the Japanese Pharmacopoeia**

Journal of Japanese Botany, **84**(2), 77-84 (2009)

Definition (botanical origin) and description (morphology, etc.) of Coix fruit in the Japanese Pharmacopoeia were presented for authentication and standardization of crude drug. The crude drug, Coix fruit is defined as a fruit enveloped with an involucre of *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf. The smell, taste, and external morphological and anatomical features of Coix fruit were described based mainly on market samples. The term of

organ enveloping fruit is also discussed.

Keywords: Coix fruit, *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf, morphology

^{*1} 横浜薬科大学

^{*2} 岐阜薬科大学

^{*3} (株) ツムラ

Hasegawa, T.^{*}, Saijo, M.^{*}, Ishii, T.^{*}, Nagata, T.^{*}, Haishima, Y., Kawahara, N., Goda, Y. : **Structural elucidation of a tadalafil analogue found in a dietary supplement**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **49**(4), 311-315 (2008)

A tadalafil analogue was detected in a dietary supplement marketed for tonic effect, along with hydroxyhomosildenafil and aminotadalafil. The tadalafil analogue was isolated by preparative thin layer chromatography (TLC) and its structure was elucidated using high-performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography electrospray ionization-mass spectrometry (LC-ESI-MS), Fourier transform-ion cyclotron resonance-mass spectrometry (FT-ICR-MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. The compound was determined to be methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(chloroacetyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate. This is the first report of detection of this compound in a dietary supplement.

Keywords: tadalafil analogue, tonic effect, dietary supplement

^{*} 千葉県衛生研究所

Kawahara, N., Ido, Y.^{*1}, Nakajima, I.^{*1}, Kawasaki, T.^{*1}, Sakai, E.^{*2}, Goda, Y. : **Comparative study on testing methods and specification values for crude drugs in Pharmacopoeias among four western pacific regional countries (Japan, China, Korea and Vietnam) (IV) Comparative study on TLC identification for crude drugs considering harmonization and clean analysis**

Shoyakugaku Zasshi, **62**(2), 72-78 (2008)

Recently, from the viewpoint of prevention of environmental pollution and the health protection of researcher, clean analysis removing harmful chemical reagents such as benzene and chloroform is recommended worldwide. At the fourth Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH) Standing

Committee in Tokyo 2006, we proposed the collaborative study of the developing solvent for TLC identification in Pharmacopoeia, considering clean analysis. The proposed collaboration study is as follows: each member state tests the TLC analysis using non-toxic solvent systems which are described in other members' Pharmacopoeia with regard to the designated crude drugs in the comparative table. In this paper, we show the results of the task work. From our comparative study, it is suggested that for almost all TLC identification of crude drugs using chloroform (or benzene) as a developing solvent, non-toxic solvent systems will be able to replace the toxic solvents.

Keywords: FHH, TLC identification, clean analysis

*¹ (株) ウチダ和漢薬

*² 岐阜薬科大学

Hirasawa, Y.^{*1}, Tanaka, T.^{*1}, Kobayashi, J.^{*2}, Kawahara, N., Goda, Y., Morita, H.^{*1} : **Malycorins A-C, new Lycopodium alkaloids from *Lycopodium phlegmaria***
Chem. Pharm. Bull., **56**(10), 1473-1476 (2008)

A novel C₁₉N-type *Lycopodium* alkaloid, malycorin A (1) consisting of a serratinane skeleton with 2-propanol unit has been isolated from the club moss *Lycopodium phlegmaria*, together with two new C₁₆N-type alkaloids, malycorins B (2) and C (3), and the structures and relative stereochemistry were elucidated on the basis of spectroscopic data.

Keywords: *Lycopodium* alkaloid, malycorin, *Lycopodium phlegmaria*

*¹ 星薬科大学

*² 北海道大学大学院薬学研究科

Hirasawa, Y.^{*1}, Kato, E.^{*1}, Kobayashi, J.^{*2}, Kawahara, N., Goda, Y., Shiro, M.^{*3}, Morita, H.^{*1} : **Lycoparins A-C, new alkaloids from *Lycopodium casuarinoides* inhibiting acetylcholinesterase**
Bioorg. Med. Chem., **16**, 6167-6171 (2008)

Three new *Lycopodium* alkaloids, lycoparins A-C (1-3), have been isolated from the club moss *Lycopodium casuarinoides*. Structures and stereochemistry of 1-3 were elucidated on the basis of 2D NMR correlations. Lycoparins C (3) exhibited an inhibitory activity against acetylcholinesterase, while lycoparins A (1) and B (2) did not show activity.

Keywords: alkaloid, lycoparin, *Lycopodium casuarinoides*

*¹ 星薬科大学

*² 北海道大学大学院薬学研究科

*³ (株) リガク

Hasegawa, T.^{*}, Takahashi, K.^{*}, Saijo, M.^{*}, Ishii, T.^{*}, Nagata, T.^{*}, Kurihara, M., Haishima, Y., Goda, Y., Kawahara, N. : **Isolation and structural elucidation of cyclopentynafil and *N*-octylnortadalafil found in a dietary supplement**

Chem. Pharm. Bull., **57**(2), 185-189 (2009)

A new sildenafil analogue, cyclopentynafil (1) and a new tadalafil analogue, *N*-octylnortadalafil (2) were isolated from a dietary supplement illegally marketed for erectile dysfunction. The structures of the sildenafil and tadalafil analogues were elucidated by using HPLC-photodiode array (PDA), LC-MS, high-resolution MS, NMR and circular dichroism (CD). These compounds were determined to be 5-[2-ethoxy-5-(4-cyclopentylpiperazin-1-ylsulfonyl)phenyl]-1-methyl-3-propyl-1,6-dihydro-7*H*-pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidin-7-one and (6*R*,12*aR*)-2-octyl-6-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2,3,6,7,12,12*a*-hexahydropyrazino[1',2:1,6]pyrido[3,4-*b*]indole-1,4-dione, respectively. Recently, a large number of phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitors, including their analogues, have been isolated from dietary supplements, while cyclopentynafil and *N*-octylnortadalafil are the first compounds reported to be new sildenafil and tadalafil analogues, respectively. Quantitative HPLC analysis showed that the contents of 1 and 2 in the product were about 130 mg/tablet (301 μg/mg) and about 27 mg/tablet (64.1 μg/mg), respectively.

Keywords: cyclopentynafil, *N*-octylnortadalafil, phosphodiesterase-5 inhibitor

* 千葉県衛生研究所

Hirasawa, Y.^{*1}, Miyama, S.^{*1}, Kawahara, N., Goda, Y., Rahman, A.^{*2}, Ekasari, W.^{*2}, Widyawaruyanti, A.^{*2}, Indrayanto, G.^{*2}, Zaini, N. C.^{*2}, Morita, H.^{*1} : **Indole Alkaloids from the Leaves of *Alstonia scholaris***
Heterocycles, **79**(1), 1107-1112 (2009)

A new indole alkaloid, akuammidine-*N*-oxide (1) was isolated from the leaves of *Alstonia scholaris* (Apocynaceae) together with akuammidine (2), and the structure was elucidated by NMR spectral analysis and chemical correlation. Akuammidine (2) showed a moderate antiplasmodial activity.

Keywords: indole alkaloid, akuammidine-*N*-oxide, *Alstonia*

scholaris

^{*1} 星薬科大学^{*2} Airlangga University

Kawahara, N., Anjiki, N.^{*1, 2}, Hosoe, J., Kim, I-H., Ikezaki, H.^{*2}, Mikage, M.^{*1}, Goda, Y. : **Studies on relationship between taste and content of sulfur dioxide in crude drugs obtained from the Japanese market**

Pharmaceutical Regulatory Science, **40**(3), 129-135 (2009)

Sulfur dioxides and sulfites are registered in "The Japan's Specifications and Standards for Food Additives", and are mainly used as bleach and anti-oxidants. The Food Sanitation Law prohibits their use with sesame, legumes and vegetables. In China, sulfur fumigation is performed for the purpose of bleaching, drying, insecticide and antibacterial process, in the preparation of some crude drugs. Recently, it has been reported that large quantities of sulfur dioxides may be present in sulfur fumigated crude drugs. In the course of our survey of impurity in herbal materials, we analyzed the content of sulfur dioxides for 31 kinds of crude drugs purchased from the Japanese market. Furthermore, with the aim of development a new simple method for the measurement of sulfur dioxides, we investigated correlation between the color value obtained by spectrophotometry and the sulfur dioxides content in 19 kinds of crude drugs. A good correlation between the color index L^* value and the sulfur dioxide content, and the good inverse correlation between the color index C^* value and the sulfur dioxide content were observed in 4 powdered crude drugs. However, other crude drugs did not show any correlations between color and sulfur dioxide content. Seeking other new methodology for the measurement of sulfur dioxide, we examined the correlation between taste intensity and sulfur dioxide content in 5 kinds of crude drugs with the use of a taste-sensing system. High levels of sulfur dioxide (more than 80 mg/kg) influenced the taste intensity of umami, and astringency and anionic bitterness of 4 crude drugs (Platycodon Root, Fritillaria Bulb, Ginger and Forsythia Fruit). Therefore, measurement of the taste intensity may be suitable as a screening procedure for sulfur dioxide content in these crude drugs.

Keywords: sulfur dioxide, taste-sensing system, crude drugs

^{*1} 金沢大学大学院自然科学研究科

^{*2} (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

Tokumoto, H., Shimomura, H., Katsuki, S.^{*}, Goda, Y. : **Morphological discrimination of *Curcuma longa* L. and *Curcuma aromatica* Salisb**
Shoyakugaku Zasshi, **62**(2), 54-65 (2008)

The first step for ensuring the quality of natural products is to use the right parts from the right origin. By using a microscope we studied morphological differences between the rhizomes of *Curcuma longa* L. and *C. aromatica* Salisb., both of which are used as health food ingredients. We found a sharp contrast between the shapes of starch grains of *C. longa* and those of *C. aromatica*, namely long triangle to long ovate in *C. longa* and ovate to wide ovate in *C. aromatica*, regardless of the degree of processing. There is a clear difference in the ratio of the major diameter to the minor one between these two species. In addition, we also found that the color of the contents of the secreting cells differed between the species: reddish-brown in *C. longa*, colorless or pale yellow in *C. aromatica*. We then applied the morphological discrimination method to samples of health foods, the origins of which had been determined by DNA analyses. The result was identical with that determined by molecular biology techniques. This study shows that microscopic identification is a useful method for the authentication of the origin of health food products.

Keywords: *Curcuma longa*, *Curcuma aromatica*, anatomy

^{*} 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

Ohtsuki, T., Miyagawa, T.^{*1}, Koyano, T.^{*2}, Kowithayakorn, T.^{*3}, Kawahara, N., Goda, Y., Ishibashi, M.^{*1} : **Acylated triterpenoid saponins from *Schima noronhae* and their cell growth inhibitory activity**
J. Nat. Prod., **71**(5), 918-921 (2008)

Two new acylated triterpenoid saponins were isolated from the branches of *Schima noronhae* by bioassay-guided purification. Their chemical structures were established on the basis of spectroscopic analysis and chemical means as 3-*O*- α -l-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucuronopyranosyl 22-*O*-angeloyl-A1-barrigenol (1) and 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucuronopyranosyl 22-*O*-angeloylerythrodiol (2). Compounds 1 and 2 showed cell growth inhibitory activity against both HeLa and DLD1 cells at a concentration of less than 10 μ M.

Keywords: *Schima noronhae*, triterpenoid saponin, cell growth inhibitory activity

*¹ 千葉大学大学院薬学研究院

*² テムコ

*³ コンケン大学農学部

Abe, Y., Tera, M.^{*1}, Sasaki, N.^{*1}, Okamura, M.^{*2}, Umemoto, N.^{*3}, Momose, M.^{*3}, Kawahara, N., Kamakura, H., Goda, Y., Nagasawa, K.^{*1}, Ozeki, Y.^{*1} : **Detection of 1-O-malylglucose: Pelargonidin 3-O-glucose-6"-O-malyltransferase activity in carnation (*Dianthus caryophyllus*)**

Biochem. Biophys. Res. Commun., **373**, 473-477 (2008)

Carnations have anthocyanins acylated with malate. Although anthocyanin acyltransferases have been reported in several plant species, anthocyanin malyltransferase (AMaLT) activity in carnation has not been identified. Here, an acyl donor substance of AMaLT, 1-O-β-D-malylglucose, was extracted and partially purified from the petals of carnation. This was synthesized chemically to analyze AMaLT activity in a crude extract from carnation. Changes in the AMaLT activity showed close correlation to the accumulation of pelargonidin 3-malylglucoside (Pel 3-malGlc) during the development of red petals of carnation, but neither AMaLT activity nor Pel 3-malGlc accumulation was detectable in roots, stems and leaves.

Keywords: anthocyanin, carnation, malyltransferase

*¹ Department of Biotechnology and Life Science, Tokyo University of Agriculture and Technology

*² Plant Research Center, Kirin Agribio Co. Ltd.

*³ Central Laboratories for Frontier Technology, Kirin Holdings Co. Ltd.

Abe, Y., Sawada, A.^{*}, Momose, T.^{*}, Sasaki, N.^{*}, Kawahara, N., Kamakura, H., Goda, Y., Ozeki, Y.^{*} : **Structure of an anthocyanin-anthocyanin dimer molecule in anthocyanin-producing cells of a carrot suspension culture**

Tetrahedron Lett., **49**, 7330-7333 (2008)

A novel anthocyanin, an anthocyanin-anthocyanin dimer, was isolated from the cells of an anthocyanin-producing carrot cell-line culture, and its structure was elucidated using spectroscopic methods. It consists of two molecules of the anthocyanin, cyanidin 3-[xylosyl-(sinapoyl-glucosyl)-galactoside], with a CH-CH₃ linkage at the 8-8 position.

This is the first report of the identification and isolation of an anthocyanin-anthocyanin dimer with a CH-CH₃ linkage from intact plant cells.

Keywords: anthocyanin, dimer, carrot

* Department of Biotechnology and Life Science, Tokyo University of Agriculture and Technology

Abe, Y., Shoji, T.^{*1}, Kawahara, N., Kamakura, H., Kanda, T.^{*1}, Goda, Y., Ozeki, Y.^{*2} : **Structural characterization of a procyanidin tetramer and pentamer from the apple by low-temperature NMR analysis**
Tetrahedron Lett., **49**, 6413-6418 (2008)

The structures of a procyanidin tetramer and pentamer from unripe apple (*Malus pumila*) were elucidated by low-temperature NMR analysis at -34 °C. These structures were [epicatechin-(4β→6)-epicatechin-(4β→8)-epicatechin-(4β→8)-epicatechin (1)] and [epicatechin-(4β→8)-epicatechin-(4β→8)-epicatechin-(4β→8)-epicatechin-(4β→8)-epicatechin (2)].

Keywords: apple, NMR, procyanidin

*¹ Asahi Breweries, Ltd.

*² Department of Biotechnology and Life Science, Tokyo University of Agriculture and Technology

Sasaki, N.^{*1}, Abe, Y., Goda, Y., Adachi, T.^{*2}, Kasahara, K.^{*3}, Ozeki, Y.^{*1} : **Detection of DOPA 4,5-Dioxygenase (DOD) Activity Using Recombinant Protein Prepared from *Escherichia coli* Cells Harboring cDNA Encoding DOD from *Mirabilis jalapa***
Plant Cell Physiol., **50**, 1012-1016 (2009)

Betalains are synthesized in flowers, fruits and other tissues of the plant order Caryophyllales. Betalamic acid is the chromophore of betalain pigments synthesized by a ring-cleaving enzyme reaction on L-dihydroxyphenylalanine (DOPA). Although reverse genetic evidence has proven that DOPA 4,5-dioxygenase (DOD) is a key enzyme of betalain biosynthesis, all attempts to detect recombinant plant DOD activity in vitro have failed. Here, we report on the formation of betalamic acid from DOPA under suitable assay conditions using recombinant MjDOD produced by *Escherichia coli*. This is the first report showing biochemical evidence for DOD activity in vitro.

Keywords: Betalain, Betalamic acid, DOPA dioxygenase

*¹ Department of Biotechnology and Life Science, Tokyo

University of Agriculture and Technology

*2 Institute for Plant Biotechnology Research & Development, Ltd.

*3 Yokohama, Kanagawa

Shintani, A.^{*1}, Ohtsuki, T., Yamamoto, Y.^{*2}, Hakamatsuka, T., Kawahara, N., Goda, Y., Ishibashi, M.^{*1} : **Fuligoic acid, a new yellow pigment with a chlorinated polyene-pyrone acid structure isolated from the myxomycete *Fuligo septica* f. *flava***

Tetrahedron Lett., **50**, 3189-3190 (2009)

Fuligoic acid, a new yellow pigment with a chlorinated polyene-pyrone acid structure, was isolated from field-collected fruit bodies of the myxomycete *Fuligo septica* f. *flava*, and its structure was elucidated by spectral data, including its absolute configuration based on CD data.

Keywords: myxomycetes, *Fuligo septica* f. *flava*, polyene-pyrone

*1 Chiba University

*2 Yamamoto Laboratory

Maruyama, T., Kamakura, H., Miyai, M., Komatsu, K.^{*1}, Kawasaki, T.^{*2}, Fujita, M.^{*2}, Shimada, H.^{*3}, Yamamoto, Y.^{*3}, Shibata, T.^{*4}, Goda, Y. : **Authentication of the traditional medicinal plant, *Eleutherococcus senticosus* by DNA and chemical analyses**

Planta Medica, **74**, 787-789 (2008)

Shigoka (SGK), the rhizome of *Eleutherococcus senticosus*, is a traditional medicine used as a tonic in northeast Asia and far eastern Russia. We analyzed the nuclear ribosomal DNA, internal transcribed spacer (ITS) sequence of the medicine available on the Japanese and Chinese markets, and found that at least 3 species were used as the source plant of the commercial SGKs and that only 70% of all samples was made from the correct species. Furthermore, we performed the quantitative determination of 3 marker compounds, eleutheroside B (EB), syringaresinol diglucoside (Syr) and isofraxidin (Iso) by ultraperformance liquid chromatography (UPLC)/mass spectrometry (MS). We found that EB and Iso are specific to the correct source plant of SGK. Of them, EB is thought to be the best marker compound for quality assurance of the SGK from the viewpoint of its pharmacological activity.

Keywords: *Eleutherococcus senticosus*, ITS sequence, UPLC/MS

*1 富山大学和漢医薬学総合研究所

*2 (株) ウチダ和漢薬

*3 (株) 栃本天海堂

*4 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

Wakana, D., Hosoe, T.^{*1}, Itabashi, T.^{*1}, Okada, H.^{*1}, Fukushima, K.^{*2}, Kawai, K.^{*1} : **Structures of new triterpene glycosides, Malbrancheosides A-D, from *Malbranchea filamentosa***

Heterocycles, **75**(5), 1109-1122 (2008)

In the course of searching for new biologically active metabolites in *Malbranchea filamentosa*, four new triterpene glycosides, malbrancheosides A (1) - D (4), were isolated. The structures of 1- 4 were confirmed by the chemical and spectroscopic investigation. Malbrancheosides A (1) - D (4) are the first example of triterpenoidal glycosides having D-glucosamine derivatives from the fungal sources.

Keywords: *Malbranchea filamentosa*, triterpene glycoside, Malbrancheoside

*1 星薬科大学

*2 千葉大学真菌医学研究センター

Moriyama, H.^{*1, 3}, Hosoe, T.^{*1}, Wakana, D., Itabashi, T.^{*1}, Kawai, K.^{*1}, Iizuka, T.^{*2}, Hoshi, K.^{*3}, Fukushima, K.^{*4}, Francis Chun Lau^{*5} : **Assay-guided informatory screening method for antiplatelet effect of adenosine isolated from *Malbranchea filamentosa* IFM 41300: inhibitory behaviors of adenosine in different solvents**

Journal of Health Science, **55**(1), 103-108 (2009)

A particle-counting aggregometer employing laser-light scattering was used in systematic manners to screen and to detect inhibitor(s) of platelet aggregation from the extract of *Malbranchea filamentosa* (*M. filamentosa*) IFM41300. The inhibitor was determined as adenosine on the basis of the ¹³C- and ¹H-NMR spectral data. Although adenosine was previously reported as an inhibitor of platelet aggregation, we isolated the compound from the fungus for the first time. Because the method was able to provide us with information on the developmental formation of platelet aggregates in different sizes with incubation time, we further elaborated the inhibitory behaviors of adenosine, as an example, at varied concentrations in different solvents such as dimethyl sulfoxide (DMSO) and saline. We found that DMSO could facilitate to dissolve less water soluble materials from herbs and fungi by using the present assay

method.

Keywords: *Malbranchea filamentosa*, adenosine, platelet aggregation

*¹ 星薬科大学

*² 横浜薬科大学

*³ 昭和薬科大学

*⁴ 千葉大学真菌医学研究センター

*⁵ InterHealth Research Center

Itabashi, T.^{*1}, Hosoe, T.^{*1}, Wakana, D., Fukushima, K.^{*2}, Takizawa, K.^{*2}, Yaguchi, T.^{*2}, Okada, K.^{*3}, Takaki, Galba Maria de campos^{*3}, Kawai, K.^{*1} : **A new indoloditerpene derivatives, penijanthe A, isolated from *Penicillium janthinellum***

J. Nat. Med., **63**, 96-99 (2009)

In a screen searching for new bioactive agents, a new indoloditerpene, penijanthe A (1), was isolated from *Penicillium janthinellum* IFM 55557. The structure of 1 was established on the basis of spectroscopic and chemical investigation, as well as detailed comparison with the spectroscopic and physico-chemical data of paxilline (2), which was isolated along with 1.

Keywords: Indoloditerpene, Penijanthe A, *Penicillium janthinellum*

*¹ 星薬科大学

*² 千葉大学真菌医学研究センター

*³ Universidade Católica de Pernambuco

Wakana, D., Hosoe, T.^{*1}, Wachi, H.^{*1}, Itabashi, T.^{*1}, Fukushima, K.^{*2}, Yaguchi, T.^{*2}, Kawai, K.^{*1} : **The cytotoxic and antifungal activities of two new sesquiterpenes, malfilanol A and B, derived from *Malbranchea filamentosa***

J. Antibiotics, **62**(5), 217-219 (2009)

Fungi of the *Malbranchea* belong to the family *Onygenaceae* and are taxonomically close to human and animal pathogenic fungi. These facts prompted us to investigate the chemical constituents of *Malbranchea* fungi. We recently reported the isolation and structure characterization of 4-benzyl-3-phenyl-5H-furan-2-one as a vasodilator, malfilanosides A and B as furanone glycosides and malbrancheosides A-D as triterpene glycosides, from the fungus *Malbranchea filamentosa* IFM41300. Further purification of extracts of rice cultivated by the above fungus allowed us to isolate two new sesquiterpenes,

designated malfilanol A (1) and B (2). Characterization of their structures, cytotoxic activities and antifungal activities are described in this paper.

Keywords: *Malbranchea filamentosa*, sesquiterpene, antifungal activity

*¹ 星薬科大学

*² 千葉大学真菌医学研究センター

Makita, N.^{*}, Suzuki, M.^{*}, Asami, S.^{*}, Takahata, R.^{*}, Kohzaki, D.^{*}, Kobayashi, S.^{*}, Hakamatsuka, T., Hozumi, N.^{*} : **Two of four alternatively spliced isoforms of RUNX2 control osteocalcin gene expression in human osteoblast cells**

Gene, **413**, 8-17 (2008)

Runx2は骨芽細胞の分化と骨形成を調節する転写因子であるが、細胞の種類によってスプライシング位置の異なる3つのisoformが発現しており、そのうち2つは核内に局在化せず、遺伝子結合活性を持たないことを明らかにした。また、Runx2はいくつかのisoformの組み合わせにより標的遺伝子の発現を増強のみならず抑制もできることを明らかにした。

Keywords: osteoblast, Runx2, transcription factor

* Research Institute for Biological Sciences, Tokyo University of Science

Iwashita, K., Nagashima, H.^{*} : **Rubratoxin B causes lipid accumulation in fatty mouse liver**

Mycotoxins, **58**, 83-87 (2008)

The potent hepatotoxic mycotoxin rubratoxin B causes fatty liver. To elucidate the lipid accumulation mechanism, we investigated the type of lipid droplets accumulated and the activities of the lipogenic enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and fatty acid synthase in mouse livers treated for 24 h with rubratoxin B. Oil Red O staining revealed numerous microvesicular lipid droplets in the liver cells of rubratoxin B-treated mice. In addition, treatment with rubratoxin B notably induced the activity of G6PD, a crucial member of the pentose phosphate cycle, which produces and supplies NADPH for fatty acid synthesis. Unexpectedly, rubratoxin B decreased the activity of fatty acid synthase, which facilitates fatty acid chain elongation. However, because fatty acid synthase is not a key enzyme in fatty acid synthesis, its activity level in rubratoxin B-treated mice may be sufficient for lipid accumulation.

Keywords: rubratoxin B, fatty liver, lipid accumulation

* National Food Research Institute

Iwashita, K., Nagashima, H.* : **Rubratoxin B induces interleukin-6 secretion in mouse white adipose tissues and 3T3-L1 adipocytes**

Toxicology Letters, **182**, 79–83 (2008)

Rubratoxin B is a mycotoxin that causes hepatic fatty changes. We examined whether white adipose tissue (WAT) contributes to rubratoxin B toxicity through effects on interleukin (IL)-6. Rubratoxin B was intraperitoneally injected into mice at 1.5 mg/kg. Urinary albumin and macrophage inflammatory protein (MIP)-2 secretion were increased 24 h after treatment with rubratoxin B. Rubratoxin B was previously reported to induce IL-6 secretion, although the secreting tissue was unknown. Here, rubratoxin B prominently augmented *IL-6* transcription in epididymal WAT and to a lesser extent in perirenal WAT and liver. Rubratoxin B may thus exert its toxicity partly through IL-6 secretion from WATs. In contrast, *MIP-2* gene expression increased only in liver. To examine the specific involvement of adipocytes, we used mouse 3T3-L1 cells, an *in vitro* differentiation model of adipocytes. Expression of *IL-6* and *MIP-2* mRNA in 3T3-L1 adipocytes after 24 h of rubratoxin B treatment increased dose-dependently. Rubratoxin B also increased IL-6 and MIP-2 secretion from 3T3-L1 adipocytes. The increase in IL-6 secretion was markedly higher than the increase in *IL-6* gene transcription, indicating that rubratoxin B-induced secretion of IL-6 from 3T3-L1 adipocytes is chiefly controlled post-transcriptionally. Rubratoxin B is thus the first mycotoxin known to exert its toxicity through effects on WATs.

Keywords: Rubratoxin B, Adipose tissue, 3T3-L1 cell

* National Food Research Institute

Seshime, Y., Juvvadi, P.R.*¹, Tokuoka, M.*², Koyama, Y.*², Kitamoto, K.*¹, Ebizuka, Y.*¹, Fujii, I.*³ : **Functional expression of the *Aspergillus flavus* PKS-NRPS hybrid CpaA involved in the biosynthesis of cyclopiazonic acid**

Bioorg. Med. Chem. Lett., **19**(12), 3288-3292 (2009)

α -Cyclopiazonic acid (CPA) is an indole tetramic acid mycotoxin. Based on our identification of the polyketide synthase-nonribosomal peptide synthase (PKS-NRPS) hybrid gene *cpaA* involved in cyclopiazonic acid biosynthesis in

Aspergillus fungi, we carried out heterologous expression of *Aspergillus flavus cpaA* under α -amylase promoter in *Aspergillus oryzae* and identified its sole product to be the CPA biosynthetic intermediate *cyclo*-acetoacetyl-L-tryptophan (cAATrp). This result rationalized that the PKS-NRPS hybrid enzyme CpaA catalyzes condensation of the diketide acetoacetyl-ACP formed by the PKS module and L-Trp activated by the NRPS module. This CpaA expression system provides us an ideal platform for PKS-NRPS functional analysis, such as adenylation domain selectivity and product releasing mechanism.

Keywords: cyclopiazonic acid, *Aspergillus flavus*, biosynthesis

*¹ 東京大学大学院

*² (財) 野田産業科学研究所

*³ 岩手医科大学

Mitsuguchi, H.*¹, Seshime, Y., Fujii, I.*², Shibuya, M.*¹, Ebizuka, Y.*¹, Kushiro, T.*¹ : **Biosynthesis of Steroidal Antibiotic Fusidanes: Functional Analysis of Oxidosqualene Cyclase and Subsequent Tailoring Enzymes from *Aspergillus fumigatus***

Journal of the American Chemical Society, **131**(18), 6402-6411 (2009)

Three putative oxidosqualene cyclase (OSC) genes exist in the genome of the fungus *Aspergillus fumigatus* that produces a steroidal antibiotic, helvolic acid. One of these genes, *Afu4g14770*, designated *AfuOSC3*, is clustered with genes of cytochrome P450 monooxygenases (P450s), a short-chain dehydrogenase/reductase (SDR), and acyltransferases, which presumably function in triterpene tailoring steps, suggesting that this gene cluster codes for helvolic acid biosynthesis. *AfuOSC3* was PCR amplified from *A. fumigatus* IFO8866 genomic DNA and expressed in yeast. The yeast transformant accumulated protosta-17(20)*Z*,24-dien-3 β -ol, an established precursor for helvolic acid. Its structural isomer, (20*R*)-protosta-13(17),24-dien-3 β -ol, was also isolated from the transformed yeast. To further identify the function of triterpene tailoring enzymes, four P450 genes (*CYP5081A1-D1*) and a SDR gene (*AfuSDR1*) in the cluster were each coexpressed with *AfuOSC3* in yeast. As a result, coexpression of *AfuSDR1* gave a 3-keto derivative of protostadienol. On the other hand, coexpression with *CYP5081A1* gave protosta-17(20)*Z*,24-diene-3 β ,29-diol and protosta-17(20)*Z*,24-dien-3 β -ol-29-oic acid. These metabolites are in well accord

with the oxidative modification involved in helvolic acid biosynthesis. AfuSDR1 and CYP5081A1 presumably function together to catalyze demethylation of C-29 methyl group. These results provided a firm ground for identification of the present gene cluster to be involved in helvolic acid biosynthesis.

Keywords: helvolic acid, *Aspergillus fumigatus*, biosynthesis

*1 東京大学大学院

*2 岩手医科大学

Tokuoka, M.^{*1}, Seshime, Y., Fujii, I.^{*2}, Kitamoto, K.^{*3}, Takahashi, T.^{*1}, Koyama, Y.^{*1} : **Identification of a novel polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase (PKS-NRPS) gene required for the biosynthesis of cyclopiazonic acid in *Aspergillus oryzae***

Fungal Genetics and Biology, **45**(12), 1608-1615 (2008)

Cyclopiazonic acid (CPA) is a mycotoxin produced by several strains of *Penicillium* and *Aspergillus* species. *Aspergillus oryzae* strains used in fermented foods do not produce CPA; however, several wild-type *A. oryzae* strains produce CPA. Here, we identified a novel polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase (PKS-NRPS) gene involved in CPA production by comparing the telomere-adjacent region of a CPA-producing strain (*A. oryzae* NBRC 4177) with that of a nonproducing strain (*A. oryzae* RIB40). NBRC 4177 has an additional 17-18-kb sequence beyond the region corresponding to the telomere repeat in RIB40 and this additional regions contains 3' region of the PKS-NRPS gene, while RIB40 has only the 5' region of the PKS-NRPS gene. Gene disruption of the PKS-NRPS gene in NBRC 4177 resulted in elimination of CPA production. Thus, the PKS-NRPS gene is required for CPA biosynthesis, and the truncation of this gene is presumed as one of the determinants of CPA nonproductivity in *A. oryzae* RIB40.

Keywords: cyclopiazonic acid, *Aspergillus oryzae*, polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase (PKS-NRPS)

*1 (財) 野田産業科学研究所

*2 岩手医科大学

*3 東京大学大学院

Chung, M.H., Suzuki, S.^{*1}, Nishihara, T.^{*2}, and Hattori, M.^{*1} : **Estrogenic effects of a Kampo formula,**

***Tokishakuyakusan*, in parous ovariectomized rats**

Biol. Pharm. Bull., **31**(6), 1145-1149 (2008)

Female hormone-dependent cancers and other diseases pose a serious health threat for women, and low-risk medicines against such cancers have not yet been discovered. The present study examines the effects of the traditional Chinese herbal mixture, *Tokishakuyakusan* (TS) and 17 β -estradiol on the uterus of parous ovariectomized rats. Uterine atrophy that causes a reduction in uterine tissue and the uterine cavity area, was induced by ovariectomy, and slightly recovered by the daily oral administration of TS for two weeks (1,000 mg/kg body weight). TS restored the decreased plasma estradiol concentration due to ovariectomy. However the yeast two-hybrid assay showed that TS did not bind estrogen receptors α and β and immunohistochemical staining revealed that 17 β -estradiol stimulated the protein expression of estrogen receptor α , progesterone receptor, c-fos and c-jun in the uterus, whereas TS did not. These results suggest that TS might be useful for treating menopausal syndromes among women, as well as for patients when hormone replacement therapy (HRT) with estrogen is contraindicated.

Keywords: *Tokishakuyakusan*, Kampo formula, parous ovariectomized rat

*1 Division of Metabolic Engineering, Institute of Natural Medicine, University of Toyama

*2 Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hyogo University of Health Sciences

Min, J. Z.^{*}, Shimizu, Y.^{*}, Toyo'oka, T.^{*}, Inagaki, S.^{*}, Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y. : **Simultaneous determination of 11 designated hallucinogenic phenethylamines by ultra-fast liquid chromatography with fluorescence detection**

J. Chromatogr. B, **873**(2), 187-194 (2008)

To avoid the spreading of illegal drugs, a designated drug regulation system was introduced along with revision of the Pharmaceutical Affairs Law in Japan in 2006, and 32 substances including phenethylamine-type drugs were listed in April 2007. In this study, a new simultaneous determination method, based on ultra-fast liquid chromatography coupled with fluorescence detection (UFLC-FL), was developed for the 11 designated phenethylamine drugs. The phenethylamines were labeled with 4-(*N,N*-dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole (DBD-F) at 60 degrees C for 2h in 0.1M borax (pH 9.3).

The resulting 11 fluorophores were completely separated by reversed-phase chromatography using an ACQUITY UPLC BEH C(18) column (2.1 mm x 100 mm 1.7 microm) and fluorometrically detected at 550 nm (excitation at 450 nm). The calibration curves obtained from the peak areas versus the injection amounts of the phenethylamines showed a good linearity. The limits of detection (signal-to-noise ratio of 3: S/N=3) on the chromatogram were in the range from 10 fmol (PMMA) to 2.5pmol (MMDA-2). Good accuracy (%) and precision (CV) by intra-day assay and inter-day assay were also obtained using the present procedure. The method was applied to the qualitative and quantitative analyses of phenethylamine in real products obtained from the Japanese market. As the results, BDB (0.24 mg/mg), MMDA-2 (0.98 mg/mL) and 2C-I (0.016 mg/mg) were identified from the different products (powder, liquid and mushroom like). Because the procedure is simple, selective and sensitive, the present method seems to be useful for the qualitative and quantitative analyses of the designated phenethylamines in various samples including biological specimens.

Keywords: Designated hallucinogenic phenethylamines, Fluorescence labeling, 4-(*N,N*-Dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole

* University of Shizuoka

Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y. : **Survey of current trends in the abuse of psychotropic plants using LC-MS**

Jpn. J. Food Chemistry, **15**, 73-78 (2008)

In recent years, various products of non-controlled psychotropic plants have become popular in place of chemical psychotropic substances, which are now subject to stricter controls, and they are causing concern in Japan. To survey current trends in the abuse of psychotropic plants, 127 kinds of plant products (which were distributed from April 2004 to May 2007 in Japan) were analyzed using LC-ESI-MS. As a results of the analyses, 6 typical psychotropic plant components, *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) (1.2% contents in the sample), mescaline (0.1-1.7%), salvinorin A (0.1-4.5%), lysergamide (LSA) (0.005-0.4%), harmine (0.04-3.1%), and harmaline (0.008-4.5%) were determined in the 51 products. Although one-third of the products were mixtures of several plant materials or they did not list their ingredients, the raw materials of some products could be estimated by the determination

of the typical plant's components. On the other hand, the compounds in some products were not consistent with the ingredients listed on the products. The products which contained raw materials exclusively used as pharmaceuticals were also found to be distributed. Moreover, the contents of the active compounds in some products were sufficient to produce hallucinogenic effects in humans and there is concern about the damage to the health of their users. The proposed analytical method could be useful in the investigation of these plant products in the market.

Keywords: psychotropic plant, LC-MS, hallucinogenic constituent

Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Uchiyama, N., Ogata, J., Kamakura, H., Saisho, K., Goda, Y. : **Analytical data of designated substances (Shitei-Yakubutsu) controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan, part I: GC-MS and LC-MS** *Yakugaku Zasshi*, **128**(6), 971-979 (2008)

In the last 10 years, many analogs of narcotic substances have been widely distributed in Japan as easily available psychotropic substances and have become a serious problem. They have been sold as video cleaners, incense and reagents with various forms via the Internet or in video shops. They are not controlled under the Narcotics and Psychotropics Control Law because their pharmacological effects have not yet been proved, scientifically. For countermeasures against these substances, the Ministry of Health, Labor and Welfare amended the Pharmaceutical Affairs Law in 2006 and the non-controlled psychotropic substances (31 compounds (11 tryptamines, 11 phenethylamines, 6 alkyl nitrites, 2 piperazines and salvinorin A) and 1 plant (*Salvia divinorum*)) have been controlled by the amended Law as "Designated Substances (Shitei-Yakubutsu)" since April in 2007. Moreover, 5 compounds (4 phenethylamines and 1 piperazine) was added to this category from January 2008. In this study, we developed simultaneous analytical methods for these designated substances using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and showed their data of the retention times and the spectra of ultraviolet (UV), electron ionization (EI) GC-MS and electrospray ionization (ESI) LC-MS.

Keywords: psychotropic substances, Designated Substances, Shitei-Yakubutsu

Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N.,

Haishima, Y., Goda, Y. : **Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product**

Chem. Pharm. Bull., **57**(4), 439-441 (2009)

A new type of designer drug, a cannabinoid analog (1), was found in a herbal product distributed on the illegal drug market in Japan in expectation of its narcotic effect. The structure of 1 was identified by LC-MS, GC-MS, high-resolution MS, and NMR analyses. Compound 1 showed a molecular weight of 332, and accurate mass measurement exhibited its elemental composition to be $C_{22}H_{36}O_2$. Together, the mass and NMR spectrometric data revealed that 1 was (1*RS*,3*SR*)-3-[4-(1,1-dimethyloctyl)-2-hydroxyphenyl]cyclohexan-1-ol, which was first synthesized in 1979 by a group at Pfizer Inc. and reported as a potent cannabinoid analog possessing cannabinoid receptor binding activity and analgesic activity in the 1990s. This is the first report to identify a cannabinoid analog in an illegal drug.

Keywords: cannabinoid analog, designer drug, (1*RS*,3*SR*)-3-[4-(1,1-dimethyloctyl)-2-hydroxyphenyl]cyclohexan-1-ol

Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N., Goda, Y. : **Analysis of designer drugs detected in the products purchased in fiscal year 2006**

Yakugaku Zasshi, **128**(10), 1499-1505 (2008)

Many psychotropic substances are easily available in Japan via the Internet, thus the spread of drug abuse is becoming more serious problem. To avoid drug abuse, 32 substances have been controlled in Japan since April in 2007 by the Pharmaceutical Affairs Law as designated substances (Shitei-Yakubutsu, classified as 11 tryptamines, 11 phenethylamines, 2 piperazines, 6 alkyl nitrites, 1 diterpene and 1 plant). Although the distributions of these drugs have been decreased through this regulation, new designer drugs are still being found. In this study, we detected 7 designer drugs in 15 products, which purchased just before the amendment of the law, by NMR, GC-MS and LC-MS analyses. Three methylone derivatives (1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)-1-pentanone: MDPV, 2-methylamino-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)butan-1-one: bk-MBDB, 2-ethylamino-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)propan-1-one: bk-MDEA, a MDMA derivative (*N*-hydroxy-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-aminopropane: *N*-OH-MDMA), a methamphetamine derivative (*N*-methyl-1-(4-fluorophenyl)propan-2-amine: *N*-Me-4-FMP), a tryptamine derivative (5-methoxy-*N*-ethyl-*N*-isopropyltryptamine: 5-MeO-EIPT)

and indan-2-amine were detected. 5-MeO-EIPT was newly identified in this study.

Keywords: psychotropic substances, NMR, designer drug

Uchiyama, N., Saisho, K., Kikura-Hanajiri, R., Haishima, Y., Goda, Y. : **Determination of a new type of phosphodiesterase-5 inhibitor, Thioquinapiperifil, in a dietary supplement promoted for sexual enhancement**

Chem. Pharm. Bull., **56**(9), 1331-1334 (2008)

A new type of phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitor, thioquinapiperifil (1), was found in dietary supplements. LC-MS analysis indicated that the supplements contain two major compounds. One was identified as thiodenafil (synonym: thiosildenafil) by direct comparison with the authentic compound. The other showed a molecular weight of 448, and accurate mass measurement showed its elemental composition to be $C_{24}H_{28}N_6O_1S_1$. Together, the mass and NMR spectrometric data revealed that the compound is an imidazoquinazoline derivative: 3-ethyl-1,3-dihydro-8-[[[2-[4-(hydroxymethyl)-1-piperidinyl]phenyl]methyl]amino]-2*H*-imidazo[4,5-*g*]quinazoline-2-thione. This compound had been synthesized as a PDE-5 inhibitor, formerly reported as KF31327 by Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. Considering this compound's general properties, it has been renamed thioquinapiperifil with the agreement of Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. The detection of imidazoquinazoline-type compounds in dietary supplements has not been reported. Quantitative analysis showed that the contents of 1 and thiodenafil in the products were about 13 ~ 15 mg/tablet (43 ~ 48 μ g/mg) and about 0.4 mg/tablet (1 μ g/mg), respectively.

Keywords: thioquinapiperifil, phosphodiesterase-5 inhibitor, erectile dysfunction

Uchiyama, N., Kawamura, M., Kamakura, H., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y. : **Analytical Data of Designated Substances (Shitei-Yakubutsu) Controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan Part II: Color test and TLC**

Yakugaku Zasshi, **128**(6), 981-987 (2008)

Many psychotropic substances are easily available in Japan via the Internet. To avoid the spread of drug abuse, some drugs have been controlled in Japan since 2007 by the Pharmaceutical Affairs Law as designated substances (Shitei-Yakubutsu). 29 designated substances (classified as tryptamine, phenethylamine and piperazine types) were analyzed using color tests and TLC. The

color tests were examined with the Marquis reagent, the Ehrlich reagent, the Simon's reagent, the Liebermann-Burehard's reagent and the Mandelin reagent. The color of β -carbonyl-methylenedioxyphenethylamines produced by the Marquis reagent was yellow, and 4-halo-2,5-dimethoxy phenethylamines reacted with the Marquis reagent to give deep yellow green and/or a deep green color. Although all designated substances of the tryptamine type reacted with the Ehrlich reagent to give a brown colors, only 1-(2,4,6-trimethoxyphenyl)propan-2-amine (TMA-6) in phenethylamines showed a red color on treatment with the reagent. However, 3,4,5-trimethoxy isomer and 2,4,5-trimethoxy isomer of TMA-6 were not colored with the reagent. Thus, TMA-6 could be distinguished from isomers by using the Ehrlich reagent. We also analyzed the designated substances with TLC developed with two different solvent conditions. All substances were detected by UV_{254 nm} and an iodoplatinate reagent. These results suggested that color tests and TLC are available for preliminary identification of designated substances followed by GC-MS and LC-MS analyses.

Keywords: color test, TLC, Designated Substances

Ogata, J., Kikura-Hanajiri, R., Yoshimatsu, K.^{*}, Kiuchi, F.^{*}, Goda, Y. : **Detection method for the ability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed germination by the use of 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride (TTC)**

Yakugaku Zasshi, **128**(11), 1707-1711 (2008)

Cannabis plants show a high Δ^9 -tetrahydrocannabinol content and are used as a psychoactive drug. Therefore the cultivation of hemp and its possession are prohibited by law in Japan. Meanwhile, *Cannabis* seeds have been used as a component of *Shichimi-togarashi* (a Japanese spice), bird feed, or a crude drug (*mashinin*). To exclude the possibility of the germination, it is officially noticed that hemp seeds must be killed. However, the number of violators has increased in recent years. To judge the ability of seed germination, a germination test is performed. However, the test requires several days and thus has not been used for on-site inspection. In this study, we developed a rapid detection method to determine the ability of *Cannabis* seed to germinate using 2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride (TTC). The principle of the assay is as follows. The endogenous respiratory enzymes in hemp seeds convert added colorless TTC into red 1,3,5-triphenylformazan. Consequently, a living embryo is stained red, while red

does not appear in the dead seeds. The reaction was active over a pH range of 8.0-9.0, and the optimum activity was found from 40 to 50°C. Under the optimum conditions, we were able to determine the ability of seeds to germinate based on the presence of color within 20 min. Since this method is rapid and simple, it is applicable to on-site inspections. In addition, it could be used as an alternative technique to the germination test, because erroneous decisions is cannot occur under the assay principle.

Keywords: *Cannabis sativa* L., tetrazolium salt, germination test

* 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

Kikuchi, H., Ohtsuki, T., Koyano, T.^{*1}, Kowithayakorn, T.^{*2}, Sakai, T.^{*3}, Ishibashi, M.^{*4} : **Death receptor 5 targeting activity-guided isolation of isoflavones from *Millettia brandisiana* and *Ardisia colorata* and evaluation of ability to induce TRAIL-mediated apoptosis**

Bioorg. Med. Chem., **17**, 1181-1186 (2009)

Death receptor 5 (DR5) is an apoptosis-inducing membrane receptor for TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). On screening for compounds that enhance DR5 expression using a luciferase assay with DLD-1/*SacI*, we previously identified 4'-demethyltoxicarol isoflavone (1) isolated from the leaves of *Millettia brandisiana*. In this study, we revealed that 1 sensitized TRAIL-resistant human gastric adenocarcinoma (AGS) cells to TRAIL-induced apoptosis by up-regulating the expression of DR5. 1 induced DR5 expression at both the mRNA and protein level. A human recombinant DR5/Fc chimera remarkably inhibited 1-induced apoptosis. These results suggest that the enhancement of DR5 expression by 1 was critical to the cell death. Furthermore, a MeOH extract of the bark of *Ardisia colorata* markedly enhanced DR5 activity in this screening system. Bioassay-guided fractionation of *A. colorata* led to the isolation and identification of a new isoflavone, coloratanin A (3), together with ten known compounds. The chemical structure of the new compound was elucidated on the basis of a spectroscopic analysis.

Keywords: TRAIL, DR5, isoflavone

^{*1} テムコ

^{*2} コンケン大学農学部

^{*3} 京都府立医科大学

^{*4} 千葉大学大学院薬学研究院

Ohtsuki, T., Hiraka, T.^{*1}, Kikuchi, H., Koyano, T.^{*2}, Kowithayakorn, T.^{*3}, Sakai, T.^{*4}, Ishibashi, M.^{*1} : **Flavonoids from *Eupatorium odoratum* with death receptor 5 promoter enhancing activity**

Heterocycles, **77**, 1379-1388 (2009)

Sixteen flavonoids including two new ones (1 and 2) were isolated from the leaves of *Eupatorium odoratum* (Compositae) through bioassay-guided isolation. The chemical structures of 1 and 2 were established on the basis of spectroscopic analysis. Compounds 2, 7, 9, and 14 led to more than 2-fold increase in death receptor 5 (DR5) promoter activity at 17.5 or 35 μ M.

Keywords: TRAIL, DR5, flavonoid

*1 千葉大学大学院薬学研究院

*2 テムコ

*3 コンケン大学農学部

*4 京都府立医科大学

Tanabe, S., Sato, Y., Suzuki, T., Suzuki, K., Nagao, T. and Yamaguchi, T. : **Gene Expression Profiling of Human Mesenchymal Stem Cells for Identification of Novel Markers in Early- and Late-Stage Cell Culture**

J. Biochem., **144**, 399-408 (2008)

Human mesenchymal stem cells (hMSCs) are multipotent cells that differentiate into several cell types, and are expected to be a useful tool for cellular therapy. Although the hMSCs differentiate into osteogenic cells during early to middle stages, this differentiation capacity decreases during the late stages of cell culture. To test a hypothesis that there are biomarkers indicating the differentiation potential of hMSCs, we performed microarray analyses and profiled the gene expression in six batches of hMSCs (passages 4-28). At least four genes [necdin homolog (mouse) (*NDN*), EPH receptor A5 (*EPHA5*), nephroblastoma overexpressed gene (*NOV*) and runt-related transcription factor 2 (*RUNX2*)] were identified correlating with the passage numbers in all six batches. The results showed that the osteogenic differentiation capacity of hMSCs is down-regulated in the late stages of cell culture. It seemed that adipogenic differentiation capacity was also down-regulated in late stage of the culture. The cells in late stage are oligopotent and the genes identified in this study have the potential to act as quality-control markers of the osteogenic differentiation capacity of hMSCs.

Keywords: cellular therapy, gene expression, stem cell

Fujishita, K.^{*1}, Ozawa, T.^{*1}, Shibata, K.^{*1}, Tanabe, S., Sato, Y., Hisamoto, M.^{*2}, Okuda, T.^{*2}, Koizumi, S.^{*1} : **Grape Seed Extract Acting on Astrocytes Reveals Neuronal Protection Against Oxidative Stress via Interleukin-6-mediated Mechanisms**

Cell. Mol. Neurobiol., in press

Grape polyphenols are known to protect neurons against oxidative stress. We used grape seed extract (GSE) from "Koshu" grapes (*Vitis vinifera*) containing a variety of polyphenols, and performed transcriptome analysis to determine the effects of GSE on primary cultures of astrocytes in the hippocampus. GSE upregulated various mRNAs for cytokines, among which interleukin-6 (IL-6) showed the biggest increase after treatment with GSE. The GSE-evoked increase in IL-6 mRNAs was confirmed by quantitative RT-PCR. We also detected IL-6 proteins by ELISA in the supernatant of GSE-treated astrocytes. We made an oxidative stress-induced neuronal cell death model in vitro using a neuron rich culture of the hippocampus. Treatment of the neurons with H₂O₂ caused neuronal cell death in a time- and concentration-dependent manner. Exogenously applied IL-6 protected against the H₂O₂-induced neuronal cell death, which was mimicked by endogenous IL-6 produced by GSE-treated astrocytes. Taken together, GSE acting on astrocytes increased IL-6 production, which functions as a neuroprotective paracrine, could protect neuronal cells from death by oxidative stress.

Keywords: grape seed extract, astrocytes, IL-6

*1 山梨大学大学院医学工学総合研究部

*2 山梨大学ワイン科学研究センター

Kiyonaka, S.^{*1}, Kato, K.^{*1}, Nishida, M.^{*2}, Mio, K.^{*3}, Numaga, T.^{*1}, Sawaguchi, Y.^{*1}, Yoshida, T.^{*1}, Wakamori, M.^{*1}, Mori, E.^{*1}, Numata, T.^{*1}, Ishii, M.^{*4}, Takemoto, H.^{*1}, Ojida, A.^{*1}, Watanabe, K.^{*2}, Uemura, A.^{*2}, Kurose, H.^{*2}, Morii, T.^{*5}, Kobayashi, T.^{*6}, Sato, Y., Sato, C.^{*3}, Hamachi, I.^{*1} and Mori, Y.^{*1} : **Selective and direct inhibition of TRPC3 channels underlies biological activities of a pyrazole compound**

Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **106**, 5400-5405 (2009)

Canonical transient receptor potential (TRPC) channels control influxes of Ca²⁺ and other cations that induce diverse cellular processes upon stimulation of plasma membrane receptors coupled to phospholipase C (PLC). Invention of subtype-specific inhibitors for TRPCs is crucial for distinction of respective TRPC channels that

play particular physiological roles in native systems. Here, we identify a pyrazole compound (Pyr3), which selectively inhibits TRPC3 channels. Structure-function relationship studies of pyrazole compounds showed that the trichloroacrylic amide group is important for the TRPC3 selectivity of Pyr3. Electrophysiological and photoaffinity labeling experiments reveal a direct action of Pyr3 on the TRPC3 protein. In DT40 B lymphocytes, Pyr3 potently eliminated the Ca^{2+} influx-dependent PLC translocation to the plasma membrane and late oscillatory phase of B cell receptor-induced Ca^{2+} response. Moreover, Pyr3 attenuated activation of nuclear factor of activated T cells, a Ca^{2+} -dependent transcription factor, and hypertrophic growth in rat neonatal cardiomyocytes, and in vivo pressure overload-induced cardiac hypertrophy in mice. Thus, the TRPC3-selective inhibitor Pyr3 is a powerful tool to study in vivo function of TRPC3, suggesting a pharmaceutical potential of Pyr3 in treatments of TRPC3-related diseases such as cardiac hypertrophy.

Keywords: B lymphocytes, cardiac remodeling, TRPC3 channel

*1 京都大学工学部

*2 九州大学薬学部

*3 産業技術総合研究所脳神経情報研究部門

*4 昭和大学薬学部

*5 京都大学エネルギー理工学研究所

*6 田辺三菱製薬

Watanabe, T.^{*1}, Tanaka, G.^{*2}, Hamada, S.^{*3}, Namiki, C.^{*4}, Suzuki, T., Nakajima, M.^{*5}, Furihata, C.^{*1} : **Dose-dependent alterations in gene expression in mouse liver induced by diethylnitrosamine and ethylnitrosourea and determined by quantitative real-time PCR**

Mutat. Res., **673**, 9-20 (2009)

We examined the dose-dependency of gene expression changes for 51 genes in mouse liver treated with two *N*-nitroso genotoxic hepatocarcinogens, diethylnitrosamine (DEN) and ethylnitrosourea (ENU) by quantitative real-time PCR (qPCR). The most characteristic result was a similar dose-dependency of gene expression changes with DEN and ENU. Twenty-one genes exhibited a distinct dose-dependent increase in expression at 4h for both carcinogens [*Bax*, *Btg2*, *Ccng1*, *Cdkn1a*, *Cyp4a10*, *Cyp21a1*, *Fos*, *Gadd45b*, *Gdf15*, *Hmox1*, *Hspb1*, *Isg2011*, *Jun*, *Mbd1*, *Mdm2*, *Myc*, *Net1*, *Plk2*, *Ppp1r3c*, *Rcan1* and *Tubb2c*], although the increase in gene expression due to ENU was generally weaker than that due to DEN. Only *Gdf15* showed

a dose-dependent increase in expression at 28 days for both carcinogens. The differences between DEN and ENU were in the expression of additional genes (7 for DEN and 8 for ENU). The present results show a distinct dose-dependency of gene expression changes induced by DEN and ENU. These changes were associated with cancer, cell cycle arrest, DNA replication, recombination, repair and cell death and were seen not only at 4h but also, for some, at 28 days after administration.

Keywords: gene expression, RT-PCR, genotoxicity

*1 青山学院大学理工学部

*2 大鵬薬品工業

*3 三菱安科研

*4 エスエス製薬

*5 安評センター

Zhang, Y.^{*1}, Chen, Y.^{*1}, Bangaru, S.D.^{*1}, He, L.^{*1}, Abele, K.^{*1}, Tanabe, S., Kozasa, T.^{*2} and Yang, J.^{*1} : **Origin of the Voltage Dependence of G-Protein Regulation of P/Q-type Ca^{2+} Channels**

J. Neurosci., **28**, 14176-14188 (2008)

G-protein ($G\beta\gamma$)-mediated voltage-dependent inhibition of N- and P/Q-type Ca^{2+} channels contributes to presynaptic inhibition and short-term synaptic plasticity. The voltage dependence derives from the dissociation of $G\beta\gamma$ from the inhibited channels, but the underlying molecular and biophysical mechanisms remain largely unclear. We investigated the role in this process of Ca^{2+} channel β subunit ($Ca_v\beta$) and a rigid α -helical structure between the α -interacting domain (AID), the primary $Ca_v\beta$ docking site on the channel α_1 subunit, and the pore-lining IS6 segment. $G\beta\gamma$ inhibition of P/Q-type channels was reconstituted in giant inside-out membrane patches from *Xenopus* oocyte. β -less channels were still inhibited by $G\beta\gamma$, but without any voltage dependence, indicating that $Ca_v\beta$ is indispensable for voltage-dependent $G\beta\gamma$ inhibition. A truncated $Ca_v\beta$ containing only the AID-binding guanylate kinase (GK) domain could fully confer voltage dependence to $G\beta\gamma$ inhibition. Furthermore, voltage-dependent $G\beta\gamma$ inhibition was abolished when the rigid α -helix was disrupted by insertion of multiple glycines. These results suggest that depolarization-triggered movement of IS6, coupled to the subsequent conformational change of the $G\beta\gamma$ -binding pocket through a rigid α -helix induced partly by the $Ca_v\beta$ GK domain, causes the dissociation of $G\beta\gamma$ and is fundamental to voltage-dependent $G\beta\gamma$ inhibition.

Keywords: $G\beta\gamma$, voltage-dependent modulation, β subunit

^{*1} Department of Biological Sciences, Columbia University

^{*2} Department of Pharmacology, University of Illinois
College of Medicine

Nishida, M.^{*1}, Sato, Y., Uemura, A.^{*1}, Narita, Y.^{*1}, Tozaki-Saitoh, H.^{*1}, Nakaya, M.^{*1}, Ide, T.^{*2}, Suzuki, K., Inoue, K.^{*1}, Nagao, T. and Kurose, H.^{*1} : **P2Y₆ receptor-G $\alpha_{12/13}$ signalling in cardiomyocytes triggers pressure overload-induced cardiac fibrosis**

EMBO J., **27**, 3104-3115 (2008)

Cardiac fibrosis, characterized by excessive deposition of extracellular matrix proteins, is one of the causes of heart failure, and it contributes to the impairment of cardiac function. Fibrosis of various tissues, including the heart, is believed to be regulated by the signalling pathway of angiotensin II (Ang II) and transforming growth factor (TGF)- β . Transgenic expression of inhibitory polypeptides of the heterotrimeric G12 family G protein (G $\alpha_{12/13}$) in cardiomyocytes suppressed pressure overload-induced fibrosis without affecting hypertrophy. The expression of fibrogenic genes (TGF- β , connective tissue growth factor, and periostin) and Ang-converting enzyme (ACE) was suppressed by the functional inhibition of G $\alpha_{12/13}$. The expression of these fibrogenic genes through G $\alpha_{12/13}$ by mechanical stretch was initiated by ATP and UDP released from cardiac myocytes through pannexin hemichannels. Inhibition of G-protein-coupled P2Y₆ receptors suppressed the expression of ACE, fibrogenic genes, and cardiac fibrosis. These results indicate that activation of G $\alpha_{12/13}$ in cardiomyocytes by the extracellular nucleotides-stimulated P2Y₆ receptor triggers fibrosis in pressure overload-induced cardiac fibrosis, which works as an upstream mediator of the signalling pathway between Ang II and TGF- β .

Keywords: cardiac fibrosis, cardiac hypertrophy, P2Y₆ receptor

^{*1} 九州大学薬学部

^{*2} 九州大学医学部

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 土屋利江 : **アクセサリー類を除く金属製品に含有する鉛及びカドミウムの分析調査中毒研究**, **21**, 393-395 (2008)

鉛及びカドミウムを含有する製品範囲の特定とその含有量の測定を行うことを目的として, アクセサリー類等を除く金属製品に含有する鉛及びカドミウム量に関する試買調査を実施した. アクセサリー類を除く金属製品

(212製品) 及びそれらの容易に分離可能な金属部品のうち, 乳幼児が飲み込むおそれがあるものを検体(312検体)として, エネルギー分散型蛍光X線 (XRF) 分析により鉛及びカドミウムの含有量を測定した. 鉛含有量が米国消費者製品安全委員会の金属製子供用アクセサリーの暫定指針 (Pb 0.06%) を超える製品の割合は, 文具及び事務用具 (33/59), 家具等付属品 (20/50) 及び裁縫用小物用具 (18/87) に多かった. また, カドミウム含有量が欧州連合のRoHS指令 (Cd 0.01%) を超える製品の割合は, 文具及び事務用具 (7/59), 裁縫用小物用具 (7/87) 及び家具等付属品 (4/50) に多かった. 金属製アクセサリー類に比べて含有量は少ないものの, 鉛やカドミウムなどの有害金属を含有する金属製品は広く家庭内に存在することが確認された.

Keywords: lead, cadmium, metal product

中島晴信*, 沢辺善之*, 伊佐間和郎, 土屋利江 : **高分子材料中のオクチル酸スズ (2-エチルヘキサノ酸スズ) の分析**

大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **46**, 97-102 (2008)

Tin octylate (tin 2-ethylhexanoate) is a compound widely used as the polymerization catalyst applicable to biodegradable polylactide plastics. To figure on the quantity of a residual tin octylate in medical materials, a quantitative determination method was established for octylic acid (2-ethylhexanoic acid) that is a decomposition product of tin octylate under an acid condition with hydrochloric acid. Octylic acid was extracted from the medical materials with a mixture of acetone and n-hexane (3:7) containing a small amount of hydrochloric acid by shaking overnight at 37°C. The extract was trimethylsilylated (TMS), and the TMS derivative was analyzed by GC/MS. A capillary column of DB-5 ms (0.25 mm ϕ \times 25 m with a film thickness of 0.25 μ m) was used for GC, and the TMS derivative was determined using an ion of m/z 201 in the MS. Of four samples studied, TMS derivative of octylic acid was detected in two samples. Mean quantitative value converted into tin octylate was 134.4 μ g/g (n=3, CV=14.3%) and 6.5 μ g/g (n=3, CV=28.7%), respectively, which were detected at the same concentration level in the repeated analyses.

Keywords: tin 2-ethylhexanoate, 2-ethylhexanoic acid, polylactide plastic

* 大阪府立公衆衛生研究所

Nakamura, H.^{*1}, Kawakami, T., Niino, T.^{*2}, Takahashi,

Y.^{*1} and Onodera, S.^{*1} : **Chemical fate and changes in the mutagenic activity of the antibiotics nitrofurazone and furazolidone during aqueous chlorination**

J. Toxicol. Sci., **33**, 621-629 (2008)

Reactions of nitrofurans (nitrofurazone (NFZ) and furazolidone (FZD)) with hypochlorite in aqueous solution were investigated under the conditions that simulate wastewater disinfection. The chlorination byproducts were determined by high performance liquid chromatography. At the levels of 5 μ M, NFZ reacted rapidly with free chlorine in neutral pH (7.0), while the FZD-hypochlorite reaction was reasonably slow under the same pH. Nevertheless, the strong mutagenic parents disappeared completely after the hypochlorite reactions, and the chlorination byproducts were observed to exert a weak mutagenic effect on *Salmonella typhimurium* TA100 without S9-mix. The extent of the reactions depended on the chlorine dose, solution pH and compound structures.

Keywords: nitrofurans, water chlorination, mutagenicity

^{*1} 東京理科大学薬学部

^{*2} 三菱化学安全科学研究所

Kawakami, T., Nishi, I.^{*1}, Kishi, T.^{*1} and Onodera, S.^{*1} : **Formation of polybrominated and polychlorinated ethylphenoxyethylphenols (PXEPEPs) during aqueous chlorination of 4-ethylphenol solutions in the presence of bromide ions**

J. Environ. Sci. Health. Part A. **44**, 641-647 (2009)

This investigation was undertaken to determine the effect of the bromide concentration on the formation of polyhalogenated ethylphenoxyethylphenols (PXEPEPs), including predioxins, during the chlorination of 4-ethylphenol in solution. An aqueous solution of 4-ethylphenol was treated with hypochlorite in the presence of various concentrations of bromide ions. The changes in the compositions of the halogenated products in hexane extracts of the chlorinated solution were analyzed by gas chromatograph (GC) and a flame ionization detector (FID) and mass spectrometry (MS). 4-Ethylphenol was shown to form several halogenated compounds, including PXEPEPs, as by-products of chlorination. The number of substituted chlorine or bromine atoms ranged from 0 to 4. The formation of bromine-substituted PXEPEPs was observed in the presence of 0.1 equivalents of bromide ions per mole of 4-ethylphenol. The number of substituted bromine atoms

increased with the amount of co-existing bromide ions. In the presence of more than one equivalent of bromide ions per mole of 4-ethylphenol, the number of bromine atoms substituted in the PXEPEPs increased, whereas the number of chlorine atoms substituted in the PXEPEPs decreased. GC-MS total ion chromatograms confirmed the formation of polybrominated and polychlorinated predioxins during the aqueous chlorination of 4-ethylphenol in the presence of bromide ions. However, at ten equivalents of bromide ions per mole of 4-ethylphenol, no predioxins were observed in the hexane extract obtained from the aqueous 4-ethylphenol solution after being treated with chlorine. The formation of PXEPEPs during the chlorination of 4-ethylphenol in the presence of bromide ions was also influenced by the reaction pH.

Keywords: 4-ethylphenol, chlorination, polybrominated and polychlorinated predioxin

^{*1} 東京理科大学薬学部

Kishi, T.^{*1}, Suzuki, S.^{*1}, Takagi, M.^{*1}, Kawakami, T. and Onodera, S.^{*1} : **Influence of experimental conditions on the formation of PCDD/Fs during the thermal reactions of 2,4,6-trichlorophenol**

Chemosphere, **76**, 205-211 (2009)

In order to obtain information on thermochemical reactions of chlorophenols, which are well known as dioxin precursors, occurring during the combustion of municipal solid wastes, the combustion of 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T3CP) in an air stream was investigated over a temperature range of 500–800 °C for a residence time of 1–20 s using a quartz flow reactor. Gas chromatographic/mass spectrometric (GC/MS) analysis of the gaseous products and residues showed that 2,4,6-T3CP began to decompose at 500°C and produced several compounds, with 1,3,6,8- and 1,3,7,9-tetrachlorodibenzo-p-dioxins (T4CDD) as the major products. In addition, more than fifty organic products were observed in our experimental conditions. The yields of polychlorinated benzenes, phenols, dibenzofurans, and dibenzo-p-dioxins formed during the combustion of 2,4,6-T3CP were plotted as a function of temperature and residence time. Furthermore, it was found that the yields and the compositions of these gaseous products were strongly dependent on the residence time in the flow reactor.

Keywords: PCDD/Fs, 2,4,6-Trichlorophenol, combustion condition

*1 東京理科大学薬学部

Nakajima, M.^{*1}, Kawakami, T., Niino, T.^{*2}, Takahashi, Y.^{*1} and Onodera, S.^{*1} : **Aquatic fate of sunscreen agents octyl-4-methoxycinnamate and octyl-4-dimethylaminobenzoate in model swimming pools and the mutagenic assays of their chlorination byproducts**

J. Health. Sci. **53**, 363-372 (2009)

Reactions of sunscreen agents, octyl dimethyl-p-aminobenzoate (ODPABA) and octyl-p-methoxycinnamate (OMC), with hypochlorite in aqueous solution were investigated under the conditions that simulate swimming pool disinfection sites. Chlorination byproducts were determined by GC/MS. At a concentration of 9 μ M, ODPABA reacted rapidly with free chlorine in the buffered solution at pH 7.0, OMC reacted with hypochlorite reasonably slowly under the same condition. ODPABA and OMC produced chlorine-substituted compounds as intermediates, which were decomposed to cleaved products of ester-bond during the aqueous chlorination process. The chlorination intermediates of OMC exhibited weak mutagenic on Salmonella typhimurium TA100 strain without the S9-mix. The extent of the reactions depended on the chlorine dose, solution pH, and compound structures. Keywords: sunscreen agents, water chlorination, mutagenicity

*1 東京理科大学薬学部

*2 三菱化学安全科学研究所

Machida, K.^{*}, Suemizu, H.^{*}, Kawai, K.^{*}, Ishikawa, T., Sawada, R., Ohnishi, Y.^{*}, Tsuchiya, T., : **Higher susceptibility of NOG mice to xenotransplanted tumors**

J. Toxicol. Sci., **34(1)**, 123-127 (2009)

The purpose of tumorigenicity testing, as applied not only to cell substrates used for viral vaccine manufacture but also stem cells used for cell-based therapy, is to discriminate between cells that have the capacity to form tumors and cells that do not. Therefore, tumorigenicity testing is essential in assessing the safety of these biological materials. Recently developed NOD/Shi-scld IL2Rg(null) (NOG) mice have been shown to be superior to NOD/Shi-scld (SCID) mice for xenotransplantation of both normal and cancerous cells. To select a suitable mouse strain as a xenogenic host for tumorigenicity testing,

we compared the susceptibility of NOG (T, B, and NK cell-defective), SCID (T and B cell-defective), and the traditionally used nude (T cell-defective) mice to tumor formation from xenotransplanted HeLa S3 cells. When 10(4) HeLa S3 cells were subcutaneously inoculated into the flanks of these mice, the tumor incidence on day 22 was 10/10 (100%) in NOG, 2/10 (20%) in SCID, and 0/10 (0%) in nude mice. The subcutaneous tumors formed reproducibly and semiquantitatively in a dose-dependent manner. Unexpectedly, half of the NOG mice (5/10) that had been inoculated with a mere 10¹ HeLa S3 cells formed progressively growing subcutaneous tumors on day 78. We confirmed that the engrafted tumors originated from inoculated HeLa S3 cells by immunohistochemical staining with anti-HLA antibodies. These data suggest that NOG mice may be the best choice as a suitable strain for testing tumorigenicity.

Keywords: HeLaS3, NOD/Shi-scld IL2Rg^{null} (NOG), Tumorigenicity testing

* (財) 実験動物中央研究所

Sawada, R., Matsuoka, A., Matsuda, Y., Tsuchiya, T. : **Change in characteristics of human mesenchymal stem cells during the in vitro culture — c-myc gene expression and chromosome aberrations at the c-myc locus —**

YAKUGAKU ZASSHI, **128(12)**, 1851-1856 (2008)

We investigated mRNA expression of c-myc and chromosome aberrations at the c-myc locus in the same passage number of human mesenchymal stem cells (hMSCs). To understand the sensitivity of mRNA expression and the induction of chromosome aberrations, we first tested them in hMSC and cancer cell lines (HeLa S3, HOS, and OUMS-27). The c-myc mRNA expressions in HeLa S3 and OUMS-27 were significantly higher than those in hMSC, but then those in HOS were not. On the other hand, c-myc aberrant cells detected by fluorescence in situ hybridization in HeLa S3, HOS, and OUMS-27 were significantly higher than that in hMSC. Both analyses were performed in hMSCs derived from five donors for the culture period of 50 days. In hMSCs from one donor, the frequency of c-myc aberrant cells significantly increased at 20 and 50 days respectively, and each mRNA expressions had a tendency to increase, but there is no significant change among 3, 20 and 50 days. In hMSCs from the others, both endpoints did not change for 50 days. For safe use

of somatic stem cells in the regenerative medicine, the investigation of characteristic change of them during the in vitro culture is important. In the present study, we showed the mRNA expressions and chromosome aberrations of hMSCs in in vitro culture as the first step for establishing of safety evaluation of tissue engineered medical devices using normal hMSCs.

Keywords: human mesenchymal stem cells (hMSCs), c-myc gene expression, copy number of the c-myc locus

Tam P. S. Y.^{*1}, Sawada, R., Cui, Y.^{*1}, Matsumoto, A.^{*2}, Fujiwara, Y.^{*1}. : **The metabolism and distribution of docosapentaenoic acid (n-6) in the liver and testis of growing rats**

Biosci. Biotechnol. Biochem., **72**(10), 2548-2554 (2008)

To investigate the metabolism and distribution of docosapentaenoic acid (22:5n-6, DPA) in the liver and testis of growing rats, 22:5n-6 was administered to their dams. Newborn rats with a low hepatic arachidonic acid (20:4n-6, AA) level were generated by administering a diet rich in docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) but n-6 fatty acid (FA) free to pregnant dams. After parturition, 22:5n-6 or linoleic acid (18:2n-6, LA) was administered with a high level of 22:6n-3 to the dams until weaning. At weaning, the hepatic 20:4n-6 level was significantly highest in the DPA-DHA but not LA-DHA diet-fed animals. The hepatic delta-6 desaturase (D6D) mRNA abundance was significantly lower in both the LA-DHA and DPA-DHA diet-fed animals, connoted with the 20:4n-6 content recovered by 22:5n-6 that did not involve D6D and supporting the occurrence of retroconversion in the liver of the growing rats. The low D6D level in the 3-week-old testis was not in proportion to the elevated 22:5n-6 level, implying that early testicular 22:5n-6 accumulation might require supply from the circulation system.

Keywords: docosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, arachidonic acid

^{*1} お茶の水女子大学

^{*2} 城西大学

Yamada, T., Sawada, R., Tsuchiya, T. : **The effect of sulfated hyaluronan on the morphological transformation and activity of cultured human astrocytes**

Biomaterials, **29**, 3503-3513 (2008)

We demonstrated the effect of synthesized sulfated hyaluronan (SHya), which is composed of a sulfated group

and hyaluronan, and basic fibroblast growth factor 2 (FGF-2) on normal human astrocytes (NHA) activity and its morphological transformation in vitro study. Astrocyte is a kind of glial cell and stellated astrocyte (activating astrocyte) supports axons network, neurons survival and synaptic plasticity. Treatment of SHya hardly affected NHA proliferation. However combination treatment of SHya and FGF-2 increased NHA proliferation. Treatment of SHya promoted transformation of normal astrocyte into a stella morphology (stellation) and combination treatment of SHya and FGF-2 promoted stellation than that of SHya only. Treatment of SHya increased glial fibrillary acidic protein (GFAP), nestin mRNA and GFAP protein expression in the stellated NHA. The cell-cell adhesion of NHA increased by treatment of SHya. Treatment of SHya increased heparin-binding trophic factors FGF-2, midkine, and some other trophic factors mRNA level in the NHA. These results suggested that the treatment of SHya promoted NHA activity due to enhancing neurotrophins production and the morphological transformation of NHA and the effect of SHya on astrocytes partly involved FGF-2 activity. These findings indicate that SHya may be involved in the astrocyte activity and support neurons survivals.

Keywords: Hyaluronan, Sulfated groups, Astrocyte

Yamada, T., Jung, DY, Sawada, R., Tsuchiya, T. : **Intracerebral microinjection of stannous 2-ethylhexanoate affects dopamine turnover in cerebral cortex and locomotor activity in rats**

J Biomed Mater Res B : Appl Biomater., **87B**(2), 381-386 (2008)

Stannous 2-ethylhexanoate [Sn(Oct)₂] is used as a catalyst for production of poly-L-lactic acid and copolymers that are implanted in cranial surgery, but reports on its effects on the central nervous system are few. We examined the effects of Sn(Oct)₂ on cell viability in vitro and on neurotransmission and behavior in the rat. Treatment of normal human astrocytes with 10 mg/mL Sn(Oct)₂ reduced mitochondrial activity to 16% of the control. Injection of Sn(Oct)₂ at 6.28 mg/kg BW (2 mg/kg BW Sn) into right lateral ventricle of the rat brain tended to increase the ambulation distance after 30 days when compared with the control group. The turnover of dopamine neurotransmission was increased in the cerebral cortex. These results suggest that Sn(Oct)₂ is cytotoxic to astrocytes in vitro. Injection of Sn(Oct)₂ into the brain had no or very weak immediate neurotoxicity, but long-term exposure to Sn(Oct)₂ increased

dopamine neurotransmission turnover.

Keywords: stannous 2-ethylhexanoate, open field test, dopamine

Ayada, T.^{*1}, Taniguchi, K.^{*1}, Okamoto, F.^{*1}, Kato, R., Komune, S.^{*1}, Takaesu, G.^{*1} and Yoshimura, A.^{*1,3}
: **Sprouty4 negatively regulates protein kinase C activation by inhibiting phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis**

Oncogene **28**, 1076-1088(2009)

Sproutys have been shown to negatively regulate growth factor-induced extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation, and suggested to be an anti-oncogene. However, molecular mechanism of the suppression has not yet been clarified completely. Sprouty4 inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF)-A-induced ERK activation, but not VEGF-C-induced ERK activation. It has been shown that VEGF-A-mediated ERK activation is strongly dependent on protein kinase C (PKC), whereas that by VEGF-C is dependent on Ras. This suggests that Sprouty4 inhibits the PKC pathway more specifically than the Ras pathway. In this study, we confirmed that Sprouty4 suppressed various signals downstream of PKC, such as phosphorylation of MARCKS and protein kinase D (PKD), as well as PKC-dependent nuclear factor (NF)-B activation. Furthermore, Sprouty4 suppressed upstream signals of PKC, such as Ca²⁺ mobilization, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) breakdown and inositol 1,4,5-triphosphate (IP₃) production in response to VEGF-A. Those effects were dependent on the C-terminal cysteine-rich region, but not on the N-terminal region of Sprouty4, which is critical for the suppression of fibroblast growth factor (FGF)-mediated ERK activation. Sprouty4 overexpression or deletion of the *Sprouty4* gene did not affect phospholipase C (PLC) -1 activation, which is an enzyme that catalyzes PIP₂ hydrolysis. Moreover, Sprouty4 inhibited not only VEGF-A-mediated PIP₂ hydrolysis but also inhibited the lysophosphatidic acid (LPA)-induced PIP₂ breakdown that is catalyzed by PLC/ activated by G-protein coupled receptor (GPCR). Taken together, Sprouty4 has broader suppression activity for various stimuli than previously thought; it may function as an inhibitor for various types of PLC-dependent signaling as well as for ERK activation.

Keywords: negative regulation, ERK activation, PKC

Taniguchi, K.^{*1,2}, Sasaki, K.^{*3}, Watari, K.^{*1}, Yasukawa, H.^{*3}, Imaizumi, T.^{*3}, Ayada, T.^{*1}, Okamoto, F.^{*1}, Ishizaki, T.^{*2}, Kato, R., Kohno, R.^{*1}, Kimura, H.^{*4}, Sato, Y.^{*4}, Ono M.^{*1}, Yonemitsu Y.^{*1,5}, Yoshimura A.^{*2,6} : **Suppression of Sproutys has a therapeutic effect for a mouse model of ischemia by enhancing angiogenesis**

PLoS ONE **4**, e5467(2009)

Sprouty proteins (Sproutys) inhibit receptor tyrosine kinase signaling and control various aspects of branching morphogenesis. In this study, we examined the physiological function of Sproutys in angiogenesis, using gene targeting and short-hairpin RNA (shRNA) knockdown strategies. Sprouty2 and Sprouty4 double knockout (KO) (DKO) mice were embryonic-lethal around E12.5 due to cardiovascular defects. The number of peripheral blood vessels, but not that of lymphatic vessels, was increased in Sprouty4 KO mice compared with wild-type (WT) mice. Sprouty4 KO mice were more resistant to hind limb ischemia and soft tissue ischemia than WT mice were, because Sprouty4 deficiency causes accelerated neovascularization. Moreover, suppression of Sprouty2 and Sprouty4 expression in vivo by shRNA targeting accelerated angiogenesis and has a therapeutic effect in a mouse model of hind limb ischemia. These data suggest that Sproutys are physiologically important negative regulators of angiogenesis in vivo and novel therapeutic targets for treating peripheral ischemic diseases.

Keywords: angiogenesis, ischemia, therapeutic effect

*1 九州大学

*2 慶應大学

*3 久留米大学

*4 東北大学

*5 千葉大学

*6 CREST

Miyamoto, K.^{*1}, Miyamoto, T.^{*1}, Kato, R., Yoshimura, A.^{*1}, Motoyama, N.^{*2}, Suda, T.^{*1} : **FoxO3a regulates hematopoietic homeostasis through a negative feedback pathway in conditions of stress or aging**

Blood, **112**, 4485-4493 (2008)

Stress or aging of tissue-specific stem cells is considered central to the decline of tissue homeostasis in the elderly, although little is known of molecular mechanisms underlying hematopoietic stem cell (HSC) aging and stress resistance. Here, we report that mice lacking the transcription factor forkhead box O3a (FoxO3a) develop

*1 九州大学

*2 慶應大学

neutrophilia associated with inhibition of the up-regulation of negative regulator of cell proliferation, Sprouty-related Ena/VASP homology 1 domain-containing proteins 2 (Spred2) and AKT and ERK activation, in HSCs during hematopoietic recovery following myelosuppressive stress conditions. Compared with aged wild-type mice, more severe neutrophilia was also observed in aged Foxo3a-deficient mice. AKT and ERK activation and inhibition of Spred2 were detected in HSCs from aged FoxO3a-deficient mice. Spred2-deficient mice also developed neutrophilia during hematopoietic recovery following myelosuppressive stress, indicating that FoxO3a plays a pivotal role in maintenance, integrity, and stress resistance of HSCs through negative feedback pathways for proliferation. This will provide new insight into the hematopoietic homeostasis in conditions of aging and stress.

Keywords: FoxO3, hematopoietic homeostasis, negative feedback

*1 慶應大学

*2 国立長寿医療センター

Hexig, B., Nakaoka, R., Tsuchiya, T. : **Safety evaluation of surgical materials by cytotoxicity testing**
J. Artif. Organs, **11**, 204-211 (2008)

The cytotoxicity of three kinds of commercially available absorbable hemostats [oxidized cellulose (Surgicel, gauze and cotton types), microfibrillar collagen (Avitene), and cotton-type collagen (Integran)] and one adhesion barrier [sodium hyaluronate and carboxymethyl-cellulose membrane (Septrafilm)] were comparatively assessed by a colony assay using V79 cells and a minimum essential medium (MEM) elution assay in combination with a neutral red assay using L929 cells. Strong cytotoxicity was detected for Surgicel by both the MEM elution assay and the colony assay. For Avitene, both methods revealed weak cytotoxicity. For Septrafilm, no cytotoxicity was detected by the MEM elution assay, while a moderate degree of cytotoxicity was observed in the colony assay. For Integran cytotoxicity was not detected by either the MEM elution or the colony assay. The results of the different methods showed some inconsistency in terms of the degree of cytotoxicity of the materials. It is proposed that the combination of two or more sensitive cytotoxicity testing methods for the evaluation of biomaterials is necessary to avoid false-negative results for biomaterials at the preclinical stage. Furthermore, investigation of the correlation between

the cytotoxicity and the extraction period of the surgical materials is helpful for predicting the effect of prolonged in vivo use of biomaterials on surrounding cells, tissues, and organs.

Keywords: Safety evaluation, Surgical materials, Colony assay

田中和人^{*1}, 上村明正^{*1}, 片山傳生^{*1}, 木下定^{*2}, 迫田秀行, 藏本孝一^{*3}: **超高分子量ポリエチレンの疲労き裂伸展特性に及ぼす環境劣化とVitamin-E添加の影響**

Journal of Society of Materials Science, Japan, **57**, 875-881 (2008)

Ultra High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) has been used for the bearing materials of artificial knee joints owing to its superior mechanical properties and chemical resistance. In vivo, however, because of wear and fatigue of UHMWPE components, delamination fracture occurred. Although γ -irradiation and following aging was reported to accelerate the delamination fracture, the effects on the fatigue crack growth behavior have not been revealed yet. Moreover, the addition of Vitamin-E (α -Tocopherol) was reported to prevent the delamination wear, but the prevention mechanism has not been clarified yet. In this study, in order to understand the influence of γ -irradiation and accelerated aging, and the addition of Vitamin-E on the fatigue crack growth properties of UHMWPE, tensile tests and fatigue crack growth tests of UHMWPE were carried out. After the γ -irradiation and accelerated aging, the specimen surface was oxidized and its crystallinity was increased. However the addition of Vitamin-E reduced the oxidization of the specimen and the increase of its crystallinity. For the tensile tests, the yield stress was increased and the tensile strength was decreased by γ -irradiation and accelerated aging. For the fatigue crack growth tests, the addition of Vitamin-E reduced the decrease of ΔJ_{th} by γ -irradiation and accelerated aging. Although the fibrillation and the brittle fracture were observed on the fracture surface of γ -aged specimen, they were not observed on that of Vitamin-E added γ -aged specimen.

Keywords: Ultra High Molecular Weight Polyethylene, Knee joint, Fatigue Crack growth

*1 同志社大学

*2 京都大学

*3 ナカシマプロペラ株式会社

迫田秀行, 鄭徳泳, 佐藤道夫, 土屋利江, 脇谷滋之^{*1}, 天正恵治^{*2}: **人工関節の不具合要因分析**

日本臨床バイオメカニクス学会誌, **29**, 361-365 (2008)

Joint arthroplasty is an effective procedure for recovering the quality of life of patients with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. There is still a strong need to improve the durability of joint prostheses and reduce the failure rate. Long-term clinical study is a very important tool for evaluating implants as in-vitro testing can not fully simulate the biological and biomechanical environment in vivo. Therefore, analysis of failed and retrieved implants and identification of factors related to the failure are very important.

To fully understand the factors promoting implant failure, clinical information is necessary, since the failure can be attributed not only to the implant itself but also to host conditions. However, obtaining clinical information and analyzing it is costly and time-consuming. This study investigated efficient means to identify the factors of implant failure and collect useful information from retrieved implants for the development of future implants.

Eleven retrieved knee implants were obtained without clinical information. After visual inspection, UHMWPE components of the implants were analyzed by FTIR.

Eight cases were considered to have failed due to oxidative degradation of UHMWPE components. This mechanism is well known and is not considered to happen to currently available products as their manufacturing processes have been improved to prevent oxidation of UHMWPE. Three cases were considered to have failed due to factors other than oxidative degradation of UHMWPE components and clinical information was considered necessary to identify the factors related to failure in these implants.

It was possible to extract cases that had failed due to factors other than oxidative degradation of UHMWPE components based on visual inspection and FTIR analysis. It was considered that detailed analysis of these selected cases using clinical information will provide useful information for the development of future implants.

Keywords: UHMWPE, implant failure, oxidation

^{*1} 大阪市立大学

^{*2} 信州大学

迫田秀行, 鄭 徳泳, 佐藤道夫, 土屋利江, 脇谷滋之^{*1}, 天正恵治^{*2}: 微小試験片を用いた人工関節用 UHMWPE の疲労特性評価

日本臨床バイオメカニクス学会誌, **29**, 367-372 (2008)

Highly crosslinked polyethylene (HXLPE) was developed to reduce wear on the ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) component of joint prostheses. The manufacturing process of HXLPE includes radiation crosslinking and thermal treatment to eliminate free radicals. Since these processes are known to degrade the fatigue property of UHMWPE, it might become one of the main factors limiting the durability of implants.

The fatigue property of UHMWPE has mainly been evaluated by fatigue crack propagation test using compact tension specimens. However, this cannot be applied to retrieved implants or final products due to required specimen size. Therefore, there is not sufficient data to relate the fatigue property of UHMWPE to clinical outcome. This study investigated a new test method to evaluate the fatigue property of UHMWPE of retrieved implants or final products.

Rectangular specimens were machined from virgin UHMWPE. An initial crack was created at the centre of the specimens and cyclic tensile load was applied at 1Hz by a conventional fatigue test machine. Nominal stress and the number of cycles until fracture were used for analysis. Specimens were also prepared from UHMWPE components of retrieved implants in the same manner.

The results of virgin material were plotted on a straight line showing a typical S-N curve. There were no apparent influences of specimen size, initial crack length or magnitude of applied load. Specimens from retrieved implants showed inferior fatigue property.

Fatigue property of retrieved implants could be evaluated by the new test method developed in this study. Oxidized UHMWPE components showed degraded fatigue property. Further study of failed implants using this test method is expected to demonstrate the relation between the fatigue property of UHMWPE and failure of the implants, contributing to future improvements.

Keywords: UHMWPE, fatigue, retrieved implants

^{*1} 大阪市立大学

^{*2} 信州大学

迫田秀行, 中岡竜介, 松岡厚子, 土屋利江: 三次元スキャフォールドを用いた細胞培養系の評価方法の検討
国立医薬品食品衛生研究所報告, **126**, 76-81 (2008)

In tissue engineering and related studies, in vitro evaluations are often carried out by a three-dimensional cell culture, where cells are inoculated in three-dimensional

scaffolds. Cell number is one of the most fundamental parameter in cell cultures and especially important in three-dimensional cell cultures because cell behavior is sometimes dependent on the cell density. However, there are many studies where cell number is not specified, probably due to the difficulty of evaluating cell number in the three-dimensional cell culture.

In this study, we examined if existing methods to evaluate cell number established for conventional two-dimensional cell cultures could be applied to the three-dimensional cell cultures using collagen composite scaffolds and human articular chondrocytes as an example of the three-dimensional cell culture. The cells were inoculated on the conventional cell culture plate or the scaffolds and the cell number was estimated by different methods and the results were compared with each other. Firstly, DNA quantification method was shown to be able to estimate cell numbers in either two-dimensional or three-dimensional culture. Secondary, the results of non-destructive cell number estimation method using alamarBlue reagent were found to be consistent with those of DNA quantification method in either two-dimensional or three-dimensional culture. However, the results of the other non-destructive cell number estimation method using TetraColor ONE reagent were not consistent with those of other methods in the three-dimensional culture.

It was concluded that when applying existing evaluating methods established for the two-dimensional cell cultures to a three-dimensional cell culture, it is important to validate them for the three-dimensional cell culture.

Keywords: three-dimensional cell culture, scaffold, cell number

石川 格, 澤田留美, 加藤幸夫^{*1,*2}, 辻紘一郎^{*1}, 邵金昌^{*2}, 山田貴史, 加藤玲子, 土屋利江: 新無血清培地STK2のヒト間葉系幹細胞増殖における有用性について

薬学雑誌, 129, 381-384 (2009)

To apply human mesenchymal stem cells (hMSC) to regenerative medicines, it is necessary to multiply hMSC in vitro in a short period. In addition, it is desirable that the medium which is used for the hMSC multiplication is not supplemented with the serum, because the addition of the serum has risks of infection. In this study, we cultured hMSC with three kinds of medium used for multiplying hMSC (DMEM, MSCGM, STK2) and compared hMSC proliferation in each medium. As a result, it was confirmed

that hMSC proliferation was significantly higher in STK2 medium which is a novel serum-free medium developed for hMSC multiplication. Moreover, we compared the hMSC proliferation in these media under the environment that assumed bone reproduction. When we cultured hMSC in each medium with hydroxyapatite (HAp), the proliferative inhibition by HAp depended on the additive amount, and the degree of the proliferative inhibition was different among the media but the lowest inhibitory effect was observed in STK2 medium.

Keywords: Mesenchymal stem cell, Serum-free medium, Cell proliferation, Hydroxyapatite, Stem cell culture

^{*1} 広島大学大学院医歯薬学総合研究科

^{*2} JSTイノベーションプラザ広島

植松美幸, 中野喜隆^{*1}, 松川紘大^{*1}, 宇都宮隆平^{*1}, 中村亮一^{*2}, 村垣善浩^{*2}, 伊関 洋^{*2}, 青見茂之^{*2}, 梅津光生^{*1}: 大血管手術の安全性を高める画像支援ナビゲーションシステム

日本バーチャルリアリティ学会論文誌, 14 (1), 39-48 (2009)

筆者らはマルチスライスCT画像を用いたナビゲーションシステムを構築した。これは、正確に手術野のオリエンテーションをつけることを支援するシステムであり、胸腹部大動脈瘤手術でアダムキュービッツ動脈を選択的に温存する際に効果的に用いることができる。今回、30名の胸腹部大動脈瘤の患者に対して行った結果について報告する。まず、手術前にマルチスライスCTを撮影し、アダムキュービッツ動脈に血流を送る肋間動脈の位置を同定する。手術中のナビゲーションでは、手術野でのポインター位置をセンサーにて計測し、これと連動して解剖学的構造を3次元画像により表示する。これにより、目標とする肋間動脈を実空間上で特定でき、目標血管と臓器につながる主要な動脈が再建された。手術成績に関しては、院内での死亡は1人で対麻痺はゼロであった。この新たなナビゲーションシステムは正確なオリエンテーションの実現に有効であった。そして、筆者らのナビゲーションの臨床応用では、胸腹部大動脈瘤手術を安全かつ効率的に進められることが示された。

Keywords: surgical navigation system, aortic vascular surgery, three-dimensional imaging

^{*1} 早稲田大学

^{*2} 東京女子医科大学

Matsuoka, A., Haishima, Y., Hasegawa, C., Matsuda,

Y., and Tsuchiya, T. : **Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test**

J. Biomed.Mater.Res., **86A**, 13-22 (2008)

We prepared polyurethane (PU) containing 0.4% or 4% 4,4'-methylenedianiline (MDA) as model materials to investigate the effectiveness of sample preparation by organic-solvent extraction for the in vitro chromosome aberration (CA) test. MDA itself (0.4 mg/mL) was positive only in the presence of an exogenous metabolizing system (S9 mix). The culture medium extract of PU containing 4% MDA (PU/4% MDA) was negative with and without S9 mix. Methanol and acetone extracts, on the other hand, induced structural CAs without S9 mix, which we did not expect because MDA requires S9 mix for activity. On chemical analysis, however, we found that the ratio of MDA extracted by the organic solvents to that extracted by the culture medium of PU/4% MDA was about 15:1. Interestingly, oligomers consisting of poly(tetramethyleneglycol) derivatives (OTMG) were also extracted by the organic solvents. The data suggest that the induction of structural CAs in the absence of S9 mix may have been partly due to synergism of MDA and OTMG. CA tests of MDA and PTMG-1000 in combination confirmed that to be the case. Thus, organic-solvent extraction may be more effective than medium extraction in evaluating the biological safety of biomaterials.

Keywords: organic-solvent extraction, polyurethane

Matsuoka, A., Kodama, Y., Fukuhara, K., Honda, S.*¹, Hayashi, M.*¹, Sai, K., Hasebe, M.*², Fujiwara, Y.*² : **A pilot study of the antioxidative activity of resveratrol and its analogue in a 6-month feeding test in young adult mice**

Food Chem. Toxicol., **46**, 1125-1130 (2008)

Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, has free-radical scavenging activity and we found that it induces chromosomal aberrations, micronuclei, and sister chromatid exchanges in vitro. We synthesized its analogue 4-hydroxy-*trans*-stilbene (4-OH) and found that it has the same in vitro clastogenic activities as resveratrol, suggesting that the 4' hydroxy group of resveratrol is responsible for the effect. We fed resveratrol and 4-OH to young adult ICR mice at 0, 0.2, 2, or 20ppm in their standard powder diet for 6 months and investigated the antioxidative effects. Half of each group was given 3000 ppm potassium bromate (KBrO₃) in water for the last week to cause

oxidative damage. Body weight gain tended to increase in males at 0.2 ppm resveratrol or 4-OH, and in females at 2 ppm 4-OH. Micronucleus (MN) analysis in bone marrow erythrocytes showed that the KBrO₃ tendency to induce MN was not prevented by the dietary resveratrol or 4-OH, which themselves did not induce MN under the present conditions. In this pilot study, resveratrol and 4-OH showed no obvious effect, either beneficial or adverse, at doses that are feasible in daily life for humans.

Keywords: 4-hydroxy-*trans*-stilbene, in vivo antioxidative activity

*¹ 富山県衛生研究所

*² お茶の水女子大学

Uchino, T., Takezawa*, T., Ikarashi, Y. : **Reconstruction of three-dimensional human skin model composed of dendritic cells, keratinocytes, and fibroblasts utilizing a handy scaffold of collagen vitrigel membrane**

Toxicol. In Vitro , **23**, 333-337 (2009)

We previously we attempted to make a three-dimensional human skin model consisting of three different cells, dendritic cells, keratinocytes and fibroblasts (KDF-Skin) to evaluate immunoreactions in human skin; however, this model had various problems; for example, 1) the incubation period for the construction of this model is long (about three weeks); 2) to construct the collagen gel, high amounts of fibroblasts are needed; and 3) the horny layer of keratinocytes in this skin model is thinner than that of keratinocytes in real human skin. In order to overcome these problems, a new three-dimensional human skin model utilizing a handy scaffold of collagen vitrigel membrane (VG-KDF-Skin) was constructed. As a result, after 14-days incubation, the epidermis layer of normal human keratinocytes was thicker than the keratinocyte layer of KDF-Skin. The incubation period for VG-KDF-Skin construction was 7 days shorter than that of KDF-Skin, and the number of fibroblasts needed to seed VG-KDF-Skin was 4-times fewer than that of KDF-Skin. After the application of sensitizers such as DNCB, VG-KDF-Skin induced the expression of CD86 and cytokine release. These results suggest that the new three-dimensional human skin model consisting of dendritic cells, keratinocytes, fibroblasts and collagen vitrigel membrane was more useful for alternative animal testing than the KDF-Skin model.

Keywords: three-dimensional human skin model, collagen

vitrigel membrane, skin sensitization

*National Institute of Agrobiological Sciences

久保田領志, 鈴木俊也*, 田原麻衣子, 清水久美子,
西村哲治: 水環境中のPPCPsのモニタリングと浄水工
程を想定した処理性評価

水環境学会誌, **31**, 643-649 (2008)

Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and their metabolites continually flow into aquatic environments and are detected widely at significant concentrations. However, a comprehensive survey has not been conducted on PPCPs in aquatic environments in Japan. Moreover, the information about removal techniques for PPCPs, such as chlorination and ozonization, is limited. In this study, we investigated the occurrence of fifteen PPCPs in water samples (sewage water and river water) collected in urban areas of Japan and evaluated the PPCPs removal efficiencies of chlorination and powdered activated carbon treatment. PPCPs (except erythromycin, paroxetine, and fluvoxamine) were detected in almost all sewage water and river water samples. The highest value was observed in bezafibrate and detected at $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ level. The concentrations of other PPCPs were one order of magnitude lower than that of bezafibrate. The removal efficiency of chlorination varied with the type of PPCPs, and the percentages of relative residuals of fibrates, fluvoxamine, carbamazepine, and ethenzamide were more than 50% at four hours after treatment. On the other hand, although removal rate was relatively low compared with that of chlorination, almost all PPCPs were satisfactory removed by powdered activated carbon treatment. These results suggest that a combination of these treatments could be effective for the removal of PPCPs.

Keywords: pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), removal efficiency, human impact

* 東京都健康安全研究センター

Ihara, T.*, Saito, T.*, Sugimoto, N. : **Expansion of organic reference materials for the analysis of hazardous substances in foods and environments. -Realization of an efficient metrological traceability using the quantitative NMR method-**
Synthesiology, **2**, 12-22 (2009)

Reference materials are indispensable for accurate analysis of hazardous substances in foods and environments. For organic

substances, however, the dissemination of reference materials is hopelessly unable to catch up with today's rapidly proliferating analytical needs. To solve this problem, analytical techniques were improved to develop a method in which a single primary reference material could provide accurate quantitative measurements for a wide variety of organic compounds. In this approach, we turned our attention to the ^1H NMR method. We improved the method to perform precise comparisons of signal quantities from protons at different chemical shifts, enabling calibration at an acceptable level of uncertainty for a variety of organic reference materials by using a primary reference material for protons. This result opens the prospect of highly efficient metrological traceability, reducing the required number of national reference materials to a minimal level.

Keywords: metrological traceability, nuclear magnetic resonance spectroscopy, primary method of measurement

* (独) 産業技術総合研究所

青柳光敏*, 新山和人*, 高附 巧, 根本 了, 佐々木
久美子, 米谷民雄: LC/MSによる農産物中のドジ
ンの分析法

食品衛生学雑誌, **50**, 58-63(2009)

農産物中のドジンをLC/MSを用いて分析する方法を検討した。試料からアセトニトリルおよび含水アセトニトリルで抽出した後、酢酸エチルに転溶し、PSA ミニカラムで精製し、LC/MSのESI ポジティブモードで測定する方法を開発した。種実類には、転溶操作の前に塩酸添加アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂を、ほうれんそうなどにはグラファイトカーボンミニカラムによる精製を追加した。農産物16種類の試料からの回収率は80.3 ~ 100.0% (相対標準偏差0.3 ~ 6.4%), 検出限界は0.0006 mg/kg (S/N=3)であった。開発した方法は操作が簡便であり、また、一律基準値レベルの分析に対して十分な検出感度を有しており、農産物中のドジンの残留分析に有用と考えられた。

Keywords: dodine, fungicide, LC/MS

* 北海道立衛生研究所

上野英二*, 椛島由佳*, 大島晴美*, 大野 勉*, 根本 了,
米谷民雄: LC-MSによる農産物中デメトン-S-メチル,
オキシデメトンメチルおよびデメトン-S-メチルス
ホンの分析

食品衛生学雑誌, **50**, 64-69(2009)

農産物中のデメトン-S-メチル, オキシデメトンメチル
およびこれらの酸化生成物であるデメトン-S-メチルス

ルホンを定量するための同時分析法を検討した。抗酸化剤としてL-アスコルビン酸およびブチルヒドロキシトルエンを添加した試料から、アセトンで抽出し、多孔性ケイソウ土カラムを用いて酢酸エチルに転溶後、脂質の多い玄米、大豆はヘキササン/アセトニトリル分配により脱脂、次いで色素の少ない玄米、大豆、ばれいしょはPSAカラム、それ以外はグラファイトカーボン/PSA 連結カラムを用いて精製し、ESI-SIMモードLC-MSで測定した。玄米など10種類の試料からの平均回収率は73.8～102.5% (相対標準偏差 \leq 5.7%) と良好であった。

Keywords: demeton-S-methyl, oxydemeton-methyl, demeton-S-methylsulfone

* 愛知県衛生研究所

長岡(浜野) 恵, 松田りえ子, 米谷民雄: 寒天中ホウ酸のICP-AES及びICP-MSによる試験法の開発とその評価

食衛誌, 49, 333-338 (2008)

寒天中ホウ酸の新しい試験法を検討し、寒天を湿式灰化後、ホウ素濃度を内標を用いるICP-AES法またはICP-MS法で分析する方法を策定した。その方法につき、模擬試料として粉末寒天および標準試料 (NIST SRM1570a) を用い、ICP-AES法5機関、ICP-MS法5機関による共同試験を実施した結果、策定した方法の真度・精度は非常に良好で、新規法として採用可能であると考えられた。

Keywords: agar, boric acid, validation

Takekawa, T.^{*1}, Koshikawa, T.^{*2}, Miyahara, M. : **Development of Microbiological Method (Heat Treatment Method) for Irradiated Food Detection and Blind Trial of Collaborative Laboratories**

Bokin. Bobai, 37, 181-193(2009)

A microbiological detection method is needed as a practical screening method that each laboratory can distinguish easily and cheaply between the non-irradiated and irradiated foods. We carried out study last year based on the finding that sensitivity of bacteria to heat-treatment rose when bacteria received damage by the radiation, and the possibility that the irradiation could be detected in a certain processing condition. This method consists of the first judgment based on a general viable cell count and the second judgment based on the number of bacteria difference of before and after heat-treatment. A joint research between laboratories of the detection method by the presence of heat-treatment to viable cell that adhered to the spice was

executed in this year. From the above results, we find that there are two kinds of spices as a result of this research, one should do first judgment and second judgment, and the other should do only first judgment. Therefore, the target spice should be classified into the one only of the first judgment and the one until judging the second. In that case, we were able to obtain a high correct answer rate.

Keywords : Food irradiation, Irradiated food detection, Irradiated spice, Microorganism method, Heat treatment method

^{*1} Nuclear Fuel Industries, Ltd.

^{*2} Koka Laboratory, Japan Radioisotope Association

Miyahara, M., Furuta, M.^{*1}, Takekawa, T.^{*2}, Oda, S.^{*3}, Koshikawa, T.^{*4}, Akiba, T.^{*5}, Mori, T.^{*6}, Mimura, T.^{*7}, Sawada, C.^{*8}, Yamaguchi, T.^{*9}, Nishioka, S.^{*10}, Tada, M.^{*11} : **Verification of the new detection method for irradiated spices based on microbial survival by collaborative blind trial**

Radiation Physics and Chemistry, Online April 10 2009 (doi:10.1016/j.radphyschem.2009.0410)

An irradiation detection method using the difference of the radiation sensitivity of the heat-treated microorganisms was developed as one of the microbiological detection methods of the irradiated foods. This detection method is based on the difference of the viable cell count before and after heat-treatment (70°C and 10 minutes).

The verification by collaborative blind trial of this method was done by nine inspecting agencies in Japan. The samples used for this trial were five kinds of spices consisting of non-irradiated, 5-kGy irradiated, and 7-kGy irradiated black pepper, allspice, oregano, sage, and paprika, respectively. As a result of this collaboration, a high percentage (80%) of the correct answers was obtained for irradiated black pepper and allspice. However, the method was less successful for irradiated oregano, sage and paprika. It might be possible to use this detection method for preliminary screening of the irradiated foods but further work is necessary to confirm these findings.

Key Words : food irradiation, microbial detection, heat treatment, blind trial, viable cell count

^{*1} Nuclear Fuel Industries Ltd.

^{*2} Osaka Prefecture University

^{*3} Japan Food Research Laboratories

^{*4} Japan Radio Isotope Association

*5 Japan Food Hygiene Association

*6 Tokyo Kenbikyo-In Foundation

*7 Japan Oilstuff Inspector's Corp.

*8 Japan Frozen Foods Inspection Corp.

*9 Japan Electron Beam Irradiation Service Co., Ltd.

*10 Mycotoxin Inspection Corp.

*11 Chugoku Gakuen University

Koshikawa, T. ^{*1}, Matsushima, M. ^{*1}, Hironiwa, T. ^{*1}, Takekawa, T. ^{*2} and Miyahara, M. : **Improving the Determination of Irradiation Efficacy by the Identification of Surviving Bacteria from Irradiated Spices**

Bokin. Bobai, **37**, 15-20 (2009)

The identification of the surviving bacteria isolated from 5 kinds of irradiated spices (allspice, oregano, sage, paprika and Black pepper) was carried out to know whether these bacteria were marker organisms to determine the efficacy of the irradiation treatment.

Except in paprika, *B. megaterium* was detected. In allspice, paprika and black pepper *B. pumilus* was detected. *B. cereus* was detected in allspice, oregano and black pepper. Gram negative bacteria such as *Methylobacterium* and *Enterobacter* genus were also detected in oregano, sage and paprika. These bacteria were strongly resistant to radiation, and can be used as marker organisms for the determination of the efficacy of the irradiation treatment of spices.

Keywords: Food irradiation, Irradiated food detection, Irradiated spices, Spore-forming bacteria, Identification of surviving bacteria

^{*1} Koka Laboratory, Japan Radioisotope Association

^{*2} Nuclear Fuel Industries, Ltd.

Tsutsumi, T., Miyoshi, N., Sasaki, K., Maitani, T. : **Bio-sensor immunoassay for the screening of dioxin-like polychlorinated biphenyls in retail fish**

Anal. Chim. Acta., **617**, 177-183 (2008)

Dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) often make up the majority of the toxic equivalent (TEQ) contribution of dioxins found in fish samples. For the purpose of making risk assessments, it is therefore important to develop screening methods for determining TEQ concentrations of DL-PCBs in retail fish. We have developed a rapid biosensor immunoassay (BIA) for DL-PCBs that uses a surface plasmon resonance

sensor (Biacore 3000). The BIA is highly specific for 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 118) that is generally the most abundant DL-PCB isomer found in fish. The fish extracts were first cleaned up on a multilayer silica gel column followed by an alumina column, then subjected to the assay. The quantitative limit of the assay was 1 ng PCB 118 per gram of tested sample. Dilution and recovery tests using purified fish extracts suggested that the matrix effect was minimized in the assay by diluting the analyzed samples. The assay results for retail fish samples ($n = 7$) agreed well with those obtained by an enzyme-linked immunoassay (ELISA) using the same monoclonal antibody: ELISA has been already validated for determining DL-PCBs in fish samples, so BIA performs well in this analysis. Finally, BIA results for the TEQ concentrations of DL-PCBs in retail fish samples ($n = 10$) correlated well with those obtained by high-resolution gas chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry ($r = 0.89$). Our method is therefore useful for screening retail fish to determine the TEQ concentrations of DL-PCBs.

Keywords: dioxin-like PCBs, Biacore, fish

Tsutsumi, T., Amakura, Y., Ashieda, K. ^{*1}, Okuyama, A. ^{*2}, Tanioka, Y. ^{*3}, Sakata, K. ^{*3}, Kobayashi, Y. ^{*4}, Sasaki, K., Maitani, T. : **PCB 118 and Aryl Hydrocarbon Receptor Immunoassays for Screening Dioxins in Retail Fish**

J. Agric. Food Chem., **56**, 2867-2874 (2008)

The efficacy of a combination of two enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits was examined for screening the toxic equivalent (TEQ) concentrations of dioxins in retail fish. The coplanar PCB EIA system (PCB-EIA), which is a competitive immunoassay specific for polychlorinated biphenyl (PCB) 118, was tested as a screening method for mono-*ortho* PCBs. The Ah-immunoassay (Ah-I), which is an ELISA-based aryl hydrocarbon receptor binding assay, was analyzed for its screening ability for non-*ortho* PCBs, polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs). Dilution and recovery tests using purified fish extracts revealed no major interference of the matrix in the PCB-EIA, and suggested that the matrix effect was minimized in the Ah-I. Finally, the results for the fish samples ($n = 20$) showed a strong correlation between this method and high-resolution gas chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry for the determination of the TEQ concentrations of mono-*ortho* PCBs ($r = 0.99$), and

non-*ortho* PCBs and PCDD/Fs ($r = 0.97$). These data indicate that our method is suitable for screening retail fish to determine the TEQ concentrations of dioxins.

Keywords: ELISA, Ah receptor, dioxins

^{*1} Nisshin Environmental Planning Inc.

^{*2} EnBioTec Laboratories Co., Ltd.

^{*3} Daiichi Fine Chemical Co., Ltd.

^{*4} KUBOTA Corporation

Amakura, Y.^{*1}, Tsutsumi, T., Tanno, K.^{*2}, Nomura, K.^{*2}, Yanagi, T.^{*2}, Kono, Y.^{*2}, Yoshimura, M.^{*1}, Maitani, T., Matsuda, R., Yoshida, T.^{*1} : **Dioxin concentrations in commercial health tea materials in Japan**

J. Health Sci., **55**, 290-293 (2009)

This study determined the concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and dioxin-like polychlorinated biphenyls (dioxin-like PCBs) in five selected plant materials [dokudami (from houttuynia herb), rose hip (from rosa fruit), ebisugusa (from cassia seed), rooibos, and tochu (from eucommia leaf)] used as health teas in Japan. The toxic equivalent quantity (TEQ) levels for dioxins in the samples ranged from <0.001 to 0.27 pg-TEQ/g weight, when undetectable and trace amounts were taken as zero. The mean of total TEQ level in commercial tea materials was estimated as 0.08 pg-TEQ/g (n=5). The total TEQ in these samples was mainly dominated by the levels of PCDD/Fs (representing *ca.* 80% of the total TEQ).

Keywords: dioxin, health tea, food

^{*1} Matsuyama University

^{*2} Japan Food Research Laboratories

Amakura, Y.^{*1}, Tsutsumi, T., Sasaki, K., Nakamura, M.^{*2}, Yoshida, T.^{*1}, Maitani, T. : **Influence of food polyphenols on aryl hydrocarbon receptor-signaling pathway estimated by *in vitro* bioassay**

Phytochemistry, **69**, 3117-3130 (2008)

The aryl hydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-activated transcription factor that mediates the toxic and biological action of many aromatic environmental pollutants such as dioxins. We investigated the activation of the AhR by some vegetable constituents, including flavonoids, tannins, and related polyphenols, using the AhR-based *in vitro* bioassay for dioxins. Among tested compounds, isoflavones such as daidzein, resveratrol having a stilbene

structure, some flavanones such as naringenin, and flavones such as baicalein, showed a marked AhR activation. On the other hand, some flavones such as apigenin, flavonols such as quercetin and anthraquinones such as emodin among vegetable polyphenols, showed notable inhibitory effects on the *in vitro* activation of AhR induced by the dioxin [2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)]. Additionally, AhR-mediated interaction of some plant food extracts, including vegetables, fruits, herb and teas, were tested by using AhR-based bioassay. Of the tested samples, some green leafy vegetables, citrus fruits and herbs, containing food polyphenolics, showed AhR-based interactions at high concentrations. On the basis of these data, we discussed the implications of polyphenols on the AhR-signaling pathway.

Keywords: polyphenol, aryl hydrocarbon receptor, *in vitro* bioassay

^{*1} Matsuyama University

^{*2} Hiyoshi Corporation

Kodama, T.^{*1}, Kuribara, H.^{*1}, Minegishi, Y.^{*2}, Futo, S.^{*3}, Watai, M.^{*4}, Sawada, C.^{*5}, Watanabe, T., Akiyama, H., Maitani, T., Teshima, R., Furui, S.^{*6}, Hino, A.^{*6}, Kitta, K.^{*6} : **Evaluation of Modified PCR Quantitation of Genetically Modified Maize and Soybean Using Reference Molecules Interlaboratory Study**

JAOAC Int., **92**, 223-233 (2009)

Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based quantitative methods were previously developed and validated for genetically modified (GM) maize or soy. In this study, the quantification step of the validated methods was modified, and an interlaboratory study was conducted. The modification included the introduction of the PCR system SSIIB 3 instead of SSIIB 1 for the detection of the taxon-specific sequence of maize, as well as the adoption of *colE1* as a carrier included in a reference plasmid solution as a replacement for salmon testis. The interlaboratory study was conducted with the ABI PRISM 7700 and consisted of 2 separate stages: (1) the measurement of conversion factor (Cf) value, which is the ratio of recombinant DNA (r-DNA) sequence to taxon-specific sequence in each genuine GM seed, and (2) the quantification of blind samples. Additionally, Cf values of other instruments, such as the ABI PRISM 7900 and the ABI PRISM 7000, were measured in a multilaboratory trial. After outlier laboratories were eliminated, the repeatability and reproducibility for 5.0% samples were <15.8 and 20.6%, respectively. The

quantitation limits of these methods were 0.5% for Bt11, T25, and MON810, and 0.1% for GA21, Event176, and RR soy. The quantitation limits, trueness, and precision of the current modified methods were equivalent to those of the previous methods. Therefore, it was concluded that the modified methods would be a suitable replacement for the validated methods.

Keywords: polyphenol, aryl hydrocarbon receptor, in vitro bioassay

*¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center

*² Nippon Gene Co., Ltd.

*³ Fasmac Co., Ltd.

*⁴ Japan Food Research Laboratories

*⁵ Japan Frozen Foods Inspection Corp.

*⁶ National Food Research Institute

渡邊敬浩, 関野理子, 白政優子, 松田りえ子, 米谷民雄: 安全性定量PCR法により得られる遺伝子組換えダイズ定量値に対するマトリクス品種の影響
食品衛生学雑誌, 49, 294-302 (2008)

代表的な非遺伝子組換えダイズ10品種を用い, 遺伝子組換えダイズ(RRS)を対象とした定量PCR法により得られる定量値への影響を調査し, さらにその要因について検討した. その結果, 粉体重量混合率を真値とすると, マトリクスとなる非遺伝子組換えダイズの品種よって定量値との間にbiasが生じ, その大きさは品種依存的に変動することが明らかになった. 一方で, DNA収量が品種により異なること, さらには, 個別に抽出したDNAをその重量比として混合した試料を分析した場合には, 混合率によく合致した定量値が得られることが明らかとなった. これらの結果から, 定量PCRに供されるDNA溶液中に含まれるRRSならびに非遺伝子組換えダイズに由来するDNAの量比が, 粉体重量混合率を保持しえない事が, 粉体重量混合率と定量値との間に品種に依存したbiasを生じる大きな要因であることが強く示唆された.

Keywords: genetically modified soy, quantitative PCR method, PCR, testing method

渡邊敬浩, 米谷民雄*, 松田りえ子: リアルタイムPCR法における検量線に基づき推定されるコピー数の変動要因

食品衛生学雑誌, 50, 1-5 (2009)

リアルタイムPCR法により作成される検量線の信頼区間を, Ct値の変動から推定した. 得られた結果は実際の検量線の変動範囲と良く一致した. 検量線の95%信頼区間で認められた変動幅は最大で±1%程度であったが, 個

別の検量線から推定されるコピー数の変動は大きく, 20コピーでは±40%の範囲に推定値が分布した.

各検量点におけるCt値の標準偏差は, 20コピーの場合に特に大きく, これが原因となり検量線の変動が大きくなっていると考えられた. しかし, 20コピーでのCt値のばらつきは測定系に入るコピーの確率分布に起因すると考えられ, 分析法の改良により低減することは不可能である. 20コピーの検量点を除いて作成した検量線では, 両端の変動幅は小さくなり測定精度が向上した.

Keywords: real-time PCR, calibration curve, precision

* 静岡県立大学

松田りえ子, 渡邊敬浩, 五十嵐敦子, 白政優子, 米谷民雄: トータルダイエツト試料の分析による硝酸塩の摂取量推定

食品衛生学雑誌, 50, 29-33 (2009)

マーケットバスケット方式によって国内11カ所で調製したトータルダイエツト試料を分析し, 硝酸塩の摂取量を推定した. 推定された摂取量は4.0 mg/kg/dayであり, JECFAの定めたADIを8%超過していた. 硝酸塩の主要な摂取源は, 7群(有色野菜)および8群(その他の野菜, 漬け物, 海藻)であり, この2群からの摂取量が総摂取量の80%以上を占めていた. 個別食品について報告された硝酸塩濃度と, 食品の1日摂取量を勘案すると, ホウレンソウからADIの38%, 白菜から10%, 大根から20%を摂取していると推定された.

Keywords: nitrate, daily intake, total diet sample

河村葉子, 六鹿元雄, 山内朋子*, 植田新二*, 棚元憲一: 玩具塗膜からのカドミウムおよび鉛の溶出試験

食品衛生学雑誌, 50, 93-96 (2009)

玩具塗膜中のカドミウム (Cd) および鉛 (Pb) の規格設定のため, 食品衛生法とISO 8124-3の溶出試験法および規格値について比較検討した. 塩化ビニル樹脂塗料とアクリル樹脂塗料にCdおよびPbを1,000 mg/kg添加し, ガラス板に塗布乾燥して塗膜を調製した. 食品衛生法に従い塗膜1 cm²あたり2 mLの水を用い40℃ 30分間静置したところ, いずれも溶出は認められなかった (定量限界 各0.1 μg/mL). また溶媒を4%酢酸や0.07 mol/L塩酸に変更したところ, アクリル樹脂塗料では0.3 ~ 2.3 μg/mLの溶出がみられたが, 塩化ビニル樹脂塗料では認められなかった. 一方, ISO規格に従い塗膜を削り取って粉碎し, その50倍量の0.07 mol/L塩酸を加えて37℃で1時間振とうし1時間静置したところ, すべての試料で規格値を3.5 ~ 12倍超過する溶出が認められた. ISO規格の試験法は塗膜を粉碎したのち酸性溶媒で溶出するため

溶出力が強く、規格値が高いにもかかわらずより厳しい規格であることが確認された。

Keywords: baby toy, cadmium, lead

* (財) 化学物質評価研究機構

Ohmori, K.^{*}, Kawamura, Y. : **Cell transformation activities of abietic acid and dehydroabietic acid: safety assessment of possible contaminants in paper and paperboard for food contact use**

Food Additives and Contaminants Part A, **26**, 568-573 (2009)

Abietic acid (AA) and dehydroabietic acid (DHA) have been detected in virgin paper products and recycled paper products used for food packaging. In order to evaluate the cell transformation activities of AA and DHA, the Bhas 42 cell-transformation assay for initiation and promotion was carried out. Tested in the initiation stage, AA and DHA did not significantly increase transformation frequencies. On the other hand, both chemicals induced transformed foci dose dependently at the promotion stage. The highest transformed foci density induced by AA was about 13 foci/well at 60 nmol/mL, and that of DHA was about 16 foci/well at 40 nmol/mL (solvent control=2.3 ± 1.4 foci/well). The present results suggest that AA and DHA may have tumour-promoting potential.

Keywords: abietic acid, Bhas 42 cell transformation, genotoxicity

* Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

建部千絵, 河崎裕美, 杉本直樹, 佐藤恭子, 棚元憲一:
LC/MSによるポリソルベート類の分析

日本食品化学学会誌, **15**, 129-134 (2008)

LC/MSを用いたポリソルベート (PS) 類の新たな確認試験法を開発した。20ポリオキシエチレン (EO) ソルビタン (So) モノ, ジ, トリエステル (FA) (So-EO (20) -FA (1 ~ 3)) のNa付加体からなる分子から計算された選択イオンを指標とし, LC/MSによる選択イオンモニタリング (SIM) モードで分析した。その結果, 各PSのSIMピークは構成脂肪酸とPSのエステル化の度合いにより, 異なる保持時間に溶出した。また, それぞれのSIMピークには異なる長さのEO (12 ~ 35) が確認された。この方法を用いて, PS40のTLC分析で検出されるスポット中の分子種の同定を試みた。分取TLCによって得られたTLCの2つの主スポットをLC/MSで分析したところ, So-EO (20) -モノパルミテートまたはSo-EO (20)

-ジパルミテートを主成分として含むことが分かった。また, PS60が添加されたミルクココアの抽出液についてLC/MSによるSIM測定を行ったところ, So-EO (20) -モノステアレート, So-EO (20) -トリステアレートおよびSo-EO (20) -モノパルミテートが含まれていた。

Keyword: polysorbate, LC/MS, oxyethylene (EO)

河崎裕美, 建部千絵, 高木繁行, 川崎有記^{*}, 原 貴彦^{*}, 飯塚太由^{*}, 杉本直樹, 佐藤恭子, 棚元憲一: **食品中のポリソルベートの分析**

日本食品化学学会誌, **15**, 122-128 (2008)

通知分析法を設定するため, 食品中のポリソルベート (PS) 類のTLCを用いた迅速なスクリーニング検査法および比色定量法を開発した。加工食品より, PSをメタノール含有アセトニトリルで抽出した。抽出液は, 色素やその他の妨害物質を除くため, アルミナカラム (酸化アルミナ, 塩基性, 10 g) とシリカゲルカートリッジ (Sep-Pak Plus Silica, 690 mg) を用いて精製した。TLCの最適条件は以下の通り。薄層板, シリカゲル; 展開溶媒, ジクロロメタン・メタノール・アセトン・水混液 (100 : 20 : 15 : 3); 発色試液, ドラージェンドルフ試液。PS含量は, PS80を標準品としたチオシアン酸コバルト法により比色定量して求めた。11種類の食品にPS80を0.1 g/kgとなるように添加したときの回収率は, フリーズドライ製品で24.6%と低かったものを除き, 48.8 ~ 76.2%であった。本法における定量下限は0.02 g/kgであった。PS60を含むミルクココアに本法を適用し, PS80として0.26 g/kgを検出した。

Keyword: polysorbate, processed food, TLC

* (財) 食品環境検査協会

河崎裕美, 古庄紀子, 建部千絵, 久保田浩樹, 柳 徳枝^{*1}, 安河内義和^{*2}, 森 曜子^{*2}, 山下靖子^{*3}, 飯塚太由^{*3}, 高畑 薫^{*4}, 高橋仁一^{*5}, 佐藤恭子, 棚元憲一: **GC-ECDによる食用赤色104号 (フロキシシン) および105号 (ローズベンガル) 中のヘキサクロロベンゼンの分析**

食品衛生学雑誌, **50**, 6-9 (2009)

指定添加物として使用が認められている食用赤色104号 (R104) および105号 (R105) 中のヘキサクロロベンゼン (HCB) の電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (GC/ECD) による分析法の検討を行った。色素を水に溶解後, ヘキサンで抽出し, 無水硫酸ナトリウムで脱水したものを, 試験溶液とした。R104, R105にHCBを2および5 μg/gとなるように添加し, 5分析機関で添加回収試験を実施したところ, 平均回収率は98.2% ~

103.7%, RSD_i は2.9%~6.0%, RSD_R は4.2%~9.3%であった。また, HORRAT値は1未満と室間再現性は良好であったことから, 本分析法の妥当性が確認された。

Keywords: hexachlorobenzene, phloxine, rose bengal

*1 (財) 日本食品分析センター

*2 (財) 冷凍食品検査協会

*3 (財) 食品環境検査協会

*4 (社) 東京都食品衛生協会東京食品技術研究所

*5 日本食品添加物協会

多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 秋山卓美, 麻野間正晴^{*1}, 尹 永淑^{*2}, 山崎 壮, 棚元憲一: 既存添加物苦味料ジャマイカカシア抽出物の成分組成に基づく基原植物の検討

食品衛生学雑誌, **50**, 16-21 (2009)

ジャマイカカシア抽出物製品間の成分組成の差異や副成分について検討した。4製品のLC/MS分析を行った結果, 主成分に加え副成分の組成もよく一致した。4製品に共通の副成分4種を単離して11-dihydro-12-orneoquassin, canthin-6-one, 4-methoxy-1-vinyl- β -carboline および4,9-dimethoxy-1-vinyl- β -carbolineと同定した。次に, アメリカニガキおよびニガキの枝から熱水抽出物を調製し, LC/MSにより本製品と成分組成を比較した。その結果, 本製品はアメリカニガキ抽出物に類似していた。既存添加物名簿収載品目リストには, ジャマイカカシア抽出物の基原としてジャマイカカシアが当てられているが, 国際自然保護連合により絶滅危惧種に指定されており, 入手困難である。本研究から, 我が国に流通する製品の基原はアメリカニガキであることが示唆された。

Keywords: Jamaica quassia extract, food additive, bittering agent

*1 名古屋市衛生研究所

*2 東京薬科大学

松藤 寛^{*1}, 佐々怜一郎^{*1}, 本間友輝^{*1}, 宮島拓臣^{*1}, 千野 誠^{*1}, 山崎 壮, 島村智子^{*2}, 受田浩之^{*2}, 松井利郎^{*3}, 松本 清^{*3}, 山形一雄^{*1}: 抗酸化物質の2成分混合系におけるDPPHラジカル消去活性

日本食品科学工学会誌, **56**, 129-136 (2009)

DPPHラジカル消去活性測定法を用いて, 2成分間の活性に及ぼす効果(相乗効果, 相加効果, 相殺効果)について検討した。11種の酸化防止剤55通りの組み合わせでは, 36通りにおいて統計上相乗効果, 1通りで相殺効果と判定される結果が得られた。一方, 24種の化合物276通りの組み合わせ(うち15通りは重複)では, 74通りに

において相乗効果, 61通りで相殺効果が得られた。しかし, これらの多くの組み合わせによる効果は弱く, 相加効果をわずかに上回る, あるいは下回る程度であり, 2割以上の活性増強が認められた組み合わせは14通り, 2割以下の活性低下が認められた組み合わせは33通りであった。一方, α -トコフェロールとの組み合わせのうち6通りで, p -クマル酸との組み合わせのうち4通りで2割以上の活性増強が観察され, バニリン酸との組み合わせのうち17通りで, p -クマル酸との組み合わせのうち12通りで2割以下の活性低下が観察された。

Keywords: antioxidant activity, synergy, antagonism

*1 日本大学

*2 高知大学

*3 九州大学

六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子, 棚元憲一: 瓶詰食品中のセミカルバジドの分析

日本食品化学学会誌, **15**, 67-72 (2008)

食品中のセミカルバジド(SEM)の定量法を確立し, 我が国で流通する瓶詰食品中のSEM含有量について調査を行った。併せてキャップシーリング中の含有量についても調査を行い, それらの関連性を検討した。瓶詰食品64検体についてSEM含有量を測定した結果, 32検体から0.6~46.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 検出された。そのうち, ベビーフードでは11検体中9検体から5.7~46.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 検出され, 欧州の調査結果ともよく一致していた。一般食品では53検体中23検体から0.6~45.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 検出された。このレベルは欧州の調査結果と比べてやや高かった。SEMが検出されたすべての瓶詰食品では, シーリングからSEMまたはその親化合物であるヒドロラジカルボンアミドが検出された。このことから, 食品中のSEMはシーリングに添加されたアゾジカルボンアミド由来であることが確認された。

Keywords: sealing gasket, semicarbazide, azodicarbonamide

Mutsuga, M., Kawamura, Y., Tanamoto, K.: Migration of lactic acid, lactide and oligomers from polylactide food contact materials

Food Additives and Contaminants Part A, **25**, 1285-1292 (2008)

Poly lactide (PLA) is used for manufacturing lunch boxes and for packaging fresh food in Japan. PLA can be hydrolyzed relatively easily to produce lactic acid, lactide and oligomers. Different types of PLA sheet were subjected to migration tests under various conditions and the lactic acid, lactide and oligomers contents of the migration solutions

were determined using LC/MS. Furthermore, the change in molecular weight was determined by a migration test. PLA was stable at 40°C for 180 days, the total of lactic acid, lactide and oligomers migration levels were 0.28–15.00 µg/cm². PLA decomposed clearly at 60°C for only 10 days, the total migration levels were increased to 0.73–2840 µg/cm². PLA sheets with a high D-lactic acid content decomposed particularly rapidly. The amount of alkali decomposition products, based on the conversion of lactide and oligomers to lactic acid by alkali hydrolysis, corresponded with the total migration levels.

Keywords: polylactide, lactic acid, lactide

Boonmar, S.^{*1}, Markvichitr, K.^{*1}, Chaunchom, S.^{*1}, Chanda, C.^{*2}, Bangtrakulnonth, A.^{*3}, Pomrunangwong, S.^{*3}, Yamamoto, S., Suzuki, D.^{*4}, Kozawa, K.^{*4}, Kimura, H.^{*5}, and Morita, Y.^{*4} : **Salmonella prevalence in slaughtered buffaloes and pigs and antimicrobial susceptibility of isolates in Vientiane, Lao People's Democratic Republic**

J. Vet. Med. Sci., **70**(12), 1345-1348(2008)

This is the first report regarding isolation of *Salmonella* from cecum samples of buffaloes and pigs and characterization of the isolates in Laos. The organisms were isolated from 8% (4/50) of buffaloes and 76% (37/49) of pigs. In buffaloes, 3 animals harbored serotype 9, 12: -:1,5, and 1 animal harbored both S. Derby and S. Javiana. In pigs, the most predominant serotypes were S. Derby (51%) followed by S. Anatum (45%), S. Weltevreden (15%) and S. Stanley (5%). The buffalo isolates were susceptible to the antimicrobials tested, whereas the pig isolates showed 10 resistance patterns to 1-5 antibiotics. Of the 59 pig isolates, the resistance rates to tetracycline, streptomycin, ampicillin, sulfamethoxazole-trimethoprim, chloramphenicol, amoxicillin-clavulanic acid and malidixic acid were 24%, 22%, 14%, 5%, 2%, 2% and 2%, respectively. The results suggest that pigs and buffaloes harbor Salmonella, with a higher prevalence especially in pigs, and all the isolates showed sensitivity to cefotaxime, norfloxacin and ciprofloxacin.

Keywords: buffaloes, Lao People's Democratic Republic (Laos), *Salmonella*

*1 カセサート大学 (タイ)

*2 ラオス国立大学

*3 タイNIH

*4 群馬県環境衛生研究所

*5 国立感染症研究所

Boonmar, S.^{*1}, Chanda, C.^{*2}, Markvichitr, K.^{*1}, Chaunchom, S.^{*1}, Yingsakmongkon, S.^{*1}, Yamamoto, S., and Morita, Y.^{*3} : **Prevalence of *Campylobacter* spp. in slaughtered cattle and buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic**

J. Vet. Med. Sci., **69**(8), 853-855(2007)

This is the first report regarding isolation of *Campylobacter* in caecum and bile samples obtained from ruminants in Vientiane, Lao PDR. *Campylobacter* was isolated from 3 (1.6%) of the 184 caecum samples and 1 (1.0%) of the 100 bile samples obtained from buffaloes. Three of the 4 isolates were determined to be *C. jejuni*, which was detected in 2 caecum samples and 1 bile sample; the other caecum sample contained *C. fetus*. *Campylobacter* was not isolated from any of the 82 cattle caecum samples. Our results suggest that cattle and buffaloes may not be important sources of *Campylobacter* food poisoning in Lao PDR.

Keywords : *Campylobacter*, Lao People's Democratic Republic (PDR), ruminant

*1 カセサート大学

*2 ラオス国立大学

*3 群馬県環境衛生研究所

Chandra, JHA, V.^{*1}, Morita, Y.^{*2}, Dhakal, M.^{*1}, Besnet, B.^{*1}, Sato, T.^{*3}, Nagai, A.^{*2}, Kato, M.^{*2}, Kozawa, K.^{*2}, Yamamoto, S., and Kimura, H.^{*4} : **Isolation of *Mycobacterium* spp. from milking buffaloes and cattle in Nepal**

J. Vet. Med. Sci., **69**(8), 819-825(2007)

In Nepal, mycobacterial isolates obtained from the milk and feces of buffaloes and cattle that were positive for the single intradermal cervical tuberculin (SICT) tests were genetically identified. A total of 36 mycobacteria strain were isolated from 39% of the buffaloes (14 of 36) and 34% of the cattle (11 of 32). Of the 36 strains, 13 were identified as *M. bovis*, and these strains were isolated and from 17% of the buffaloes (6 of 36) and 16% of the cattle (5 of 32). *M. bovis* was isolated from both the milk and feces of one buffalo and one cattle, the milk alone of three buffaloes and three cattle, and the feces alone of two buffaloes and one cattle. These results suggest that milking buffaloes and cattle infected with *M. bovis* exist in Nepal. The remaining 23 strains were atypical mycobacteria. A

program for the elimination of bovine tuberculosis should be implemented as soon as possible, and the public health education and proper hygienic practices may be required.

Keywords : buffalo, mycobacteria, Nepal

*¹ ネパール農務省

*² 群馬県環境衛生研究所

*³ JICAネパール

*⁴ 国立感染症研究所

Toyota-Hanatani, Y.^{*1}, Inoue, M.^{*2}, Ekawa, T.^{*1}, Ohta, H.^{*1}, Igimi, S., and Baba, E.^{*3} : **Importance of The Major Fli C Antigenic Site of *Salmonella* Enteritidis as A Subunit Vaccine Antigen**

Vaccine, **26**(33), 4135-4137 (2008)

Our previous study indicated that the antibody against the major antigenic site of SE Fli C (g.m. region) is characteristically produced after the application of SE bacterin, however, the antibody is not produced in chickens after SE infection. In the present study, we determined histologically if the major antigenic site could be a candidate antigen for SE subunit vaccine. When Layermune SE, a commercial SE bacterin, was injected subcutaneously into the shoulder region as a positive control, the following histological changes were observed: formation of epithelioid granuloma with epithelioid cells and multinuclear giant cells surrounding necrotic sites and oil cysts (Indicator 1); a perivascular accumulation of lymphocytes near the granulation tissue (Indicator 2); peripheral fibroplasia encapsulating the granulation tissue (Indicator 3). On the other hand, at the injection site from the incomplete Freund adjuvant as a negative control antigen, there was only hyperplasia of the connective tissues around oil cysts. By using these indicators, the histological changes induced by injection of major antigenic site (SEp9) of Fli C, Fli C, and SE somatic antigen were evaluated. Histological changes after the injection with SEp9 demonstrated Indicators 2 and 3. The injection with SE Fli C demonstrated all three indicators. Contrarily, de-flagellated SE antigen injection induced only Indicator 3. The present results suggest that the antigen g.m. site of SE Fli C (SEp9) may play an important role as a subunit vaccine not only for including continuous immunological reaction in SE infection in chickens but also for antigen presentation.

Keywords : *Salmonella*, vaccine antigen, flagella

*¹ CAF Laboratories

*² Yamaguchi University

*³ Osaka Prefecture University

Toyota-Hanatani, Y.^{*1}, Ekawa, T.^{*1}, Ohta, H.^{*1}, Igimi, S., Hara-Kudo, Y., Sasai, K.^{*2}, Baba, E.^{*2} : **An Assessment of Inactivated *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis (SE) Vaccine Treatment in Layer Flocks with Regard to Public Health**

Appl. Environment. Microbiol., **75**, 1005-1010 (2009)

Although there have been several reports on the efficacy assessment of a *Salmonella enterica* serovar Enteritidis vaccine against intestinal and parenchymatous organ diseases of laying hens, no public health risk characterization of its long-term effect on eggs has been reported. In this study, we attempted to assess the public health effect of an inactivated *S. enterica* serovar Enteritidis vaccine against serovar Enteritidis contamination of chicken eggs. We analyzed serovar Enteritidis isolation test results from four windowless farms in which inactivated-vaccine administration was initiated based on the sanitary monitoring program of a farm. When flocks with and without *S. enterica* serovar Enteritidis vaccine treatments were mixed, the application of an inactivated serovar Enteritidis vaccine decreased the most probable number (MPN) of bacteria by at least 100-fold in broken (liquid) egg samples positive for serovar Enteritidis, although a statistical difference between those MPNs could not be obtained. The isolation frequency after the vaccine application was less than 1/10 ($P < 0.01$). No *S. enterica* serovar Enteritidis bacteria were isolated approximately 1 year after all of the chickens had received the inactivated serovar Enteritidis vaccine. It was suggested that an adequate administration of an inactivated serovar Enteritidis vaccine reduced the contamination risk of eggs (the number of isolated serovar Enteritidis cells and detection frequency) compared to the contamination risk of eggs laid by nonvaccinated hens.

Keywords : *Salmonella* Enteritidis, vaccine, layer flock

*¹ CAF Laboratories

*² Osaka Prefecture University

Takeshi, K.^{*1}, Kitagawa, M.^{*2}, Kadohira, M.^{*1}, Igimi, S., and Makino, S.^{*1} : **Hazard analysis of *Listeria monocytogenes* contaminations in processing of salted roe from Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) in Hokkaido, Japan**

J. Vet. Med. Sci., **71**, 87-91 (2009)

Hazard analysis of *Listeria monocytogenes* contamination during processing of salted walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) roe was performed for a seafood plant in Japan from December 2005 to February 2006. As a result, *L. monocytogenes* number was detected on the pallet used for transport of barrels in the salting process and one of the rollers of the roller conveyor, which rotates while in contact with the bottoms of the barrels, but was not detected in any raw materials, interim products or final products. Thus, we believe that the pallet contamination initially occurred because of insufficient washing, that it was passed on to the bottoms of the barrels and that it was then passed on to the roller of the roller conveyor by cross-contamination. Therefore, it is possible that interim and final products may become contaminated by processing devices and machinery. In addition, we conducted an inoculation study designed at the 1/20 actual factory scale using interim products with or without artificial color and seeded with *L. monocytogenes* to observe changes in its growth. In the inoculation study, multiplication of *L. monocytogenes* during the salting process was not confirmed in the samples with artificial color.

Keywords : *Listeria monocytogenes*, salted walleye pollock roe, hazard analysis

¹ Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

² Hokkaido Kushiro Fisheries Experiment Station

Kajikawa, A. and Igimi, S. : **Reduction of TNF- α Inducing Capacity of Recombinant *Lactobacillus casei* Caused by the Expression of Salmonella OmpC**

Appl. Environment. Microbiol., **75**(9), 2727-2734 (2009)

The insertion of a heterologous gene into commensal bacteria is a common technique to develop a delivery agent for vaccination and therapies, but the pleiotropic effects of genetic modifications need to be investigated before its use in practical applications. Although supplemental properties provided by the expression of heterologous antigens have been reported, the negative or side effects on the immunomodulating properties caused by recombination are barely understood. In the present study, we fortuitously found that the secretion of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) from murine macrophages was reduced by recombinant *Lactobacillus casei* expressing *Salmonella* OmpC compared to the stimulation of TNF- α secretion by nonexpressing

L. casei. This reduction could not be attributed to OmpC as a purified protein. The main component of the OmpC-expressing strain included in the attenuation of TNF- α release seemed to be the cell wall, which exhibited higher sensitivity against N-acetylmuramidase than that of nonexpressing strains. These results suggest that the recombinant strain expressing a specific heterologous antigen might be digested rapidly in macrophages and lose immune-stimulating capability at an early time point.

Keywords : recombinant, tumor necrosis factor alpha, *Lactobacillus casei*

松村浩介*, 清水晃*, 河野潤一*, 五十君静信 : 畜水産食品からの黄色ブドウ球菌検出のための選択分離培地および選択増菌培地の検討

日本食品微生物学会雑誌, **26**(1), 23-27 (2009)

わが国の黄色ブドウ球菌の試験法は、海外で広く用いられている試験法と比べると、用いられている選択分離培地の種類が異なっていることや、ISO法やBAM法のような規格化されたプロトコールとなっていないなどの指摘がある。食品流通がグローバル化する現状では、国際的に互換性がある黄色ブドウ球菌試験法を整備する必要がある。このため、筆者らは市販の食肉類およびその加工品と魚介類を用いて、直接平板培養法によるMSEY培地とBP培地の検出比較、選択増菌培養法における増菌培地の食塩添加濃度と培養時間について検討した。

Keywords : *Staphylococcus aureus*, selective media, meat

* 神戸大学

Asakura, H., Kawamoto, K*, Haishima, Y., Igimi, S., Yamamoto, S., and Makino, S.*¹ : **Differential expression of the outer membrane protein W (OmpW) stress response in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 corresponds to the viable but non-culturable state**

Res. Microbiol., **159**, 709-717 (2008)

During an outbreak of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157, we showed previously that food isolates were resistant to oxidative stress, while patient isolates were sensitive to it. Because food isolates increased stress-sensitivity after mouse passage, this change most likely occurred during passage through patients. Here we demonstrate that the phenotypic change occurring during mouse passage correlates with the stress response of outer membrane protein W (OmpW) in EHEC O157 strains. Upon induction of oxidative stress, OmpW was highly

expressed only in the stress-sensitive MP37 strain, obtained by mouse passage of food strain F2, but not in the F2 strain. Western blotting confirmed that expression of OmpW was induced in the viable but non-culturable (VBNC) state. Deletion of *ompW* in the MP37 strain increased recovery from dormancy, while overexpression of OmpW in the F2 strain decreased recovery when exposed to oxidative stress, suggesting that high levels of OmpW sensitize the bacteria to stress. DNA alignment revealed that the class I integron (*intI1*) fragments flanking the *ompW* gene are oriented in opposite directions between stress-resistant and -sensitive strains. All stress-sensitive strains induced *ompW* under stress. We propose that the different stress response of OmpW was introduced by genetic alteration during in vivo passage.

Keywords: enterohemorrhagic *Escherichia coli*, outer membrane protein, stress response

* Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

Okada, Y., Makino, S.*¹, Okada, N.*², Asakura, H., Yamamoto, S., and Igimi, S. : **Identification and analysis of the osmotolerance associated genes in *Listeria monocytogenes***

Food Additives and Contaminants, **15**, 1-6 (2008)

Listeria monocytogenes, the causative agent of listeriosis, has strong osmotolerance and is able to grow in severe circumstance. Many studies about mechanisms of listerial osmotolerance were performed, however, there are some parts remaining unknown. In previous studies, we constructed two kinds of mutant in *L. monocytogenes* EGD strain to analyze the mechanisms of osmotolerance in *L. monocytogenes* by molecular genetical methods. In this paper, we summarized the genetical studies of osmotolerance in this bacterium by many researchers and ourselves, as a proceeding of UJNR symposium in last November. First, we constructed a transposon-insertional mutant strain that showed reduced growth in high osmotic agar compared with the parental strain. The results of cloning and sequencing analysis showed that *rel* gene, which encodes guanosine tetra- and pentaphosphate synthesis and hydrolysis protein involves in osmotolerance in *Listeria monocytogenes*. Next, we examined the expression levels of 5 sigma factor coding genes in *L. monocytogenes* using real-time PCR, and found that *rpoN* gene (the alternative sigma factor RpoN (sigma54) encoding gene) was activated under high osmotic condition.

We constructed a deletion mutant of *rpoN* and analyzed its response to osmotic stress. In minimal medium with NaCl and carnitine, an osmoprotectant, the mutant showed deficient growth to that of the parental strain, when the starting optical density was high, though the expression level of carnitine transporter operon, *opuC*, and the rate of carnitine uptake in the mutant was similar to that of EGD. These results suggest that the *rpoN* mutant may needs larger amounts of carnitine might be needed for its growth under high osmolarity. Through the analysis of these mutants, we obtained the new insights of osmotolerance in *L. monocytogenes*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, osmotolerance

*¹ 帯広畜産大学

*² 北里大学

Suzuki, H. and Yamamoto, S. : **A Literature Survey of *Campylobacter* Contamination in Retail Poultry Meats and By-Products in the World**

Proceedings, The 15th Congress of FAVA FAVA-OIE Joint Symposium on Emerging Diseases, 51-52, (2008)

Campylobacter species are common bacterial pathogens associated with human gastroenteritis worldwide. In North America, Europe and Japan, campylobacteriosis is one of the leading food-borne bacterial illnesses and the consumption of poultry meats and/or by-products is suspected a major cause of the illness. In this study, we performed the literature survey of *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products worldwide for comparing the contamination levels among the areas or countries. In most of the countries, a majority of retail poultry meats and by-products were contaminated with *Campylobacter* spp. *C. jejuni* was usually the dominant *Campylobacter* species isolated from retail poultry and *C. coli* was less frequently isolated, although the ratio of *C. coli* to *C. jejuni* was considerably different among the countries. Especially in Thailand and South Africa, *C. coli* was the dominant *Campylobacter* species isolated from retail poultry, although the reasons are not certain. A large portion of retail poultry was contaminated with *Campylobacter* spp. in the world; therefore, proper countermeasures are required together with the sanitary handlings of poultry products.

Keywords: *Campylobacter*, poultry meats and by-products, world

Yamamoto, A.^{*1}, Iwahori, J.^{*2}, Vuddhakul, V.^{*3}, Charenrjiratragul, W.^{*3}, Vose, D.^{*4}, Osaka, K.^{*5}, Shigematsu, M.^{*6}, Toyofuku, H., Yamamoto, S., Nishibuchi, M.^{*7}, and Kasuga, F. : **Quantitative modeling for risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams in southern Thailand**

Int. J. Food Microbiol., **124**, 70-8 (2008)

A risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in bloody clams (*Anadara granosa*) consumed in southern Thailand was conducted. This study estimated the prevalence and concentration of pathogenic *V. parahaemolyticus* in bloody clams at harvest and retail stages; and during this process, methods to detect the total and pathogenic *V. parahaemolyticus* were investigated. Consumption of bloody clams and cooking efficiency were studied using interviews and onsite observation of consumers. A beta-Poisson dose-response model was used to estimate probability of illness applying estimation methods for the most likely parameter values presented by USFDA. Microbial and behavioral data were analyzed by developing a stochastic model and the simulation gave a mean number of times a person would get ill with *V. parahaemolyticus* by consuming bloody clams at 5.6×10^{-4} /person/year. Sensitivity analysis demonstrated the fraction of people who did not boil the clams properly was the primary factor in increasing risk. This study serves as an example of how a microbiological risk assessment with limited data collection and international cooperation leads to valuable local insight.

Keywords: quantitative microbiological risk assessment, *Vibrio parahaemolyticus*, bloody clams

^{*1} Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

^{*2} Kochi Medical School

^{*3} Prince of Songkla University

^{*4} BVBA Vose Consulting

^{*5} Tohoku University

^{*6} National Institute of Infectious Diseases

^{*7} Kyoto University

Kumagai, S.^{*1}, Nakajima, M.^{*2}, Tabata, S.^{*3}, Ishikuro, E.^{*4}, Tanaka, T.^{*5}, Norizuki, H.^{*6}, Itoh, Y., Aoyama, K.^{*4}, Fujita, K.^{*7}, Kai, S.^{*8}, Sato, T.^{*9}, Saito, S.^{*1}, Yoshiike, N.^{*10}, and Sugita-Konishi, Y. : **Aflatoxin and ochratoxin A contamination of retail foods and intake of these mycotoxins in Japan**

Food Additives & Contaminants: Part A, **25**(9), 1101-

1106(2008)

A survey was undertaken of aflatoxin B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2), ochratoxin A (OTA), and fumonisin B1 (FB1), B2 (FB2) and B3 (FB3) contamination of various retail foods in Japan during 2004-05. The mycotoxins were analysed by high-performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) or high-performance thin-layer chromatography (HPTLC). Aflatoxins (AFs) were detected in ten of 21 peanut butter and in 22 of 44 bitter chocolate samples; the highest level of AFB1, 2.59 µg kg⁻¹, was found in peanut butter. Aflatoxin contamination was not observed in corn products (n = 55), corn (n = 110), peanuts (n = 120), buckwheat flour (n = 23), dried buckwheat noodles (n = 59), rice (n = 83) or sesame oil (n = 20). OTA was detected in 120 out of 192 samples of oatmeal, wheat flour, rye, buckwheat flour, raw coffee, roasted coffee, raisin, beer, wine and bitter chocolate, but not in rice or corn products. OTA levels in the positive samples were below 13 µg kg⁻¹. AFs and OTA intakes through the consumption of foods containing cacao were estimated using the data for mycotoxin contamination in bitter chocolate and those for the consumption of foods containing cacao in Japan.

Keywords: aflatoxin, ochratoxin A, retail foods

^{*1} 東京大学大学院農学生命科学研究科

^{*2} 名古屋市衛生研究所

^{*3} 東京都立健康科学研究センター

^{*4} (独) 飼肥料検査所

^{*5} 神戸市環境保健研究所

^{*6} (財) 日本穀物検定協会

^{*7} (財) 日本食品分析センター名古屋支所

^{*8} 神奈川県衛生研究所

^{*9} 北里大学

^{*10}(独) 国立健康・栄養研究所

Shinkawa, N.^{*1}, Noda, M., Yoshizumi, S.^{*2}, Tokutake, Y.^{*3}, Shiraishi, T.^{*4}, Arita-Nishida, T.^{*4}, Nishio, O.^{*4}, Oka, T.^{*5}, Hansman, G.S.^{*5}, Takeda, N.^{*5}, and Kimura, H. ^{*4} : **Molecular Epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated outbreaks of gastroenteritis in Japan**

Intervirology, **51**, 422-426 (2008)

Twelve outbreaks of food handler-associated gastroenteritis between November 2002 and March 2006 in Japan were examined for norovirus (NoV) using RT-PCR and

sequence analysis. NoV was detected in 77 of 81 customers and 45 of 104 food handlers. Identical NoV sequences were detected in patients and food handlers in each outbreak.

Keywords: norovirus, foodborne outbreak, food handler

^{*1} Kagoshima Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health

^{*2} Hokkaido Institute of Public Health

^{*3} Nagano Environmental Conservation Research Center

^{*4} Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases

^{*5} Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases

Hansman, G.S.^{*1}, Oka, T.^{*1}, Li, T.C.^{*1}, Nishio, O.^{*2}, Noda, M., and Takeda, N.^{*1} : **Detection of Human Enteric Viruses in Japanese Clams**

J. Food Protect., **71**, 1689-1695 (2008)

A total of 57 clam packages that were collected from supermarkets and fish markets from 11 different sites in western Japan between 8 December 2005 and 6 September 2006 were examined for human enteric viruses (i.e., norovirus, Aichi virus, rotavirus, adenovirus, hepatitis A virus, and astrovirus), using PCR and reverse transcription PCR. Sixty-one percent of the packages were contaminated with one type of virus, 9% had two different types of viruses, 28% had three different types of viruses, and 9% had at least four different types of viruses. Thirty-one (54%) of 57 packages were contaminated with noroviruses. Norovirus genogroup I and genogroup II sequences were detected in 24 and 23 packages, respectively, and these sequences belonged to nine genogroup I and eight genogroup II genotypes. Aichi viruses were found in 19 (33%) of 57 packages, and these belonged to genogroup A. Rotaviruses (group A) were detected in 14 (42%) of 33 of packages and 9 of 14 rotavirus-positive packages contained two or more rotavirus genogroup types. Adenoviruses (Ad40 and Ad41) were detected in 17 (52%) of 33 packages. One of the 57 (2%) packages was positive with hepatitis A virus (subtype IA). Astrovirus was not detected in any of the packages. This is the first study to detect such a high level of contamination in Japanese clams. These results represent an important finding because the Japanese clams were considered suitable for human consumption. Further studies are needed to determine the health risks associated with eating these highly contaminated clams.

Keywords: human enteric viruses, clam, PCR

^{*1} Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases

^{*2} Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases

有田知子*, 木村博一*, 野田衛, 西尾治*: **パンに含まれるノロウイルスの回収法の検討**

感染症学雑誌, **82**, 473-475 (2008)

学校給食におけるノロウイルス食中毒事件では、疫学的に原因食がパンと推定される事例が認められるがパン自体からノロウイルスを検出した事例は稀である。本研究では、パンからのノロウイルス検出法を確立することを目的として、学校給食で提供される機会が最も多いコッペパンを用いてαアミラーゼで消化することで、附着しているノロウイルスを回収する実験系を検討し、回収率を向上させることができた。

Keywords: norovirus, bread, PCR

* 国立感染症研究所感染症情報センター

阿部勝彦^{*1}, 国寄勝也^{*1}, 島本琢士^{*2}, 国井悦子^{*1}, 山本美和子^{*1}, 伊藤文明^{*1}, 野田衛, 池田義文^{*1}, 笠間良雄^{*1} : **2006年5月～2008年4月に広島市で流行したノロウイルスGII/4の分子疫学について**

広島市衛研年報, **27**, 35-40 (2008)

2006年5月～2008年4月に発生した食中毒、有症苦情事例、集団感染症事例等52事例からノロウイルスが検出され、そのうちGII/4は45件であった。NVの遺伝子解析にはこれまで厚労省通知にあるORF2上流の保存領域での解析を行ってきた。今回、ORF2の可変領域の解析を行ったところ、保存領域では同一配列株と思われる株であることがわかった。また、流行株は3～4ヶ月の間で移り変わっていた。

Keywords: norovirus, GII/4, molecular epidemiology

^{*1} 広島市衛生研究所

^{*2} 広島市水道局

Yamamoto, M.^{*}, Abe, K.^{*}, Kuniyori, K.^{*}, Kunii, E.^{*}, Ito, F.^{*}, Kasama, Y.^{*}, Yoshioka, Y.^{*}, Noda, M. : **Epidemic of human parechovirus type 3 in Hiroshima City, Japan in 2008**

Jpn. J. Infect. Dis., **62**, 244-245 (2009)

In the summer of 2008, an epidemic of human parecho-

virus type 3 (HPeV-3) was observed in Hiroshima City, Japan. HPeV-3 was isolated from 40 patients associated with various kinds of diseases. Thirty-two patients (80%) were infants under the age of 4 months. The main clinical symptom was fever and 15 patients (38%) had only fever without other apparent symptoms. The HPeV-3 isolates were genetically close to each other (99.3 to 99.7% homologies) in the VP1 region compared and they showed 95.0 to 96.0% homologies to the HPeV-3 reference strain used.

Keywords: human parechovirus type 3, infant infection, fever

* Hiroshima City Institute of Public Health

Mochizuki, N*, Hoshino, M*, Suga, K*, Sugita-Konishi, Y. : **Identification of an interfering substrate in apple juice and improvement for determination of patulin with high-performance liquid chromatography analyses**

J Food Prot., **72**, 805-9 (2009)

An interfering substance that is not 5-hydroxymethylfurfural appears in some apple juices during high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of patulin based on the AOAC 995.10 method. Because this interfering substance could cause the overestimation of patulin in the apple juices, we tried to identify the substance and to develop an improved method of analyzing patulin free from the influence of this substance. We isolated the substance from the apple juice and identified it as adenosine based on its mass spectrometry, proton nuclear magnetic resonance, and photo diode array spectra. Because of the chemical properties of adenosine, changes in the extraction method under acidic conditions and the HPLC conditions (wavelength and analytical column) were effective for avoiding the influence of adenosine and more specifically for analyzing the patulin. The most effective and simple improvement of the official method was the use of column in-point carbon contents greater than 15.5%.

Keywords: HPLC, apple juice, patulin, AOAC 995.10 method

* アサヒビール (株)

Tamura, N*, Yoshida, T*, Miyaji, K*, Sugita-Konishi, Y., Hattori, M*. : **Inhibition of infectious diseases by components from Aloe vera**

Biosci Biotechnol Biochem., **73**, 950-953 (2009)

The ability to eliminate *Escherichia coli* K-12 from the peritoneal cavity in the early stage of infection (48 h) was improved by the pre-administration of an aloe sample to BALB/c mice. Our results suggest that the aloe sample could inhibit infectious diseases by stimulating the host defense mechanism, especially the phagocytic and killing activities of macrophages.

Keywords: *Escherichia coli* K-12, aloe, phagocytic, killing activities, macrophages

* 東京農工大学農学部

Yaguchi, A*¹., Yoshinari, T*¹., Tsuyuki, R*¹., Takahashi, H*²., Nakajima, T*³., Sugita-Konishi, Y., Nagasawa, H*¹., Sakuda, S*¹. : **Isolation and identification of precocenes and piperitone from essential oils as specific inhibitors of trichothecene production by *Fusarium graminearum***

J Agric Food Chem., **57**, 846-851 (2009)

Inhibitors of deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* are useful for protecting crops from deoxynivalenol contamination. We isolated precocenes and piperitone from the essential oils of *Matricaria recutita* and *Eucalyptus dives*, respectively, as specific inhibitors of the production of 3-acetyldeoxynivalenol, a biosynthetic precursor of deoxynivalenol. Precocenes I and II and piperitone inhibited 3-acetyldeoxynivalenol production by *F. graminearum* in a liquid culture with IC(50) values of 16.6, 1.2, and 306 microM, respectively, without inhibiting fungal growth. Precocene II also inhibited deoxynivalenol production by the fungus in a solid culture on rice with an IC(50) value of 2.0 ppm. Precocene II and piperitone decreased the mRNA levels of Tri4, Tri5, Tri6, and Tri10 encoding proteins required for deoxynivalenol biosynthesis.

Keywords: deoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, biosynthetic precursor, Precocenes I and II

*¹ 東京大学大学院

*² 千葉市衛生研究所

*³ 九州沖縄農研

Poapolatsep, A*¹., Poapolatsep, S*¹., Jermnak, U*¹., Im-silp, K*¹., Wannapat, N*¹., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S*². : **Muscle tissue kinetics of oxytetracycline following intramuscular and oral administration at two dosages to giant freshwater shrimp (*Macro-***

brachium rosenbergii

J Vet Pharmacol Ther., **31**, 517-22 (2008)

The giant river shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*), a native species of Thailand, is either exported for commercial purposes or supplied to meet the local requirements in Thailand. Limited pharmacokinetic information of the major antibiotic, oxytetracycline (OTC), is available for this freshwater shrimp. The purpose of the present study was to investigate the muscle tissue kinetics of OTC in *M. rosenbergii* following either intramuscular (i.m.) or oral (p.o.) administration at two dosages of 11 and 22 mg/kg body weight (b.w.). The concentration of OTC in shrimp tissues was measured using high-performance liquid chromatography (HPLC) equipped with a fluorescence detector. Muscle tissue concentrations were below the detection limit (LOD, 0.1 microg/g) after 96 and 120 h, following i.m. and p.o. administration, respectively. Peak muscle concentrations (C(max)) were 3.47 and 1.73 microg/g after i.m. and p.o. administration at a single dose of 11 mg/kg b.w. whereas they were 6.03 and 2.51 microg/g at a single dose of 22 mg/kg b.w., respectively. A noncompartment model was developed to describe the pharmacokinetics of OTC in the giant freshwater shrimp. The terminal half-lives of OTC were 28.68 and 28.09 h after i.m. and p.o. administration at a single dose of 11 mg/kg b.w., but 29.95 and 27.03 h at a single dose of 22 mg/kg b.w., respectively. The relative bioavailability was 82.32 and 64.67% following i.m. and p.o. administration, respectively. Based on the pharmacokinetic data, i.m. and p.o. administration with OTC at a dose of 11 mg/kg b.w. would be appropriate for use in giant freshwater shrimp farming. To avoid the OTC residue in shrimp muscle, it should take at least seven half-lives (8 days) to wash out the drug from the muscle of *M. rosenbergii*.

Keywords: *Macrobrachium rosenbergii*, shrimp, oxytetracycline

*1 カセサート大学

*2 東京大学大学院

Poapolathep, A^{*1}., Poapolathep, S^{*1}., Klangkaew, N^{*1}., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S^{*2}. : **Detection of deoxynivalenol contamination in wheat products in Thailand**

J Food Prot., **71**, 1931-1933 (2008)

A total of ninety samples in three kinds of wheat products (30 noodle, 30 bread, and 30 cereal samples) were collected from the supermarkets in Bangkok, Thailand, from

February to April 2007. The occurrence of deoxynivalenol (DON) contamination in wheat products was investigated using high-performance liquid chromatography equipped with a UV light detector. The extraction method was performed using a multifunctional cleanup column. The limit of quantification was 0.10 microg x g(-1) from the range obtained in a linear calibration. The survey found almost 94% of the DON-contaminated samples below 1 microg x g(-1), which corresponds to the U.S. Food and Drug Administration advisory level. DON was detected in 18.9% (17 of 90) of all samples, in 6.67% (2 of 30) and 16.67% (5 of 30) of noodle and bread samples at levels from 0.17 to 0.35 and 0.14 to 1.13 microg x g(-1), respectively, while it was in 33.33% (10 of 30) of cereal samples at levels from 0.13 to 0.39 microg x g(-1). The results suggest that the exposure to DON from the consumption of wheat products, especially noodles, bread, and cereal, is at a very low risk level.

Keywords: occurrence, wheat products, noodle, bread, cereal, Thailand, deoxynivalenol

*1 カセサート大学

*2 東京大学大学院

Sugita-Konishi, Y., Kubosaki, A., Takahashi, M., Park, B.J., Tanaka, T^{*}., Takatori, K., Hirose, M., Shibutani, M. : **Nivalenol and the targeting of the female reproductive system as well as haematopoietic and immune systems in rats after 90-day exposure through the diet**

Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess., **25**, 1118-1127 (2008)

Nivalenol (NIV) is considered to be an important trichothecene mycotoxin produced by *Fusarium* species because of its frequent contamination in wheat and barley worldwide. The present study examined the subchronic toxicity of NIV in male and female F344 rats fed diets containing 0, 6.25, 25 and 100 mg kg(-1) of the toxin for 90 days. During the experimental period there was a decrease in the white blood cell count at 100 mg kg(-1) in males and at > or =6.25 mg kg(-1) in females. Histopathologically, treatment-related changes were observed in the haematopoietic and immune systems in both sexes and in the female reproductive system at 100 mg kg(-1). Flow cytometric analysis of splenic cells revealed an elevation in the ratio of helper/cytotoxic T-lymphocytes at 100 mg kg(-1). In summary, NIV targets the female reproductive system

as well as haematopoietic and immune systems in rats fed NIV for 90 days. Based on a significant decrease in white blood cells in female rats relative to controls, the lowest observable effect level was calculated as 0.4 mg kg(-1) body weight day(-1).

Keywords: Nivalenol, female reproductive system, haematopoietic, immune systems

* 神戸市環境保健研究所

Poapolathep, A^{*1}, Poapolathep, S^{*1}, Sugita-Konishi, Y., Imsilp, K^{*1}, Tassanawat, T^{*1}, Sinthusing^{*1}, Itoh, Y., Kumagai, S^{*2}. : **Fate of fusarenon-X in broilers and ducks**

Poult Sci., **87**, 1510-1515 (2008)

In order to investigate the comparative fates and dispositions of fusarenon-X (FX) in broilers and ducks, FX was administered i.v. or orally (p.o.) to broilers and ducks. The FX and its metabolite (nivalenol, NIV) were determined in plasma and excreta using gas chromatography-mass spectrometry. The plasma concentrations of FX were determined up to 180 and 120 min in broilers and ducks, respectively, after i.v. and p.o. administration. The NIV was eliminated more slowly than its parent compound. The FX disposition fit an open 2-compartment pharmacokinetic model in broilers and ducks. The elimination half-life ($t(1/2\beta)$) of FX was longer in ducks than in broilers. The elimination rate constant (k_{el}) was higher in broilers than in ducks, whereas the oral bioavailability of FX was higher in ducks than in broilers. The gas chromatography-mass spectrometry profile in plasma showed that a large proportion of FX was recovered as NIV after administration of FX in both broilers and ducks. In vitro incubation of liver microsomal and cytosolic fractions with FX demonstrated that the liver and kidney are capable of the FX-to-NIV conversion. Thus, this study demonstrated that FX is absorbed more efficiently in ducks than in broilers, whereas it is eliminated more slowly in ducks than in broiler chickens. Consequently, the toxicity would have more serious consequences in ducks rather than broilers.

Keywords: fusarenon-X, broilers, ducks, liver, kidney

*¹ カセサート大学

*² 東京大学大学院

Mizutani K^{*1}, Hirasawa Y^{*2}, Sugita-Konishi Y., Mochizuki N^{*1}, Morita H^{*2}. : **Structural and conforma-**

tional analysis of hydroxycyclochlorotine and cyclochlorotine, chlorinated cyclic peptides from *Penicillium islandicum*

J Nat Prod., **71**, 1297-1300(2008)

A new chlorinated cyclic pentapeptide, hydroxycyclochlorotine (1), has been isolated from *Penicillium islandicum*, and the structure including absolute stereochemistry of 1 and conformational properties of 1 and cyclochlorotine (2) in DMSO-d₆ were elucidated by using extensive 2D NMR and chemical means. Hydroxycyclochlorotine (1) and astin B (3) from *Aster tataricus*, each containing an allo threonine at residue 2, have a cis proline configuration, whereas cyclochlorotine (2) has two conformational states in solution, which may be produced from cis-trans isomerization of the proline amide bond. The presence of an intramolecular hydrogen bond between Ser (3)-NH and a hydroxyl oxygen atom of alloThr (2) may serve to maintain the backbone conformation with a cis proline amide bond.

Keywords: hydroxycyclochlorotine, astin B, *Aster tataricus*

*¹ アサヒビール (株)

*² 星薬科大学

Yoshinari T^{*1}, Yaguchi A^{*1}, Takahashi-Ando N^{*1}, Kimura M^{*2}, Takahashi H^{*3}, Nakajima T^{*4}, Sugita-Konishi Y., Nagasawa H^{*1}, Sakuda S^{*1}. : **Spiroethers of German chamomile inhibit production of aflatoxin G and trichothecene mycotoxin by inhibiting cytochrome P450 monooxygenases involved in their biosynthesis**

FEMS Microbiol Let., **284**, 184-190 (2008)

The essential oil of German chamomile showed specific inhibition toward aflatoxin G(1) (AFG(1)) production, and (E)- and (Z)-spiroethers were isolated as the active compounds from the oil. The (E)- and (Z)-spiroethers inhibited AFG(1) production of *Aspergillus parasiticus* with inhibitory concentration 50% (IC(50)) values of 2.8 and 20.8 microM, respectively, without inhibiting fungal growth. Results of an O-methylsterigmatocystin (OMST) conversion study indicated that the spiroethers specifically inhibited the OMST to AFG(1) pathway. A cytochrome P450 monooxygenase, CYP_A, is known as an essential enzyme for this pathway. Because CYP_A has homology with TRI4, a key enzyme catalyzing early steps in the biosynthesis of trichothecenes, the inhibitory actions of the two spiroethers against TRI4 reactions and 3-acetyldeoxynivalenol (3-ADON) production were tested. (E)- and (Z)-spiroethers

inhibited the enzymatic activity of TRI4 dose-dependently and interfered with 3-ADON production by *Fusarium graminearum*, with IC(50) values of 27.1 and 103 microM, respectively. Our results suggest that the spiroethers inhibited AFG(1) and 3-ADON production by inhibiting CYPA and TRI4, respectively.

Keywords: essential oil of German chamomile, aflatoxin G(1), 3-acetyldeoxynivalenol

*¹ 東京大学大学院

*² 理化学研究所

*³ 千葉市衛生研究所

*⁴ 九州沖縄農研

Mino Y^{*1}, Amano F^{*1}, Yoshioka T^{*2}, Konishi Y. : **De-termination of Organothins in human breast milk by gas chromatography with flame photometric detection**

J. Health Science, **54**, 224-228 (2008)

An analytical method for the quantitative determination of monobutyltin (MBT), dibutyltin (DBT), pounds in human breast milk is described. After the addition of surrogates (deuterium derivatives), milk samples were extracted with hexane-diethyl ether (4:6) in the presence of HCl and NaCl. Each extract was purified by cation exchange chromatography and treated with Grignard reagent to yield ethyl derivatives, which were determined by gas chromatography (GC) with flame photometric detection operated in the tin mode (610 nm). This analytical method was used to determine organotins in about 70 breast milk samples obtained from mothers who had given birth within the previous week. DBT dichloride levels varied from undetectable to 9.5 ng/ml in human milk from mothers who habitually ate fish, however the other organotins were not detectable.

Keywords: organotins, dibutyltin, breast milk, Gas chromatography

*¹ 大阪薬科大学

*² 倉敷市民病院

Hatao F^{*1}, Yamamoto M., Muroi M., Kaminishi M^{*1}, Tanamoto K. : **MyD88-induced downregulation of IRAK-4 and its structural requirements**

FEMS Immunol. Med. Microbiol., **53**, 260-264 (2008)

We show that expression of MyD88 leads to downregulation of endogenous as well as exogenously expressed IRAK-4 protein in HEK293 cells. Expression of TRIF

did not cause IRAK-4 downregulation although it induced NF- κ B activation. Expression of either a deletion mutant of MyD88 lacking its death domain or MyD88s, neither of which induced NF- κ B activation, did not lead to IRAK-4 downregulation. MyD88-induced downregulation was observed in an IRAK-4 mutant lacking the kinase domain, but not in another mutant lacking the death domain. These results demonstrate that downregulation of IRAK-4 requires activation of the MyD88-dependent pathway and that the death domains of both MyD88 and IRAK-4 are important for this downregulation.

Keywords: Toll-like receptor, IRAK, lipopolysaccharide

*¹ 東京大学

Tanamoto K., Muroi M., Nakagawa Y., Shima K., Ichimura K. : **日本薬局方指定菌株の特性と保存管理法に関する研究**, *Pharm. Regul. Sci.*, **39**, 309-312 (2008)

菌の特性を捉える新たな方法としてMALDI-TOFMSを利用する方法を検討した。 *E. coli* (NBRC3972), *B. subtilis* (NBRC3134), *P. aeruginosa* (NBRC13275), *S. aureus* subsp. *aureus* (NBRC13276), *S. enterica* subsp. *enterica* (NBRC100797)といった菌株についてMALDI-TOFMSプロファイルを検討し、それぞれの菌株ではまったく異なるプロファイルを示すこと、*B. subtilis*以外の菌株では5継代までほとんどパターンに変化がなく、安定したプロファイルが得られること、異なる2種類の培地で培養した場合や、異なる2種類の凍結法により凍結した場合でも同様のプロファイルが得られることを確認した。これらの結果から、MALDI-TOFMSが再現性よく菌株の特性を捉えることが可能であり、菌株の特性指標として有用であることを示した。

Keywords: MALDI-TOF, 菌

宮原美知子, 荒川英二* : **食品からの腸炎ビブリオ迅速検出法の検討**

防菌防黴誌, **10**, 669-675 (2008)

腸炎ビブリオは日本では食中毒発生の主な原因物質となっている。日本では生鮮魚介類の微生物状態は腸炎ビブリオでMPN 100 / g以下に設定されている。アルカリ性ペプトン水は増菌培地として使われ、選択分離培地にはTCBS, クロモアガービブリオとX-ビブリオ寒天が使われている。これらの培地上で *Vibrio alginolyticus* (アルギノリテカス) は腸炎ビブリオと同様な性状が見られる。生鮮魚介類はしばしば両菌に汚染される。我々はPCRでの食品中の腸炎ビブリオの新検出法を検討した。腸炎ビブリオの6株とアルギノリテカスの13株の *toxRS*

遺伝子の塩基配列のシーケンスを行い、また、生化学的な性状も検討した。toxRS配列の分析を行った。腸炎ビブリオ検出のプライマーを設定し、腸炎ビブリオ検出を検討した。新プライマーによるPCRで38株の腸炎ビブリオと33株のアルギノリティカスが検討された。すべての腸炎ビブリオは検出され、すべてのアルギノリティカスは検出されなかった。他のビブリオもこのPCRで検出されなかった。イカに腸炎ビブリオと過剰のアルギノリティカスを接種し、培養後に検出を行ったが、腸炎ビブリオをこのPCRによりうまく検出することができた。この方法を迅速法に応用した。腸炎ビブリオがグラムあたり100を超える接種検体は4時間の培養でPCRにより腸炎ビブリオを検出できることが分かった。

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, PCR detection

* 国立感染研

Masashi Kanki*, Junko Sakata*, Masumi Taguchi*, Yuko Kumeda*, Masanori Ishibashi*, Takao Kawai*, Kentaro Kawatsu*, Wataru Yamasaki*, Kiyoshi Inoue*, Michiko Miyahara : **Effect of sample preparation and bacterial concentration on Salmonella enterica detection in poultry meat using culture methods and PCR assaying of preenrichment broths** *Food Microbiol.*, **26**, 1-3 (2009)

我々は鶏肉からのサルモネラの検出を検討した。培養とPCR検出の比較を行った。培養と同等の検出はPCRではできなかった。PCRによって、MPN（最確法）では1.0 CFU/gまた、培養液では 10^3 CFU/mlが最小の検出菌数と考えられた。鶏肉のサルモネラ検査においてPCRでの検査は、鶏肉を汚染しているサルモネラの菌数が少ないこと、阻害物質が鶏肉に存在していることから、通常検査に採り入れるのは困難だ。

Keywords: *Salmonella*, PCR, Chicken

* 大阪公衛研

渡辺麻衣子, 加藤裕子^{*1}, 戸上敬子^{*2}, 山中実喜子^{*2}, 若林佳子^{*1}, 小川裕由^{*1}, 植田裕子^{*1}, 後藤慶一^{*1}, 工藤由起子, 天野典英^{*2}, 横田 明^{*3} : **Byssoschlamys spp.同定のための遺伝子指標の評価** *食品衛生学雑誌*, **49**, 82-87(2008)

Byssoschlamys spp.について、簡便、迅速かつ正確に種を同定するために有効な遺伝子指標を評価する目的で、26株の*Byssoschlamys* spp.および関連菌種の18SrDNA、26/28SrRNA遺伝子D2領域および*lys2*の塩基配列を決定

し、分子系統解析および相同性解析を行った。その結果、いずれの遺伝子を用いても、その塩基配列の相同性を指標として、それぞれの菌種あるいはグループを識別することができた。3種類の遺伝子のうち、最も優れた解像度を有するのは*lys2*であったが、最も簡便に結果を得ることができたのは26/28SrRNA遺伝子D2領域であった。また、分子系統解析の結果、*Byssoschlamys* spp.とその関連菌種は再分類の必要性があることが示唆された。

Keywords: heat resistant molds, identification, molecular phylogenetic analysis

^{*1} 三井農林（株）食品総合研究所

^{*2} サントリー（株）安全性科学センター

^{*3} 東京大学分子細胞生物学研究所

Hayashidani, H.^{*1}, Iwata, T.^{*1}, Yamaguchi, S.^{*1}, Hara-Kudo, Y., Okatani, T. A.^{*1}, Watanabe, M., Lee, K.^{*1}, Kumagai, S.^{*2} : **Survival of Pathogenic Yersinia enterocolitica in vacuum-packed or non-vacuum-packed pork at low temperature**

Biocontrol Sci., **13**, 139-44 (2008)

Pathogenic *Yersinia enterocolitica* serotypes O:3, O:5,27, O:8 and O:9 were inoculated into sliced and ground pork, and the samples were stored under vacuum or aerobic conditions at 2 and degrees C. All serotypes survived for 5 weeks in pork with or without vacuum packing without any discernable increases in their population. In sterilized pork with or without vacuum packing, there was no evident growth of *Y. enterocolitica*. In pork broth in which the pH had been artificially adjusted to 6.8, the growth of *Y. enterocolitica* was faster than that at 5.7. It is suggested that the growth of *Y. enterocolitica* in pork with or without vacuum packing may be inhibited by pH but not by the microflora or lactic acid bacteria in pork.

Keywords: *Yersinia enterocolitica*, pork, vacuum packing

^{*1} 東京農工大学

^{*2} 東京大学

占部友理恵^{*1}, 葉袋裕二^{*1}, 芳賀実^{*1}, 小西良子, 石黒厚^{*2}, 工藤由起子 : **香辛料におけるサルモネラの生残性と調理食品中での増殖性** *食品衛生学雑誌*, **49**, 70-75 (2008)

本研究では、香辛料におけるサルモネラ汚染があった場合、汚染品の使用が食中毒発生につながる可能性があるかを検討するために、香辛料中でのサルモネラの生残性およびそれらを添加した調理食品中での増殖性について

て調べた。ブラックペッパーおよびレッドペッパーにおいて、それら香辛料由来のS. WeltevredenおよびS. SenftenbergはS. Enteritidisよりも生残性が高かった。タマゴサラダおよびナムル中で、サルモネラは10°C保存では増殖しなかったが、30°C保存では24時間で著しく増殖した。今回の結果から、加熱調理後の食材を和える際に香辛料を添加する調理食品の保存は、温度や時間に注意が必要であることが明らかになった。

Keywords: 香辛料, サルモネラ, 生残, 増殖, 調理食品

*1 玉川大学

*2 ドンク

Kamio, A.^{*1}, Hara-Kudo, Y., Miyasaka, J.^{*2}, Yahiro, T.^{*2} and Konuma, H.^{*1}: **Efficiency of real-time polymerase chain reaction assay to detect *Vibrio vulnificus* in seawater.**

International Journal of Hygiene and Environmental Microbiology, **211**(5-6),518-523 (2008)

The growth of *Vibrio vulnificus* in an enriched culture of seawater during the summer in Japan was monitored by a plating technique used as the culture method and a real-time polymerase chain reaction (PCR) assay as the molecular method. *V. vulnificus* was detected by the real-time PCR assay in the samples of August and September but not by the culture method. *V. parahaemolyticus*, however, was detected among all of the samples with both the culture method and real-time PCR assay. In the analysis of the bacterial populations in enrichment culture, it was demonstrated that the growth of *V. vulnificus* on agar media was inhibited by the rapid growth of *V. parahaemolyticus* after 4 h of incubation and the 100 times larger initial populations of bacteria other than *V. vulnificus* and *V. parahaemolyticus*. These findings demonstrate that *V. vulnificus* detection by culture methods is a failure, and molecular methods are effective and detect *V. vulnificus* accurately.

Keywords: *Vibrio vulnificus*, real-time PCR, detection

*1 東海大学

*2 熊本県保健環境科学研究所

Asai, Y.^{*1}, Kaneko, M.^{*2}, Ohtsuka, K.^{*3}, Morita, Y.^{*4}, Kaneko, S.^{*5}, Noda, H.^{*2}, Furukawa, I.^{*1}, Takatori, K. and Hara-Kudo, Y.: ***Salmonella* prevalence in seafood imported into Japan**

J. Food Prot., **71**, 1460-1464(2008)

A total of 353 samples of 29 types of seafood were

tested for *Salmonella* prevalence and total microbial population. *Salmonella* enterica serotype Weltevreden was isolated from two of 47 black tiger prawn samples. The contamination levels of *Salmonella* were in a range of <30 to 40 MPN/100g. In addition, one sample of black tiger prawns and two samples of white shrimp were positive for *Salmonella* invA gene on PCR assay. Although the mean aerobic bacterial count was greater than 4.0 log CFU/g in most of the sample types, those in the two *Salmonella*-isolated samples of black tiger prawn were 7.48 and 5.18 log CFU/g, respectively. These results indicate the possibility that shrimp and prawns are related to food borne infections, and the improvement of seafood quality in an important issue, and information on contamination by pathogens should be provided as feedback to the original country with the aim of increasing safety.

Keywords: *Salmonella*, seafood, bacteriological quality, contamination, shrimp, prawn

*1 神奈川県衛生研究所

*2 山梨県衛生公害研究所

*3 埼玉県衛生研究所

*4 群馬県衛生環境研究所

*5 東京都健康安全研究センター

Hidaka, A.^{*1}, Hokyo, T., Arikawa^{*1}, T., Fujiwara, S.^{*2}, Ogasawara, J.^{*3}, Hase, A.^{*3}, Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y.: **Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli***

J. Appl. Microbiol. **106**, 410-420 (2009)

Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli*.

Aims: The source and routes of diarrhoeagenic *Escherichia coli* (DEC) have not been clarified because it is difficult to detect these organisms in samples with numerous coliform bacteria. We have developed multiplex real-time PCR assays for exhaustive detection of DEC. Methods and Results: Primers and TaqMan probes were designed to amplify and quantify one gene (eae, stx1, stx2, elt, est, virB, aggR, astA, and afaB) from each of seven pathotypes of DEC, in duplex or triplex reactions under the same PCR cycling conditions. Specificity was confirmed using 860 strains including 88 DEC strains. The fluorescence threshold cycle and DNA concentrations correlated with decision coefficients of more than 0.99. Subsequently, meat samples and enrichment broths were spiked with DEC and the assays used to detect the genes. The detection limits varied

from 7.1×10^2 to 1.1×10^4 CFU ml⁻¹, depending on the target genes. All meat samples spiked with a variety of DEC (more than 10 CFU 10 g⁻¹) were found to be positive by the method. Conclusions: The present system allows for the efficient and simultaneous determination of various DEC pathotypes. Significance and Impact of the Study: This system makes epidemiological investigations for DEC sensitive and quick, and is a useful tool to clarify the source and routes of DEC.

keywords: detection, environmental health, food, identification, PCR, rapid techniques, virulence

*1 大阪市立大学大学院

*2 大阪生活衛生協会

*3 大阪市環境科学研究所

Kobayashi, H.^{*1}, Kanazaki, M.^{*1}, Ogawa, T.^{*1,2}, Iyoda, S.^{*3}, Hara-Kudo, Y. : **Changing prevalence of O-serogroups and antimicrobial susceptibility among STEC strains isolated from healthy dairy cows over a decade in Japan between 1998 and 2007**

J. Vet. Med. Sci., **71**, 363-366 (2009)

The prevalence of STEC in Japan was examined using rectal stool samples taken from 932 healthy dairy cows from 123 farms in 11 prefectures between 2006 and 2007. Screening with stx-PCRs revealed the prevalence to be 30.4% (283 animals), and STEC strains were isolated from 111 animals. Although ten O-serogroups (O8, O22, O84, O103, O111, O113, O116, O136, O153 and O157) were the major O-serogroup in healthy dairy cows in Japan in 1998, half of the 118 selected STEC strains were serotyped as O2, O8, O26, O153, or O163 in this study. Twenty-eight of the 118 STEC strains (24%) showed resistance to some conventional drugs, such as dihydrostreptomycin, oxytetracycline and aminobenzylpenicillin. Although STEC prevalence in cows decreased from 17% to 12%, the antimicrobial resistance ratio increased from 8.7% to 24% in the past decade in Japan.

keywords: O-serogroups, STEC, Cows

*1 (独) 農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所

*2 福岡県家畜保健所

*3 国立感染症研究所

Hara-Kudo, Y. and Takatori, K. : **Microbial quality of liquid egg and *Salmonella* infection status in Japan**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **50**, 34-40 (2009)

Aerobic bacteria counts and contamination with *Salmonella* were investigated in a total of 1,327 samples of commercial liquid egg in 1992-2002. *Salmonella* was isolated from 8.1 % of the samples, and *Salmonella* contamination in 1.7 % of even the pasteurized liquid egg was revealed. The major *Salmonella* serotype was Enteritidis from more than 50 % of the cases of liquid egg. In addition the aerobic bacteria counts in *Salmonella*-positive liquid eggs were significantly higher than those of *Salmonella*-negative samples. However *Salmonella* was detected in liquid egg in which the aerobic bacteria counts are in a range of 102 to 106 cfu/g. Furthermore, foodborne outbreaks of *Salmonella* infections associated with liquid egg were analyzed. Liquid eggs should be carefully treated for the possibility of *Salmonella* contamination. Supply of pasteurized liquid eggs and control of re-contamination are needed.

Keywords: liquid eggs, aerobic bacteria count, *Salmonella*

Sakai, A., Ozeki, Y.^{*1}, Sasaki, Y.^{*2}, Aihara, M., Kikuchi, Y., Takatori, K. : **Utilization of DNA sequences for identifying *Fusarium* species isolated from rice *Mycotoxins*, 57 Supplement, 171-176 (2007)**

We attempted the identification of *Fusarium* species by a DNA sequence analysis to practically validate the utility of a molecular approach for fungal identification and reveal its limitations. We sequenced three regions, the 5' end of the large-subunit (D2 region) and the internal transcribed spacer 1 and 2 (ITS1 and ITS2) regions, in the rRNA genes. The DNA sequences of 38 *Fusarium* strains isolated from unpolished rice harvested in Japan were analyzed and compared for similarity to entries in the GenBank. Based on this comparison, it was estimated that all these three regions, as a minimum, must be compared with the database to identify *Fusarium* fungi at the species level. According to the sequence differences in the three regions, the 38 isolates were classified into 13 groups. Out of the 13 groups, 6 groups (20 isolates in total) were able to be identified as the definite species based only on the sequence data. For the other 6 groups (17 isolates in total), the candidate species were restricted on the basis of the sequence similarity. The restriction of candidate species rendered it easy to identify the *Fusarium* isolates at the species level with the aid of their morphologies. Only one isolate could not be identified. It was verified in this study that a DNA sequence comparison with the GenBank database was useful and reliable for the identification of the *Fusarium* species.

Keywords: identification, DNA sequence, *Fusarium*, rRNA gene

^{*1} Saitama Institute of Public Health

^{*2} Nippon Kaiji Kentei Kyokai

Saka, M.^{*}, Tada, N.^{*}, Kamata, Y. : **Cross-reactivity of a polyclonal antibody against *Chinemys reevesii* vitellogenin with the vitellogenins of other turtle species: *Chelydra serpentina*, *Macrochelys temminckii*, and *Pelodiscus sinensis***

Zoological Aci., **25**, 907-911(2008)

ビテロジェニン(卵黄の前駆体タンパク質)は、環境を汚染する女性ホルモンに対するバイオマーカーになっている。ヌマガメのビテロジェニンの抗体を作製し、スッポン、ニシキガメ、カミツギガメのビテロジェニンに対する交差性を調べた。形態学的特徴からの系統的距離と、抗体の交差性に相関性があった。

Keywords: Turtle vitellogenin, Cross-reactivity, Polyclonal antibody, Enzyme-linked immunosorbent assay

^{*} Kyoto Prefectural Institute of Public Health and Environment

Sugiyama, K., Muroi, M. and Tanamoto, K. : **A novel TLR4-binding peptide that inhibits LPS-induced activation of NF- κ B and in vivo toxicity**

Eur. J. Pharmacol., **594**, 152-156 (2008)

We screened for peptides that associate with TLR4 with a yeast two-hybrid screen using the human TLR4 extracellular domain as bait. A peptide (STM28) isolated from the screen inhibited LPS-induced nuclear factor- κ B (NF- κ B) activation in human and mouse macrophage cells and interacted with TLR4 in yeast and mammalian cells. STM28 showed no inhibitory effects against NF- κ B activation induced by TLR1/2, TLR3 and TLR9 ligands in a mouse macrophage cell line, RAW 264. In addition, STM28 suppressed LPS-induced tumor necrosis factor- α production by differentiated THP-1 cells. Moreover, LPS-induced lethality in D-galactosamine-sensitized mice was significantly repressed by STM28 in a dose-dependent manner. These results demonstrate that STM28 selectively inhibits TLR4-induced macrophage activation, and suggest that STM28 may have utility as a novel therapeutic agent for Gram-negative bacterial sepsis.

Keywords: Yeast two-hybrid, Toll-like receptor 4, Endotoxin shock

Sugiyama, K., Hiraoka, H.^{*} and Sugita-Konishi, Y. : **Aflatoxin M₁ contamination in raw bulk milk and the presence of aflatoxin B₁ in corn supplied to dairy cattle in Japan**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **49**, 352-355 (2008)

Aflatoxin M₁ (AFM₁) is a hydroxylated metabolite of aflatoxin B₁ (AFB₁), which has been found in the milk of dairy cattle fed AFB₁ contaminated feeds. To evaluate the risk of AFM₁ contamination in milk, it is necessary to analyze the risk factors of AFB₁ contamination in corn provided for concentrated feed in Japan. The AFM₁ level in domestic raw bulk milk was measured at three sampling times, January, February and June in 2004. The AFB₁ contamination in corn supplied to cow was determined at the same time as the sampling of raw milk. The AFM₁ contamination levels in milk in January, February and June 2004 was 0.011, 0.007 and 0.005 ng/g, respectively. The AFB₁ contamination level in the corn of the concentrated feed was higher from October of 2003 to February of 2004 than from April to June in 2004. This study showed evidence that AFM₁ contamination level in milk is parallel to that of AFB₁ in corn of concentrated feed, thus showing that the monitoring of the AFB₁ level in corn is important to prevent the risk of AFM₁ contamination in milk in Japan.

Keywords: Aflatoxin M₁, Aflatoxin B₁, Milk

^{*}(独) 農林水産消費安全技術センター

Sugiyama, K., Tanaka, H.^{*1}, Kamata, Y., Tanaka, T.^{*2} and Sugita-Konishi, Y. : **A reduced rate of deoxynivalenol and nivalenol during bread production from wheat flour in Japan**

Mycotoxins, **59**, 1-6 (2009)

Deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV) are among the mycotoxins known as trichothecenes and they naturally occur in cereal grains of bread making wheat. In this study, contamination levels of these mycotoxins in various wheat flour samples containing domestic flour used for the mass production of bread and related products were collected and analyzed in Japan. Samples of flour and bread were collected from nine prefectures, and their trichothecene levels were measured by a validated High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry system. The average concentrations of DON and NIV in flour samples collected were 31.3 \pm 28.9 and 8.5 \pm 3.7 μ g/kg, whereas those in bread samples were 8.6 \pm 5.1 μ g/kg and 3.4 \pm 2.0 μ g/kg

kg, respectively. These results suggest that the percentage of DON and NIV remaining after converting flour into bread using industrial equipment and baking yeast were estimated as approximately 74.4 and 65.8%, respectively.

Keywords: Deoxynivalenol, Nivalenol, Wheat flour, Bread

*1 サントリー(株)

*2 神戸市環境保健研究所

Shoda, T., Fukuhara, K., Goda, Y., Okuda, H. : **4-Hydroxy-3-methoxymethamphetamine Glucuronide as a Phase II Metabolite of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine: Enzyme-Assisted Synthesis and Involvement of Human Hepatic Uridine 5'-Diphosphate-Glucuronosyltransferase 2B15 in the Glucuronidation**

Chem. Pharm. Bull., **57**, 472-475 (2009)

3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA), one of the most popular illicit recreational drugs, is metabolized primarily into 4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine (HMMA) by drug-metabolizing enzymes. HMMA is further metabolized by phase II enzymes to give the glucuronide or sulfate which is excreted into urine. In the present study, enzyme kinetic studies with various microsomes showed that rat liver microsomes pretreated with Aroclor 1254 were most suitable for the enzyme-assisted synthesis of the glucuronide (HMMAGluc). This method selectively produced the β -anomer of HMMA-Gluc in a very high, isolated yield (71%), and with a purity that was sufficient for use in an analysis of MDMA intake and for enzyme kinetic studies. We also identified, by an LC-MS method, the human uridine 5'-diphosphate-glucuronosyltransferase (UGT) isoforms that catalyze the glucuronidation of HMMA. Among 12 isoforms of human recombinant UGT expressed in insect cells, UGT2B15 was the only isoform that showed adequate enzymatic activity in catalyzing HMMA glucuronidation with K_m and V_{max} values of 3.8 mM and 1.6 nmol/min/mg protein, respectively. The finding that UGT2B15 is capable of HMMA glucuronidation suggests this isoform may have an important *in vivo* role in human MDMA metabolism.

Keywords: 3,4-Methylenedioxymethamphetamine, enzyme-assisted synthesis, glucuronide

Hishikawa, K.*, Nakagawa, H.*, Furuta, T.*, Fukuhara, K., Tsumoto, H.*, Suzuki, T.*, Miyata, N.* : **Photoinduced nitric oxide release from a hindered nitrobenzene**

derivative by two-photon excitation

J. Am. Chem. Soc., **131**, 7488-7489(2009)

We demonstrated photoinduced NO generation from a 2,6-dimethylnitrobenzene-based compound (Flu-DNB) via a two-photon excitation (TPE) process. After pulse laser irradiation to a solution of Flu-DNB, oxidation products of NO were observed. This is the first account of a non-nitrosyl-chelated metal ion containing NO donor which can be controlled by the TPE technique.

keywords: nitric oxide, NO donor, two-photon excitation process

* 名古屋市立大学大学院

Kobayashi, H.*, Fukuhara, K., Tada-Oikawa S.*, Yada, Y.*, Hiraku, M.*, Oikawa, S.* : **The mechanisms of oxidative DNA damage and apoptosis induced by norsalsolinol, an endogenous tetrahydroisoquinoline derivative associated with Parkinson's disease**

J. Neurochem., **108**, 397-407 (2009)

Tetrahydroisoquinoline (TIQ) derivatives are putative neurotoxins that may contribute to the degeneration of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. One TIQ, norsalsolinol (NorSAL), is present in dopamine-rich areas of human brain, including the substantia nigra. Here, we demonstrate that NorSAL reduces cell viability and induces apoptosis via cytochrome c release and caspase 3 activation in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. Cytochrome c release, caspase 3 activation, and apoptosis induction were all inhibited by the antioxidant N-acetylcysteine. Thus, reactive oxygen species (ROS) contribute to apoptosis induced by NorSAL. Treatment with NorSAL also increased levels of oxidative damage to DNA, a stimulus for apoptosis, in SH-SY5Y. To clarify the mechanism of intracellular DNA damage, we examined the DNA damage caused by NorSAL using ^{32}P -5'-end-labeled isolated DNA fragments. NorSAL induced DNA damage in the presence of Cu(II). Catalase and bathocuproine, a Cu(I) chelator, inhibited this DNA damage, suggesting that ROS such as the Cu(I)-hydroperoxo complex derived from the reaction of H₂O₂ with Cu(I), promote DNA damage by NorSAL. In summary, NorSAL-generated ROS induced oxidative DNA damage, which led to caspase-dependent apoptosis in neuronal cells.

Keywords: norsalsolinol, Parkinson's disease, reactive oxygen species

* 三重大学大学院

Kakuda, S.^{*1}, Okada, K.^{*1}, Eguchi, H.^{*1}, Takenouchi, K.^{*1}, Hakamata, W., Kurihara, M., M. Takimoto-Kamimura, M.^{*1} : **Structure of the ligand-binding domain of rat VDR in complex with a nonsteroidal vitamin D₃ analogue YR301**

Acta Crystallogr. F, **64**, 970-973(2008)

YR301 is the only one of the four evaluated stereoisomers of LG190178 to have strong activity. To understand the strong activity of YR301, the crystal structure of YR301 complexed with the rat VDR ligand-binding domain (VDR LBD) was solved at 2.0 Å resolution and compared with the structure of the VDR LBD-1 α ,25(OH)(2)D(3) complex. YR301 and 1 α ,25(OH)(2)D(3) share the same position and the diethylmethyl group occupies a similar space to the C and D rings of 1 α ,25(OH)(2)D(3). YR301 has two characteristic hydroxyl groups which contribute to its potent activity. The first is 2'-OH, which forms hydrogen bonds to the NE2 atoms of both His301 and His393. The other is 2-OH, which interacts with Ser233 OG and Arg270 NH1. These two hydroxyl groups of YR301 correspond exactly to 25-OH and 1-OH, respectively, of 1 α ,25(OH)(2)D(3). The terminal hydroxyl group (3-OH) of YR301 is directly hydrogen bonded to Arg270 and also interacts indirectly with Tyr232 OH and the backbone NH of Asp144 via water molecules. Additional derivatization of the terminal hydroxyl group using the positions of the water molecules might be useful for the design of more potent compounds.
Keywords: VDR, crystal structure, YR301

^{*1} 帝人ファーマ生医研

Satoh, T.^{*1}, Cowieson, N. P.^{*2}, Hakamata, W., Ideo, H.^{*3}, Fukushima, K.^{*3}, Kurihara, M., Kato, K.^{*1}, Yamashita, K.^{*3}, Wakatsuki, S.^{*1} : **Structure Basis for Recognition of High Mannose Type Glycan Transport Lectin VIP36**

PF NEWS, **25**, 17-22(2008)

We report the crystal structure of VIP36 exoplasmic/luminal domain comprising a carbohydrate recognition domain and a stalk domain. The structures of VIP36 in complex with Ca²⁺ and mannosyl ligands are also described. The carbohydrate recognition domain is composed of a 17-stranded antiparallel β -sandwich and binds one Ca²⁺ adjoining the carbohydrate-binding site. The structure

reveals that a coordinated Ca²⁺ ion orients the side chains of Asp131, Asn166, and His190 for carbohydrate binding. This result explains the Ca²⁺-dependent carbohydrate binding of this protein. The Man- α -1,2-Man- α -1,2-Man, which corresponds to the D1 arm of high mannose type glycan, is recognized by eight residues through extensive hydrogen bonds. The complex structures reveal the structural basis for high mannose type glycoprotein recognition by VIP36 in a Ca²⁺-dependent and D1 arm-specific manner.

Keywords: lectin, VIP36, glycoprotein

^{*1} 高エネルギー加速器研究機構

^{*2} University of Queensland

^{*3} 東京工業大学

Nagano, M.^{*1}, Tanaka, M.^{*1}, Doi, M.^{*2}, Demizu, Y., Kurihara, M., Suemune, H.^{*1} : **Helical-Screw Directions of Diastereoisomeric Cyclic α -Amino Acid Oligomers**

Org. Lett., **11**, 1135-1137(2009)

Two series of homooligomers composed of diastereoisomeric cyclic α -amino acids having two chiral centers at the α -carbon and the side chain were synthesized, and their preferred secondary structures were studied in solution and in the crystal state. The oligomers are a new class of helical-foldamers possessing two kinds of chiral centers on the helical backbone and at the lateral surface of the helix.

Keywords: α , α -disubstituted α -amino acid, peptide, cyclic α -amino acid oligomer

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

Hakamata, W.^{*1}, Kurihara, M., Okuda, H., Nishio, T.^{*1}, Oku, T.^{*1} : **Design and Screening Strategies for α -Glucosidase Inhibitors Based on Enzymological Information**

Curr. Top. Med. Chem., **9**, 3-12 (2009)

Alpha-glucosidase inhibitors are marketed as therapeutic drugs for diabetes that act through the inhibition of carbohydrate metabolism. Inhibitors of the alpha-glucosidases that are involved in the biosynthesis of N-linked oligosaccharide chains have been reported to have antitumor, antiviral, and apoptosis-inducing activities, and some have been used clinically. alpha-Glucosidase inhibitors have interesting biological activities, and their design,

synthesis, and screening are being actively performed. In quite a few reports, however, alpha-glucosidases with different origins than the target alpha-glucosidases, have been used to evaluate inhibitory activities. There might be confusion regarding the naming of alpha-glucosidases. For example, the term alpha-glucosidase is sometimes used as a generic name for alpha-glucoside hydrolases. Moreover, IUBMB recommends the use of "alpha-glucosidase" (EC 3.2.1.20) for exo-alpha-1,4-glucosidases, which are further classified into four families based on amino acid sequence similarities. Accordingly, substrate specificity and susceptibility to inhibitors varies markedly among enzymes in the IUBMB alpha-glucosidases. The design and screening of inhibitors without consideration of these differences is not efficient. For the development of a practical inhibitor that is operational in cells, HTS using the target alpha-glucosidase and the computer-aided design of inhibitors based on enzymatic information concerning the same alpha-glucosidase are essential.

Keywords: α -glucosidase, α -glucosidase inhibitor, enzymological information

^{*1} 日本大学生物資源

Kurihara, M., Sato, Y., Yamagata, N., Okuda, H., Nagano, M.^{*1}, Demizu, Y., Doi, M.^{*2}, Tanaka, M.^{*1}, Suemune, H.^{*1} : **Computational Study on Helical Structure of α , α -Disubstituted Oligopeptides Containing Chiral α -Amino Acids**

Peptide Science 2008, 149-150(2009)

Computational simulation using conformational search calculations with AMBER* force field is most useful for conformational analysis of oligopeptides containing α , α -disubstituted α -amino acids. The results were in agreement with those of x-ray and were most stable conformation evaluated by molecular orbital calculation.

Keywords: α , α -disubstituted α -amino acid, conformational search, 3_{10} -helix

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

Takazaki, H.^{*1}, Tanaka, M.^{*1}, Kawabe, N.^{*1}, Nagano, M.^{*1}, Doi, M.^{*2}, Kurihara, M., Suemune, H.^{*1} : **Design and synthesis of chiral cyclic α , α -disubstituted amino acid having azido functions and its oligopeptides**

Peptide Science 2008, 159-160(2009)

We designed and synthesized a chiral cyclic α , α -disubstituted α -amino acid having azido functions: {(3R,4R)-1-amino-3,4-diazidocyclopentanecarboxylic acid; (R,R)-Ac₅c^{dN3}}, and studied the preferred secondary structure of its homopeptides. Furthermore, the azido junctions in the cyclic amino acid (R,R)-Ac₅c^{dN3} could be converted into various functional groups.

Keywords: α , α -disubstituted α -amino acid, secondary structure, 3_{10} -helix

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

Sugiyama, T.^{*1}, Imamura, Y.^{*2}, Kurihara, M., Kittaka, A.^{*3} : **Cooperative Strand Invasion by Peptide Nucleic Acid**

Peptide Science 2008, 481-282(2009)

Peptide nucleic acid (PNA) is a synthetic DNA/RNA mimic in which the sugar-phosphate backbone is replaced by a peptide backbone. A remarkable feature of PNA is its ability to recognize sequences within duplex DNA by strand invasion. In order to improve DNA binding properties of PNA, we tested the effect of cooperativity on triplex invasion. We here demonstrate that a PNA targeting six bases cooperatively strand invades into duplex DNA with excellent sequence specificity.

Keywords: peptide nucleic acid (PNA), cooperative strand invasion

^{*1} 東京大学大学院

^{*2} 工学院大学

^{*3} 帝京大学

Suzuki, N.^{*1}, Suzuki, T.^{*1}, Ota, Y.^{*1}, Nakano, T., Kurihara, M., Okuda, H., Yamori, T.^{*2}, Tsumoto, H.^{*1}, Nakagawa, H.^{*1}, Miyata, N.^{*1} : **Design, Synthesis, and Biological Activity of Boronic acid-Based Histone Deacetylase Inhibitors**

J. Med. Chem., **52**, 2909-2922(2009)

Guided by the proposed catalytic mechanism of histone deacetylases (HDACs), we designed and synthesized a series of boronic acid-based HDAC inhibitors bearing an alpha-amino acid moiety. In this series, compounds (S)-18, 20, and 21 showed potent HDAC-inhibitory activity, highlighting the significance of the (S)-amino acid moiety. In cancer cell growth inhibition assays, compounds (S)-18, 20, and 21 exerted strong activity, and the values of the

ratio of the concentration causing 50% growth inhibition (GI(50)) to the concentration causing 50% enzyme inhibition (IC(50)), i.e., GI(50)/IC(50), were low. The potency of these compounds was similar to that of clinically used suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) (2). The results of Western blot analysis indicated that the cancer cell growth-inhibitory activity of compounds (S)-18, 20, and 21 is the result of HDAC inhibition. A molecular modeling study suggested that the hydrated boronic acid interacts with zinc ion, Tyr residue, and His residue in the active site of HDACs. Our findings indicate that these boronic acid derivatives represent an entry into a new class of HDAC inhibitors.

Keywords: histone Deacetylase Inhibitors, design, synthesis

^{*1} 名古屋市立大

^{*2} 癌化学療法センター

Nagano, M.^{*1}, Tanaka, M.^{*1}, Doi, M.^{*2}, Kurihara, M., Suemune, H.^{*1} : **Helical-screw handedness of peptides composed of diastereoisomeric cyclic amino acids**

Peptide 2008, 106-107(2009)

We designed two new diastereomeric cyclic α,α -disubstituted amino acids; (1S,3S)- and (1R,3S)- 1-amino-3-(methoxy)cyclopentanecarboxylic acid [Ac(5)c(OM)] having chiral centers both at the α -carbon atom and at the side chain, and studied the preferred conformation of their homopeptides.

Keywords: helical-screw handedness, peptide, cyclic amino acids

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

Tanaka, M.^{*1}, Nagano, M.^{*1}, Demizu, Y., Doi, M.^{*2}, Kurihara, M., Suemune, H.^{*1} : **Controlling α -helical secondary structure of oligopeptides and its use as a chiral catalyst**

Peptide 2008, 104-105(2009)

When the cyclic amino acid (S,S)-Ac(5)c(dOM) was incorporated into L-Leu-hexapeptide, the hexapeptide Cbz-{L-Leu-LLeu-(S,S)-Ac(5)c(dOM)}₂-OMe preferentially formed right-handed α -helices in the crystal state, whereas the hexapeptide Cbz-{L-Leu-L-Leu-Aib}₂-OMe having Aib formed a right-handed 310-helix [3]. The finding that the propensity of cyclic amino acid Ac(5)c(dOM) is to form

α -helix over 310-helix, encouraged us to use the cyclic amino acid containing α -helical oligomer as an asymmetric catalyst for epoxidation.

Keywords: α -helical secondary structure, peptide, chiral catalyst

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

Nishimaki-Mogami, T., Tamehiro, N., Sato, Y., Okuhira, K., Sai, K., Kagechika, H.^{*1}, Shudo, K., Abe-Dohmae, S.^{*2}, Yokoyama, S.^{*2}, Inoue, K. and Sawada, J. : **The RXR agonists PA024 and HX630 have different abilities to activate LXR/RXR and to induce ABCA1 expression in macrophage cell lines**

Biochem. Pharmacol., **76**, 1006-1013 (2008)

Release of cellular cholesterol by ATP-binding cassette transporter (ABC)A1 and apolipoproteins is a major source of plasma high-density lipoprotein (HDL). Expression of ABC transporter A1 (ABCA1) is directly stimulated by liver X receptor (LXR)/retinoid X receptor (RXR) activation. We evaluated the abilities of two RXR agonists, PA024 and HX630, to increase ABCA1 expression. In differentiated THP-1 cells, the two agonists efficiently enhanced ABCA1 mRNA expression and apoA-I-dependent cellular cholesterol release. However, in RAW264 cells and undifferentiated THP-1 cells, PA024 was highly effective while HX630 was inactive in increasing ABCA1 mRNA. In parallel, the two agonists had different abilities to activate ABCA1 promoter in an LXR-responsive-element (LXRE)-dependent manner and to directly stimulate LXR α /RXR transactivation. The ability of HX630 to enhance ABCA1 expression was correlated closely with the cellular PPAR γ mRNA level. Moreover, HX630 was able to activate PPAR γ /RXR. Transfection of PPAR γ in RAW264 cells induced HX630-mediated activation of LXRE-dependent transcription and ABCA1 promoter, suggesting the ability of HX630 to activate PPAR γ -LXR-ABCA1 pathway. We conclude that RXR agonist PA024 and HX630 have different abilities to activate LXR/RXR, and that the cell-type-dependent effect of HX630 on ABCA1 expression and HDL generation is closely associated with this defect.

Keywords: ABCA1, RXR, LXR

^{*1} 東京医科歯科大学大学院

^{*2} 名古屋市立大学医学研究科

Hioki, H.^{*}, Shima, N.^{*}, Kawaguchi, H.^{*}, Harada, K.^{*}, Kubo, M.^{*}, Esumi, T.^{*}, Nishimaki-Mogami, T., Sawada, J., Hashimoto, T.^{*}, Asakawa, Y.^{*} and Fukuyama, Y.^{*}
: Synthesis of riccardin C and its seven analogues. Part 1: The role of their phenolic hydroxy groups as LXRalpha agonists

Bioorg. Med. Chem. Lett., **19**, 738-741 (2009)

Riccardin C, a nuclear receptor LXRalpha selective agonist, is an 18-membered macrocyclic bisbibenzyl isolated from several liverworts. Synthesis of riccardin C and its seven O-methylated derivatives was accomplished. The synthetic sequence highlights an intramolecular Suzuki-Miyaura coupling in the formation of the 18-membered biaryl linkage present in riccardin C. The structure-activity relationship of these compounds suggests that all of the phenolic hydroxy groups present in riccardin C are essential for the activation of LXRalpha.

Keywords: LXR, agonist, synthesis

^{*} 徳島文理大学薬学部

Inoue, J.^{*}, Satoh, S.^{*}, Kita, M.^{*}, Nakahara, M.^{*}, Hachimura, S.^{*}, Miyata, M.^{*}, Nishimaki-Mogami, T. and Sato, R.^{*}
PPARalpha gene expression is up-regulated by LXR and PXR activators in the small intestine

Biochem. Biophys. Res. Commun., **371**, 675-678 (2008)

LXR, PXR, and PPARalpha are members of a nuclear receptor family which regulate the expression of genes involved in lipid metabolism. Here, we show the administration of T0901317 stimulates PPARalpha gene expression in the small intestine but not in the liver of both normal and FXR-null mice. The administration of LXR specific ligand GW3965, or PXR specific ligand PCN has the same effect, indicating that ligand-dependent activation of LXR and PXR, but not FXR, is responsible for the increased gene expression of PPARalpha in the mouse small intestine.

Keywords: PPARalpha, LXR, mRNA

^{*} 東京大学大学院農学生命科学研究科

Tamehiro, N.^{*1}, Zhou, S.^{*1}, Okuhira, K., Benita, Y.^{*1}, Brown, C.E.^{*1}, Zhuang, D.Z.^{*1}, Latz, E.^{*2}, Hornemann, T.^{*3}, von Eckardstein, A.^{*3}, Xavier, R.J.^{*1}, Freeman, M.W.^{*1} and Fitzgerald, M.L.^{*1}
: SPTLC1 binds ABCA1 to negatively regulate trafficking and cholesterol ef-

flux activity of the transporter

Biochemistry, **47**, 6138-6147 (2008)

ABCA1 transport of cholesterol and phospholipids to nascent HDL particles plays a central role in lipoprotein metabolism and macrophage cholesterol homeostasis. ABCA1 activity is regulated both at the transcriptional level and at the post-translational level. To explore mechanisms involved in the post-translational regulation of the transporter, we have used affinity purification and mass spectrometry to identify proteins that bind ABCA1 and influence its activity. Previously, we demonstrated that an interaction between beta1-syntrophin stimulated ABCA1 activity, at least in part, be slowing the degradation of the transporter. This work demonstrates that one subunit of the serine palmitoyltransferase enzyme, SPTLC1, but not subunit 2 (SPTLC2), is copurified with ABCA1 and negatively regulates its function. In human THP-1 macrophages and in mouse liver, the ABCA1-SPTLC1 complex was detected by co-immunoprecipitation, demonstrating that the interaction occurs in cellular settings where ABCA1 activity is critical for HDL genesis. Pharmacologic inhibition of SPTLC1 with myriocin, which resulted in the disruption of the SPTLC1-ABCA1 complex, and siRNA knockdown of SPTLC1 expression both stimulated ABCA1 efflux by nearly 60% ($p < 0.05$). In contrast, dominant-negative mutants of SPTLC1 inhibited ABCA1 efflux, indicating that a reduced level of sphingomyelin synthesis could not explain the effect of myriocin on ABCA1 activity. In 293 cells, the SPTLC1 inhibition of ABCA1 activity led to the blockade of the exit of ABCA1 from the endoplasmic reticulum. In contrast, myriocin treatment of macrophages increased the level of cell surface ABCA1. In composite, these results indicate that the physical interaction of ABCA1 and SPTLC1 results in reduction of ABCA1 activity and that inhibition of this interaction produces enhanced cholesterol efflux.

Keywords: ABCA1, SPTLC1, HDL

^{*1} Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School

^{*2} University of Massachusetts Medical School.

^{*3} University Hospital Zurich.

Yin, T.^{*}, Maekawa, K., Kamide, K.^{*}, Saito, Y., Hanada, H.^{*}, Miyashita, K.^{*}, Kokubo, Y.^{*}, Akaiwa, Y.^{*}, Otsubo, R.^{*}, Nagatsuka, K.^{*}, Otsuki, T.^{*}, Horio, T.^{*}, Takiuchi, S.^{*}, Kawano, Y.^{*}, Minematsu, K.^{*}, Naritomi, H.^{*}, Tomoike, H.^{*}, Sawada, J. and Miyata, T.^{*}
: Genetic variations of CYP2C9 in 724 Japanese individuals and their

impact on the antihypertensive effects of losartan*Hypertens. Res.*, **31**, 1549-1557 (2008)

CYP2C9, a drug-metabolizing enzyme, converts the angiotensin II receptor blocker losartan to its active form, which is responsible for its antihypertensive effect. We resequenced CYP2C9 in 724 Japanese individuals, including 39 hypertensive patients under treatment with losartan. Of two novel missense mutations identified, the Arg132Gln variant showed a fivefold lower intrinsic clearance toward diclofenac when expressed in a baculovirus-insect cell system, while the Arg335Gln variant had no substantial effect. Several known missense variations were also found, and approximately 7% of the Japanese individuals (53 out of 724) carried one of the deleterious alleles (*CYP2C9* *3, *13, *14, *30, and Arg132Gln) as heterozygotes. After 3 months of losartan treatment, systolic blood pressure was not lowered in two patients with *CYP2C9* *1/*30, suggesting that they exhibited impaired in vivo CYP2C9 activity. *CYP2C9* *30 might be associated with a diminished response to the antihypertensive effects of losartan.

Keywords: genetic polymorphism, CYP2C9, function

* 国立循環器病センター

Kim, S.R., Saito, Y., Maekawa, K., Sugiyama, E., Kaniwa, N., Ueno, H.^{*1}, Okusaka, T.^{*1}, Ikeda, M.^{*1}, Morizane, C.^{*1}, Yamamoto, N.^{*1}, Yoshida, T.^{*1}, Kamatani, N.^{*2}, Furuse, J.^{*1}, Ishii, H.^{*1}, Saijo, N.^{*1}, Ozawa, S. and Sawada, J. : **Twenty novel genetic variations and haplotype structures of the *DCK* gene encoding human deoxycytidine kinase (dCK)**

Drug Metab. Pharmacokinet., **23**, 379-384 (2008)

Deoxycytidine kinase (dCK) is a rate-limiting enzyme in the activation of nucleoside anticancer drugs, such as gemcitabine and cytarabine (Ara-C), to their active metabolites. In this study, the 5'-flanking region, 7 exons and their flanking introns of *DCK* were comprehensively screened for genetic variations in 256 Japanese cancer patients administered gemcitabine. Twenty-nine genetic variations, including twenty novel ones, were found: 11 in the 5'-flanking region, 1 in the 5'-untranslated region (UTR), 1 in the coding exon, 9 in the 3'-UTR, and 7 in the introns. The novel variations included -1110C>T, -757G>A, -639C>T, -465G>A, -402T>C, -224C>A, -199C>G, IVS1+38G>T, IVS2+78_+83delTTTTTC, IVS3-9C>T, IVS4+12T>C, IVS5+39T>C, 1357A>G,

1545A>T, 1572delA, 1736G>A, 1749G>A, 1838T>C, 1889G>A, and 2048A>T. The frequencies were 0.01 for IVS2+78_+83delTTTTTC, 0.008 for -402T>C, 0.006 for -639C>T and IVS4+12T>C, 0.004 for -757G>A and 1572delA, and 0.002 for the other 14 variations. A known nonsynonymous SNP 364C>T (Pro122Ser) was detected at a 0.061 frequency. Using the detected polymorphisms, linkage disequilibrium analysis was performed, and 24 haplotypes were identified or inferred. Our findings suggest considerable ethnic differences in genetic variations of *DCK* and provide fundamental and useful information for genotyping *DCK* in the Japanese and probably other Asian populations.

Keywords: genetic polymorphism, *DCK*, gemcitabine

^{*1} 国立がんセンター

^{*2} 東京女子医科大学

Saito, Y., Sai, K., Maekawa, K., Kaniwa, N., Shirao, K.^{*}, Hamaguchi, T.^{*}, Yamamoto, N.^{*}, Kunitoh, H.^{*}, Ohe, Y.^{*}, Yamada, Y.^{*}, Tamura, T.^{*}, Yoshida, T.^{*}, Minami, H.^{*}, Ohtsu, A.^{*}, Matsumura, Y.^{*}, Saijo, N.^{*} and Sawada, J. : **Close association of *UGT1A9* IVS1+399C>T with *UGT1A1**28, *6, or *60 haplotype and its apparent influence on 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) glucuronidation in Japanese**

Drug Metab. Dispos., **37**, 272-276 (2009)

The anticancer prodrug, irinotecan, is converted to its active form 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) by carboxylesterases, and SN-38 is inactivated by UDP-glucuronosyltransferase (UGT)1A1-mediated glucuronidation. UGT1A9 also mediates this reaction. In a recent study, it was reported that the *UGT1A9* IVS1+399 (I399)C>T polymorphism is associated with increased SN-38 glucuronidation both in vitro and in vivo. However, its role in UGT1A9 expression levels and activity is controversial. Thus, we evaluated the role of I399C>T in SN-38 glucuronidation using 177 Japanese cancer patients administered irinotecan. I399C>T was detected at a 0.636 allele frequency. This polymorphism was in strong linkage disequilibrium (LD) with *UGT1A9**1b (-126_-118T₉>T₁₀, |D'| = 0.99) and *UGT1A1**6 (211G>A, 0.86), in moderate LD with *UGT1A1**60 (-3279T>G, 0.55), but weakly associated with *UGT1A1**28 (-54_-39A(TA)₆TAA>A(TA)₇TAA, 0.25). Haplotype analysis showed that 98% of the I399C alleles were linked with low-activity haplotypes, either *UGT1A1**6, *28, or *60. On the other hand, 85%

of the T alleles were linked with the *UGT1A1* wild-type haplotype *1. Although I399T-dependent increases in SN-38 glucuronide/SN-38 area under concentration-time curve (AUC) ratio (an in vivo marker for UGT1A activity) and decreases in SN-38 AUC/dose were apparent ($P < 0.0001$), these effects were no longer observed after stratified patients by *UGT1A1**6, *28, or *60 haplotype. Thus, at least in Japanese populations, influence of I399C>T on SN-38 glucuronidation is attributable to its close association with either *UGT1A1**6, *28, or *60.

Keywords: genetic polymorphism, *UGT1A9*, irinotecan

* 国立がんセンター

Tatewaki, N., Maekawa, K., Katori, N., Kurose, K., Kaniwa, N., Yamamoto, N.^{*}, Kunitoh, H.^{*}, Ohe, Y.^{*}, Nokihara, H.^{*}, Sekine, I.^{*}, Tamura, T.^{*}, Yoshida, T.^{*}, Saijo, N.^{*}, Saito, Y. and Sawada, J. : **Genetic variations and haplotype structures of the glutathione S-transferase genes, *GSTT1* and *GSTM1*, in a Japanese patient population**

Drug Metab. Pharmacokinet., **24**, 118-126 (2009)

Glutathione S-transferases (GSTs) play a vital role in phase II biotransformation of many synthetic chemicals including anticancer drugs. Deletion polymorphisms in *GSTT1* and *GSTM1* are reportedly associated, albeit controversial, with an increased risk in cancer as well as with altered responses to chemotherapeutic drugs. In this study, to elucidate the haplotype structures of *GSTT1* and *GSTM1*, genetic variations were identified in 194 Japanese cancer patients who received platinum-based chemotherapy. Homozygotes for deletion of *GSTT1* (*GSTT1**0/*0 or null) and *GSTM1* (*GSTM1**0/*0 or null) were found in 47.4% and 47.9% of the patients, respectively, while 23.2% of the patients had both *GSTT1* null and *GSTM1* null genotypes. From homozygous (+/+) and heterozygous (*0/+) patients bearing *GSTT1* and *GSTM1* genes, six single nucleotide polymorphisms (SNPs) for *GSTT1* and 23 SNPs for *GSTM1* were identified. A novel SNP in *GSTT1*, 226C>A (Arg76Ser), and the known SNP in *GSTM1*, 519C>G (Asn173Lys, *B), were found at frequencies of 0.003 and 0.077, respectively. Using the detected variations, *GSTT1* and *GSTM1* haplotypes were identified/inferred. Three and six common haplotypes ($N > \text{or} = 10$) in *GSTT1* and *GSTM1*, respectively, accounted for most (>95%) inferred haplotypes. This information would be useful in pharmacogenomic studies of xenobiotics including

anticancer drugs.

Keywords: genetic polymorphism, *GSTM1*, *GSTT1*

* 国立がんセンター

Maekawa, K., Yoshimura, T.^{*1}, Saito, Y., Fujimura, Y.^{*1}, Aohara, F.^{*1}, Emoto, C.^{*2}, Iwasaki, K.^{*2,3}, Hanioka, N.^{*4}, Narimatsu, S.^{*4}, Niwa, T.^{*1} and Sawada, J. : **Functional characterization of CYP3A4.16: catalytic activities toward midazolam and carbamazepine** *Xenobiotica*. **39**, 140-147 (2009)

To assess the substrate-dependent effects of the low-activity allele of human *CYP3A4*, *CYP3A4**16 (Thr185Ser), a recombinant wild-type (*CYP3A4.1*) or variant (*CYP3A4.16*) protein was co-expressed with human NADPH-P450 reductase in Sf21 insect cells using a baculovirus-insect cell system. The holo-CYP3A4 protein level of *CYP3A4.16* in insect microsomes was slightly higher than that of *CYP3A4.1*, while no difference in total (apo- and holo-) *CYP3A4* protein levels was observed between them. When midazolam was used as a substrate, K_m and V_{max} for 1'-hydroxylation in *CYP3A4.16* were significantly higher and lower, respectively, than those in the wild-type, resulting in a 50% decrease in intrinsic clearance (V_{max} / K_m) of the variant. In contrast, intrinsic clearance for 4-hydroxylation of the variant was decreased by 30% due to a significant increase in K_m without a difference in V_{max} . Both the wild-type and variant exhibited sigmoidal kinetic profiles for carbamazepine 10,11-epoxide formation. When the modified two-site equation was applied for the analysis of kinetic parameters, K_{m2} and V_{max2} of *CYP3A4.16* were approximately two times higher and lower than those of the wild-type, resulting in a 74% decrease in intrinsic clearance. These results demonstrated that *CYP3A4.16* shows the substrate-dependent altered kinetics compared with *CYP3A4.1*.

Keywords: genetic polymorphism, *CYP3A4*, function

*1 田辺三菱製薬 (株)

*2 ファイザー (株)

*3 (株) 新日本科学

*4 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

Sai, K., Saito, Y., Fukushima-Uesaka, H., Kurose, K., Kaniwa, N., Kamatani, N.^{*1}, Shirao, K.^{*2}, Yamamoto, N.^{*2}, Hamaguchi, T.^{*2}, Kunitoh, H.^{*2}, Ohe, Y.^{*2}, Tamura, T.^{*2}, Yamada, Y.^{*2}, Minami, H.^{*2}, Ohtsu, A.^{*2}, Yoshida, T.^{*2},

Saijo, N.² and Sawada, J. : **Impact of CYP3A4 haplotypes on irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients**

Cancer Chemother. Pharmacol., **62**, 529-537(2008)

Cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) converts an anticancer prodrug, irinotecan, to inactive metabolites such as APC. However, the contribution of CYP3A4 genetic polymorphisms to irinotecan pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) is not fully elucidated. In this study, the effects of CYP3A4 haplotypes on irinotecan PK/PD were investigated in 177 Japanese cancer patients who received irinotecan. Area under the concentration-time curve ratios of APC/irinotecan, an in vivo parameter for CYP3A4 activity, were significantly higher in females than in males. The male patients with *16B showed significantly decreased AUC ratios (APC/irinotecan) with 50% of the median value of the non-*16B male patients (no *16B-bearing female patients in this study). A slight trend toward increasing AUC ratios (20%) was detected in both male and female patients bearing *1G. Multivariate analysis confirmed contributions of CYP3A4*16B and *1G to the AUC ratio. However, no significant association was observed between the CYP3A4 genotypes and total clearance of irinotecan or toxicities (severe diarrhea and neutropenia). This study suggested that CYP3A4*16B was associated with decreased metabolism of irinotecan to APC. However, the clinical impact of CYP3A4 genotypes on total clearance and irinotecan toxicities was not significant. Keywords: CYP3A4, irinotecan, genetic polymorphism

¹ 東京女子医科大学

² 国立がんセンター

Upham, B.L.* , Park, J.S.* , Babica, P.* , Sovadinova, I.* , Rummel, A.M.* , Trosko, J.E.* , Hirose, A., Hasegawa, R., Kanno, J. and Sai, K. : **Structure-activity-dependent regulation of cell communication by perfluorinated fatty acids using in vivo and in vitro model systems**

Environ. Health Perspect., **117**, 545-551(2009)

Perfluoroalkanoates, [e.g., perfluorooctanoate (PFOA)], are known peroxisome proliferators that induce hepatomegaly and hepatocarcinogenesis in rodents, and are classic non-genotoxic carcinogens that inhibit in vitro gap-junctional intercellular communication (GJIC). This inhibition of GJIC is known to be a function of perfluorinated carbon lengths ranging from 7 to 10. The aim of this study was

to determine if the inhibition of GJIC by PFOA but not perfluoropentanoate (PFPeA) observed in F344 rat liver cells in vitro also occurs in F344 rats in vivo and to determine mechanisms of PFOA dysregulation of GJIC using in vitro assay systems. PFOA inhibited GJIC and induced hepatomegaly in rat livers, whereas PFPeA had no effect on either end point. Serum biochemistry of liver enzymes indicated no cytotoxic response to these compounds. In vitro analysis of mitogen-activated protein kinase (MAPK) indicated that PFOA, but not PFPeA, can activate the extracellular receptor kinase (ERK). Inhibition of GJIC, in vitro, by PFOA depended on the activation of both ERK and phosphatidylcholine-specific phospholipase C (PC-PLC) in the dysregulation of GJIC in an oxidative-dependent mechanism. The in vitro analysis of GJIC, an epigenetic marker of tumor promoters, can also predict the in vivo activity of PFOA, which dysregulated GJIC via ERK and PC-PLC.

Keywords: GJIC, PFOA, MAPK

* Michigan State University

Satoh, R., Koyano, S., Takagi, K., Nakamura, R, Teshima, R., Sawada, J. : **Immunological Characterization and mutational analysis of the recombinant protein BWp16, a major allergen buckwheat**
Biol.Pharm. Bull. **31**, 1079-1085 (2008)

Buckwheat allergy is one of the most critical diseases manifested by severe and dangerous symptoms in Japan and other countries. We previously isolated the cDNA encoding protein BWp16, a member of the 2S albumin family with a conserved motif of 8 cysteine (Cys) residues. Comparison of the deduced amino acid sequences of BWp16 and related proteins in the 2S albumin family showed similarities between BWp16 and BW 8-kDa from buckwheat, Ara h 6 from peanuts and Ric c 1 from castor bean. Purified recombinant BWp16 (rBWp16) expressed in *Escherichia coli* was recognized by >80% of sera from patients with positive for IgE binding to buckwheat. Mutational analysis of rBWp16 revealed that 7 out of 10 mutants in the Cys residues showed weaker IgE binding to patient's serum than wild-type rBWp16 (rBWp16 WT). Mutations of Cys65 and Cys66 in rBWp16 decreased the pepsin digestibility of the protein, and an ELISA inhibition assay revealed a weaker inhibitory effect of rBWp16 C65S than that of rBWp16 WT. These results suggest that the Cys residues, especially Cys65, are involved in

the allergenicity of rBWp16. Our findings provide new evidence for the role of Cys residues in 2S albumin family proteins and open the door to the production of hypoallergens and application to safe diagnostic methods and allergen-specific immunotherapy of buckwheat allergy.

Keywords: buckwheat allergen, IgE, hypoallergen

Teshima, R., Nakamura, R., Nakamura, R., Hachisuka, A., Sawada, J., Shibutani, M.* : **Effects of Exposure to Decabromodiphenyl Ether on the Development of the Immune System in Rats**

J.Health Sci., **54**(4), 382-389 (2008)

To evaluate the developmental toxicity of decabromodiphenylether (DBDE) after exposure during the period from late gestation to after lactation, maternal Sprague-Dawley rats were given DBDE at dietary concentrations of 0, 10, 100, and 1000 ppm from gestational day 10 (GD 10) to postnatal day (PND) 21. On PND 21 and 77, lymphocytes (Lymph) in the spleen, thymus, and peripheral blood of male pups were subjected to flow cytometric analyses for expression of surface markers [CD3, CD4, CD8a, CD25, CD45RA, CD71, and CD161(NKRP1A)]. On PND 21, the proportions of splenic CD4+ T cells in the 10-ppm group, activated B (CD45RA+CD71+) cells in the 100- to 1000-ppm groups, and activated T cells (CD3+CD71+) in the 1000-ppm group were significantly decreased, and the population of peripheral CD161+ natural killer cells on PND 21 and 77 had decreased in the 100-to 1000-ppm groups. In the 1000-ppm group, the serum T3 level was significantly decreased on PND 21 and the serum T4 level was decreased on PND 77. The body, spleen, and thymus weights were not significantly decreased, but liver weight was significantly increased on PND 21 in the 10- to 1000-ppm groups. These results suggest that on PND 21, developmental exposure to the highest dose of DBDE had a weak immunomodulatory effect. Although the most of the immunomodulatory effect had recovered to normal levels on PND 77, a decreasing effect on the natural killer (NK) cell population remained.

Keywords: decabromodiphenylether (DBDE), flow cytometry, immunotoxicity

* Tokyo University of Agriculture and Technology

Nakamura, R., Hachisuka, A., Sato, Y., Nakamura, R., Shibutani, M.*¹, Sawada, J., Teshima, R. : **Effect of**

perinatal exposure to the flame-retardant tetrabromobisphenol A on the developing immune system of rats

Bulletin of National Institute of Health Sciences, **126**, 65-70 (2008)

Tetrabromobisphenol A (TBBPA) is very popular flame retardant, that is often used as an industrial laminate for printed circuit boards. TBBPA is widely detected in the environment and is known to be transferred from dams to fetuses and offspring through the placenta and milk, respectively. Recent studies have also shown that TBBPA might modulate the thyroid hormone axis; however, the relation between the perinatal exposure of dams to TBBPA and the developing immune system of offspring has not yet been investigated. Here, we exposed maternal rats to TBBPA (0, 100, 1000, and 10000 ppm) in their diet beginning on gestational day 10. The exposure of the offspring was ceased by weaning at postnatal week (PNW) 3, and the subpopulational changes in the immune cells of the offspring were analyzed by flowcytometry at PNW3 and PNW11. The T3 hormone levels of the offspring were slightly decreased from 1.31 ng/ml to 1.13 ng/ml when their mother was exposed to 100 ppm TBBPA. We found that perinatal exposure to a high-dose (> 1000 ppm) of TBBPA caused a decrease in T cells and increases in regulatory T cells and NK cells in the spleens of the offspring at PNW11. We also found that increases in T cells and Treg cells in the peripheral blood at PNW11. However, body weight, immune-related organ weight, and the production of an antibody against KLH was not affected by exposure to TBBPA.

Keywords: brominated flame retardant, tetrabromobisphenol A, developing immune system, T cell subpopulation, thyroid hormone

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

Yoshioka, Y., Akiyama, H., Nakano, M.*¹, Shoji, T.*², Kanda, T.*², Ohtake, Y.*², Takita, T.*¹, Matsuda, R., Maitani, T. : **Orally administered apple procyanidins protect against experimental inflammatory bowel disease in mice**

Int Immunopharmacol. **20**, 1802-1807 (2008)

Apple procyanidins (ACT) is a natural biologically active compound extracted from apple. Our recent studies have shown that ACT ameliorates the symptoms of atopic dermatitis and inhibits food-allergen-induced oral sensitiza-

tion. The aim of this study was to investigate the potential protective effect and mechanism of action of ACT in a murine model of inflammatory bowel disease. We investigated the preventive effects of ACT in experimental models of colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) or oxazolone. Oral administration of ACT before DSS treatment attenuated the DSS-induced mortality rate and decreased body weight loss. ACT also prevented the body weight loss associated with oxazolone-induced colitis. Next we examined the effect of ACT on intraepithelial lymphocytes (IEL), which is a major T cell population in the intestine. Oral administration of ACT increased the proportions of TCR $\gamma\delta$ and TCR $\alpha\beta$ -CD8 $\alpha\alpha$ T cells in IEL and suppressed interferon γ synthesis in stimulated IEL. In addition, ACT inhibited phorbol 12-myristate 13-acetate-induced secretion of interleukin 8 (IL-8) in intestinal epithelial cells. The combined anti-inflammatory and immunomodulatory effects of ACT on intestinal epithelial cells and IEL suggest that it may be an effective oral preventive agent for inflammatory bowel diseases.

Keywords: Colitis, Intestinal epithelial cell, Intraepithelial lymphocyte

^{*1} Department of Nutritional Science, Faculty of Applied Biological Science, Tokyo University of Agriculture

^{*2} Fundamental Research Laboratory, Asahi Breweries

Shimizu, E.^{*1}, Kato, H.^{*2}, Nakagawa, Y.^{*2}, Kodama, T.^{*3}, Futo, S.^{*1}, Minegishi, Y.^{*4}, Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S.^{*5}, Hino, A.^{*5}, Kitta, K.^{*5} : **Development of a screening method for genetically modified soybean by plasmid-based quantitative competitive polymerase chain reaction**

J. Agric. Food Chem. **56**, 5521-5527 (2008)

A novel type of quantitative competitive polymerase chain reaction (QC-PCR) system for the detection and quantification of the Roundup Ready[®] soybean (RRS) was developed. This system was designed based on the advantage of a fully validated real-time PCR method for the quantification of RRS used in Japan. A plasmid was constructed as competitor plasmid for the detection and quantification of the GM soy, RRS. The plasmid contained the construct specific sequence of RRS and the taxon specific sequence of lectin1 (Le1), and both had 21 bp oligonucleotide insertion in the sequences. The plasmid DNA as a reference molecule was used in place of ground raw materials, which enabled us to adjust the copy number of targets precisely and stably. The

present study indicated that the novel PQC-PCR method could be a simple, feasible and the alternative way to real-time PCR method for the quantification of GMO contents.

Keywords: quantitative competitive-PCR (QC-PCR), Roundup Ready[®] soybean (RRS), plasmid based QC-PCR (PQC-PCR)

^{*1} Fasmac Co., Ltd.

^{*2} Showa Sangyo Co., Ltd.

^{*3} Food and Agricultural Materials Inspection Center

^{*4} Nippon Gene Co., Ltd.

^{*5} National Food Research Institute

Mano, J.^{*1}, Oguchi, T.^{*1}, Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A.^{*1}, Furui, S.^{*1}, Kitta K.^{*1} : **Simultaneous Detection of Recombinant DNA Segments Introduced into Genetically Modified Crops with Multiplex Ligase Chain Reaction Coupled with Multiplex Polymerase Chain Reaction**

J. Agric. Food Chem., **57**, 2640-2646 (2009)

We developed a multiplex polymerase chain reaction (PCR)-multiplex ligase chain reaction (LCR) (MPCR-MLCR) technique as a novel approach for the simultaneous detection of recombinant DNA segments (e.g., promoters, trait genes, and terminators) of genetically modified (GM) crops. With this technique, target DNA regions were amplified by multiplex PCR, the PCR products were subjected to the following multiplex LCR as template DNAs, and the LCR products were then analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis and subsequent fluorescent scanning. Seven recombinant DNA segments commonly introduced into some GM crop lines were selected as target DNA regions. In addition, another MPCR-MLCR system for the simultaneous detection of three endogenous DNA segments was designed as a positive control test. The specificity and sensitivity of the method were examined. The method allowed us to detect GM crops comprehensively and is expected to be utilized for efficient screening of GM crops into which any one of the seven recombinant DNA segments have been introduced, and for profiling the segments.

Keywords: genetically modified (GM), real-time PCR array, TaqMan[®] assay

^{*1} National Food Research Institute

Mano, J.^{*1}, Shigemitsu, N.^{*1}, Futo, S.^{*2}, Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A.^{*1}, Furui, S.^{*1}, Kitta K.^{*1} : **Real-**

time PCR array as a universal platform for the detection of genetically modified crops and its application in identifying unapproved genetically modified crops in Japan

J. Agric. Food Chem., **57**, 26-37 (2009)

We developed a novel type of real-time polymerase chain reaction (PCR) array with TaqMan[®] chemistry as a universal platform for the comprehensive and semiquantitative detection of genetically modified (GM) crops. Thirty primer-probe sets for the specific detection of GM lines, recombinant DNA (r-DNA) segments, endogenous reference genes and donor organisms were synthesized and a 96-well PCR plate was prepared with a different primer-probe in each well as the real-time PCR array. The specificity and sensitivity of the array were evaluated. A comparative analysis with the data and publicly available information on GM crops approved in Japan allowed us to assume the possibility of unapproved GM crop contamination. Furthermore, we designed a Microsoft Excel[®] spreadsheet application, Unapproved GMO Checker version 2.01, which helps process all the data of real-time PCR arrays for the easy assumption of unapproved GM crop contamination.

Keywords: multiplex PCR, genetically modified (GM), ligase chain reaction (LCR)

^{*1} National Food Research Institute

^{*2} FASMAC Co., Ltd.

Yamakawa, H.^{*1}, Akiyama, H., Endo, Y.^{*1}, Miyatake, K.^{*1}, Sakata, K., Sakai, S., Toyoda, M.^{*2}, Urisu, A.^{*3}, Teshima, R. : **Specific Detection of Buckwheat Residues in Processed Foods by Polymerase Chain Reaction**
Biosci. Biotech. Biochem., **72**, 312-316 (2008)

A sensitive qualitative detection method for buckwheat in foods using polymerase chain reaction (PCR) was developed. Trace amounts of buckwheat in commercial food products could be qualitatively detected by this method. The sensitivity of the proposed PCR method appears to be similar to that of ELISA. The present method should be reliable for detecting buckwheat residues in processed foods and practical for monitoring the labeling system for allergenic food material.

Keywords: buckwheat, *Fagopyrum esculentum*, polymerase chain reaction (PCR)

^{*1} Nisshin Seifun Group Inc.

^{*2} Jissen Woman's University

^{*3} Fujita Health University The Second Teaching Hospital

Morishita, N.^{*1}, Kamiya, K.^{*1}, Matsumoto, T.^{*1}, Sakai, S., Teshima, R., Urisu, A.^{*2}, Moriyama, T.^{*3}, Ogawa, T.^{*4}, Akiyama, H., Morimatsu, F.^{*1} : **A Reliable Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Determination of Soybean Proteins in Processed Foods**

J. Agric. Food Chem. **56**, 6818-6824 (2008)

Among allergenic foods, soybean is known as a food causing adverse reactions in allergic patients. To clarify the validity of labeling, the specific and sensitive detection method for the analysis of the soybean protein would be necessary. The p34 protein, originally characterized to be p34 as an oil-body associated protein in soybean, has been identified one of the major allergenic proteins and named as Gly m Bd 30K. A novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection and quantification of the soybean protein in processed foods was developed using polyclonal antibodies raised against p34 as a soybean marker protein and the specific extraction buffer for extract. The developed sandwich ELISA method was highly specific for the soybean protein. The limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ) of the developed ELISA were 0.47 ng/mL (equivalent to 0.19 µg/g in foods) and 0.94 ng/mL (equivalent to 0.38 µg/ in foods), respectively. The recovery ranged from 87.7 to 98.7 %, while the intra- and inter-assay coefficients of variation were less than 4.2 % and 7.5 %, respectively. This study showed that the developed ELISA method is a specific, precise and reliable tool for the quantitative analysis of the soybean protein in processed foods.

Keywords: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Gly m Bd 30K, allergen

^{*1} R&D Center Nippon Meat Packers, Inc.

^{*2} The Second Teaching Hospital, Fujita Health University

^{*3} Kinki University .

^{*4} Kansai University of Welfare Sciences

Doi, H.^{*1}, Shibata, H.^{*1}, Shoji, M.^{*1}, Sakai, S., Urisu, A.^{*2}, Akiyama, H., Teshima, R. : **A Reliable Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Determination of Walnut Proteins in Processed Foods**

J. Agric. Food Chem. **56**, 7625-7630 (2008)

Among food allergens of tree nuts, walnuts are a frequent cause of adverse food reactions in allergic patients. A novel sandwich enzyme linked immunosorbent assay

(ELISA) for the detection and the quantification of walnut soluble proteins in processed foods was developed. The sandwich ELISA method is highly specific for walnut soluble proteins. The recovery ranged from 83.4 to 123 %, while the intra- and interassay coefficients of variation were less than 8.8 % and 7.2 %, respectively. This study showed that the proposed method is a reliable tool for detection in the presence of hidden walnut proteins in processed foods.

Keywords: enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), 2S-Albumin, food allergy

^{*1} Morinaga Institute of biological Science Inc..

^{*2} The Second Teaching Hospital, Fujita Health University

Harikai, N.^{*1}, Saito, S.^{*1}, Abe, M.^{*1}, Kondo, K., Kitta, K.^{*2}, Akiyama, H., Teshima, R., Kinoshita, K.^{*1} : **A Real-Time PCR Method Using Capture Oligo-Immobilized PCR Tubes to Determine the Specific Gene for Soybean and Genetically Modified Soybean in Food Matrices**

Biosci. Biotech. Biochem., **72**, 2953-2958 (2008)

A new single-tube real-time PCR method using capture oligo immobilized PCR tube was developed to determine the amount of soybean and genetically modified (GM) soybean in foods. Hybridization conditions, such as location, length and amount of capture oligo and incubation time and temperature, were examined using soybean genomic DNA in the tube immobilized a capture oligo for lectin gene (*Le1*). Under optimized conditions, the copy number of *Le1* was dose-dependently determined from soybean genomic DNA and soybean lysate (DNA 10-1000 ng: $r = 0.99$, lysate 1-100%: $r = 0.99$). Using PCR tube immobilized a capture oligo for transgene in Roundup Ready soybean (*RRS*), the copy number of *RRS* in GM soybean lysate (1-100%: $r = 0.99$) was dose-dependently determined. The present studies suggest that the proposed method is rapid and simple way to determine the amount of soybean and GM soybean. Keywords: DNA extraction method, genetically modified organism, hybridization, polymerase chain reaction

^{*1} Mukogawa Women's University

^{*2} National Food Research Institute

Oguchi, T.^{*1}, Onishi, M.^{*2}, Chikagawa, Y.^{*2}, Kodama, T.^{*3}, Suzuki, E.^{*1}, Kasahara, M.^{*3}, Akiyama, H., Teshima, R., Futo, S.^{*2}, Hino, A.^{*1}, Furui, S.^{*1}, Kitta, K.^{*1} : **Investigation of Residual DNAs in Sugar from Sugar Beet**

(*Beta vulgaris L.*)

J. Food Hyg. Soc. Japan, **50**, 41-46 (2009)

Genetically modified (GM) sugar beets have been bred to use for food and feed. To evaluate applicability of GM analyses on the processed foods of sugar beets, we investigated the residual DNA in the eight sorts of in-process beet sugar samples and the commercialized beet sugar products. Polymerase chain reaction (PCR) analyses with the taxonomic-specific primers indicated that sugar beet DNA were degraded at the early stage of the purification process of sugar and no detectable DNA remained in the investigated sugar products.

Keywords: genetically modified (GM), sugar beet (*Beta vulgaris L.*), deoxyribonucleic acid (DNA)

^{*1} National Food Research Institute

^{*2} Fasmac Co., Ltd.

^{*3} Food and Agricultural Materials Inspection Center

Toida, T.^{*1}, Sato, K.^{*1}, Sakamoto, N.^{*1}, Sakai, S., Hosoyama, S.^{*1}, Linhardt, R. J.^{*2} : **Solvolytic depolymerization of chondroitin and dermatan sulfates**
Carbohydr. Res., **344**, 888-893 (2009)

It is essential to establish a library of glycosaminoglycan oligosaccharides from the chondroitin and dermatan sulfates to investigate their biological functions and structure-activity relationships (SARs). There are several approaches to obtain oligosaccharides using chemical and enzymatic degradation procedures; however, purification of each resulting oligosaccharide is complicated because of the diversity of sulfonation patterns present in these oligosaccharides. We have developed a new method for the solvolytic degradation for chondroitin and dermatan sulfates to obtain an oligosaccharide mixture that can be easily purified into chondro/dermato oligosaccharides for characterization by both ¹H NMR and MALDI-TOFMS. These oligosaccharides have a methyl-esterified uronate residue and a methyl 2-acetamido-2-deoxy-D-galactofuranoside at the nonreducing and reducing ends, respectively. All other internal repeating disaccharide units were desulfonated, but maintained their core carbohydrate structures.

Keywords: chondroitin sulfate, dermatan sulfate, oligosaccharide depolymerization, solvolysis, sulfonation

^{*1} Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

^{*2} Rensselaer Polytechnic Institute

酒井信夫, 松田りえ子, 杉本敏明^{*1}, 米谷民雄^{*2}: **野菜及び野菜加工食品に含まれる硝酸塩について**

日本食品化学学会誌, **15**, 110-115 (2008)

国産野菜中の硝酸塩濃度についてHPLCを用いて定量した。夏季に収穫したハウレンソウは, 冬季に収穫したものよりも硝酸塩濃度が有意に高かったのに対し, 夏季に収穫したレタス, サニーレタス, 及びダイコンは, 冬季に収穫したものよりも硝酸塩濃度が有意に低かった。次に我々は, 市販59加工食品に含まれる硝酸塩濃度を定量した。それらに含まれる硝酸塩濃度は以下の通りである。ジュース (n=15), 5.9 ~ 652.5 µg/mL; スープ (n=13), 12.1 ~ 437.9 µg/mL; ペースト (n=3), 46.1 ~ 888.8 µg/mL; 錠剤 (n=13), 4.0 ~ 1373.5 µg/g; 顆粒粉末 (n=6), 37.1 ~ 309.7 µg/g; 菓子 (n=5), 3.1 ~ 72.6 µg/g; ふりかけ(n=2), 699.2 ~ 1147.4 µg/g; パスタ (n=2), 36.9 ~ 45.6 µg/g. これらの食品の過剰摂取により, JECFAの定める硝酸塩の一日許容摂取量を超過することが懸念されることから, 我々は, 健康危害を未然に防ぐために硝酸塩摂取に関する情報提供が必要であると考えた。

Keywords: vegetables, processed foods, nitrate, high performance liquid chromatography

^{*1} 財団法人日本食品分析センター

^{*2} 静岡県立大学

Kubota, K., Iwasaki, E.^{*1}, Inagaki, S.^{*1}, Nokubo, T.^{*1}, Sakurai, Y.^{*2}, Komatsu, M.^{*2}, Toyofuku, H., Kasuga, F., Angulo, F. J.^{*3}, Morikawa, K. : **The Human Health Burden of Foodborne Infections Caused by *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Vibrio parahaemolyticus* in Miyagi Prefecture, Japan**

Foodborne Pathog Dis., **5**(5), 641-8 (2008)

To estimate the human health burden of foodborne infections caused by *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan, an epidemiological study was conducted in Miyagi Prefecture. Laboratoryconfirmed infections among patients with diarrhea caused by the three pathogens were ascertained from two clinical laboratories in the prefecture from April 2005 to March 2006. To estimate the number of ill persons who were not laboratory-confirmed, we estimated physician-consultation rates for patients with acute diarrhea by analyzing foodborne outbreak investigation data for each pathogen and the frequency at which stool specimens were submitted from a physician survey. Each factor was added to a Monte-Carlo simulation model as a probability distribution, and

the number of laboratory-confirmed cases was extrapolated to estimate the total number of ill persons. The estimated incidence of foodborne infections per 100,000 per year in this region estimated by this model was 237 cases for *Campylobacter*, 32 cases for *Salmonella*, and 15 cases for *V. parahaemolyticus*. Simulated results indicate a significant difference between our estimated incidence and the reported cases of food poisoning in this region. An enhanced surveillance system is needed to complement the present passive surveillance on foodborne illnesses in Japan to identify food safety issues more precisely, and to monitor the effectiveness of risk management options.

Keywords: Burden, diarrhea, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*

^{*1} Sendai Quarantine Station, Miyagi, Japan

^{*2} Miyagi Medical Association, Miyagi, Japan

^{*3} Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, U.S.A.

Sato, S.^{*1}, Shirakawa, H.^{*1}, Tomita, S.^{*2}, Ohsaki, Y.^{*1}, Haketa, K.^{*1}, Tooi, O.^{*3}, Santo, N.^{*4,5}, Tohkin, M., Furukawa, Y.^{*1}, Gonzalez, F.J.^{*6}, Komai, M.^{*1}. : **Low-dose dioxins alter gene expression related to cholesterol biosynthesis, lipogenesis, and glucose metabolism through the aryl hydrocarbon receptor-mediated pathway in mouse liver**

Toxicol. Appl. Pharmacol., **229**, 10-19 (2008)

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) is a common environmental contaminant. TCDD binds and activates the transcription factor aryl hydrocarbon receptor (AHR), leading to adverse biological responses via the alteration of the expression of various AHR target genes. Although small amounts of TCDD are consumed via contaminated daily foodstuffs and environmental exposures, the effects of low-dose TCDD on gene expression in animal tissues have not been clarified, while a number of genes affected by high-dose TCDD were reported. In this study, we comprehensively analyzed gene expression profiles in livers of C57BL/6N mice that were orally administered relatively low doses of TCDD (5, 50, or 500 ng/kg body weight (bw) day⁻¹) for 18 days. The hepatic TCDD concentrations, measured by gas chromatography-mass spectrometry, were 1.2, 17, and 1063 pg toxicity equivalent quantity (TEQ)/g, respectively. The mRNA level of the cytochrome P450 CYP1A1 was significantly increased by treatment with only TCDD 500 ng/kg bw day⁻¹. DNA microarray and

quantitative RT-PCR analyses revealed changes in the expression of genes involved in the circadian rhythm, cholesterol biosynthesis, fatty acid synthesis, and glucose metabolism in the liver with at all doses of TCDD employed. However, repression of expression of genes involved in energy metabolism was not observed in the livers of Ahr-null mice that were administered the same dose of TCDD. These results indicate that changes in gene expression by TCDD are mediated by AHR and that exposure to low-dose TCDD could affect energy metabolism via alterations of gene expression.

Keywords: Dioxin, Mouse liver, DNA microarray

*1 Laboratory of Nutrition, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University

*2 Division of Experimental Immunology, Institute for Genome Research, University of Tokushima

*3 Biotechnology Research Laboratory, Towa Environmental Science Co., Ltd.,

*4 Medical and Environment Technology Co., Ltd.,

*5 Research Center for Green Science

*6 Laboratory of Metabolism, Center for Cancer Research, National Cancer Institute, National Institutes of Health

Kurose, K., Saeki, M., Tohkin, M. Hasegawa, R. : **Thyroid hormone receptor mediates human MDR1 gene expression—Identification of the response region essential for gene expression**

Arch. Biochem. Biophys., **474**, 82-90 (2008)

P-glycoprotein, encoded by the MDR1 gene, is a drug efflux transporter that is expressed in various tissues and plays an important role in the absorption and elimination of many drugs and xenobiotics. Induction of the MDR1 gene affects drug disposition and the efficacy of drug treatment. In this study, we demonstrated that the thyroid hormone receptor (TR) induces MDR1 gene expression in a thyroid hormone

(TH)-dependent manner. The 5'-upstream region of the human MDR1 gene was examined for the presence of TH-responsive elements. Luciferase-reporter gene assays revealed that the TH response region is located between -7.9 and -7.8 kb upstream from the transcription start site of MDR1. The region contains two TH response clusters, one of which includes a direct repeat with a three-nucleotide spacer (DR3) and a four-nucleotide spacer DR4(I), and the other of which includes two DR4s (II and III). Mutation analyses indicated that every direct repeat

has a unique contribution to the TH response. In particular, DR4(I) was shown to be the most important element. Chromatin immunoprecipitation assays revealed that TR and retinoid X receptor (RXR) bind to the TH response region, and gel mobility shift assays confirmed that one molecule of TR/RXR heterodimer binds to each of the clusters in this region, with preferential binding to the upstream one. We furthermore demonstrated that two molecules of TR/RXR could bind simultaneously to the TH response region. The order of binding affinity to the direct repeats was DR4(I) > DR4(II) > DR4(III) \approx DR3. Our results indicate that these two closely spaced TR/RXR-binding clusters are both required for the maximal induction of MDR1 gene expression mediated by TR.

Keywords: P-glycoprotein (P-gp), TR, Triiodothyronine (T3), Thyroxine (T4), Thyroid hormone response element (TRE), ABCB1

Saeki, M., Kurose, K., Tohkin, M., Hasegawa, R. : **Identification of the functional vitamin D response elements in the human MDR1 gene**
Biochem. Pharmacol., **76**, 531-342 (2008)

P-glycoprotein, encoded by the multidrug resistance 1 (*MDR1*) gene, is an efflux transporter and plays an important role in pharmacokinetics. The expression of MDR1 is induced by a variety of compounds, of which $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3 is known to be an effective inducer. However, it remains unclear how $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3 regulates the expression of *MDR1*. In this study, we demonstrated that the vitamin D receptor (VDR) induces *MDR1* expression in a $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3-dependent manner. Luciferase assays revealed that the region between -7.9 and -7.8 kbp upstream from the transcription start site of the MDR1 is responsible for the induction by $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3. Electrophoretic mobility shift assays revealed that several binding sites for the VDR/retinoid X receptor α (RXR α) heterodimer are located between the -7880 and -7810 bp region, to which the three molecules of VDR/RXR α are able to simultaneously bind with different affinities. Luciferase assays using mutated constructs revealed that the VDR-binding sites of DR3, DR4(I), M α C3, and DR4(III) contribute to the induction, indicating that these binding sites act as vitamin D response elements (VDREs). The contribution of each VDRE to the inducibility was different for each response element. An additive effect of the individual VDREs on induced luciferase activity by $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3 was also

observed. These results indicate that the induction of *MDR1* by $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ is mediated by VDR/RXR α binding to several VDREs located between -7880 and -7810 bp, in which every VDRE additively contributes to the $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ response.

Keywords: Multidrug resistance 1, P-glycoprotein (P-gp), Vitamin D receptor (VDR), $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃, Vitamin D response element (VDRE)

Ueno^{*1}, H., Kaniwa, N., Okusaka^{*1}, T., Ikeda^{*1}, M., Morizane^{*1}, C., Kondo^{*1}, S., Sugiyama, E., Kim, S. R., Hasegawa, R., Saito, Y., Yoshida^{*2}, T., Saijo^{*3} N., and Sawada, J. : **Homozygous CDA*3 is a major cause of life-threatening toxicities in gemcitabine-treated Japanese cancer patients**

Br. J. Cancer **100**, 870 - 873, (2009)

ゲムシタビンの投与を受けた膵がん患者242名のうち、好中球減少症を含む重篤な副作用を示した3人の患者について、*CDA* 遺伝子の多型、血漿*CDA*活性及び可能な場合には薬物動態を測定した。その結果、2人の患者が *CDA*3* (*CDA208G>A*) をホモ接合で保有しており、血漿中*CDA*の著しい低下、また、薬物動態が測定できた1名では、著しいゲムシタビンのクリアランスの低下が観測され、この2名の患者では、*CDA*3*による*CDA*の活性低下が重篤な副作用の原因であることが判明した。残りの1名の患者は*CDA*3*を保有しておらず、重篤副作用の発現に*CDA*の活性低下が関与していないことが判明した。日本人においては、*CDA*3*ホモ接合がゲムシタビンによる重篤な副作用の発現の重要な要因の一つであることが明らかとなった。

Keywords: gemcitabine, cytidine deaminase, genetic polymorphism

*1 国立がんセンター東病院

*2 国立がんセンター研究所

*3 国立がんセンター中央病院

Kaniwa, N., Saito, Y., Aihara, M., Matsunaga, K., Tohkin, M., Kurose, K., Sawada, J., Furuya^{*1}, H., Takahashi^{*1}, Y., Muramatsu^{*1}, M., Kinoshita^{*1}, S., Abe^{*1}, M., Ikeda^{*1}, H., Kashiwagi^{*1}, M., Song^{*1}, Y., Ueta^{*1}, M., Sotozono^{*1}, C., Ikezawa^{*1} Z., and Hasegawa, R. : **HLA-B locus in Japanese patients with anti-epileptics and allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis**

Pharmacogenomics, **9**, 1617-1622 (2008)

ステイブンス・ジョンソン症候群 (SJS) 及び中

毒性表皮壊死融解症 (TEN) は、発生頻度は希であるが重篤な副作用である。近年、カルバマゼピン誘因性のSJS/TEN及びアロプリノール誘因性の重症薬疹と、HLAB*1502及びHLA-B*5801とが、それぞれ、非常に強い関連があることが台湾の漢民族を対象として研究で示された。しかし、このような関連には民族依存性があることも報告されている。そこで、58名の日本人患者を対象として、これら2つのHLAタイプと重症薬疹との関連を、ケース・コントロール研究により調べた。58名の症例の中で、HLAB*1502の保有者は検出されず、日本人において、カルバマゼピンや芳香族系抗てんかん薬誘因性のSJS/TENの発症との関連は認められなかった。一方、アロプリノール誘因性のSJS/TENの患者では、複数のHLA-B*5801の保有者がおり、日本人においても、アロプリノール誘因性のSJS/TENとHLA-B*5801との関連は認められた。

Keywords: Stevens-Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis, HLA-B locus

*1 SJS/TEN遺伝子多型研究班

Sato^{*1,2}, Y., Laird^{*1}, N. M., Nagashima^{*3}, K., Kato^{*3}, R., Hamano^{*4}, T., Yafune^{*5}, A., Kaniwa, N., Saito, Y., Sugiyama, E., Kim, S-R., Furuse^{*6}, J. J., Ishii^{*6}, H., Ueno^{*7}, H., Okusaka^{*7}, T., Saijo^{*6}, N., Sawada J., and Yoshida^{*2}, T. : **A new statistical screening approach for finding pharmacokinetics-related genes in genome-wide studies**

Pharmacogenomics J., **9**, 137-146 (2009)

Biomedical researchers usually test the null hypothesis that there is no difference of the population mean of pharmacokinetics (PK) parameters between genotypes by the Kruskal-Wallis test. Although a monotone increasing pattern with a number of alleles is expected for PK-related genes, the Kruskal-Wallis test does not consider a monotonic response pattern. For detecting such patterns in clinical and toxicological trials, a maximum contrast method has been proposed. We show how that method can be used with pharmacogenomics data to develop a test of association. Further, using simulation studies, we compare the power of the modified maximum contrast method to those of the maximum contrast method and the Kruskal-Wallis test. On the basis of the results of those studies, we suggest rules of thumb for which statistics to use in a given situation. An application of all three methods to an actual genome-wide pharmacogenomics study illustrates the practical relevance of our discussion.

Keywords: genome-wide study, maximum contrast method, statistical screening method

*1 ハーバード大学

*2 国立がんセンター研究所

*3 東京理科大学

*4 Hamano Statistical Analysis Ltd.

*5 クリニック千駄ヶ谷

*6 国立がんセンター東病院

*7 国立がんセンター中央病院

Matsubara^{*1,5}, J., Ono^{*1}, M., Negishi^{*1}, A., Ueno^{*2}, H., Okusaka^{*2}, T., Furuse^{*3}, J., Furuta^{*3}, K., Sugiyama, E., Saito, Y., Kaniwa, N., Sawada, J., Honda^{*1}, K., Sakuma^{*4}, T., Chiba^{*5}, T., Saijo^{*3}, N., Hirohashi^{*1}, S., Yamada^{*1}, T. : **Identification of a predictive biomarker for hematologic toxicities of gemcitabine**

J. Clin. Oncol., **27**, 2261-2268 (2009)

PURPOSE: Gemcitabine monotherapy is the current standard for patients with advanced pancreatic cancer, but the occurrence of severe neutropenia and thrombocytopenia can sometimes be life threatening. This study aimed to discover a new diagnostic method for predicting the hematologic toxicities of gemcitabine. PATIENTS AND METHODS: Using quantitative mass spectrometry (MS), we compared the baseline plasma proteomes of 25 patients who had developed severe hematologic adverse events (grade 3 to 4 neutropenia and/or grade 2 to 4 thrombocytopenia) within the first two cycles of gemcitabine with those of 22 patients who had not (grade 0). RESULTS: We identified 757 peptide peaks whose intensities were significantly different ($P < .001$, Welch t test) among a total of 60,888. The MS peak with the highest statistical significance ($P = .0000282$) was revealed to be derived from haptoglobin by tandem MS. A scoring system (nomogram) based on the values of haptoglobin, haptoglobin phenotype, neutrophil count, platelet count, and body-surface area was constructed to estimate the risk of hematologic adverse events (grade 3 to 4 neutropenia and/or grade 2 to 4 thrombocytopenia) with an area under curve value of 0.782 in a cohort of 166 patients with pancreatic cancer. Predictive ability of the system was confirmed in two independent validation cohorts consisting of 87 and 52 patients with area under the curve values of 0.655 and 0.747, respectively. CONCLUSION: Although the precise mechanism responsible for the correlation of haptoglobin with the future onset of hematologic toxicities

remains to be clarified, our prediction model seems to have high practical utility for tailoring the treatment of patients receiving gemcitabine.

Keywords: gemcitabine, proteomics, neutropenia

*1 国立がんセンター研究所

*2 国立がんセンター中央病院

*3 国立がんセンター東病院

*4 三井情報科学株式会社

*5 京都大学

伊集院一成^{*1}, 岩木和夫^{*2}, 林 譲, 矢島毅彦^{*3}: **薬局の在庫管理に対するFUMI理論の応用に関する研究**
社会薬学, **27**, 7-18 (2008)

薬局間をインターネットでつなぐ薬局情報ネットワークを解説した。

Keywords: health vigilance, drug, pharmacy, FUMI theory

*1 田無薬品

*2 奥羽大学

*3 東邦大学

Ito, M.^{*1}, Fukuzawa, K.^{*2}, Mochizuki, Y.^{*3}, Nakano, T., Tanaka, S.^{*1}: **Ab Initio Fragment Molecular Orbital Study of Molecular Interactions between Liganded Retinoid X Receptor and Its Coactivator; Part II: Influence of Mutations in Transcriptional Activation Function 2 Activating Domain Core on the Molecular Interactions**

J. Phys. Chem. A, **112**, 1986-1998 (2008)

The ab initio fragment molecular orbital (FMO) calculations were performed for retinoid X receptor (RXR) complexes with its ligand 9-cis retinoic acid (9cRA) and steroid receptor coactivator-1 (SRC1) to examine the influence of mutations in transcriptional activation function 2 activating domain core (AF2C) of RXR on molecular interactions between 9cRA liganded RXR and SRC1 coactivator.

Keywords: FMO, Retinoid X receptor, coactivator

*1 神戸大学

*2 みずほ情報総研

*3 立教大学

Sato, M.^{*1}, Yamataka, H.^{*1}, Komeiji, Y.^{*2}, Mochizuki, Y.^{*1}, Ishikawa, T.^{*1}, Nakano, T. : **How Does an S_N2 Reaction Take Place in Solution? Full Ab Initio MD**

Simulations for the Hydrolysis of the Methyl Diazonium Ion

J. Am. Chem. Soc., **130**, 2396-2397 (2008)

FMO-MD法を用い、水溶液中のメチルジアゾニウムイオンの S_N2 反応のシミュレーションを行った。

Keywords: FMO-MD, S_N2 reaction, Methyl Diazonium Ion

*¹ 立教大学

*² 産業技術総合研究所

Koyano, K.^{*1}, Nakano, T. : Interaction of HIV-1 aspartic protease with its inhibitor, by molecular dynamics and ab initio fragment molecular orbital method

J. Synchrotron Rad. **15**, 239-242 (2008)

HIV-1プロテアーゼについて、古典MDとFMO法を用いた分子シミュレーションを行い、阻害剤との相互作用について解析を行った。

Keywords: FMO, HIV-1 protease, inhibitor

*¹ 東京大学

Mochizuki, Y.^{*1}, Yamashita, K.^{*1}, Murase, T.^{*2}, Nakano, T., Fukuzawa, K.^{*3}, Takematsu, K.^{*4}, Watanabe, H.^{*4}, Tanaka, S.^{*4} : Large scale FMO-MP2 calculations on a massively parallel-vector computer

Chem. Phys. Lett. **457**, 396-403 (2008)

The fragment molecular orbital (FMO) calculations have been successfully applied to a variety of realistic biochemical problems, by using our original ABINIT-MP program. In these applications, the inclusion of electron correlation through the second-order Møller-Plesset perturbation (MP2) was demonstrated to be essential to obtain qualitatively correct descriptions. Recently, the FMO calculations in ABINIT-MP were tuned for a massively parallel-vector processing. A series of FMO-MP2/6-31G calculations were performed on the Earth Simulator by which up to 4,096 vector processors are available. The largest FMO-MP2 computation was carried out for an influenza hemagglutinin antigen-antibody system consisting of 921 residues, which was completed within one hour with 4,096 processors.

Keywords: FMO, earth simulator, parallel-vector computer

*¹ 立教大学

*² NECソフト

*³ みずほ情報総研

*⁴ 神戸大学

Harada, T.^{*1}, Yamagishi, K.^{*1}, Nakano, T., Kitaura, K.^{*2}, Tokiwa, H.^{*1} : Ab initio fragment molecular orbital study of ligand binding to human progesterone receptor ligand-binding domain

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., **377**, 607-615 (2008)

We applied the fragment molecular orbital (FMO) method, which enables total electronic calculations of large molecules at ab initio level, to the evaluation of binding affinities between the human progesterone receptor ligand-binding domain (PR LBD) and various steroidal ligands.

Keywords: Progesterone receptor, Binding affinity, FMO

*¹ 立教大学

*² 産業技術総合研究所

Ito, M.^{*1}, Fukuzawa, K.^{*2}, Ishikawa, T.^{*3}, Mochizuki, Y.^{*3}, Nakano, T., Tanaka, S.^{*1} : Ab Initio Fragment Molecular Orbital Study of Molecular Interactions in Liganded Retinoid X Receptor: Specification of Residues Associated with Ligand Inducible Information Transmission

J. Phys. Chem. B, **112**, 12081-12094 (2008)

The ab initio fragment molecular orbital calculations were performed for the α -subtype of the human retinoid X receptor (hRXR α) complex with its natural ligand 9-cis retinoic acid (9cRA) to quantitatively specify the key residues with important roles for the ligand inducible information transmission of RXR.

Keywords: FMO, retinoid X receptor, information transmission

*¹ 神戸大学

*² みずほ情報総研

*³ 立教大学

Ishikawa, T.^{*1}, Mochizuki, Y.^{*1}, Amari, S.^{*2}, Nakano, T., Tanaka, S.^{*3}, Tanaka, K.^{*4} : An application of fragment interaction analysis based on local MP2

Chem. Phys. Lett. **463**, 189-194 (2008)

We have developed a method named 'fragment interaction analysis based on local MP2' (abbreviated as FILM). This method enables us to decompose the interaction energy associated with dispersion interactions into contributions of localized occupied orbitals. In this study, the basis set dependence of the results derived from FILM was examined. The results suggested that the individual ratio of pair correlation energies of selected

orbital pairs to the total dispersion interaction was almost independent of the basis set size. As an illustrative example, detailed analysis was performed on the human immunodeficiency virus type 1 protease complexed with lopinavir molecule.

Keywords: FMO, FILM, local MP2

*¹ 立教大学

*² 菱化システム

*³ 神戸大学

*⁴ 東京大学

Ishimaru, N.^{*1}, Takagi, A., Kohashi, M.^{*1}, Yamada, A.^{*1}, Arakaki, R.^{*1}, Kanno, J., Hayashi, Y.^{*1}. : **Neonatal exposure to low-dose 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes autoimmunity due to the disruption of T cell tolerance**

J Immunol., **182** (10), 6576-6586 (2009)

Although 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) has been shown to influence immune responses, the effects of low-dose TCDD on the development of autoimmunity are unclear. In this study, using NFS/sld mice as a model for human Sjögren's syndrome, in which the lesions are induced by the thymectomy on day 3 after birth, the autoimmune lesions in the salivary glands, and in later phase, inflammatory cell infiltrations in the other organs were developed by neonatal exposure to non apoptotic dosage of TCDD without thymectomy on day 3 after birth. We found disruption of thymic selection, but not thymic atrophy, in TCDD-administered mice. The endogenous expression of aryl hydrocarbon receptor in the neonatal thymus was significantly higher than that in the adult thymus, suggesting that the neonatal thymus may be much more sensitive to TCDD compared with the adult thymus. In addition, the production of T(H)1 cytokines such as IL-2 and IFN-gamma from splenic CD4(+) T cells and the auto antibodies relevant for Sjögren's syndrome in the sera from TCDD-exposed mice were significantly increased compared with those in control mice. These results suggest that TCDD/aryl hydrocarbon receptor signaling in the neonatal thymus plays an important role in the early thymic differentiation related to autoimmunity.

Keywords: TCDD, autoimmunity, NFS mouse

*¹ Department of Oral Molecular Pathology, Institute of Health Biosciences, University of Tokushima Graduate School

Hirabayashi, Y., Tsuboi, I., Kitada, K.^{*1}, Igarashi, K., Kodama, Y., Kanno, J., Yoshida, K.^{*2}, Dainiak, N.^{*3}, and Inoue, T. : **Comparison of murine gene expression profiles between spontaneous and radiation-induced myelogenous leukemias: Stochastic and probabilistic expression variances in the former vs. radiation-specific expression commonalities in the latter**

Exp Hematol., **37**, 195-205 (2009)

Objective. To elucidate the common characteristics of murine radiation-induced myelogenous leukemias, global gene-chip expression profiles were compared with age-matched steady-state bone marrow tissue profiles and spontaneous myelogenous leukemia profiles.

Materials and Methods. Six each of C3H/He mice-derived radiation-induced and spontaneously developed myelogenous leukemias were analyzed. Bone marrow cells from five each of 2- and 21-month old mice were used to subtract non-leukemic information in the analysis. mRNAs from individual mice were analyzed separately using 45,101 gene chips followed by computational biological analysis.

Results. First, principal component analysis (PCA) was performed to discriminate the gene expression profiles of individual mice with radiation-induced myelogenous leukemia from those of bone marrow cells from 2- or 21-month-old mice. Discriminant union genes for individual leukemias were then selected, which finally yielded 242 genes, among which six are radiation-related genes including *Hus-1*, *Edfla2*, and *Vegf-c*; 16 are apoptosis/cell-death-related genes, 13 are cell-cycle/cell-growth-related genes, and 50 are suppressor/promoter genes. PCA of these 242 genes consistently enabled the discrimination of the radiation-induced leukemias from the spontaneous leukemias. Second, the other components of the same PCA provided four different eigenvector clusters in an unsupervised manner representing four histopathological findings, with which the differential diagnosis in molecular taxonomy was significant as determined by ANOVA of the global gene expression profiles.

Conclusion. Discriminant union genes in radiation-induced myelogenous leukemias against spontaneous myelogenous leukemias and age-matched nonleukemic bone marrow profilings generated by unsupervised computational analysis essentially represent probabilistic biomarkers for radiation-induced myelogenous leukemias, which may contribute to developing a model for risk of secondary carcinogenesis in patients treated by whole-body irradiation.

Keywords: myelogenous leukemia, global gene-chip expression profiles, principal component analysis (PCA)

^{*1} Kamakura Research Laboratories, Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.

^{*2} National Institute of Radiological Sciences

^{*3} Yale University School of Medicine

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Li, G.X., Fujii-Kuriyama, Y.^{*}, Kaneko, T., Kanno, J., Inoue, T. : **Benzene-induced hematopoietic toxicity transmitted by AhR in wild-type mouse and nullified by repopulation with AhR-deficient bone marrow cells: time after benzene treatment and recovery**

Chemosphere, **73**, S290-294 (2008)

Previously, we found an aryl hydrocarbon receptor (AhR)-transmitted benzene-induced hematotoxicity; that is, AhR-knockout (KO) mice did not show any hematotoxicity after benzene exposure (Yoon et al., 2002). Furthermore, our preliminary study showed a significant attenuation of benzene-induced hemopoietic toxicity by AhR expression, when the bone marrow (BM) cells of mice were repopulated with AhR-KO BM cells (Hirabayashi et al., 2005a). In this study, benzene-induced hematotoxicity and its nullification by AhR-KO BM cells were further precisely reevaluated including the duration of the effect after benzene treatment and recovery after the cessation of exposure. Exposure routes, namely, intraperitoneal (*i.p.*) injection used in our previous study, and intragastric (*i.g.*) administration used in this study, were also compared in terms of their toxicologic outcomes. From the results of this study, mice that had been lethally irradiated and repopulated with BM cells from AhR-KO mice essentially did not show any benzene-induced hematotoxicity. The AhR-KO BM cells nullified benzene-induced toxicities in notably different hemopoietic endpoints between the *i.p.* treatment and the *i.g.* treatment; however, the number of granulo-macrophage colony forming unit *in vitro* (CFU-GM) was a common target parameter, the benzene-induced toxicity of which was nullified by the AhR-KO BM cells.

Keywords: Aryl hydrocarbon receptor, hematopoietic stem/progenitor cell, benzene-induced hematopoietic impairment

^{*} University of Tsukuba

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Li, G.X., Fujii-Kuriyama, Y.^{*}, Kanno, J., Inoue, T. : **AhR-mediated benzene-in-**

duced hematopoietic toxicities: differential toxicities between one from AhR in the hematopoietic stem cells for the bone marrow and the other from possible hepatic- AhR for the peripheral blood

Organohalogen Compounds, **70**, 287-290 (2008)

The elucidation of the signal transduction mechanism associated with the aryl hydrocarbon receptor (AhR) after benzene exposure may contribute to understanding the physiological role of the AhR during xenobiotic responses mediated by the AhR. Recently, we have found that the benzene-induced hematopoietic toxicity was transduced via the AhR, and the toxicity was attenuated when the AhR-knockout (KO) mouse was exposed to benzene. Consequently, a question is raised on whether the benzene-mediated hematotoxicity is derived from the primitive hematopoietic progenitor cells in the bone marrow (BM) or from classic hepatic xenobiotic metabolism, because the AhR expression was found to be high in the primitive hematopoietic progenitor cells, which were reported to express CYP450-2E1. To answer the question, BM transplantation assays were; first, BM cells from wild-type mice or AhR-KO mice were utilized to repopulate lethally irradiated wild-type mice, and second, the wild-type BM cells were transplanted into lethally irradiated wild-type or AhR-KO mice, then, the possible changes in the steady state among the groups were compared one month after repopulation followed by benzene exposure.

First, as mentioned above, the benzene-induced hematopoietic impairment in the progenitor cell level was attenuated in the AhR-KO mice. Also, lethally irradiated wild-type mice repopulated with BM cells from AhR-KO mice showed similar attenuation of benzene-induced hematopoietic impairment in the progenitor cell level. Next, the AhR-KO mice were repopulated with wild-type BM cells. Namely, a question in the next study is to see whether the benzene-induced hematopoietic impairment in the level of progenitor cells would be observed in the lethally irradiated AhR-KO mice repopulated with wild-type BM cells. As results, the impairment of hematopoietic progenitor cells in the BM after benzene exposure was dependent on the hematopoietic progenitor cells themselves with their own simultaneous expressions of AhR and CYP2E1. Interestingly, the number of WBCs in wild-type mice repopulated with wild-type BM cells was kept significantly lower than those of the AhR-KO mice repopulated with wild-type BM cells throughout the benzene

exposure period. In this regard, the significant decreases in the number of WBCs observed in previous studies as well as in the similar reports are presumably based not on the BM-AhR but on the AhR possibly derived from hepatic tissue or other visceral organs.

In conclusion, the benzene-induced hematopoietic impairment was primarily found to be dependent on the AhR in the hematopoietic progenitor cells of the BM; however, interestingly, the benzene-induced hematopoietic impairment in the peripheral blood was found to be dependent on the AhR other than in the BM, possibly in the hepatic tissue; thus, the benzene-mediated toxicity in peripheral blood was attenuated in the lethally irradiated AhR-KO mice repopulated with wild-type BM cells, although the benzene-mediated toxicity in the hematopoietic progenitor cells was clearly reappeared.

Keywords: Aryl hydrocarbon receptor, hematopoietic stem/progenitor cell, benzene-induced hematopoietic impairment

* University of Tsukuba

Tsuboi, I.^{*}, Hirabayashi, Y., Harada, T.^{*}, Hiramoto, M.^{*}, Kanno, J., Inoue, T., and Aizawa, S.^{*} : **Predominant regeneration of B-cell lineage, instead of myeloid lineage, of the bone marrow after 1 Gy whole-body irradiation in mice: role of differential cytokine expression between B-cell stimulation by IL10, Flt3 ligand and IL7 and myeloid suppression by GM-CSF and SCF**

Radiat Res., **170**, 15-22 (2008)

Irradiation of mice at doses of 1-1.5 Gy induced a predominant regeneration of the B-cell lineage but suppressed the regeneration of the myeloid lineage. The mechanisms underlying such reciprocal regulation of regeneration and the relationship between the two lineages remain unclear. Because the predominant regeneration of the B-cell lineage observed is considered to depend on the stromal cell function, and because the impairment of such stromal function may nullify such reciprocal responses, mouse models of senescent stromal cell impairment (SCI) and the less senescent stage of SCI (non-SCI) were compared to elucidate the mechanisms underlying the reciprocal regulation of both lineages after radiation exposure. In non-SCI mice irradiated with 1 Gy, the numbers of B-lymphocyte progenitor (CFU-preB) and granulocyte-macrophage progenitor (CFU-GM) cells in the bone marrow decreased rapidly during the first

24 h. Then the number of CFU-preB cells in the bone marrow promptly recovered from the nadir and exceeded the pretreatment level, whereas that of CFU-GM cells remained lower than the pretreatment level. The expression of genes encoding positive regulators of the B-lymphoid lineage [interleukin (IL)10, Flt3 ligand and IL7] was up-regulated; in contrast, expression of the positive regulators of the myeloid lineage [granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and stem cell factor (SCF)] was down-regulated. In SCI mice irradiated with 1 Gy, the oscillatory changes in the numbers of femoral CFU-preB and CFU-GM cells and in the expression levels of cytokine genes were less marked than those in the non-SCI mice. These results thus imply that the reciprocal regeneration depends on the up-regulation of IL10, Flt3 ligand and IL7 expression and the down-regulation of GM-CSF and SCF expression in the bone marrow, possibly depending on the hematopoietic microenvironment.

Keywords: Cytokines, Gene Expression, SAMP1

* Nihon University School of Medicine

Tsuboi, I.^{*}, Hirabayashi, Y., Harada, T.^{*}, Koshinaga, M.^{*}, Kawamata, T.^{*}, Kanno, J., Inoue, T., and Aizawa, S.^{*} : **Role of hematopoietic microenvironment in prolonged impairment of B cell regeneration in age-related stromal-cell-impaired SAMP1 mouse: effects of a single dose of 5-fluorouracil**

J Appl Toxicol., **28**, 797-805 (2008)

In this study, we examined the age-associated defect of stromal cells, which support B cell development, treated with 5-fluorouracil (5-FU) to induce severe perturbation of hematopoiesis, including B lymphocyte development, using SAMP1 mice exhibiting senescence-mimicking stromal-cell impairment after 30 weeks of age. Significant findings of this study are as follows: first, a marked and prolonged decrease in number of CFU-preB cells in non-SCI mice (58% of the steady-state level) associated with more markedly depressed number of CFU-preB cells in SCI mice (20% of the steady-state level), despite the absence of difference in the number of CFU-GMs during the period; second, in the non-SCI mice, a significant and prolonged up-regulation of GM-CSF and IL-6, positive regulators of myelopoiesis and suppressive factors of B lymphopoiesis, was observed. In SCI mice, greater and prolonged suppression of B lymphopoiesis was clearly demonstrated by the significant up-regulation of the negative regulator

TNF-alpha associated with the concomitant marked down-regulation of the positive regulator SDF-1, although the increases of GM-CSF and IL-6 were limited. That is, 'negative complementation' makes preB recovery after 5-FU treatment impaired and prolonged. Principal component analysis clearly showed differences in the cytokine expression patterns in both early and later phases and the time course of the expression pattern of each cytokine between SCI and non-SCI mice without supervising information. An impaired regulation of the expressions of not only positive but also negative regulators after 5-FU treatment was, in part, the cause of the impaired regeneration of CFU-preB cells in SCI mice.

Keywords: Cytokines, Gene Expression, SAMP1

* Nihon University School of Medicine

Sanosaka, T.^{*}, Namihira, M.^{*}, Asano, H.^{*}, Kohyama, J.^{*}, Aisaki, K., Igarashi, K., Kanno, J., Nakashima, K.^{*}
: **Identification of genes that restrict astrocyte differentiation of midgestational neural precursor cells**

Neuroscience, **155**, 780-788 (2008)

During development of the mammalian CNS, neurons and glial cells (astrocytes and oligodendrocytes) are generated from common neural precursor cells (NPCs). However, neurogenesis precedes gliogenesis, which normally commences at later stages of fetal telencephalic development. Astrocyte differentiation of mouse NPCs at embryonic day (E) 14.5 (relatively late gestation) is induced by activation of the transcription factor signal transducer and activator of transcription (STAT) 3, whereas at E11.5 (mid-gestation) NPCs do not differentiate into astrocytes even when stimulated by STAT3-activating cytokines such as leukemia inhibitory factor (LIF). This can be explained in part by the fact that astrocyte-specific gene promoters are highly methylated in NPCs at E11.5, but other mechanisms are also likely to play a role. We therefore sought to identify genes involved in the inhibition of astrocyte differentiation of NPCs at midgestation. We first examined gene expression profiles in E11.5 and E14.5 NPCs, using Affymetrix GeneChip analysis, applying the Percellome method to normalize gene expression level. We then conducted in situ hybridization analysis for selected genes found to be highly expressed in NPCs at midgestation. Among these genes, we found that N-myc and high mobility group AT-hook 2 (Hmga2) were highly

expressed in the E11.5 but not the E14.5 ventricular zone of mouse brain, where NPCs reside. Transduction of N-myc and Hmga2 by retroviruses into E14.5 NPCs, which normally differentiate into astrocytes in response to LIF, resulted in suppression of astrocyte differentiation. However, sustained expression of N-myc and Hmga2 in E11.5 NPCs failed to maintain the hypermethylated status of an astrocyte-specific gene promoter. Taken together, our data suggest that astrocyte differentiation of NPCs is regulated not only by DNA methylation but also by genes whose expression is controlled spatio-temporally during brain development.

Keywords: N-myc and Hmga2, Percellome method, astrocyte differentiation

* Laboratory of Molecular Neuroscience, Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology

Tsuda, H.^{*}, Tokunaga, H., Hirose, A., Kanno, J. : **Hazard identification of nanomaterials**

Yakugaku Zasshi, **128**(12), 1727-1732 (2008)

It is considered that the materials with new properties may lead to novel biological effects or unknown adverse health effects. To gather proper hazard information, it is important to develop both experimental protocols and detection/measurement methods for nanomaterials in the body, in parallel. Since 2005, we are running research projects to develop methods to monitor health risk effects for the assessment of manufactured nanomaterials funded by the Ministry of Health, Labour and Welfare. For the experimental protocols, these projects focus on the development of 1) in vitro experimental systems, 2) in vivo experimental systems (mainly focusing on long-term health implication, especially carcinogenesis), and 3) proper inhalation system. Firstly, fullerene (C60), titanium dioxide and multi-walled carbon nanotube were chosen to be tested because of their high production volume. Safety issues for new materials such as nanoparticles is a new paradigm. The key is that the full scale exposure to the public has not been started yet. Therefore, there is a good chance that information from hazard identification studies can be directly fed back to the product development plan. Manufacturers can produce safer products without risking themselves waiting for the toxicology studies to be finished after their products are widely marketed.

Keywords: toxicity, nanomaterials, carcinogenesis

* Department of Molecular Toxicology, Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University

Myers, J.P.^{*1}, vom Saal, F.S.^{*2}, Akingbemi, B.T.^{*3}, Arizono, K.^{*4}, Belcher, S.^{*5}, Colborn, T.^{*6}, Chahoud, I.^{*7}, Crain, D.A.^{*8}, Farabollini, F.^{*9}, Guillette, Jr, L. J.^{*10}, Hassold, T.^{*11}, Ho, S.^{*12}, Hunt, P.A.^{*11}, Iguchi, T.^{*13}, Jobling, S.^{*14}, Kanno, J.^{*15}, Laufer, H.^{*15}, Marcus, M.^{*16}, McLachlan, J.A.^{*17}, Nadal, A.^{*18}, Oehlmann, J.^{*19}, Olea, N.^{*20}, Palanza, P.^{*21}, Parmigiani, S.^{*21}, Rubin, B.S.^{*22}, Schoenfelder, G.^{*23}, Sonnenschein, C.^{*22}, Soto, A.M.^{*22}, Talsness, C.E.^{*24}, Taylor, J.A.^{*2}, Vandenberg, L.N.^{*22}, Vandenberg, J.G.^{*25}, Vogel, S.^{*26}, Watson, C.S.^{*27}, Welshons, W.V.^{*28}, and Zoeller, R.T.^{*29} : **Why Public Health Agencies Cannot Depend upon 'Good Laboratory Practices' as a Criterion for Selecting Data: The Case of Bisphenol A**

Environmental Health Perspectives, **117**, 309-315 (2009)

In their safety evaluations of bisphenol A (BPA), the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and a counterpart in Europe, the European Food Safety Authority (EFSA), have given special prominence to two industry-funded studies that adhered to standards defined by Good Laboratory Practices (GLP). These same agencies have given much less weight in risk assessments to a large number of independently replicated non-GLP studies conducted with government funding by the leading experts in various fields of science from around the world. **OBJECTIVES:** We reviewed differences between industry-funded GLP studies of BPA conducted by commercial laboratories for regulatory purposes and non-GLP studies conducted in academic and government laboratories to identify hazards and molecular mechanisms mediating adverse effects. We examined the methods and results in the GLP studies that were pivotal in the draft decision of the U.S. FDA declaring BPA safe in relation to findings from studies that were competitive for U.S. National Institutes of Health (NIH) funding, peer-reviewed for publication in leading journals, subject to independent replication, but rejected by the U.S. FDA for regulatory purposes. **DISCUSSION:** Although the U.S. FDA and EFSA have deemed two industry-funded GLP studies of BPA to be superior to hundreds of studies funded by the U.S. NIH and NIH counterparts in other countries, the GLP studies on which the agencies based their decisions have serious conceptual and methodologic flaws. In addition, the U.S. FDA and EFSA have mistakenly assumed that GLP

yields valid and reliable scientific findings (i.e., "good science"). Their rationale for favoring GLP studies over hundreds of publically funded studies ignores the central factor in determining the reliability and validity of scientific findings, namely, independent replication, and use of the most appropriate and sensitive state-of-the-art assays, neither of which is an expectation of industry-funded GLP research. **CONCLUSIONS:** Public health decisions should be based on studies using appropriate protocols with appropriate controls and the most sensitive assays, not GLP. Relevant NIH-funded research using state-of-the-art techniques should play a prominent role in safety evaluations of chemicals.

Keywords: bisphenol A, endocrine disruptors, GLP

^{*1} Environmental Health Sciences, Charlottesville, Virginia, USA

^{*2} Division of Biological Sciences, University of Missouri, Columbia, Missouri, USA

^{*3} Department of Anatomy, Physiology and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Auburn University, Auburn, Alabama, USA

^{*4} Faculty of Environmental and Symbiotic Science, Prefectural University of Kumamoto, Tsukide, Kumamoto, Japan

^{*5} Department of Pharmacology and Cell Biophysics, Center for Environmental Genetics, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA

^{*6} The Endocrine Disruption Exchange, Paonia, Colorado, USA

^{*7} Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany

^{*8} Department of Biology, Maryville College, Maryville, Tennessee, USA

^{*9} Dipartimento di Fisiologia, Università di Siena, Siena, Italy

^{*10} Department of Zoology, University of Florida, Gainesville, Florida, USA

^{*11} School of Molecular Biosciences, Washington State University, Pullman, Washington, USA

^{*12} Department of Environmental Health, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA

^{*13} National Institutes of Natural Science, Okazaki Institute for Integrative Bioscience, Bioenvironmental Science, Okazaki, Japan

^{*14} Department of Biological Sciences, Brunel University, Uxbridge, United Kingdom

- *¹⁵ Department of Molecular and Cell Biology, University of Connecticut, Storrs, Connecticut, USA
- *¹⁶ Department of Epidemiology, Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta, Georgia, USA
- *¹⁷ Center for Bioenvironmental Research, Tulane and Xavier Universities, New Orleans, Louisiana, USA
- *¹⁸ Instituto de Bioingeniería and CIBERDEM, Universidad Miguel Hernández de Elche, Alicante, Spain
- *¹⁹ Goethe University Frankfurt am Main, Department Aquatic Ecotoxicology, Frankfurt, Germany
- *²⁰ Hospital Clínico, CIBERESP, University of Granada, Granada, Spain
- *²¹ Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università di Parma, Parma, Italy
- *²² Tufts Medical School, Boston, Massachusetts, USA
- *²³ Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Wuerzburg, Wuerzburg Germany
- *²⁴ Charité University Medical School Berlin, Berlin, Germany
- *²⁵ Department of Biology, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA
- *²⁶ Chemical Heritage Foundation, Philadelphia, Pennsylvania, USA
- *²⁷ Biochemistry and Molecular Biology, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA
- *²⁸ Department of Biomedical Sciences, University of Missouri, Columbia, Missouri, USA
- *²⁹ Biology Department, University of Massachusetts, Amherst, Massachusetts, USA

Matsunaga, N.^{*1}, Kanno, J., Hamada, C.^{*2}, Yoshimura, I.^{*2}
: An experimental design for judging synergism on consideration to endocrine disruptor animal experiments

Environmetrics, **20**, 1-13 (2009)

This paper investigates an appropriate statistical design for an animal experiment to evaluate synergism of two test chemicals. It assumes a certain number of animals are divided into group size for each combination of doses, including the case where the dose of either one chemical is zero. The power of *t*-test to detect synergism by positive surplus of response on a simultaneous administration group from the additivity plane composed of the responses on single administration group is adopted as the criterion for the appropriate design. The applicable design is investigated for the application to real cases of endocrine disruptor study conducted at the National Institute of Health

Sciences of Japan. It revealed that the dose level of the simultaneous administration group should be located inside or on the boundary of a triangular region and that the total number of animals should be the same as those for single administration groups.

Keywords: experimental design, endocrine disrupter, synergism

*¹ Kyowa Pharmaceutical Inc

*² Tokyo University of Science

Yasuhiko, Y., Kitajima, S., Takahashi, Y., Oginuma, M.^{*1}, Kagiwada, H.^{*2}, Kanno, J., Saga, Y.^{*1} : **Functional importance of evolutionally conserved Tbx6 binding sites in the presomitic mesoderm-specific enhancer of *Mesp2***

Development, **135**, 3511-3519 (2008)

The T-box transcription factor Tbx6 controls the expression of *Mesp2*, encoding a basic Helix-Loop-Helix-type transcription factor that has crucial roles in somitogenesis. In cultured cells, Tbx6 binding to the *Mesp2* enhancer region is essential for activation of *Mesp2* by Notch signaling. However, the requirement for this binding in vivo has not been established. Here we report that a *Mesp2* enhancer knockout mouse bearing mutations in two critical Tbx6 binding sites does not express *Mesp2* in the presomitic mesoderm (PSM). This absence leads to impaired skeletal segmentation which is identical to that reported for *Mesp2*-null mice, indicating that these Tbx6 binding sites are indispensable for *Mesp2* expression. The T-box binding to the consensus sequences in the *Mesp2* upstream region were confirmed by chromatin immunoprecipitation assays. Further enhancer analyses indicated that the number and the spatial organization of T-box binding sites were critically important for initiating *Mesp2* transcription via Notch signaling. We also generated a knock-in mouse in which the endogenous enhancer of mouse *Mesp2* was replaced by the core enhancer of medaka *mespb*, an ortholog of mouse *Mesp2*. The homozygous enhancer knock-in mouse was viable and showed normal skeletal segmentation, indicating that the medaka *mespb* enhancer functionally replaced the mouse *Mesp2* enhancer. These results demonstrate that there is significant evolutionary conservation of *Mesp* regulatory mechanisms between fish and mice.

Key words: *Mesp2*, Tbx6, enhancer

*¹ National Institute of Genetics

*² AIST

Sato, K., Saito, Y.^{*1}, Oka, J.-I.^{*1}, Ohwada, T.^{*2}, Nakazawa, K., : **Effects of tamoxifen on L-glutamate transporters of astrocytes**

J. Pharmacol. Sci., **107**, 226-230 (2008)

Tamoxifen (Tam) decreased the clearance of L-glutamate (L-glu) by cultured astrocytes at 1 pM, 1 nM and 1 μM, and became toxic at 10 μM. When L-glu transporters were mostly inhibited by threo-β-benzyloxyaspartate (TBOA) (1 mM) or D,L-threo-beta-hydroxyaspartate (THA) (1 mM), Tam (1 nM) did not change extracellular L-glu concentration, confirming that Tam attenuates L-glu transport through L-glu transporters. ICI182,780 (ICI), LY294002 (LY), and U0126 inhibited the effect of Tam dose-dependently, suggesting the involvement of estrogen receptors (ERs), the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) cascade, and the mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade in the effect of Tam.

Keywords: Tamoxifen, L-Glu transporter, Astrocytes

^{*1} 東京理科大学

^{*2} 東京大学

Kikuchi, A.^{*}, Shimizu, K.^{*}, Nibuya, M.^{*}, Hiramoto T.^{*}, Kanda, Y., Tanaka, T.^{*}, Watanabe Y.^{*}, Takahashi, Y.^{*}, and Nomura, S.^{*} : **Relationship between PTSD-like behavior and reduction of hippocampal 5-bromo-2-deoxyuridine positive cells after inescapable shock in rats**

Psychiatry Clin. Neurosci., **62**, 713-720 (2008)

Inescapable shocks (ISs) have been reported to reduce the number of 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU)-positive cells in hippocampus. Antidepressants prevent this reduction, and the role of neurogenesis in depression is now suggested. It is reported, however, that the number of BrdU-positive cells was not different between the rats developed learned helplessness and those did not. This suggests that reduction of neurogenesis does not constitute a primary etiology of depression. We previously showed that ISs can cause post-traumatic stress disorder (PTSD)-like various behavioral changes in rats. In this study, we examined whether the reduction of BrdU-positive cells relates to any PTSD-like behavioral changes in our paradigm. In accordance with previously reported results, IS loading resulted in fewer BrdU-positive cells in the hippocampal subgranular zone (SGZ). Furthermore, in the IS-treated group, the number of BrdU-positive cells in the hippocampal SGZ was negatively correlated at a significant level with several hyperactive

behavioral parameters but not with hypoactive behavioral parameters. Our earlier findings had indicated that chronic selective serotonin reuptake inhibitor administration, which is known to increase hippocampal neurogenesis, restored the increase in hypervigilant/hyperarousal behavior but did not attenuate the increase in numbing/avoidance behavior. Taken together, these results suggest that the regulatory mechanism responsible for the decreased proliferation and survival of cells in the hippocampus may be related to the pathogenic processes of hypervigilance/hyperarousal behaviors.

Keywords: stress, neurogenesis, hippocampus

* National Defense Medical College

Horiuchi, S., Ishida, S., Hongo, T.^{*1}, Ishikawa, Y.^{*1}, Miyajima, A., Sawada, J., Ohno, Y., Nakazawa, K., Ozawa, S.^{*2} : **Global gene expression changes including drug metabolism and disposition induced by three-dimensional culture of HepG2 cells-Involvement of microtubules**

Biochem Biophys Res Commun., **378**, 558-562 (2009)

Constitutive upregulation and a higher degree of induction of drug metabolism and disposition-related genes were found in a three-dimensional HepG2 culture. The upregulated genes are believed to be regulated by different regulatory factors. Global gene expression analysis using the Affymetrix GeneChip indicated that altered expression of microtubule-related genes may change the expressed levels of drug metabolizing and disposition genes. Stabilization of microtubule molecules with docetaxel, a tubulin-stabilizing agent, in the two-dimensional culture showed gene expression patterns similar to those found in the three-dimensional culture, indicating that the culture environment affects drug metabolism functions in HepG2 cells.

Keywords: three-dimensional culture, tubulin stabilization, drug metabolism and disposition-related genes

^{*1} ABLE Corporation

^{*2} Iwate Medical University

Nakajima, M.^{*1}, Mitsunaga, K.^{*2}, Nakazawa, K. and Usami, M. : **In vivo/in vitro study in rat embryos on indium-caused tail malformations**

Reprod Toxicol, **25**, 426-432 (2008)

Pathogenesis of indium-caused tail malformations was investigated by in vivo and in vitro experiments. In the

in vivo experiment, pregnant Wistar rats received single intravenous administration of indium trichloride at 0.4 mg/kg on day 10 of gestation, and their embryos were examined on days 11, 12 and 13. Embryos in the indium group showed caudal hypoplasia from day 11. Increased apoptosis was observed in their tailbud on day 11. Similar effects were observed in the in vitro experiment, when day 10 rat embryos were cultured in the presence of indium trichloride at 50 μ M for 24h and for further 24h in the absence of indium. It was considered from these results that caudal hypoplasia probably due to excessive cell loss by increased apoptosis in the tailbud accounted for indium-caused tail malformations in rat fetuses, and that indium-caused embryotoxic effects were direct effects on the conceptus.

Keywords: indium trichloride, teratogenicity, tail malformation, embryo culture, apoptosis, Nile blue sulfate, whole-mount TUNEL

*1 旭化成ファーマ (株) 医薬研究センター

*2 東邦大学薬学部

Omori, T.^{*1}, Idehara, K.^{*2}, Kojima, H., Sozu, T.^{*3}, Arima, K.^{*4}, Goto, H.^{*5}, Hanada, T.^{*6}, Ikarashi, Y., Inoda, T.^{*7}, Kanazawa, Y.^{*8}, Kosaka, T.^{*9}, Maki, E.^{*10}, Morimoto, T.^{*11}, Shinoda, S.^{*12}, Shinoda, N.^{*13}, Takeyoshi, M.^{*14}, Tanaka, M.^{*15}, Uratani, M.^{*16}, Usami, M.^{*17}, Yamanaka, A.^{*18}, Yoneda, T.^{*19}, Yoshimura, T.^{*20}, and Yuasa, A.^{*21} : **Interlaboratory validation of the modified murine local lymph node assay based on adenosine triphosphate measurement**

J. Pharmacol. Toxicol. Methods, **58**, 11-26(2008)

Introduction: The murine local lymph node assay (LLNA) is a well-established alternative to the guinea pig maximization test (GPMT) or Buehler test (BT) for the assessment of the skin sensitizing ability of drugs and chemicals. Daicel Chemical Industries Ltd. has developed a modified LLNA based on the adenosine triphosphate (ATP) content (LLNA-DA). We conducted 2 interlaboratory validation studies to evaluate the reliability and relevance of LLNA-DA. Methods: The experiment involved 17 laboratories, wherein 14 chemicals were examined under blinded conditions. In the first study, 3 chemicals were examined in 10 laboratories and the remaining 9 were examined in 3 laboratories. In the second study, 1 chemical was examined in 7 laboratories and the remaining 4 chemicals were examined in 4 laboratories. The data were expressed as the ATP content for each

chemical-treated group, and the stimulation index (SI) for each chemical-treated group was determined as the increase in the ATP content relative to the concurrent vehicle control group. An SI of 3 was set as the cut-off value for exhibiting skin sensitization activity. Results: The results of the first study obtained in the experiments conducted for the 3 chemicals that were examined in all the 10 laboratories and for 5 of the remaining 9 chemicals were sufficiently consistent with small variations in their SI values. The sensitivity, specificity, and accuracy of LLNA-DA against those of GPMT/BT were 7/8 (87.5%), 3/3 (100%), and 10/11 (90.9%), respectively. In the second study, all the 5 chemicals studied demonstrated acceptably small interlaboratory variations. Discussion: In the first study, a large variation was observed for 2 chemicals; in the second study, this variation was small. It was attributed to the application of dimethylsulfoxide as the solvent for the metallic salts. In conclusion, these 2 studies provide good evidence for the reliability of the LLNA-DA.

Keywords: Interlaboratory validation, Local lymph node assay, Skin sensitization

*1 Kyoto Univ. SPH.

*2 Daicel Chemical Industries, Ltd.

*3 Osaka Univ.

*4 Taisho Pharmaceutical CO., LTD.

*5 Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

*6 Nippon Shinyaku Co., Ltd.

*7 Nakano Seiyaku Co., Ltd.

*8 Food and Drug Safety Center.

*9 Institute of Environmental Toxicology.

*10 Biosafety research center, food drugs and pesticides.

*11 Sumitomo chemical Co., Ltd.

*12 Drug Safety Testing Center Co., LTD.

*13 Santen Pharmaceutical Co., Ltd.

*14 Chemicals Evaluation and Research Institute.

*15 MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.

*16 Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.

*17 Hoya Co., Ltd.

*18 Pias Corporation.

*19 TOAEIYO LTD.

*20 Tokyo University of Science.

*21 Fuji Film Co., Ltd.

Arai, S., Yamamoto, N.^{*1}, Kato, M.^{*2}, and Kojima, H. : **An *in vitro* evaluation methods to test ocular irritation using a human corneal epithelium model**

Altern. Animal Test. Experiment, **13**, 83-90 (2008)

Recently, safety evaluation tests that do not involve animal experiments have been prosperously developing. However, the optimal evaluation materials and methods for assessing ocular irritancy have not been well investigated. In this study, we determined the optimal evaluation method for testing ocular irritation using a human cultured corneal epithelium model (corneal model). In order to assess adequate treatment conditions for the corneal model, we used cetylpyridinium chloride (CPC), which has been recognized as an irritant chemical by the Draize eye test. The irritancy elicited by multiple concentrations of CPC was evaluated by a cytotoxicity assay under nine treatment conditions and compared to the Draize score. The treatment conditions that included a 5-second exposure period followed by a 24-hour post-incubation period (hereafter called protocol "5-sec+4-h") showed a significant correlation between cytotoxicity and the Draize score. Furthermore, the dose-dependent cytotoxicity of six test chemicals was assessed by protocol "5-sec+24-h" and found to correlate with the Draize eye test results.

Keywords: ocular irritation, corneal model, Draize eye test

*1 Fujita Health University.

*2 Japan Tissue Engineering Co., Ltd.

Nakai K^{*1}, Tanaka H^{*1}, Hanada K^{*1}, Ogata H^{*1}, Suzuki F^{*2}, Kumada H^{*2}, Miyajima A, Ishida S, Sunouchi M, Habano W^{*3}, Kamikawa Y^{*4}, Kubota K^{*4}, Kita J^{*4}, Ozawa S^{*3}, Ohno Y. : **Decreased expression of cytochromes P450 1A2, 2E1, and 3A4 and drug transporters Na⁺-taurocholate-cotransporting polypeptide, organic cation transporter 1, and organic anion-transporting peptide-C correlates with the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients**

Drug Metab Dispos., **36**, 1786-93 (2008)

Changes in status of drug metabolism and disposition may vary with chronic hepatitis C stage and should be assessed. Total RNA was extracted from liver biopsy specimens (n = 63) and reverse transcribed to yield cDNA. Relative mRNA levels of drug-metabolizing enzymes, transporters, nuclear receptors, and proinflammatory cytokines were analyzed. mRNAs encoding cytochromes P450 1A2, 2E1, and 3A4, and drug transporters, Na⁽⁺⁾-taurocholate-cotransporting polypeptide, organic anion-transporting peptide-C, and organic cation transporter 1 showed remarkable

decreases, and tumor necrosis factor-alpha showed an increase according to fibrosis stage progression. CYP1A2 and Na⁽⁺⁾-taurocholate-cotransporting polypeptide mRNA levels significantly decreased in HepG2 cells with interleukin 1beta and interleukin 6 treatments. CYP2E1 and organic cation transporter 1 mRNA levels significantly decreased with tumor necrosis factor-alpha treatment only in HepG2. These results suggested that down-regulation of the above genes manifested in livers of patients with chronic hepatitis C viral infection, was associated, at least in part, with the elevated production of proinflammatory cytokines, including tumor necrosis factor-alpha.

Keywords: drug metabolism related gene expression, hepatitis C patients, liver fibrosis

*1 Meiji Pharmaceutical University

*2 Toranomon Hospital

*3 Iwate Medical University

*4 Dokkyo Medical University School of Medicine

Nishikawa, A., Umemura, T., Ishii, Y., Tasaki, M., Okamura, T., Inoue, T., Masumura, K., Nohmi, T. : **In vivo approaches to study mechanism of action of genotoxic carcinogens**

Genes Environ., **30**, 120-124 (2008)

Genotoxic carcinogens are chemicals or factors which not only induce neoplastic lesions in animal bioassays but also test positive in genotoxicity assays *in vitro* or *in vivo*. However, it is actually difficult to discriminate genotoxic and non-genotoxic carcinogens because both assays are basically independent each other, which raises a simple query as to how much the detected genotoxic potential can consequently contribute to carcinogenicity. To clarify this critical issue, we have studied the mechanisms of action of carcinogens in transgenic rats or mice carrying reporter genes, which are expected as powerful tools for the simultaneous evaluation of both genotoxicity and carcinogenicity at the same organ level. A number of studies of genotoxic carcinogens using these transgenic rodents have revealed good correlations between genotoxicity and carcinogenicity in terms of mechanism of action. On the other hand, a known non-genotoxic carcinogen dicyclanil increased *in vivo* genotoxicity as well as oxidative DNA damage in female mice, consistently with the sex specificity of its carcinogenicity, albeit without clear evidence of direct DNA reactivity. In contrast, a genotoxic chlorinated water by-product MX failed to exert

in vivo genotoxicity and carcinogenicity in mice. We also confirmed that such reporter gene-carrying rodents are not susceptible or resistant to carcinogenicity as compared with intact counterparts. These results thus indicate that understanding of the detailed mechanism of carcinogenic action could be crucial for more precise risk assessment, and bioassay systems using transgenic rodents carrying reporter genes would be extremely useful for that purpose.
Keywords: *in vivo* study, mechanism of action, genotoxic carcinogen

Matsuzaki, Y.^{*1}, Koyama, M.^{*1}, Hitomi, T.^{*1}, Yokota, T.¹, Kawanaka, M.^{*1}, Nishikawa, A., Germain, D.^{*2}, Sakai, T.^{*1}
: **Arctiin induces cell growth inhibition through the down-regulation of cyclin D1 expression**
Oncol. Rep., **19**, 721-7 (2008)

Arctiin is a major lignan constituent of *Arctium lappa* and has anti-cancer properties in animal models. It was recently reported that arctiin induces growth inhibition in human prostate cancer PC-3 cells. However, the growth inhibitory mechanism of arctiin remains unknown. Herein we report that arctiin induces growth inhibition and dephosphorylates the tumor-suppressor retinoblastoma protein in human immortalized keratinocyte HaCaT cells. We also show that the growth inhibition caused by arctiin is associated with the down-regulation of cyclin D1 protein expression. Furthermore, the arctiin-induced suppression of cyclin D1 protein expression occurs in various types of human tumor cells, including osteosarcoma, lung, colorectal, cervical and breast cancer, melanoma, transformed renal cells and prostate cancer. Depletion of the cyclin D1 protein using small interfering RNA-rendered human breast cancer MCF-7 cells insensitive to the growth inhibitory effects of arctiin, implicates cyclin D1 as an important target of arctiin. Taken together, these results suggest that arctiin down-regulates cyclin D1 protein expression and that this at least partially contributes to the anti-proliferative effect of arctiin.

Keywords: arctiin, cyclin D1, growth inhibition

^{*1} Kyoto Prefectural University of Medicine

^{*2} Mount Sainai School of Medicine

Nakamura, Y.^{*1}, Nakamura, K.^{*1}, Asai, Y.^{*1}, Wada, T.^{*1}, Tanaka, K.^{*1}, Matsuo, T.^{*1}, Okamoto, S.^{*2}, Meijer, J.^{*1}, Kitamura, Y.^{*1}, Nishikawa, A., Park, E.Y.^{*1}, Sato, K.^{*1}, Ohtsuki, K.^{*1} : **Comparison of the glucosinolate-**

myrosinase systems among daikon (*Raphanus sativus*, Japanese white radish) varieties

J. Agric. Food Chem., **23**, 2702-2707 (2008)

Myrosinase is a cytosolic plant enzyme present in daikon (*Raphanus sativus*, Japanese white radish) roots that hydrolyzes 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate (MTBGLS) into the natural pungent agent 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC), which possesses antimicrobial, antimutagenic, and anticarcinogenic properties. The concentration of MTBGLS, myrosinase activity, and production of MTBITC in seven daikon varieties (one conventional and six heirlooms) were determined to rank the activity of the glucosinolate-myrosinase system and identify critical factors influencing the production of MTBITC. The six heirloom varieties produced 2.0-11.5 times higher levels of MTBITC as compared to the conventional variety, Aokubi, which is consumed by the present Japanese population. The myrosinase was located exclusively in the outer epidermal layer in Aokubi, and MTBGLS was widely distributed throughout the root tissue. Although the skin is a potentially rich source of myrosinase in Aokubi, the skin is usually peeled off in the current practice of preparing daikon for cooking. New practices are therefore proposed for the preparation of daikon tubers that eliminate the peeling of the skin to avoid removing the enzyme needed to convert MTBGLS to the health-beneficial MTBITC. It is also concluded that the consumption of heirloom daikon varieties in addition to changes in food preparation will optimize the health benefits of daikon.

keywords: daikon, myrosinase activity, 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate, 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate

^{*1} Kyoto Prefectural University of Medicine

^{*2} Kagoshima University

^{*3} Swedish University of Agricultural Sciences

Nakamura, Y.^{*1}, Matsuo, T.^{*2}, Okamoto, S.^{*2}, Nishikawa, A., Imai, T., Park, E.Y.^{*1}, Sato, K.^{*1} : **Antimutagenic and anticarcinogenic properties of Kyo-yasai, heirloom vegetables in Kyoto**

Genes and Environment., **30**, 41-47 (2008)

Heirloom vegetables in Kyoto, termed Kyo-yasai, have had their seeds preserved by traditional cultivation methods. These heirloom vegetables offer a more distinctive flavor than conventional vegetables, and extracts from some Kyo-yasai are known to decrease ultraviolet light induced mutations in *E. coli* B/r WP2 (trpE65) significantly

more than extracts from their counterpart of conventional vegetables. 4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate which causes the pungency in daikon, and 3-methylthiopropionic acid ethyl ester, which causes melon-like odor, were identified from heirloom vegetables in Kyoto to be antimutagens in *E. coli* mutagenicity assays. These two chemicals also demonstrated in vivo animal cancer prevention, and induced differentiation, a chemotherapeutic strategy in an in vitro human colon-cancer cell system. The heirloom daikon varieties in Kyoto produced 2.0-11.5 times higher levels of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate as compared to the conventional Aokubi variety. The heirloom pickling melon in Kyoto, Katsura-uri began to produce 3-methylthiopropionic acid ethyl ester between the midripening to fully ripening stage of fruit development. Shiro-uri did not contain 3-methylthiopropionic acid ethyl ester. Results also indicate that antimutagenic and anticarcinogenic properties change over the ripening stage quantitatively. In this review, we discuss the value of retaining the original phenotypes of vegetables, including the flavors, to maximize the anticarcinogenic properties of these food products.

keywords: heirloom vegetables, 3-methylthiopropionic acid ethyl ester, *E. coli* mutagenicity assay

*1 Kyoto Prefectural University of Medicine

*2 Kagoshima University

Kanki, K., Umemura, T., Kitamura, Y., Ishii, Y., Kuroiwa, Y., Kodama, Y., Itoh, K.^{*1}, Yamamoto, M.^{*1}, Nishikawa, A., Hirose, M.^{*2} : **A possible role of nrf2 in prevention of renal oxidative damage by ferric nitrilotriacetate**

Toxicol. Pathol., **36**, 353-361 (2008)

To ascertain the possible roles of nuclear erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2), a key transcription factor of phase 2 drug-metabolizing enzymes, in renal cellular defense against oxidative stress, wild-type and Nrf2-knockout^{-/-} mice were treated with ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) at doses of 3 or 6 mg iron/kg body weight. After Fe-NTA treatment, Nrf2^{-/-} mice consistently showed lower levels of glutathione (GSH) in the kidney at the low dose and the liver at the high dose than the wild-type mice. Gamma-glutamylcysteine ligase (GCL) activity in the kidney and liver of Nrf2^{-/-} mice was also consistently lower than in wild-type mice after the Fe-NTA treatment. Histopathological examination revealed that nephrotoxicity

of Fe-NTA, reflected in necrosis of renal tubule epithelial cells following nuclear damage, was more severe in the Nrf2^{-/-} mice than in their wild-type counterparts. Overall, the data suggest that Nrf2^{-/-} mice are unable to compensate for depletion of renal GSH because of oxidative stress, being more susceptible to Fe-NTA-induced nephrotoxicity. In conclusion, the present study showed that Nrf2 might play an important role in protecting cells from oxidative stress in the kidney through its regulation of antioxidant enzymes.

Key words: nrf2, ferric nitrilotriacetate, oxidative damage

*1 University of Tsukuba

*2 Food Safety Commission

Umemura, T., Maeda, M., Kijima, A., Ishii, Y., Tasaki, M., Okamura, T., Inoue, T., Hirose, M.^{*}, Nishikawa, A. : **Lack of promotion activity of diacylglycerol oil on 4-nitroquinoline 1-oxide induced carcinogenesis in the oral cavity of SD rats**

Food Chem. Toxicol., **46**, 3206-3212 (2008)

A recent study using c-Ha-ras proto-oncogene transgenic (rasTg) rats demonstrated possible enhancing effects of diacylglycerol (DAG) on 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) induced carcinogenesis of the tongue. To assess effects in their Sprague-Dawley back strain, a two-stage carcinogenesis study using 4NQO as an initiator was performed. Groups of 30 male rats were initially treated with 4NQO at a dose of 10 ppm in the drinking water for the first 10 weeks followed after a 1 week recovery interval by 11% DAG, 5.5% DAG+5.5% triacylglycerol (TAG), 2.75% DAG+8.25% TAG, 1.38 DAG+9.62% TAG, 11% TAG, 11% high linoleic acid TAG (HLTG), 5.5% DAG or 2.75% DAG in the diet for 35 weeks. Further groups of animals were treated with distilled water instead of 4NQO followed by 11% DAG, 11% TAG or 11% HLTG in the same manner. The final survival rates in 4NQO-treated groups were from 50 to 77%. However, incidences and multiplicities of squamous cell papillomas and carcinomas in the oral cavity induced by 4NQO were not affected by any of the dietary treatments. Thus, in contrast to the positive data using rasTg rats, DAG had no potential for enhancing 4NQO-induced tumorigenesis in their back strain.

Keywords: diacylglycerol, 4-nitroquinoline 1-oxide, rasTg rats

* Food Safety Commission

Tasaki, M., Umemura, T., Inoue, T., Okamura, T., Kuroiwa, Y., Ishii, Y., Maeda, M., Hirose, M.^{*}, Nishikawa, A. : **Induction of characteristic hepatocyte proliferative lesion with dietary exposure of Wistar Hannover rats to tocotrienol for 1 year**
Toxicology, **250**, 143-150 (2008)

Tocotrienol is an antioxidant which has found commercial application as a food additive and health supplement. Since there have been no reports regarding toxicological effects of long-term exposure, we performed a 52-week chronic study using Wistar Hannover rats of both sexes given the compound at doses of 0, 0.08, 0.4 or 2% in basal diet. On histopathological examination, hepatocellular nodules were evident with distortion of hepatic cords and compression of the surrounding tissue, almost all including areas of spongiosis hepatis. The constituent hepatocytes were immunohistochemically stained with proliferation cell nuclear antigen at high rates. They were consistently negative for GST-P. Accordingly, we propose the newly categorized but previously used name 'nodular hepatocellular hyperplasia', which may not necessarily have a neoplastic or regenerative nature. However, quantitative GST-P analysis of the liver sections overall showed numbers of GST-P foci in the high dose females to be significantly elevated as compared to the control value. We conclude that the NOAEL is 0.4% (303 mg/kg/day for males, and 472 mg/kg/day for females).

Keywords: tocotrienol, hepatocyte proliferative lesion, GST-P, chronic exposure

* Food Safety Commission

Inoue, T., Umemura, T., Maeda, M., Ishii, Y., Okamura, T., Tasaki, M., Nishikawa, A. : **Safety assessment of dietary administered paprika color in combined chronic toxicity and carcinogenicity studies using F344 rats**

Food. Chem. Toxicol., **46**, 2689-2693 (2008)

Combined chronic toxicity and carcinogenicity studies of paprika color were performed in male and female F344 rats. Dietary concentrations of 0%, 0.62%, 1.25%, 2.5% and 5% were applied in a 52-week toxicity study and 0%, 2.5% and 5% in a 104-week carcinogenicity study. Treatment with paprika color caused a significant increase in incidence of hepatocellular vacuolation in 5%

males, but no toxicological effects were found with any other toxicological parameters at any dose level in either sex in the chronic toxicity study. Also, paprika color did not have carcinogenicity. In conclusion, based on slight histopathological changes observed in 5% male livers, NOEL was estimated to be 1,253 mg/kg bw/day and NOAEL was determined to be 2,388 mg/kg bw/day for male rats, and for females, the NOEL was concluded to be 2,826 mg/kg bw/day. Additionally, paprika color was not carcinogenic to male and female F344 rats under the present experimental conditions.

Keywords: paprika color, chronic toxicity and carcinogenicity studies, food additive

Kuroiwa, Y., Yamada, M., Matsui, K., Okamura, T., Ishii, Y., Masumura, K., Tasaki, M., Umemura, T., Mitsumori, K.^{*1}, Nohmi, T., Hirose, M.^{*2}, Nishikawa, A. : **Combined ascorbic acid and sodium nitrite treatment induces oxidative DNA damage-associated mutagenicity *in vitro*, but lacks initiation activity in rat forestomach epithelium**

Toxicol. Sci., **104**, 274-283 (2008)

Combination treatment with NaNO₂ and ascorbic acid (AsA) is well known to promote forestomach carcinogenesis in rats and weakly enhance esophageal carcinogenesis under acid reflux conditions. The purpose of the present study was to investigate whether oxidative DNA damage-associated genotoxicity and tumor initiating potential are involved in the carcinogenesis. In the bacterial reverse mutation assay using *E. coli* deficient in the *mutM* gene encoding 8-OHdG DNA glycosylase, the combination with NaNO₂ and AsA increased the mutation frequency dramatically, slight increase being evident in the parental strain. *In vivo*, a significant increase in 8-OHdG levels in the rat forestomach epithelium occurred at 24 h after combined treatment. Six-week-old F344 male rats were given drinking water containing 0.2% NaNO₂ and a diet supplemented with 1% AsA in combination. After an interval of 2 weeks, they received 1% butylated hydroxyanisole in the diet for promotion until the end of weeks 52 and 78. There was no significant variation in tumor development among the groups.

Keywords: ascorbic acid, sodium nitrite, oxidative DNA damage, forestomach

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Tasaki, M., Umemura, T., Maeda, M., Ishii, Y., Okamura, T., Inoue, T., Kuroiwa, Y., Hirose, M., Nishikawa, A.
: **Safety assessment of ellagic acid, a food additive, in a subchronic toxicity study using F344 rats**

Food. Chem. Toxicol., **46**, 1119-1124 (2008)

The present 90-day subchronic toxicity study was performed in F344 rats at dose levels of 0, 1.25, 2.5 and 5% of ellagic acid in powdered basal diet, with actual doses of 9.4, 19.1, 39.1 g/kg b.w., respectively, in males, and 10.1, 20.1, 42.3 g/kg b.w. in females. No mortality or treatment-related clinical signs were observed throughout the experimental period. Persistent body weight gain was significantly reduced from early stage to the termination in females of all treated groups, the final body weights being decreased in the 5% (92.5%), 2.5% (94.2%) and 1.25% (94.8%) treated groups as compared to the control. Changes in MCV and serum AST, ALP, Ca, Cl and P were sporadically observed, but these were not considered to be treatment-related alterations. There were no obvious histopathological changes in any of the groups. The no-observed-effect level (NOEL) was estimated to be 5% (3011 mg/kg b.w./day) for males and the NOAEL and NOEL in females were estimated to be 3254 mg/kg b.w./day and <778 mg/kg b.w./day, respectively.

Keywords: Ellagic acid, Subchronic toxicity, F344 rats, Food additive

* Food Safety Commission

Nishimura, J., Dewa, Y., Okamura, T., Muguruma, M., Jin, M., Saegusa, Y., Umemura, T., Mitsumori, K.,
: **Possible involvement of oxidative stress in fenofibrate-induced hepatocarcinogenesis in rats**

Arch. Toxicol. **82**, 641-654 (2008)

To clarify whether oxidative stress is involved in the development of hepatocellular preneoplastic foci induced by fenofibrate (FF), a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist, male F344/N rats were fed a diet containing 6,000, 3,000, or 0 ppm of FF for 13 weeks after N-diethylnitrosamine initiation. Two-third partial hepatectomy was performed 1 week after the FF treatment. Histopathologically, the number of hepatocellular altered foci significantly increased in the FF-treated groups with a concomitant increase in the number of hepatocytes positive for anti-Ki-67 antibody, but the number and area of GST-P-positive foci decreased in these groups, as compared to those in the controls. Microarray analysis or quantitative

real-time RT-PCR demonstrated the significant up-regulations of lipid metabolism, metabolic oxidative stress, DNA repair and cell cycle-related genes in the FF-treated groups, and the significant down-regulations of phase I or II metabolism, DNA repair and cell cycle/apoptosis-related genes in these rats. 8-OHdG level in liver DNA significantly increased due to FF treatment. These results suggest that oxidative stress is involved in the development of FF-induced hepatocellular preneoplastic foci in rats.

Keywords: fenofibrate, oxidative stress, 8-OHdG

* Tokyo University of Agriculture and Technology

Nishimura, J., Dewa, Y., Okamura, T., Jin, M., Saegusa, Y., Kawai, M., Umemura, T., Shibutani, M., Mitsumori, K.,
: **Role of Nrf2 and oxidative stress on fenofibrate-induced hepatocarcinogenesis in rats**

Toxicol. Sci., **106**, 339-349 (2008)

Regional specific relationships between oxidative stress and the development of GST-P-positive or negative lesions in rats, induced by fenofibrate (FF) were examined using a two-stage hepatocarcinogenesis model(Ito model) in F344 rats. Animals were sacrificed at week 28. Hepatocellular proliferative lesions attributed to GST-P-negative lesions was increased in the FF-treated groups. GST-P-positive lesions were devoid of intracytoplasmic Nrf2 expression, whereas GST-P-negative lesions expressed higher levels of cytoplasmic Nrf2. Nuclear accumulation of Nrf2 was observed in some cells of GST-P-positive lesions that were negative for Nrf2 in the cytoplasm and in GST-P-negative lesions of the DEN-FF group that were positive for Nrf2 in the cytoplasm. The mRNA of Gpx2 or Gsta2 was increased in GST-P-positive tumors or lesions, respectively. The activation of Nrf2, due to nuclear translocation, might occur in the GST-P-positive lesions. The continuous oxidative stress was identified by mRNA expression, GST activity and 8-OHdG. These results suggest that the relative inhibition of nuclear translocation of Nrf2 in GST-P-negative lesions aggravated the condition of oxidative stress in the liver of rats given FF, resulting in enhanced tumor promotion in FF-induced hepatocarcinogenesis.

Keywords: nrf2, fenofibrate, GST-P

* Tokyo University of Agriculture and Technology

Dewa, Y., Nishimura, J., Muguruma, M., Jin, M., Saegusa, Y., Okamura, T., Tasaki, M., Umemura, T.,

Mitsumori, K.* : **beta-Naphthoflavone enhances oxidative stress responses and the induction of pre-neoplastic lesions in a diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis model in partially hepatectomized rats**

Toxicology, **244**, 179-189 (2008)

The tumor-promoting effects of β -naphthoflavone (BNF), a novel AhR agonist, were investigated using a medium-term hepatocarcinogenesis model in rats. Six-week-old male F344 rats received an i.p. injection of N-diethylnitrosamine (DEN) at a dose of 200mg/kg body weight and were fed a diet containing 0, 0.5 or 1% BNF for 6 from 2 weeks after DEN treatment. All animals were subjected to two-thirds partial hepatectomy 1 week after the BNF treatment. The number and area of GST-P positive foci significantly increased in the livers of rats treated with BNF with concomitantly increased cell proliferation compared to those in the livers of the DEN alone group. Global gene expression analysis and quantitative real-time RT-PCR revealed that BNF induced the Nrf2-regulated genes. BNF enhanced oxidative DNA damage and lipid peroxidation, estimated by the levels of 8-OHdG and TBARS. These results suggest that the administration of BNF at a high dose and over a long-term enhance oxidative stress responses which may contribute to its hepatocarcinogenic potential in rats.

Keywords: nrf2, beta-naphthoflavone, 8-OHdG, partially hepatectomized rats

* Tokyo University of Agriculture and Technology

Kuroiwa, Y., Okamura, T., Ishii, Y., Umemura, T., Tasaki, M., Kanki, K., Mitsumori, K.*¹, Hirose, M.*², Nishikawa, A. : **Enhancement of esophageal carcinogenesis in acid reflux model rats treated with ascorbic acid and sodium nitrite in combination with or without initiation**

Cancer Sci., **99**, 7-13 (2008)

Combined treatment with sodium nitrite (NaNO_2) and ascorbic acid (AsA) has already been shown to promote rat forestomach carcinogenesis, possibly due to nitric oxide generation under acidic conditions. To clarify a possibility of the similar effect of the luminal pH on acid reflux in the esophagus, reflux esophagitis model rats were coadministered 0.2% NaNO_2 in the drinking water and 1% AsA in the diet. After 32 weeks, a significant increase of epithelial hyperplasias of the lower-middle and lowest

parts of the esophagus were observed. One squamous cell papilloma was found only in the combined-treatment group. In the enhancing effects of cotreatment with NaNO_2 and AsA on rat DHPN-initiated esophageal tumorigenesis model, the incidence of hyperplasia was enhanced in all segments. Thus, the data demonstrate that combined treatment with NaNO_2 and AsA exerts promoting effects on rat esophageal carcinogenesis under acid reflux conditions, as in the forestomach. These findings suggest that the risk of excessive intake of a combination of nitrite and antioxidants for esophageal carcinogenesis is appreciable, particularly in patients with reflux esophagitis.

Keywords: sodium nitrite, ascorbic acid, acid reflux model

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Yoshida, M., Sanbuissyo, A.*¹, Hisada, S.*², Takahashi, M.*³, Ohno, Y., Nishikawa, A. : **Morphological characterization of the ovary under normal cycling in rats and its viewpoints of ovarian toxicity detection**

J Toxicol Sci. **34**, SP189-97 (2009)

Identification of ovarian toxicity is very important for safety assessment of drugs and other environmental chemicals. The detection of interference with ovarian function is very hard without a thorough understanding of the normal ovarian morphology based on reproductive physiology. The focus of the present study was therefore a practical analysis in each stage of the estrous cycles using ovaries obtained from 143 rats demonstrating normal cycling. Transversely dissected maximum areas in the ovaries were examined microscopically for the two major features, follicles and corpora lutea (CL). Classification of growing follicles was in reference to Pedersen and Peters (1968), and functionally divided into follicular stimulating hormone (FSH)-independent and dependent categories. The former, small and medium-sized follicles, respectively primordial/primary and preantral follicles, could be readily detected by immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen (PCNA). The large antral and Graafian follicles and large sized atretic follicles showed sequential changes depending on the estrous cycle stage. CL could be divided into currently and previously formed examples. Currently formed CL underwent remarkable changes in their appearance with the cycle, reflecting ovulation and progesterone production. Thus morphological analysis

that is synchronized the large antral follicle changes with recently formed CL ones allows the ovary to be classified into the each estrous cycle stage. Morphological deviation from any synchronized combination provides a first pointer of ovarian toxicity. PCNA immunohistochemical staining is also useful to detect small follicles.

Keywords: Ovary, toxicity, morphology, rat

^{*1} Daiichi-Saykyo Co.Ltd

^{*2} Aska Pharmaceutical Co. Ltd.

^{*3} Pathology Peer Review Center

Takahashi, M., Shibutani, M.^{*1}, Sugita-Konishi, Y., Aihara, M., Inoue, K., Woo, GH., Fujimoto, H. and Hirose, M.^{*2}
: **A 90-day subchronic toxicity study of nivalenol, a trichothecene mycotoxin, in F344 rats**

Food Chem Toxicol., **46**,125-135 (2008)

A subchronic toxicity study of nivalenol (NIV) was conducted in male and female F344 rats fed diet containing 0, 6.25, 25 or 100 ppm concentration for 90 days. Decrease of body weight and loose stools were observed at 100 ppm in both sexes from the start of the experiment, and body weight reduction was also observed at 25 ppm in males from week 6. Hematologically, decrease of the white blood cell count was found at 100 ppm in males and from 6.25 ppm in females. In addition, decreased platelet counts in both sexes, red blood cell counts in males, and the hemoglobin concentration in females were detected at 100 ppm. Histopathologically, treatment-related changes were observed in the hematopoietic and immune organs and the anterior pituitary in both sexes and female reproductive organs at 100 ppm. Based on the hematological data, the NOAEL of NIV was determined to be less than 0.4 mg/kg body weight/day for both males and females.

Keywords: Subchronic toxicity, nivalenol, mycotoxin

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Inoue, K., Shibutani, M.^{*1}, Masutomi, N., Toyoda, K., Takagi, H., Uneyama, C., Nishikawa, A. and Hirose, M.^{*2}
: **A 13-week subchronic toxicity study of madder color in F344 rats**

Food Chem. Toxicol., **46**, 241-252 (2008)

A 13-week repeated oral dose toxicity study of madder color (MC) was performed using F344 rats. Males and female rats were fed diet containing 0, 0.6, 1.2, 2.5 or

5.0% MC. Lower body weight was evident from the 2.5% dose. Hematological data indicated weak anemia in females. Slight increases of platelet counts and WBC counts were observed at higher doses. Biochemically, slight fluctuations were observed in many parameters. Histopathologically, renal lesions such as microvesicular vacuolar degeneration in the cortex and karyomegaly in the outer medulla involving both sexes changes were observed all treated groups, the lesions being evident even with 0.6%. In the outer medulla, elevation of cell proliferation activity was observed in males from 2.5%. Severity of focal necrosis of hepatocytes was increased only in females at 5.0%, while the increased relative liver weight as with the increased conjugated bilirubin was evident in both sexes from 1.2%. The results thus suggest that MC targeting liver, kidneys, and possibly RBCs and WBCs, some renal changes being evident from 0.6% in diet, that is attributable to be LOAEL (305.8-309.2mg/kg body weight/day).

Keywords: Subchronic toxicity, madder color, *Rubia tinctorum* L.

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Takahashi, M., Shibutani, M.^{*1}, Inoue, K., Fujimoto, H., Hirose, M.^{*2}, and Nishikawa, A. : **Pathological assessment of the nervous and male reproductive systems of rat offspring exposed maternally to acrylamide during the gestation and lactation periods - a preliminary study**

J Toxicol Sci., **33**, 11-24 (2008)

To evaluate the developmental effects of exposure to acrylamide (ACR) on the nervous and male reproductive systems, pregnant Sprague-Dawley rats were given ACR at 0, 50, 100 or 200 ppm in the drinking water from gestational day 10 to postnatal day 21 and offspring was examined at weaning and postnatal week 11. Neurotoxicity was quantitatively assessed in the sciatic nerves, and numbers of aberrant dot-like structures immunoreactive for synaptophysin in the cerebellar molecular layer. Although maternal neurotoxicity was evident from 100 ppm, no changes suggestive of neurotoxicity or testicular toxicity were observed in offspring. However, lowering of body weights was dose-dependently observed from birth at the dose levels of > or =50 ppm in males and > or =100 ppm in females. Maternal malnutrition was apparent at >/=100 ppm during the lactation period. Therefore, poor lactational

ACR-exposure due to maternal toxicity might account for the lack of ACR-induced offspring toxicity other than retarded body growth.

Keywords: Acrylamide, neurotoxicity, testicular toxicity

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Takahashi, M., Shibutani, M.^{*1}, Woo, GH., Inoue, K., Fujimoto, H., Igarashi, K., Kanno, J., Hirose, M.^{*2} and Nishikawa A. : **Cellular distributions of molecules with altered expression specific to the tumor promotion process from the early stage in a rat two-stage hepatocarcinogenesis model**

Carcinogenesis, **29**, 2218-2226 (2008)

A global gene expression profiling specific to the early process of tumor promotion by fenbendazole (FB) or phenobarbital (PB) in a rat two-stage hepatocarcinogenesis model was investigated using the immunohistochemical distribution of transferrin receptor (Tfrc), nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2 (Nr0b2) and minichromosome maintenance deficient 6 (MCM6) in FB- and PB-induced proliferative lesions at both early and late stages of tumor promotion. In the early stage, most hepatocellular foci positive for GST-P showed co-expression of TGFbetaRI and lack of PTEN and pPTEN, some GST-P-positive foci co-expressing Tfrc and Nr0b2. In the late stage, selective expression of TGFbetaRI was also observed in adenomas and carcinomas with consistent expression of GST-P. Nr0b2 was variably expressed in the proliferative lesions, irrespective of the carcinogenic stage. Like the GST-P-positive foci, adenomas and carcinomas consistently lacked PTEN and pPTEN. Expression of Tfrc and MCM6 was increased in parallel with the carcinogenic stage. In conclusion, loss of PTEN and dysregulation of TGFbeta signaling might be involved in rat hepatocarcinogenesis from early stages. Selective expression of Tfrc in proliferative lesions suggests an involvement of changes in iron homeostasis.

Keywords: Hepatocarcinogenesis, fenbendazole, phenobarbital

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Inoue, K., Shibutani^{*1}, M., Masutomi, N., Toyoda, K., Takagi, H., Takahashi, M., Fujimoto, H., Hirose, M.^{*2} and Nishikawa, A. : **One-year chronic toxicity of**

madder color in F344 rats--induction of preneoplastic/neoplastic lesions in the kidney and liver

Food Chem Toxicol., **46**, 3303-3310 (2008)

Chronic toxicity of madder color (MC) was investigated in F344 rats fed in the diet containing 0%, 0.2%, 1.0% or 5.0% MC for 53 weeks. Anemia and serum biochemical parameters indicating hepatotoxicity were demonstrated at 5.0% in both sexes. Liver weights were increased from 1.0% in both sexes, and the kidney weights were increased from 1.0% in males and from 0.2% in females. Atypical renal tubule hyperplasias with increase of cell proliferative activity were increased at 1.0% or higher in both sexes. A renal cell adenoma was observed in a male rat receiving 5.0% MC. In addition, glutathione S-transferase placental form-positive liver cell foci were significantly increased at 5.0% in both sexes. These results indicate that MC has chronic toxicity targeting kidney, liver and blood cells. Moreover, the results strongly suggest that MC may have the carcinogenic potential in the kidney and the liver.

Keywords: Chronic toxicity, madder color, *Rubia tinctorum* L.

^{*1} Tokyo University of Agriculture and Technology

^{*2} Food Safety Commission

Yahia, D.^{*1,2}, Tsukuba, C.^{*2}, Yoshida, M., Sato, I.^{*2} and Tsuda, S.^{*2}. **Neonatal death of mice treated with perfluorooctane sulfonate (PFOS)**

J Toxicol Sci., **33**, 219-26 (2008)

Pregnant mice exposure to PFOS causes neonatal death. Ten pregnant ICR mice per group were given 1, 10 or 20 mg/kg PFOS daily by gavage from gestational day (GD) 0 to the end of the study. Five dams per group were sacrificed on GD 18 for prenatal evaluation, the others were left to give birth. PFOS treatment (20 mg/kg) reduced the maternal weight gain and feed intake but increased the water intake. The liver weight increased in a dose-dependent manner accompanied by hepatic hypertrophy at 20 mg/kg. PFOS reduced the fetal body weight in a dose-dependent manner and caused a bilateral enlargement in the neck region in all fetuses at 20 mg/kg and mild enlargement in some fetuses at 10 mg/kg, in addition to skeletal malformations. Almost all fetuses at 20 mg/kg were alive on GD18 and showed normal lung structure; but at parturition, all neonates were inactive and weak, showed severe lung atelectasis and severe dilatation of intracranial blood vessel, and died within a few hours. At 10 mg/kg, all neonates were born alive, 27% showed slight

lung atelectasis, all of them had mild to severe dilatation of the intracranial blood vessel, and 45% of neonates died within 24 hr. The cause of neonatal death in mice exposed to PFOS may be attributed either to the intracranial blood vessel dilatation or to respiratory dysfunction. The former might be a cause of the latter.

Keywords: PFOS, Neonate, mouse

^{*1,2} Assiut University, Egypt

^{*2} Iwate University.

Cho, Y. M., Imai, T., Ota, Y., Hasumura, M., Takami, S., Hirose, M.* and Nishikawa, A. : **A new medium-term rat colorectal bioassay applying neoplastic lesions as end points for detection of carcinogenesis modifiers effects with weak or controversial modifiers**

Toxicol. Pathol., **36**, 459-464 (2008)

We investigated the ability of a two-stage, medium-term rat colorectal carcinogenesis model to detect weak modifiers. F344 male rats were given three subcutaneous injections of DMH, 40 mg/kg b.w. in one week followed by drinking water containing 1% dextran sodium sulfate (DSS) for a second week. One week after this regimen, basal diet alone, or diets containing 10% perilla oil, 10% corn oil, 10% dextrin, or 0.1% indole-3-carbinol (I3C) were supplied. The perilla oil and corn oil groups did not show significant differences in the numbers of aberrant crypt foci (ACF) and incidences or multiplicity of proliferative lesions at either time point. In the dextrin group, the total number of ACF at week ten was significantly increased. With I3C, the total number of ACF and incidence and multiplicities of adenocarcinomas at week 10 and the incidence of invasive tumors at Week 20 were increased. These data essentially correspond with earlier reported results, except in the vegetable oil cases. Thus, the system is suitable for detection of colorectal carcinogenesis modifiers with advantages over previous models using ACF alone as end points.

Keywords: colorectal cancer, dextran sodium sulfate, mid-term bioassay

^{*1} Food Safety Commission

Hirata, A.*¹, Tsukamoto, T.*¹, Sakai, H.*¹, Takasu, S.*¹, Ban, H.*¹, Imai, T., Totsuka, Y.*², Nishigaki, R.*², Wakabayashi, K.*², Yanai, T.*³, Masegi, T.*³ and

Tatematsu, M.*¹ : **Carcinogenic risk of heterocyclic amines in combination - assessment with a liver initiation model**

Food Chem. Toxicol., **46**, 2003-2009 (2008)

Carcinogenic potential of heterocyclic amines (HCAs) was investigated using an in vivo 5-week initiation assay with quantitative evaluation of GST-P positive foci in rat liver. GST-P positive foci were increased with individual administration of six different HCAs, indicating utility of the assay. It was therefore applied to investigate risk with multiple HCAs in combination. Concomitant treatment with PhIP and MeIQx did not result in any additive carcinogenicity. In the rats taking MeIQx prior to PhIP the value was almost equal to the sum total of individual data, indicating additive initiation activities. Simultaneous or prior administration of PhIP rather exerted inhibitory effects on the carcinogenic potential of MeIQx. Moreover, microarray and quantitative RT-PCR assessment revealed that PhIP induced cytochrome P450 1A1 more strongly than MeIQx. It is noteworthy that complex exposure to multiple HCAs is not necessarily associated with increased risk of carcinogenesis because they are simultaneously and continuously ingested under normal circumstances.

Keywords: Heterocyclic amines, glutathione S-transferase placental form positive foci, liver initiation model

^{*1} Institute of Aichi Cancer Center

^{*2} National Institute of Cancer

^{*3} Gifu University

Onose, J.*¹, Imai, T., Hasumura, M., Ueda, M., Ozeki, Y. and Hirose, M.*² : **Evaluation of subchronic toxicity of dietary administered Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* HD-1 in F344 male rats with chemically induced gastrointestinal impairment**

Food Chem. Toxicol., **46**, 2184-2189 (2008)

We evaluated following four F344 rat groups with a purified *Bacillus thuringiensis* (Bt) protein Cry1Ab from *B. thuringiensis* var. *Kurstaki* HD-1. Gastrointestinal impairment (GI) alone and GI + Bt protein fed (GI + Bt) groups were given i.p. injections of famotidine to reduce gastric acid secretion twice a day at 30 mg/kg body weight in weeks 2 and 4. GI and GI + Bt groups were additionally fed diets containing 80 ppm indomethacin for induction of intestinal damage during weeks 1 and 3. Bt alone and GI + Bt groups were also fed diet containing Bt protein

Cry1Ab at a concentration of 10 ppm in weeks 2 and 4. A no treatment control group was also included. At the end of week 4, all animals were euthanized under ether anesthesia, blood samples were collected for hematology and serum biochemistry and a complete necropsy was performed. No significant changes indicative of toxicity of the Bt protein Cry1Ab used here were noted with any of the parameters investigated. In conclusion, no significant toxicological effects were detected in this subchronic gastrointestinal impairment rat model.

Keywords: subchronic toxicity, Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*, gastrointestinal impairment

*¹ Tokyo University of Agriculture

*² Food Safety Commission

Takami, S., Imai, T., Hasumura, M., Cho, Y.M., Onose, J.^{*1} and Hirose, M.^{*2} : **Evaluation of toxicity of green tea catechins with 90-day dietary administration to F344 rats**

Food Chem. Toxicol., **46**, 2224-2229 (2008)

As a part of their safety assessment, subchronic toxicity of green tea catechins (GTC), was investigated in male and female F344 rats with dietary administration at concentrations of 0 (control), 0.3%, 1.25% and 5.0% for 90 days. No mortality or obvious clinical signs were observed throughout the experimental period but body weights were reduced from week 1 to the end of the experiment in 5.0% males. In serum biochemistry, alanine transaminase and alkaline phosphatase in 5.0% males and females and aspartate transaminase in 5.0% females were increased, together with the relative liver weights in both sexes receiving 5.0%. Although decreases were evident for total cholesterol in 0.3-5.0% males and triglycerides in 1.25% and 5.0% males and 5.0% females, these changes were not considered to be adverse. Hematology and histopathological observation revealed no GTC-related toxicological changes. Based on above findings, NOAEL of GTC was estimated to be 764mg/kg body weight/day for males and 820mg/kg body weight/day for females.

Keywords: green tea catechins, subchronic toxicity, F344 rats

*¹ Tokyo University of Agriculture

*² Food Safety Commission

Yatagai, F.^{*1}, Suzuki, M.^{*2}, Ishioka, N.^{*3}, Ohmori, H.^{*1},

and Honma, M. : **Repair of I-SceI induced DSB at a specific site of chromosome in human cells: influence of low-dose, low-dose-rate gamma-rays**

Radiat. Environ. Biophys., **47**, 439-444 (2008)

We investigated the influence of low-dose, low-dose-rate gamma-ray irradiation on DNA double strand break (DSB) repair in human lymphoblastoid TK6 cells. A single DSB was introduced at intron 4 of the TK+ allele by transfection with the I-SceI expression vector. We assessed for DSB repair due to non-homologous end-joining (NHEJ) by determining the generation of TK-deficient mutants in the TK6 derivative TSCE5 (TK+/-) carrying an I-SceI recognition site. We similarly estimated DSB repair via homologous recombination (HR) at the same site in the derived compound heterozygote (TK-/-) cell line TSCER2 that carries an additional point mutation in exon 5. The NHEJ repair of DSB was barely influenced by pre-irradiation of the cells with 30 mGy c-rays at 1.2 mGy h⁻¹. DSB repair by HR, in contrast, was enhanced by 50% after pre-irradiation of the cells under these conditions. Furthermore, when I-SceI digestion was followed by irradiation at a dose of 8.5 mGy, delivered at a dose rate of only 0.125 mGy h⁻¹, HR repair efficiency was enhanced by 80%. This experimental approach can be applied to characterize DSB repair in the low-dose region of ionizing radiation.

Keywords: Double strand break (DSB), Low-dose effect, Homologous recombination (HR)

*¹ 理化学研究所

*² 放射線医学総合研究所

*³ 宇宙航空研究開発機構

Anderson, H.J.^{*1}, Vonarx, E.J.^{*1}, Pastushok, L.^{*2}, Nakagawa, M.^{*3}, Katafuchi, A., Gruz, P., Di Rubbo, A.^{*1}, Grice, D.M.^{*1}, Osmond, M.J.^{*1}, Sakamoto, A.N.^{*3}, Nohmi, T., Xiao, W.^{*2}, and Kunz, B.A.^{*1} : **Arabidopsis thaliana Y-family DNA polymerase eta catalyses translesion synthesis and interacts functionally with PCNA2**

Plant J., **55**, 895-908 (2008)

We assessed the roles of *Arabidopsis thaliana* POLH, which encodes a homologue of Y-family polymerase eta (Polη), PCNA1 and PCNA2 in TLS-mediated UV resistance. A T-DNA insertion in POLH sensitized the growth of roots and whole plants to UV radiation, indicating that At Polη contributes to UV resistance. POLH

alone did not complement the UV sensitivity conferred by deletion of yeast *RAD30*, which encodes Pol η , although AtPol η exhibited cyclobutane dimer bypass activity in vitro, and interacted with yeast PCNA, as well as with *Arabidopsis* PCNA1 and PCNA2. Co-expression of POLH and PCNA2, but not PCNA1, restored normal UV resistance and mutation kinetics in the *rad30* mutant. PCNA-interacting protein boxes and an ubiquitin-binding motif in AtPol η were found to be required for the restoration of UV resistance in the *rad30* mutant by POLH and PCNA2. These observations indicate that AtPol η can catalyse TLS past UV-induced DNA damage, and links the biological activity of AtPol η in UV-irradiated cells to PCNA2 and PCNA- and ubiquitin-binding motifs in AtPol η .

Keywords: *Arabidopsis*, POLH, PCNA

^{*1} Deakin University, Australia

^{*2} University of Saskatchewan, Canada

^{*3} 日本原子力研究開発機構

Uchida, K.^{*1}, Furukohri, A.^{*1}, Shinozaki, Y.^{*1}, Mori, T.^{*1}, Ogawara, D.^{*1}, Kanaya, S.^{*2}, Nohmi, T., Maki, H.^{*1}, and Akiyama, M.^{*1} : **Overproduction of *Escherichia coli* DNA polymerase DinB (Pol IV) inhibits replication fork progression and is lethal**

Mol Microbiol., **70**, 608-622 (2008)

We overexpressed *dinB*, which encodes a TLS DNA polymerase in *E. coli*, under the tightly regulable arabinose promoter and looked for a distinct phenotype. Upon induction of *dinB* expression, progression of the replication fork was immediately inhibited at random genomic positions, and the colony-forming ability of the cells was reduced. Overexpression of mutated *dinB* alleles revealed that the structural requirements for these two inhibitory effects and for TLS were distinct. We suggest that DinB targets Pol III, thereby acting as a brake on replication fork progression. Because the brake operates when cells have excess DinB, as they do under stress conditions, it may serve as a checkpoint that modulates replication to safeguard genome stability.

Keywords: *dinB*, replication fork, Pol III

^{*1} 奈良先端大学・バイオサイエンス研究科

^{*2} 奈良先端大学・情報科学研究科

Hashimoto, A.^{*}, Amanuma, K.^{*}, Masumura, K., Nohmi, T., and Aoki, Y.^{*} : ***In vivo* mutagenesis caused by diesel**

exhaust in the testis of *gpt* delta transgenic mice
Genes & Environ., **31**, 1-8 (2009)

Diesel exhaust (DE) is a major airborne pollutant in urban areas. In this study, we estimated the systemic effect of diesel exhaust inhalation by investigating mutations in extrapulmonary organs such as the testis and liver. *gpt* delta Transgenic mice were exposed to inhalation of 3 mg m⁻³ diesel exhaust (as suspended particulate matter) for 12 or 24 weeks. Compared to the control mice, DE resulted in a 2.0-fold increase in mutant frequency in the testis of mice that were exposed to DE for 24 weeks, but not in the testis of mice exposed for 12 weeks. The mutant frequency in the lungs was 2.6-fold higher in mice exposed to DE for 24 weeks than the control group, but it was not elevated in the liver. In the testis, the major mutations on the *gpt* gene were G:C→T:A transversions, 1 base deletions and G:C→A:T transitions, while the major mutation in the lung was G:C→A:T transitions. Our results suggest that inhalation of diesel exhaust is genotoxic to the testis as well as respiratory organs.

Keywords: diesel exhaust, testis, *gpt* delta transgenic mouse

* 国立環境研究所

Xu, A.^{*1,2}, Chai, Y.^{*1}, Nohmi, T., and Hei, T.K.^{*1} : **Genotoxic responses to titanium dioxide nanoparticles and fullerene in *gpt* delta transgenic MEF cells**
Particle and Fibre Toxicology, **6**, 3 (2009)

Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles and fullerene (C60) are two attractive manufactured nanoparticles with great promise in industrial and medical applications. However, little is known about the genotoxic response of TiO₂ nanoparticles and C60 in mammalian cells. In the present study, we determined the mutation fractions induced by either TiO₂ nanoparticles or C60 in *gpt* delta transgenic mouse primary embryo fibroblasts (MEF) and identified peroxynitrite anions (ONOO⁻) as an essential mediator involved in such process. Our results provided novel information that both TiO₂ nanoparticles and C60 were taken up by cells and induced kilo-base pair deletion mutations in a transgenic mouse mutation system. The induction of ONOO⁻ may be a critical signaling event for nanoparticle genotoxicity.

Keywords: nanoparticle, titanium dioxide, fullerene

^{*1} Columbia University, USA

^{*2} Institute of Plasma Physics, Chinese Academy of

Sciences, China

Sakamoto Y^{*1}, Nakae D^{*1*2}, Fukumori N^{*1}, Tayama K^{*1}, Maekawa A^{*2*3}, Imai K^{*4}, Hirose A, Nishimura T, Ohashi N^{*1} and Ogata A^{*1}. : **Induction of mesothelioma by a single intrascrotal administration of multi-wall carbon nanotube in intact male Fischer 344 rats**
J. Toxicol Sci., **34**, 65-76 (2008)

The present study assessed a carcinogenic hazard of multi-wall carbon nanotube (MWCNT) in intact (not genetically modified) rodents. MWCNT (1 mg/kg body weight, 7 animals), crocidolite (2 mg/kg body weight, 10 animals) or vehicle (2% carboxymethyl cellulose, 5 animals) was administered to male Fischer 344 rats (12 weeks old) by a single intrascrotal injection. Rats were autopsied immediately after death, when becoming moribund or at the end of the maximal observation period scheduled to be 52 weeks. After 37-40 weeks, however, 6 MWCNT-treated animals died or became moribund due to intraperitoneally disseminated mesothelioma (6/7, 85.7%) with bloody ascites. Peritoneal mesothelium was generally hypertrophic, and numerous nodular or papillary lesions of mesothelioma and mesothelial hyperplasia were developed. While mesothelioid cells were predominant in relatively early stage tumors, advanced stage mesotheliomas were constituted by 2 portions occupied by mesothelioid cells on the surface and spindle-shaped sarcomatous cells in the depth. In the latter, the histological transition was apparently observed between these 2 portions. Mesotheliomas were invasive to adjacent organs and tissues, and frequently metastasized into the pleura. Only 1 rat survived for 52 weeks in the MWCNT-treated group, and similar findings except mesothelioma were observed. All 10 crocidolite-treated and 5 vehicle-treated rats survived for 52 weeks without any particular changes except deposition of asbestos in the former case. It is thus indicated that MWCNT possesses carcinogenicity causing mesothelioma at a high rate in intact male rats under the present experimental conditions. The present data identifies a carcinogenic hazard of MWCNT and will serve as one of the indispensable evidences to be used for the risk assessment crucial for not only protection and improvement of human health and welfare, but also safe and acceptable development and prevalence of this and similar upcoming materials.

Keywords: Multi-wall carbon nanotube, Carcinogenicity, Hazard identification

^{*1} Department of Environmental Health and Toxicology, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

^{*2} Tokyo University of Agriculture

^{*3} Safety Assessment Division, Chemical Management Center, National Institute of Technology and Evaluation

^{*4} Biosafety Research Center Foods, Drugs and Pesticides

Ema, M.^{*1}, Fukunishi, K.^{*2}, Hirose, A., Hirata-Koizumi, M., Matsumoto, M. and Kamata, E. : **Repeated-dose and reproductive toxicity of the ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in rats**

Drug. Chem. Toxicol., **31**, 399-412 (2008)

2-(3',5'-Di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole (DBHCB) is widely used as an ultraviolet (UV) absorber. In this study, the repeated dose and reproductive toxicity of DBHCB was evaluated in rats. Crj:CD(SD)IGS rats were given DBHCB by gavage at 0, 2.5, 25, or 250 mg/kg/d. Male and female rats were dosed beginning 28 d before mating, and each female rat was mated with a male rat of the same dosage group. Males were dosed for a total of 56-57 d, and females were dosed for a total of 55-69 d up to Day 3 of lactation throughout the mating and pregnancy periods. Ten males from each group were killed on the next day of the last administration, and 10 females were killed on Days 4-6 after parturition. Five rats/sex treated at 0 and 250 mg/kg/d for 56 d were then kept without treatment for 14 d (recovery period). No deaths were found in any group. No effects of DBHCB on general condition, body weight, food consumption, or reproductive/developmental parameters were observed. Significant increases in serum albumin and an albumin/globulin ratio at 25 mg/kg/d and higher and alkaline phosphatase levels at 250 mg/kg/d were noted in males. The absolute and relative weights of the liver were significantly increased in males at 25 mg/kg/d and higher. Significantly increased serum albumin and absolute and relative liver weight were also found in males at 250 mg/kg/d after the recovery period. No changes in these parameters were observed in females of any DBHCB-treated groups. No significant changes in organ histopathology were found in males or females. These findings indicated a sex difference in the toxicity of DBHCB in rats.

Keywords: Ultraviolet absorber, Reproductive toxicity, Triazoles

^{*1} National Institute of Advanced Industrial Science and

Technology

*² Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Ema, M.^{*1}, Fujii, S.^{*2}, Hirata-Koizumi, M. and Matsumoto, M. : **Two-generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats**

Reprod. Toxicol.,**25**, 335-351 (2008)

Male and female rats were fed a diet containing flame retardant hexabromocyclododecane (HBCD) at 0, 150, 1500 or 15,000 ppm throughout the study beginning at the onset of a 10-week pre-mating period and continuing through the mating, gestation and lactation periods for two generations. The mean daily intakes of HBCD during the whole period of administration were 10.2, 101 and 1008 mg/kg bw in F0 males, 14.0, 141 and 1363 mg/kg bw in F0 females, 11.4, 115 and 1142 mg/kg bw in F1 males, and 14.3, 138 and 1363 mg/kg bw in F1 females for 150, 1500 and 15,000 ppm, respectively. The incidence of rats with decreased thyroid follicles size was increased in F0 and F1 males and females at 1500 ppm and higher. Serum TSH levels were increased in F0 and F1 females at 1500 ppm and higher, and serum T4 levels were decreased in F0 males and females at 15,000 ppm. The number of the primordial follicles in the ovary of F1 females was reduced at 1500 ppm and higher. There were increases in the absolute and relative weights of the liver in male adults and male and female weanlings at 1500 ppm and higher, and in female adults at 15,000 ppm, and of the thyroid in male and female adults at 15,000 ppm. Decreased body weight and body weight gain associated with reduced food consumption were found in F1 males and females at 15,000 ppm. Decreases were found in the viability index of F2 pups and the body weight of male F1 and F2 pups and female F2 pups at 15,000 ppm. In F2 pups, there were low incidences of the completion of eye opening in males at 15,000 ppm and in females at 1500 ppm and higher, and of completed mid-air righting in females at 15,000 ppm. The data indicate that the NOAEL of HBCD in this study was 150 ppm (10.2mg/kg bw/day). The estimated human intake of HBCD is well below the NOAEL in the present study.

Keywords: Hexabromocyclododecane, Reproductive toxicity, Spermatozoa

*¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

*² Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.

Harada, T., Kimura, E.^{*}, Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Kamata, E. and Ema, M. : **Reproductive and developmental toxicity screening study of 4-aminophenol in rats**

Drug. Chem. Toxicol.,**31**, 473-486 (2008)

Twelve male and female rats per group were given 4-aminophenol (PAP) by gavage at 0, 20, 100, or 500 mg/kg/day. Males were dosed for a total of 49 days, beginning 14 days before mating. Females were dosed for a total of 40-60 days, from 14 days before mating to Day 3 of lactation throughout the mating and gestation periods. Four males and 2 females died at 500 mg/kg/day, and all surviving males and females showed brown urine at 100 mg/kg/day and above. Body-weight gain was lower in males and females at 500 mg/kg/day, and food consumption was decreased in males at 500 mg/kg/day and in females at 100 and 500 mg/kg/day. Absolute and relative weights of the testes and epididymides were decreased at 500 mg/kg/day. Histopathological examinations revealed decreased spermatocyte and spermatid levels in the testis, debris of germ cell in the epididymis lumen, basophilic tubules in the kidney, and deposits of hemosiderin in the red pulp and extramedullary hematopoiesis in the spleen in males at 500 mg/kg/day. Longer gestation period, decreased delivery index, and lower body weight of pups on postnatal day (PND) 0 and increased number of stillborns at 500 mg/kg/day were also observed. At this dose, the viability of pups on PND 4 was decreased markedly. No adverse effects on reproduction or development were detected at 20 and 100 mg/kg/day. These findings indicate that PAP is general and reproductive/developmental toxic, but is unlikely to be teratogenic, in rats.

Keywords: 4-Aminophenol, Testicular toxicity, Neonatal death

* Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.

Hirata-Koizumi, M., Matsuyama, T.^{*1}, Imai, T., Hirose, A., Kamata, E. and Ema, M.^{*2} : **Gender-related difference in the toxicity of ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in rats**

Drug. Chem. Toxicol.,**31**, 383-398 (2008)

2-(3',5'-Di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-

chlorobenzotriazole (DBHCB) is widely used as an ultraviolet absorber. Previously, we showed that male rats had more than a 100 times higher susceptibility to the toxic effects of DBHCB than females. In order to investigate the role of sex steroids in the mediation of this gender-related difference, DBHCB (0 or 250 mg/kg/day) was given to male and female young intact and castrated rats by gavage for 28 days in the current study. In intact rats, relative liver weight increased to more than two times that of the control in males, while the rate of change was less than 10% in females. On histopathology, hypertrophy of hepatocytes was observed in males but not in females. In castrated rats, an approximately 40% increase in the relative liver weight was found only in males, and no histopathological changes in the liver were detected in either sex. The gender-related difference was also determined in preweaning rats administered DBHCB at 0, 250, or 500 mg/kg/day by gavage from postnatal days 4 to 21. Blood biochemical changes, including increases in the levels of AST, ALT, and ALP, 80-95% increase in the relative liver weight and histopathological changes in the liver, such as hypertrophy and single cell necrosis of hepatocytes, were observed at both doses in both sexes. In conclusion, the gender-related difference in the toxicity of DBHCB, which was observed in young rats, was markedly reduced by castration and abolished in preweaning rats.

Keywords: Ultraviolet absorber, Gender-related difference, Preweaning rats

^{*1} Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

^{*2} National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

Takahashi, M., Sunaga, M.^{*}, Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Kamata, E. and Ema, M. : **Reproductive and developmental toxicity screening study of 2,4-dinitrophenol in rats**

Environ. Toxicol., **24**, 74-81 (2009)

Rats were treated by gavage once daily with 2,4-dinitrophenol (DNP) at 0 (control), 3, 10, or 30 mg/kg bw. Males were dosed for 46 days, beginning 14 days before mating, and females were dosed for 40-47 days, from 14 days before mating to day 3 of lactation. No deaths were observed in males and females of any group. A significant decrease in body weight gain and significant increase in liver weight were found in males and females at 30 mg/kg bw/day. The number of live pups on postnatal days (PNDs)

0 and 4, live birth index, and body weight of live male and female pups on PNDs 0 and 1 were significantly lowered at 30 mg/kg bw/day. External and internal examinations of pups revealed no increased incidence of malformations in DNP-treated groups. On the basis of these findings, we concluded that DNP has general and reproductive/developmental toxicity, but not teratogenicity, under the present conditions. The NOAEL of DNP is considered to be 10 mg/kg bw/day in rats.

Keywords: 2,4-Dinitrophenol, Reproduction, Development

^{*} Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.

Hirode, M.^{*1}, Ono, A., Miyagishima, T.^{*2}, Nagao, T.^{*3}, Ohno, Y. and Urushidani, T.^{*4} : **Gene expression profiling in rat liver treated with compounds inducing phospholipidosis**

Toxicol. Appl. Pharmacol., **229**, 290-299 (2008)

We have constructed a large-scale transcriptome database of rat liver treated with various drugs. In an effort to identify a biomarker for diagnosis of hepatic phospholipidosis, we extracted 78 probe sets of rat hepatic genes from data of 5 drugs, amiodarone, amitriptyline, clomipramine, imipramine, and ketoconazole, which actually induced this phenotype. Principal component analysis (PCA) using these probes clearly separated dose- and time-dependent clusters of treated groups from their controls. Moreover, 6 drugs (chloramphenicol, chlorpromazine, gentamicin, perhexiline, promethazine, and tamoxifen), which were reported to cause phospholipidosis but judged as negative by histopathological examination, were designated as positive by PCA using these probe sets. Eight drugs (carbon tetrachloride, coumarin, tetracycline, metformin, hydroxyzine, diltiazem, 2-bromoethylamine, and ethionamide), which showed phospholipidosis-like vacuolar formation in the histopathology, could be distinguished from the typical drugs causing phospholipidosis. Moreover, the possible induction of phospholipidosis was predictable by the expression of these genes 24 h after single administration in some of the drugs. We conclude that these identified 78 probe sets could be useful for diagnosis of phospholipidosis, and that toxicogenomics would be a promising approach for prediction of this type of toxicity.

Keywords: Toxicogenomics, Phospholipids, Principal Component Analysis

*¹ Takeda Pharmaceutical Company Limited

*² National Institute of Biomedical Innovation

*³ Food Safety Commission of Japan

*⁴ Doshisha Women's College of Liberal Arts

Uehara, T.^{*1}, Kiyosawa, N.^{*1}, Shimizu, T.^{*1}, Omura, K.^{*1}, Hirode, M.^{*1}, Imazawa, T.^{*1}, Mizukawa, Y.^{*2}, Ono, A., Miyagishima, T.^{*1}, Nagao, T.^{*3} and Urushidani, T.^{*2}
: Species-specific differences in coumarin-induced hepatotoxicity as an example toxicogenomics-based approach to assessing risk of toxicity to humans

Hum. Exp. Toxicol., **27**, 23-35 (2008)

One expected result from toxicogenomics technology is to overcome the barrier because of species-specific differences in prediction of clinical toxicity using animals. The present study serves as a model case to test if the well-known species-specific difference in the toxicity of coumarin could be elucidated using comprehensive gene expression data from rat in-vivo, rat in-vitro, and human in-vitro systems. Coumarin 150 mg/kg produced obvious pathological changes in the liver of rats after repeated administration for 7 days or more. Moreover, 24 h after a single dose, we observed minor and transient morphological changes, suggesting that some early events leading to hepatic injury occur soon after coumarin is administered to rats. Comprehensive gene expression changes were analyzed using an Affymetrix GeneChip approach, and differentially expressed probe sets were statistically extracted. The changes in expression of the selected probe sets were further examined in primary cultured rat hepatocytes exposed to coumarin, and differentially expressed probe sets common to the in-vivo and in-vitro datasets were selected for further study. These contained many genes related to glutathione metabolism and the oxidative stress response. To incorporate human data, human hepatocyte cultured cells were exposed to coumarin and changes in expression of the bridging gene set were examined. In total, we identified 14 up-regulated and 11 down-regulated probe sets representing rat-human bridging genes. The overall responsiveness of these genes to coumarin was much higher in rats than humans, consistent with the reported species difference in coumarin toxicity. Next, we examined changes in expression of the rat-human bridging genes in cultured rat and human hepatocytes treated with another hepatotoxicant, diclofenac sodium, for which hepatotoxicity does not differ between the species. Both rat and human hepatocytes

responded to the marker genes to the same extent when the same concentrations of diclofenac sodium were exposed. We conclude that toxicogenomics-based approaches show promise for overcoming species-specific differences that create a bottleneck in analysis of the toxicity of potential therapeutic treatments.

Keywords: Toxicogenomics, Coumarins, Species Specificity

*¹ National Institute of Biomedical Innovation

*² Doshisha Women's College of Liberal Arts

*³ Food Safety Commission of Japan

Uehara, T.^{*1}, Hirode, M.^{*1}, Ono, A., Kiyosawa, N.^{*1}, Omura, K.^{*1}, Shimizu, T.^{*1}, Mizukawa, Y.^{*2}, Miyagishima, T.^{*1}, Nagao, T. and Urushidani, T.^{*2}
: A toxicogenomics approach for early assessment of potential non-genotoxic hepatocarcinogenicity of chemicals in rats

Toxicology, **250**, 15-26 (2008)

For assessing carcinogenicity in animals, it is difficult and costly, an alternative strategy has been desired. We explored the possibility of applying a toxicogenomics approach by using comprehensive gene expression data in rat liver treated with various compounds. As prototypic non-genotoxic hepatocarcinogens, thioacetamide (TAA) and methapyrilene (MP) were selected and 349 commonly changed genes were extracted by statistical analysis. Taking both compounds as positive with six compounds, acetaminophen, aspirin, phenylbutazone, rifampicin, alpha-naphthylisothiocyanate, and amiodarone as negative, prediction analysis of microarray (PAM) was performed. By training and 10-fold cross validation, a classifier containing 112 probe sets that gave an overall success rate of 95% was obtained. The validity of the present discriminator was checked for 30 chemicals. The PAM score showed characteristic time-dependent increases by treatment with several non-genotoxic hepatocarcinogens, including TAA, MP, coumarin, ethionine and WY-14643, while almost all of the non-carcinogenic samples were correctly predicted. Measurement of hepatic glutathione content suggested that MP and TAA cause glutathione depletion followed by a protective increase, but the protective response is exhausted during repeated administration. Therefore, the presently obtained PAM classifier could predict potential non-genotoxic hepatocarcinogenesis within 24 h after single dose and the inevitable pseudo-positives could be eliminated by checking data of repeated administrations up to 28

days. Tests for carcinogenicity using rats takes at least 2 years, while the present work suggests the possibility of lowering the time to 28 days with high precision, at least for a category of non-genotoxic hepatocarcinogens causing oxidative stress.

Keywords: Toxicogenomics, Hepatocarcinogenesis, Non-genotoxic

*1 National Institute of Biomedical Innovation

*2 Doshisha Women's College of Liberal Arts

大野泰雄：動物実験の第三者認証

ファルマシア Opinion 44, 847 (2008)

2005年に動物愛護管理法が改正され3Rの原則が動物実験に取り入れられた。翌年、各省庁より動物実験についての指針が通知され、それに伴い環境省から通知された動物愛護管理基本指針が出され、動物実験のあり方が明記され、倫理的に妥当な動物実験実施が今まで以上に求められるようになった。そこで、適切な動物実験であることを保証するために行われている動物実験の第三者評価制度について紹介した。

Keywords: 動物実験, 第三者認証

川西 徹：抗体医薬の現状と展望

日薬理誌, 131, 102-108 (2008)

抗体医薬は今現在最も活発に開発が行われている医薬品群の一つである。その背景としては、(1) 異種タンパク質としての抗原性の壁を乗り越えるキメラ抗体あるいはヒト化抗体、ヒト抗体製造技術の完成、(2) ゲノム創薬による医薬品開発の標的となる数多くの疾患関連遺伝子および疾患関連タンパク質の解明、の2点があげられる。現在上市されている抗体医薬のほとんどは構造的にはIgGサブクラスであり、薬効からは主に抗腫瘍薬と免疫調節薬に分類されるが、今後は機能的に必要なコンポーネントに小型化した抗体や、細胞表面の受容体等と結合し細胞内情報伝達を引き起こすアゴニスト抗体、あるいは分子標的薬のコンポーネントとしての利用等、抗体医薬の利用は拡大してゆくことが予想される。しかしながら、これら次世代抗体医薬の開発にあたっては、薬理作用の解析、あるいは安全性予測という面で種差の壁があり、化学合成医薬品で通常用いられる齧歯類動物を主体とした非臨床試験による評価には限界がある。したがって、ヒト初回投与前の安全性予測においては、適切な*in vitro*試験系の構築、適切な動物を用いた*in vivo*試験、さらにはトランスジェニック動物や相同タンパク質等を利用した試験等を組み合わせた試験による解析が必要であり、薬理学者の智恵と経験が必要とされる。

Keywords: antibody, evaluation, therapeutics

川西 徹：小児における抗サイトカイン薬の功罪

Progress in Medicine, 28, 1709-1713 (2008)

川崎病への抗サイトカイン薬の適用の安全性を考察するために、抗サイトカイン薬の小児への適用例をまとめ、考察した。抗サイトカイン薬は若年性特発性関節炎、あるいは全身型若年性特発性関節炎患者への適用がされているものの、2歳児未満の適用実績はほとんどない。川

崎病への有効性は期待されるものの、注意深い適用が望まれる。

Keywords: 川崎病, 小児, 抗体

伊豆津健一：添加剤を用いたタンパク質凍結乾燥医薬品の安定化と製剤設計

バイオインダストリー, 25, 46-52 (2008)

凍結乾燥は溶液での長期保存が困難な多くのタンパク質医薬品の広範な臨床使用を可能にする不可欠な技術となっている。タンパク質の高次構造を凍結乾燥過程のストレスから保護し長期安定性を確保するための添加剤選択の方法を解説するとともに、タンパク質の特性に対応した製剤設計や医薬品で安定性が重視される背景について解説した。

Keywords: protein formulation, freeze-drying, stabilization

伊豆津健一, 四方田千佳子, 川西徹, 角谷沙織*, 米持悦生*, 寺田勝英*: カルボン酸塩の凍結乾燥によるガラス固体化と水素結合の寄与

低温生物工学会誌, 54, 33-37 (2008)

多価カルボン酸とアミン類またはアルカリ金属イオンにより形成する塩が、官能基間の水素結合ネットワークを介して、医薬品製剤として実用的な物性を持つガラス固体を形成する事を明らかにした。塩によるガラス固体形成は、多様な構成要素の組合せや濃度比調整が可能であり、目的とする特性に応じた活用が期待される。

Keywords: freeze-drying, hydrogen-bond, salt, glass

* 東邦大学薬学部

伊豆津健一：凍結溶液の熱測定と凍結乾燥製剤の製剤設計

熱測定, 36, 112-120 (2009)

熱測定を用いた凍結溶液の物性評価と、凍結乾燥医薬品の製剤設計や工程制御への活用について紹介した。水溶液中の溶質は凍結により氷晶間に高度に濃縮され、一部は共晶を形成する。凍結溶液の熱測定で観察される最大濃縮相ガラス転移や共晶融解の温度 (T_g^* , T_{cu}) は、コラプスやメルトバック現象を回避して多孔質ケーキ構造の結晶または非晶質ガラス状態の乾燥固体を作製するための指標となる。複数の溶質を含む凍結溶液の物性は、個々の溶質が持つ特性とともに相互作用や混合性の影響を受けることから、物性評価に基づく適切な添加剤の選択は凍結乾燥製剤の品質向上や工程の効率化につながる。

Keywords: freeze-drying, eutectic crystallization, glass transition

檜山行雄：開発段階の品質管理と治験薬GMP

PHARM TECH JAPAN, 25(2), 233-237 (2009)

マイクロドーズ臨床試験を含む前期探索的臨床試験を推進していくことが我が国における医薬品開発をより効率良く進められるという認識から「我が国における探索的臨床試験等のあり方に関する研究」をテーマとする厚生労働科学研究班（主任研究者大野泰雄）が平成18年12月に立ち上げられた。この研究班の1年半の検討を基礎としてマイクロドーズ臨床試験指針が発行され、又、治験薬GMPが改訂された。すべての段階においてそれぞれの試験の成立・保証が品質管理の目的の一つである。前臨床段階においては動物による安全性試験を実施し、開発候補品が臨床試験に進めるかどうかの決定がゴールとなる。被験物質に求められることとしては、安全性試験の保証とトキシコキネティクス、不純物プロファイルなどを通じた臨床段階への一貫性がある。臨床第一相に用いる被験物質（これ以後治験薬）に対してはGMPのルールが適用され始め、被験者の保護が品質管理の重要な目的として加わる。ファーマコキネティクス、不純物プロファイルデータを基にした吸収性・安全性に関して、臨床第二相に用いられる想定製剤への一貫性が求められる。臨床第二相試験においては市販製剤を目指して、有効性および用量を決めるため、製剤処方をもとより製造法の骨格や分析法がほぼ確定する。従って、この段階以後に持ちられる治験薬から市販製剤には一貫性以上の同等性が求められる。臨床第三相試験においては市販製剤への同等性を求められるのは当然である以上に、製造法も市販製造を反映したものとなることが求められる。

Keywords: 治験薬GMP

檜山行雄：ICHガイドライン（Q8, Q9, Q10）の実践の展望について

薬剤学, 69(3), 210-216 (2009)

医薬品規制調和国際会議(ICH:International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human Use)により最近発効された製剤開発（Q8）、品質リスクマネジメント（Q9）、医薬品品質システム（Q10）の各ガイドラインの主論点を概説する。又、3つのガイドラインの実践を推進するICH IWG(Implementation Working Group)の活動を紹介する。IWGの課題に取り上げられているリアルタイムの品質管理を行うためには、製品の規格の項目に対して、どのような（中間製品の）品質特性が寄与しているかの理解と、それらを製造工程中においてリアルタイムに評価

できること、さらに、工程条件の調整により品質特性が管理できることが条件となる。リアルタイムの品質管理、つまり工程運転中に連続的に工程の進行を評価し続けることの重要な意義は、品質管理のレベル向上と製造の実績データを積み上げによる、将来の工程の変更・改善を容易にすることにあると考えられる。

Keywords: ICH

檜山行雄：ICH-Q8と承認申請の関係

大阪医薬品協会会報, 716号, 1-32 (2008)

2008年6月13日の平成20年度東西薬事法規（研究）委員会において行った講演要旨。

主要項目は品質分野の基本的なこと、薬事法の改正とICHの議論、承認書の機能、ICH-Q8ガイドラインの骨子、製品開発の成果としての製造管理・品質管理及び製造法の記載の意義である。

Keywords: ICHQ8, 承認申請

小出達夫：ICH Q8と品質保証の動き

Pharmastage, 7, 1-3 (2008)

ICHQ8ガイドラインは2005年10月に合意され、日本では翌2006年9月に製剤開発に関するガイドラインとして通知され、同年12月1日より適用となっている。またその補遺としてQ8Annex製剤開発付属書（案）が現在検討中（step3）である。既にQ8ガイドラインは適用されてはいるが、しかしQ8ガイドライン本体においては個別の具体例がほとんど取り上げられておらず、またQ8Annexはこの5月にパブリックコメントの募集が終わったばかりでまだ合意に至っていないため、各国の状況に合わせたガイドラインの実際の運用についても議論の最中であり、日本国内でもまだ様々な議論が続いている状況である。そこで本稿では、筆者が参加している国内のICHQ8ガイドラインを踏まえた議論を行っている2つの研究グループの活動内容について紹介した。

Keywords: ICH Q8, Quality by Design, Design space

小出達夫：顕微イメージング技術を用いた製剤開発および製造工程管理手法

ファルマシア, 45(4), 343-347 (2009)

日米EU医薬品規制調和国際会議（ICH）の医薬品品質に関するガイドラインのひとつ、製剤開発に関するガイドライン（Q8）では、より体系的なアプローチ、いわゆるQuality by design（QbD）を製剤開発時に採用することを推奨している。QbDアプローチでは製造工程を理解することは必須であり、そのため品質を左右する重要因子を適切に把握できる優れた分析評価技術が求められる。本稿ではその分析評価技術の中でも、最近特に

注目されている分光顕微イメージング技術の製造工程管理への応用について紹介した。

Keywords: Chemical imaging, NIR, Quality by design

川崎ナナ, 橋井則貴, 山口照英: 糖鎖異常の網羅的解析
蛋白質核酸酵素 糖鎖情報の独自性と普遍性, **53**,
1690-1696 (2008)

LC/MSを用いた糖鎖プロファイリング, 及び安定同位体標識法とLC/MSを組み合わせた定量的糖鎖プロファイリングについて概説した。

Keywords: LC/MS, 糖鎖プロファイリング, 安定同位体標識

川崎ナナ: ヘパリン不純物問題とその対応
ファルマシア, **44**, 1167-1171 (2008)

2007年から2008年にかけて頻発したヘパリン有害事象の概略, 原因物質の特性, 並びにヘパリンナトリウムの安全性確保と安定供給を目指した日局一部改正について概説した。

Keywords: ヘパリンナトリウム, 過硫酸化コンドロイチン硫酸, 日本薬局方

山口照英, 石井明子: 早期臨床開発段階でのバイオ医薬品の品質・安全性確保

臨床評価, **36**, 611-627 (2009)

臨床開発初期におけるバイオ医薬品の品質・安全性確保に関する議論の端緒として, バイオ医薬品の開発, 製法と品質特性, 安全性について概説した上で, 製法と品質特性の観点から臨床開発初期 (主としてPhase1) におけるバイオ医薬品の品質・安全性評価に関する試案を考察した。また, バイオ医薬品の早期探索的臨床試験についても考察を加えた。

Keywords: バイオ医薬品, 品質・安全性確保, 開発初期

Kawasaki, N., Itoh, S., Hashii, N., Takakura, D., Qin, Y., Huang, X., Yamaguchi, T: **The significance of glycosylation analysis in development of biopharmaceuticals**

Biol. Pharm. Bull., **32**, 796-800 (2009)

Many glycoproteins and glycosaminoglycans are approved for clinical use. Carbohydrate moieties in biopharmaceuticals affect not only their physicochemical properties and thermal stability, but also their reactivity with their receptors and circulating half-life. Modification of glycans is one target of drug design for enhancement of efficacy. Meanwhile, there have been reports of serious adverse events caused by some carbohydrates. It is crucial to maintain the constancy

of carbohydrate moieties for the efficient and safe use of glycosylated biopharmaceuticals. On the other hand, for scientific, safety-related, and economic reasons, changes in the manufacturing process are frequently made either during the development or after the approval of new biopharmaceuticals. Furthermore, the development of biosimilar glycoprotein products has been attempted by different manufacturers. Changes in pharmaceutical manufacturing processes possibly cause alteration of glycosylation and raise concerns about alteration of their quality, safety, and efficacy. In this review we provide some current topics of glycosylated biopharmaceuticals from the viewpoints of efficacy, safety, and the manufacturing process and discuss the significance of glycosylation analysis for development of biopharmaceuticals.

Keywords: glycoprotein, glycosaminoglycans, biopharmaceutical

Kawasaki, N., Itoh, S., Yamaguchi, T: **LC/MSⁿ for glycoprotein analysis: N-linked glycosylation analysis and peptide sequencing of glycopeptides.**

Methods Mol. Biol., **534**, 239-248 (2009)

Liquid chromatography/multiple-stage mass spectrometry (LC/MSⁿ) is an effective means for the site-specific glycosylation analysis of a limited quantity of glycoproteins, such as gel-separated proteins. Generally, a tryptic digest of the glycoprotein is separated by reversed-phase LC, and peptide sequencing and glycosylation analysis are achieved with on-line MSⁿ. In this chapter, a protocol for the LC/MS/MS/MS of a proteolytic digest of a gel-separated glycoprotein is described.

Keywords: Glycosylation analysis, Peptide sequencing, LC/MSⁿ

新見伸吾, 原島瑞, 日向昌司, 山口照英, 早川堯夫: 癌に対する抗血管新生療法の現状と展望 (その2)

医薬品研究, **39**, 359-387 (2008)

癌に対する抗血管新生療法として, RNA interferenceおよび遺伝子治療を用いた治療法の現状および今後の課題について概説した。

Keywords: 抗血管新生療法, 癌, RNA interference, 遺伝子治療

日本大学生物資源科学部

合田幸広, 鎌倉浩之: 健康食品の有害事象の事例と解説 性機能改善薬との関連事例

Functional Food, **2**, 198-202 (2008)

いわゆる健康食品から検出される性機能改善薬とその類縁体について、薬事法上の取扱、検出時期、構造、検出される含量等について概説した。さらに、ホスホジエステラーゼ (PDE) 阻害剤である点を念頭に、これらの化合物が健康食品に含まれることによって予想される有害事象について解説を行った。最も危険な有害事象は、PDE6の非選択性阻害であり、最悪の場合、使用者が失明する可能性がある。従って、このような健康食品については、積極的な監視、取締りが必要と考えられる。

Keywords: 性機能改善薬, 性機能改善薬構造類似体, 健康被害の危険性

Goda, Y.: **The safety of health foods and importance of their origin**

Yakugaku Zasshi, **128**(6), 837-838 (2008)

The safety guideline for voluntary inspections on the ingredients used for capsulated or pellet food, announced by the director of the department of food safety of the Ministry of Health, Labor and Welfare on February 1, 2008 states that "how to guarantee the origin" is the top priority to ensure safety. However, in the course of our continuous investigation of the origin of natural products, the ingredients of some health food products such as chondroitin sulfate, white kwao keur (*Pueraria candollei* var. *mirifica*) and black cohosh did not originate from the labeled material. The usage of the correct origin is the first step for the quality assurance of "health food". Therefore, we believe that regulatory requirements for accurately indicating the origin of "health foods" and effective enforcement of these requirements are needed.

Keywords: health food product, food safety, correct origin

浅間宏志¹, 川原信夫, 飯田 修², 木内文之², 御影雅幸³: **重要薬用植物に関する誌上討論 その1 マオウ属植物に関する話題**

薬用植物研究, **30**(2), 58-63 (2008)

重要生薬であるマオウの基原植物に関して、日本薬局方、中華人民共和国薬典、大韓民国薬局方及びベトナム薬局方における記載状況を比較し、解説を行った。

Keywords: The Japanese Pharmacopoeia, Ephedra herb

¹ 日本漢方生薬製剤協会

² 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

³ 金沢大学大学院自然科学研究科

若菜大悟: **NMRによるサイドバンドを利用した簡便な定量法**

ファルマシア, **45**(6), 566-567 (2009)

NMRを用いた定量法、特にサテライトピークを利用した手法について書かれた論文を中心に、その原理及び方法を紹介した。

Keywords: quantitative-NMR, satellite peak, diastereoisomer

袴塚高志: **食品の安全安心と分析化学「健康食品の安全性確保」**

ぶんせき, **3**, 149-151 (2009)

食品の機能性に関する研究、健康食品に係わる制度、いわゆる健康食品による健康被害を中心として、健康食品を取り巻く環境とその安全性確保を目指した取り組みについて解説した。

Keywords: health food, safety, quality control

袴塚高志: **目で見る漢方薬・生薬「葛根」**

医薬ジャーナル, **3**, 5-11 (2009)

葛根は、クズの根から周皮を除いたものを基原とし、大量のゲンブレンと共に特徴的な成分としてイソフラボン類を含む。葛根は、主にかぜ薬や解熱鎮痛消炎薬とみなされる漢方処方に配剤され、大量あるいは恒常的に摂取しないかぎり、葛根の安全性は長年の臨床経験により保証されている。

Keywords: *Pueraria lobata*, Leguminosae, isoflavone

Nagashima, H.^{*}, Nakagawa, H.^{*}, Kushiro, M.^{*}, Iwashita, K.: **The in vitro approach to the cytotoxicity of a trichothecene mycotoxin nivalenol**

JARQ, **43**(1), 7-11 (2009)

Trichothecene mycotoxins are toxic to leukocytes, and one of the leading symptoms of trichothecene toxicosis is leukopenia. In this study, therefore, to elucidate the underlying mechanism of toxicity, we treated promyelocyte (one of the leukocytes) -derived cell line HL60 with a trichothecene mycotoxin nivalenol for 24 h and investigated the toxin's effects. After treatment with 3 or 10 µg/mL nivalenol, morphologic damage was pronounced. The effect of nivalenol on cell proliferation (5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation) was examined, and the mean 50% inhibitory concentration was 0.16 µg/mL. At 3 and 10 µg/mL, internucleosomal DNA fragmentation, one of the hallmarks of apoptosis, was apparent. Concentrations of nivalenol-caused morphologic damage are in accordance with DNA fragmentation, indicating that nivalenol-caused morphologic change is due to apoptosis. The media of nivalenol-treated cells contained substantial amounts of interleukin (IL)-8, suggesting that IL-8 contributes to the nivalenol-induced

phenomena. Conversely, nivalenol decreased monocyte chemotactic protein-1 secretion. We performed BrdU incorporation to assess the effect of 1,2-bis(2-aminophenoxy) ethane-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid tetraacetoxymethyl ester (BAPTA-AM), which chelates intracellular calcium ion. BrdU incorporation after concomitant treatment with nivalenol and BAPTA-AM was higher than that after treatment with nivalenol alone. Likewise BAPTA-AM considerably attenuated nivalenol-induced IL-8 secretion. Taking both results together, it appears that nivalenol-caused cytotoxicity depends on intracellular calcium ion.

Keywords: cell proliferation, HL-60 cell, interleukin-8

* National Food Research Institute

花尻 (木倉) 瑠理 : 毛髪を中心とした代替生体試料中薬物分析

ぶんせき, 2, 76-81 (2009)

近年, 分析技術の発展とともに, ピコグラムレベルもしくはそれ以下の薬物を分析することが可能となった。その結果, 血液や尿等, 通常使用される生体試料のみならず, 毛髪, 口腔内液 (唾液), 汗等, その他の様々な生体試料 (代替生体試料) に含まれる極微量の薬物を検出することが可能となった。代替生体試料中の薬物分析においては, いかにかに選択性・感度・精度の高い分析を行うかという分析化学的な課題だけでなく, 生体内に取り込まれた薬物が, どのような試料 (組織・体液等) に, どのような要因が関与して, どの程度移行して検出されるのかという薬物学的な背景も重要となってくる。さらに, 裁判化学の分野においては, いかにかに外部汚染の影響を除去し, 試料採取後に何らかの化合物が故意に混ぜられる可能性を減らし, スクリーニング分析における擬陽性を少なくするか等の取り組みも重要となってくる。本総説では, 毛髪を中心とした, 口腔内液 (唾液), 汗, 胎便等の代替生体試料中の薬物分析について, 乱用薬物に焦点をあて, 上述した内容の最近の流れを紹介した。

Keywords: hair analysis, alternative biological samples, drugs of abuse

花尻 (木倉) 瑠理 : 日本における違法ドラッグ対策—指定薬物制度について—

ファルマシア, 44(12), 1177-1182 (2008)

蔓延する違法ドラッグに対応するため, 平成18年に薬事法改正が行われ, 平成19年4月より新たに指定薬物制度が施行された。本稿では, 指定薬物制度制定の背景及び現在までに指定薬物に指定された違法ドラッグの種類について簡単に解説した。また, 規制が厳しくなった化

学合成化合物の代替品として流通が懸念されている植物由来の違法ドラッグ製品についても取り上げ, 解説を加えた。

Keywords: psychotropic substances, Designated Substances, Shitei-Yakubutsu

Uchiyama, N.: Antichagasic activities of natural products against *Trypanosoma cruzi*

J. Health Sci., 55(1), 31-39 (2009)

Trypanosoma cruzi is a parasitic protozoan transmitted to mammalian hosts by blood-sucking triatomine bugs. Infections by *T. cruzi*, known as Chagas' disease, pose a major public health problem in endemic countries in Central and South America. New chemotherapeutic agents are desired because of the lack of effective vaccines, undesirable side effects of anti-chagasic drugs in use such as nifurtimox and benznidazole, and the emergence of parasite resistance to these drugs. In the past two decades, novel advances and an improved understanding of the biology and biochemistry of *T. cruzi* have led to the identification of various targets for chemotherapy to treat Chagas' disease. In addition, many efforts have been undertaken to develop antichagasic agents, such as designed and synthesized compounds, natural products, and their derivatives, against a number of targets. Here, I mainly review recent studies on the antichagasic activities of natural products.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, antichagasic activity, natural product

菊地博之 : タラ肝油からヒ素を含む長鎖脂肪酸。生合成によるものか?

ファルマシア, 44(10), 991-992 (2008)

タラ肝油は, DHAやEPAなどの不飽和脂肪酸やビタミン類を含有することから健康食品として流通している。これまでにタラ肝油には, かなりの脂溶性ヒ素化合物が含まれていることは知られていたが, これらの化学構造は明らかにされていなかった。本稿では, タラ肝油から興味深いヒ素元素を含む長鎖脂肪酸が単離, 構造解析され, それらの生合成反応についての考察が報告されたので紹介した。

Keywords: arsenic compound, long-chain fatty acid

内田 恵理子, 川崎 ナナ, 宮田 直樹* : 薬の名前システムを知れば薬がわかる 第24回

Pharm Tech Japan, 24, 1605-1611 (2008)

遺伝子治療薬のステム「-gene」を用いた2語式命名法, アンチセンスオリゴヌクレオチドのステム「-rsen」, 及

びワクチンの名称について、該当するINN及びJAN収載品目を例に概説した。

Keywords: stem, INN, JAN

* 名古屋市立大学大学院

中岡竜介, 土屋利江: 医療機器とその材料の生物学的安全性と生体適合性

高分子, 58, 401-404 (2009)

健康維持のために使用される医療機器には高分子材料も汎用されているが、人体に適用するためその材料の安全性を事前に担保する必要がある。本稿では、医療機器用材料の生物学的安全性評価について概説し、その安全性及び生体適合性に関連した研究を紹介する。また、医療機器の生物学的安全性評価に関する国内ガイドラインについて簡単に述べる。

Keywords: 医療機器, 生物学的安全性, 生体適合性

植松美幸: 体内構造を透かし見て目標血管を特定する～大血管ナビゲーションシステム～

未来医学, 24, 76-79 (2009)

手術ナビゲーションシステムは、患者の身体を3次元的に表現する画像情報を地図として用い、治療目的である血管や腫瘍の位置を医師が把握することを支援するための機器をいう。本稿では、手術ナビゲーションシステムの大血管外科領域への応用の取り組みについて概説した。

Keywords: surgical navigation system, aortic vascular surgery, three-dimensional imaging

久保田領志: 水道原水中医薬品の浄水工程における処理効果の評価

ファルマシア, 44, 708-709 (2008)

近年、水環境中に広範囲に残留していることが報告されている医薬品について、酸化処理（オゾン処理、塩素処理）、粒状活性炭フィルターろ過を含む複数の処理工程における医薬品の処理効果の評価について2編の論文を中心に紹介した。

Keywords: pharmaceuticals and personal care products, water treatment process, removal efficiency

田原麻衣子: 有機リン系化合物によるテロ被害への早期対応: その分析法は?

ファルマシア, 44, 1102-1103 (2008)

有機リン系化合物によるテロ行為への対応策として、前処理法、内部標準物質および検出法の異なった組み合わせにより検討された尿中代謝物の分析についての論文

を紹介した。

Keywords: organophosphorus compound, sorbent-immobilized liquid-liquid extraction, isotopically labeled standard

島崎大^{*1}, 久保田領志, 鈴木俊也^{*2}, 西村哲治, 国包章一^{*3}: 浄水場における医薬品の存在状況と浄水処理による除去性

用水と廃水, 50, 581-586 (2008)

排水等を通じて水道水源に流出し、しかも水環境中において残留する可能性のある医薬品等について、水道水に及ぼす影響の面から調査研究を行った。国内の浄水場の原水および浄水、また高度浄水処理の工程水を対象とした医薬品の実態調査により、ほとんどの医薬品は浄水処理の過程で除去されたが、一部は浄水に残留することが明らかとなり、更なる継続調査の必要性が示された。凝集沈殿、塩素処理および粉末活性炭処理による医薬品の除去性について室内実験を行ったところ、凝集沈殿では疎水性の高い医薬品でも全く除去されなかった。塩素処理では一部の医薬品は速やかに塩素と反応したが、24時間後も80%以上残存するものも存在した。粉末活性炭での除去効率は、水道原水中に存在する高濃度の溶存有機物等の影響を大いに受けることが示唆された。

Keywords: 医薬品, 浄水処理, 塩素

^{*1} 国立保健医療科学院

^{*2} 東京都健康安全研究センター

^{*3} 東京大学

田原麻衣子, 久保田領志, 中澤裕之^{*}, 徳永裕司, 西村哲治: 塩素反応生成物を含めた有機リン系農薬のための水道水の安全性評価,

用水と廃水, 50, 483-487 (2008)

24種の有機リン系農薬をとりあげ、浄水工程で添加される塩素により酸化反応をうけて急性毒性の発現原因物質であるオキソン体の一部の有機リン系農薬が変化する結果、また原体およびオキソン体の標的酵素のコリンエステラーゼに対するそれぞれの作用強度について検討した結果を解説した。さらに、複数のオキソン体は相加的な作用を示してコリンエステラーゼ活性を阻害することを示し、作用点が一致する物質の複合影響作用に対して考慮をすることの重要性と、今後の課題について解説した。さらに、水質管理における有機リン系農薬の浄水工程での挙動把握の重要性および有機リン系農薬に関する有害影響評価の優先順位を示し、総括的評価の考え方について解説した。また、コリンエステラーゼ活性阻害物質による汚染に対する緊急時対応の方策に関しての総括的評価の有効性を説明した。

Keywords: 有機リン系農薬, コリンエステラーゼ活性, 総括評価手法

* 星薬科大学

島崎大, 西村哲治, 国包章一: **水道水源における医薬品成分による汚染とその制御**

ファルマシア, **44**, 773-775 (2008)

環境省地球環境保全研究費(公害防止等に係るもの)による「水道水源等における生理活性物質の測定と制御に関する研究」の課題において, 排水等を通じて水道水源に流出し, しかも水環境中において残留する可能性のある医薬品等について, 水道水に及ぼす影響の面から調査研究を実施した成果を概説した。環境試料を対象とした医薬品成分の機器分析法の検討を行い, 99物質を定量下限値0.2~60ng/Lの範囲で分析可能な条件を確立した。確立した方法を適用して, 都市河川流域の浄水場および下水処理場における医薬品成分の存在実態調査を行った。また, 浄水場における医薬品成分の除去性に関して, ほとんどの医薬品は浄水処理の過程で除去されたが, 一部は浄水に残留することが明らかとなった。

Keywords: 医薬品, 浄水処理, 塩素

*¹ 国立保健医療科学院

*² 東京都健康安全研究センター

*³ 東京大学

西村哲治, 久保田領志: **環境中の医薬品由来の化学物質によるヒトに対するリスク評価**

環境技術, **37**, 865-870 (2008)

環境中から検出される可能性のある医薬品由来の化学物質について環境水中の実態濃度を調査し, その値を基にヒトに対するリスク評価に関する考察を行った結果を示した。実際に検出された濃度を用いて, 飲料水を想定して, 推定一日摂取最大量, 推定一年摂取最大量, および生涯年数として70年間を仮定した場合の推定70年間摂取最大量を求め, 医薬品原体の一日投与有効作用量に対する割合を求めた。一日投与有効作用最小量に対して推定70年間摂取最大量の割合は, 9種の医薬品成分に対する検討の結果, 最大32.4%から最小0.23%であった。また, 最大無毒性濃度もしくは最小毒性濃度に対する推定一日摂取量, 予測環境濃度もしくは実態調査結果の予測無影響濃度に対する割合についても考察した結果を示した。

Keywords: 医薬品, リスク評価, 飲料水

西村哲治: **水道法水質基準の改正について—塩素酸—**
食品衛生誌, **49**, 319-320 (2008)

平成19年度に改正された水道水質基準項目の塩素酸について, 改正の経緯, 基準値に係る諸外国の水質基準値またはガイドライン値, 水道水からの検出原因と対策に関して解説した。

Keywords: 水道法, 水道水質基準, 塩素酸

Nagaoka, M.H., Maitani, T.: **Speciation of aluminium in human serum investigated by HPLC/high-resolution ICP-MS—Effects of sialic acid residues of the carbohydrate chain on the binding affinity of aluminium for transferrin—**

Journal of Health Science, **55**, 161-168 (2009)

Aluminium (Al) in the blood is bound to transferrin (Tf), a glycoprotein of about 80 kDa that is characterized by its need for a synergistic anion. The binding affinity of both Al and iron (Fe) for Tf is surveyed in the context of our recent studies by on-line high-performance liquid chromatography/high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC/HR-ICP-MS). First, Al in human serum without any in vitro Al-spikes was present in a form bound to the N-lobe site of human serum Tf (hTf). Next, the effects of sialic acid in the carbohydrate chain of hTf on the binding affinity of Al (or Fe) for hTf were studied by using asialo-hTf obtained by treating hTf with sialidase. The binding affinity of Fe for asialo-hTf and native-hTf was similar, but the binding affinity of Al for asialo-hTf was greater than that for native-hTf. These findings are discussed in relation to diseases in which the serum concentrations of carbohydrate-deficient Tf and oxalate are increased.

Keywords: speciation, aluminium, transferrin

堤 智昭: **食品中のダイオキシン類分析**

ぶんせき, **411**, 136-139 (2009)

最新の食品中のダイオキシン類分析について紹介した。高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計による分析の他, ヨーロッパを中心に近年, 導入されているレポータージーンアッセイについても概要を紹介した。

Keywords: dioxins, GC/MS, reporter gene assay

塚越芳樹*, 渡邊敬浩: **食品のサンプリングを取り巻く状況**

食包研会報, **119**, 1-11 (2008)

食品の安全性や品質を調査あるいは検査する目的において, 対象となるロット等からサンプルを抜き取る。この行為をサンプリングと呼び, 抜き取り個数を統計学的に決定するためのサンプリング計画と, 抜き取り方法や分析に供する試料調製法を規定したサンプリング手順と

に分けられる。本総説では、国内及び国際的に運用されているサンプリング計画並びに手順について解説する。

Keywords: sampling, inspection

* 食品総合研究所

松田りえ子, 渡邊敬浩: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて

HPC News, 40, 1-6 (2008)

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」が、平成19年11月15日付けで医薬食品局食品安全部長通知として発出された。本ガイドラインでは、分析値の信頼性を保証することを目的に、使用する分析法が妥当であることを科学的な証拠に基づき確認する事を要求している。本稿では、その理念やガイドラインに設定された性能基準について解説した。

Keywords: quality assurance, guidelines

渡邊敬浩: FAO/WHO 合同食品企画計画 第29回分析・サンプリング法部会

食品衛生研究, 58, 41-48 (2008)

2008年3月10日から14日にかけてブダペスト(ハンガリー)において開催された、コーデックス・分析・サンプリング法部会(CCMAS)の第29回会合の内容について概説した。

Keywords: CODEX, CCMAS, sampling, analytical methods

河村葉子: おもちゃの塗膜および金属製アクセサリ玩具の試験法

食品衛生研究, 58, 13-17 (2008)

厚生労働省告示第153号(平成20年3月31日付)により、「食品、添加物等の規格基準第4おもちゃ」に塗膜と金属製アクセサリ玩具の鉛等に関する規格が設定された。これらの規格は国際標準規格ISO 8124-3に準拠したものであり、従来のおもちゃの試験法とは大きく異なる。これらの試験法の詳細と、試験を行う上での留意点を示した。

Keywords: toy painting, metallic accessory toy, lead

佐藤恭子: 食品添加物の分析法

ぶんせき, 8, 401-405 (2008)

食品中の食品添加物分析法は、食品添加物の基準への適合性の確認や一日摂取量調査、あるいは食品への使用が禁止されている物質(不許可添加物)の取り締まりなどのために開発されている。2005年から2008年4月までに発表された論文を中心に、食品中の食品添加物および不許可添加物の分析法の進歩を総説した。

Keywords: food additive, LC/MS, GC/MS

山本茂貴: 食品の衛生管理

Medical Technology, 9月号 36(9), 920-923 (2008)

HACCP手法を用いた食品の衛生管理について解説した。

Keywords: Food Safety, HACCP

山本茂貴, 小西良子, 五十君静信, 鎌田洋一, 村田英雄^{*1}, 長嶋等^{*2}, 鈴木敏之^{*3}, 加地祥文^{*4}: UJNR有毒微生物専門部会 第43回日米合同部会

食品衛生研究, 59(5), 7-25 (2009)

日米の政府機関の研究者間で病原微生物やカビ毒, 魚貝毒に関する情報を交換した。

Keywords: Food microbiology, Marine toxin, Mycotoxin

*1 動物衛生研究所

*2 食品総合研究所

*3 水産総合研究所

*4 厚生労働省

Igimi, S., Okada, Y., Ishiwa, A.^{*1}, Yamasaki, M.^{*2}, Morisaki, N.^{*3}, Kubo, Y.^{*4}, Asakura, H. and Yamamoto, S.: Antimicrobial resistance of *Campylobacter*: Prevalence and trends in Japan

Food Addit. Contam., 25(9), 1080-1083 (2008)

Campylobacter is one of the most frequently diagnosed bacterial causes of human gastroenteritis in Japan and throughout the world. Resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from humans has emerged in many countries during the past 15 years because fluoroquinolones are the drug of choice for the treatment of suspected bacterial gastroenteritis. Food contaminated with *Campylobacter* is the usual source of human infection; therefore, the presence of antimicrobial resistance strains in the food chain has raised concerns that the treatment of human infections will be compromised. The use of antimicrobial agents for food animals and in veterinary medicine is suspected to be correlated with an increase in quinolone-resistant strains of *Campylobacter* in food animals, especially in poultry products. In contrast to macrolide resistance in *C. jejuni* and *C. coli* isolated from humans showing a stable low rate, resistant *Campylobacter* spp. to quinolones has emerged in Japan. We summarize food-borne *Campylobacter* infection in Japan, and the prevalence and trends of antimicrobial resistance of *Campylobacter* from our data and other Japanese papers which reported the antimicrobial resistance of *Campylobacter*.

Keywords : *Campylobacter*, antimicrobial resistance, food chain

- ¹ National Institute of Infectious Diseases
² Microbial Chemistry Research Foundation
³ Japan Frozen Foods Inspection Corporation
⁴ Japan Food Hygiene Association

五十君静信：微生物試験の標準化・日本の状況と今後
 日本食品微生物学会誌, **25**(1), 18-22 (2008)

食品における微生物制御に関する議論は、国際的にも国内においても熱心に進められている。海外では、FAO/WHOやCODEX委員会が連携し、食品の病原微生物のリスク評価が進んでおり、科学的根拠に基づいた規格基準作りが行われている。国内においても内閣府食品安全委員会において、食品における微生物の危害が科学的に分析され、病原微生物に対するリスク評価が行われている。科学的な根拠を基に、微生物の規制や制御を行ってゆく方向性は定まってきた。リスク評価の結果を受けて食品における微生物のリスクマネジメントを行うためには、科学的根拠に基づいた微生物試験を行わなくてはならない。一方、微生物の試験では遺伝子を対象とした試験や免疫学的手法による迅速試験法が開発され、新しい技術の開発もめざましい。このような状況を受けて、現在、食品における微生物試験すなわち、食中毒起因細菌や汚染指標菌の食品における試験法に関する関心は高まっている。本稿では、これまでの国内の食品における微生物試験法の現状を解析し、今後の微生物試験について考えてみたい。

Keywords: Analytical Methods, standard, bacteria

影山亜紀子, 五十君静信：「*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 第1版」に記載された分類とその後の分類の異同—グラム陽性菌

腸内細菌学会誌, **22**, 233-240 (2008)

我々が今日用いている生物の命名法は1753年のCarlus Linnaeusの著書“Species Plantarum”, 第一版 (1753) のなかで、2名法を用いて植物種の命名を行ったのに遡る。このLinneの考案した2名法が現行の生物命名法の基礎となっている。細菌においては国際細菌命名規約 (International Code of Nomenclature of Bacteria, ICNB) (3, 8)に基づいて細菌の命名提案がなされている。本規約は1953年の第6回国際微生物学会議で植物規約から独立することを決定し、1958年に国際細菌・ウイルス命名規約として承認された。近年、腸内棲息菌についてこれらに従った基準で再分類が進められている。そこで本稿では*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*第1版以降、

嫌気性のグラム陽性菌がどのように再分類されてきたかについて述べる。

Keywords: *Bergey's Manual*, taxonomy, anaerobic bacteria

五十君静信, 岡田由美子：食品を介したリステリア症に関する現状と考察

病原微生物検出情報, **29**, 222-223 (2008)

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し、致命率が20～30%と高い。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。ヒトにおけるリステリア感染は本菌の汚染食品摂取が主要な経路と考えられている。本稿では食品を介したリステリア症に関する現状についてまとめ、その制御について考察する

Keywords: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, epidemiology

五十君静信, 朝倉宏：CODEXで、乳児用調製粉乳の微生物規格に加えられたエンテロバクター・サカザキ病原微生物検出情報, **29**, 223-224 (2008)

2004年2月と2006年5月に、スイスのジュネーブのWHO本部において“乳児用調製粉乳中の*Enterobacter sakazakii*に関するFAO/WHO合同専門家会議”が開催された。これらの会議において、*E. sakazakii*の性質、疫学、乳児用調製粉乳からの感染リスクに関する科学的な考察がされ、本菌の乳児用調製粉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。健康人では本菌に曝されても不顕性で経過することがほとんどであるが、乳幼児、特に未熟児や免疫不全児、低体重出生児を中心として、敗血症や壊死性腸炎を発症することがあり、重篤な場合には髄膜炎を併発する。本症の感染経路については乳児用調製粉乳を介した感染例が多数報告されており、最も有力な感染経路として認識された。そこで、本菌のこれまでの情報をまとめ、整理する。

Keywords: *Enterobacter sakazakii*, PIF, contamination

五十君静信：乳製品の微生物危害とその制御
 乳酸菌ニュース, **461**, 5-10 (2008)

現在、CODEXにおいて、リスク評価の結果を基に、非加熱喫食食品におけるリステリア・モノサイトゲネス (リステリア) と、乳児用調製粉乳の微生物規格の議論が進められている。このうち、リステリアは、これまでの集団事例の解析から、特に乳加工品であるナチュラルチーズとの関わりが重要であるとされている。乳幼児用調製粉乳の微生物規格では、サルモネラとエンテロバク

ター・サカザキが対象となっている。CODEXで食品の微生物規格がリスク評価の結果を受けて科学的に設定されるようになり、乳製品に関わる病原微生物について今まさに国際的な議論が進められていることになる。

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter sakazakii*, regulation

五十君静信：食品からの微生物検査標準法の検討～これまでの経緯とこれからの展望～

月刊フードケミカル, 24, 51-54 (2008)

FAO/WHOやCODEX委員会が連携し、食品における病原微生物のリスク評価が進んでおり、科学的根拠に基づいた国際的な食品の規格基準作りが勧められている。科学的な根拠を基に、微生物の規制や制御を行うという方向性は定まってきた。リスク評価の結果を受けて食品における微生物のリスクマネジメントを行うには、科学的根拠に基づいた信頼性の高い微生物試験を行う必要がある。

Keywords: Analytical Methods, standard, bacteria

河野潤一*, 五十君静信, 清水晃*: 黄色ブドウ球菌の標準検査法の作成

月刊フードケミカル, 24, 62-68 (2008)

黄色ブドウ球菌の標準法作成がどのように行われているか解説した。その検討過程での具体的な問題点や実際の検討データについてまとめた。

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Analytical Methods, standard

* 神戸大学

五十君静信：食品の微生物試験法を国際規格にどの様に対応していくか

月刊HACCP, 14, 20-29 (2008)

食品における病原微生物のリスク評価が進んでおり、FAO/WHOやCODEX委員会が連携し科学的根拠に基づいた国際的な食品の規格基準作りが勧められている。リスク評価の結果を受けて食品における微生物のリスクマネジメントを行うには、科学的根拠に基づいた信頼性の高い微生物試験を行う必要がある。今後食品の微生物試験法をどのように国際対応してゆくべきかについて考察した。

Keywords: Analytical Methods, standard, bacteria

五十君静信：わが国の食品微生物試験法と国際規格対応への動向

ジャパン・フードサイエンス, 48, 22-26 (2009)

食品における病原微生物のリスク評価が進んでおり、科学的根拠に基づいた国際的な食品の規格基準作りが勧められている。リスク評価の結果を受けて食品における微生物のリスクマネジメントを行うには、科学的根拠に基づいた信頼性の高い微生物試験を行う必要がある。これを受け、国内の食品の微生物試験法をどのように国際対応してゆくべきかについてまとめた。

Keywords: Analytical Methods, standard, bacteria

Suzuki, H. and Yamamoto, S.: *Campylobacter Contamination in Retail Poultry Meats and By-Products in Japan: A Literature Survey*

Food Control, 20, 531-537 (2009)

Campylobacter species are common bacterial pathogens that cause gastroenteritis in humans worldwide. In Japan, campylobacteriosis is the leading food-borne bacterial illness, and the consumption of poultry meats and/or by-products is suspected to be the major cause of this illness. In this review, we summarized the papers describing *Campylobacter* contamination of retail poultry meats and by-products in Japan, most of which were written in Japanese, for estimating the nationwide situation of Japan. On the average, the prevalence of *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products was approximately 60%; this contamination level is comparable to those observed in North America and Europe. *Campylobacter jejuni* was the dominant species isolated from retail poultry, and Penner serotype 2 and 4-complex were the predominant serotypes of *C. jejuni*. A large section of poultry was contaminated with *Campylobacter* spp. at levels that were adequate to induce gastroenteritis if the meat consumed was raw or undercooked. Moreover, quinolone resistance was frequently found in poultry isolates. This review provides detailed and referable data on *Campylobacter* contamination of retail poultry meats and by-products in Japan, especially for researchers of other countries.

Keywords: *Campylobacter*, poultry meat and by-products, Japan

Suzuki, H. and Yamamoto, S.: *Campylobacter Contamination in Retail Poultry Meats and By-Products in the World: A Literature Survey*

J. Vet. Med. Sci., 71, 255-261 (2009)

Campylobacter species are common bacterial pathogens associated with human gastroenteritis worldwide. In North America, Europe and Japan, campylobacteriosis is one of the leading food-borne bacterial illnesses and the consump-

tion of poultry meats and/or by-products is suspected a major cause of the illness. In this survey, we summarized the research papers describing *Campylobacter* contamination of retail poultry meats and by-products in various countries of the world. In most of the countries, a majority of retail poultry meats and by-products were contaminated with *Campylobacter* spp. *C. jejuni* was usually the dominant *Campylobacter* species isolated from retail poultry and *C. coli* was less frequently isolated, although the ratio of *C. coli* to *C. jejuni* was considerably different among the countries. However, in Thailand and South Africa, *C. coli* was the dominant *Campylobacter* species isolated from retail poultry. A large portion of retail poultry was contaminated with *Campylobacter* spp. in the world; therefore, further trials are required for finding proper countermeasures and attention should be paid for the sanitary handling of poultry products.

Keywords: *Campylobacter*, poultry meat and by-products, world

春日文子：疫学手法を用いた食の安全対策（原因物質の追求）

臨床と微生物, 35(増刊号), 555-560 (2008)

食中毒における疫学調査の目的と手法, リスク管理やリスク評価における疫学の重要性について概説した。

Keywords: epidemiological methods, risk management, risk assessment

春日文子：微生物規格基準設定の考え方の国際動向

獣医公衆衛生研究, 11(2), 5-8 (2009)

食品の微生物規格基準設定に関する国際的な考え方, 特にサンプリングプランの統計学的背景について解説した。

Keywords: microbiological criteria, sampling plan, Codex, ICMSF

春日文子, 長谷川専：カンピロバクター食中毒のリスク評価

月刊フードケミカル, '09.3, 23-28 (2009)

食品安全委員会によるリスク評価ならびにそれに先行して行なわれた研究班によるリスク評価モデル作成に関し, 具体的な手法と結果について解説した。

Keywords: Food Safety Commission, *Campylobacter*, microbiological risk assessment

野田 衛：ウイルス性食中毒の検査

臨床と微生物, 35(増刊号), 585-591 (2008)

ウイルスは食品を介さないヒト-ヒト感染やヒト-環境-ヒト感染を引き起こすため, 食中毒の調査にはその可能性を排除し, 食中毒と断定するに足る疫学的根拠が求められる。そのため, ウイルス性食中毒の検査は, 患者および関連性が疑われる食材や施設の調理従事者等からPCR法, リアルタイムPCR法によりウイルスの検出を行うとともに, 検出ウイルスの異同性をシーケンスなどの遺伝子解析により確認することを基本とする。

Keywords: norovirus, viral food poisoning, virus examination

小西良子：最近のカビ毒に関する話題

獣医学雑誌, 12, 129-130 (2008)

カビ毒とは, カビの産生する2次代謝物質のうち, ヒトや動物に健康被害を引き起こすものをいうが, 天然化合物の中で最強の発がん物質といわれるアフラトキシン(AF)もカビ毒の一つである。アフラトキシンに関しては, 発がん機序に関する数多くの毒性研究とヒトにおける疫学研究がなされており, それらの結果から国際機関においては, いくつかの発がんリスクの推定がされているので紹介した。

Keywords: アフラトキシン, 発がん物質, 発がんリスク, 疫学研究

小西良子：カビ毒による問題と規制

日本食品衛生学会雑誌, 25, 70-76 (2008)

わが国の食料自給率が40%を切り, 食料を輸入に依存する体制がさらに加速している現状において, 輸入品のカビ毒を中心に国際的な取り組みについて解説した。

Keywords: カビ毒, 規制, 国際的な取り組み

小西良子：マイコトキシンのリスクプロファイル

月刊フードケミカル, 9, 67-72 (2008)

マイコトキシンの毒性評価やリスク評価の方法は, 自然毒や重金属などと同様に有害化学物質の手法が用いられる。

本稿では, 食品に汚染する主要なマイコトキシンに焦点をあて, そのリスク評価について解説すると共に, 基準値設定などの対策への取り組みについて紹介した。

Keywords: マイコトキシン, 毒性評価, リスク評価, 基準値設定

小西良子：カビ毒の食中毒事例と現状

化学療法の領域, 24, 108-116 (2008)

カビ毒の引き起こす健康被害は, 大量に摂取した場合には致死に至る事例もあるが, 我が国のように食料の供給が十分である国では, 低用量を長期間摂取して引き起

こされる慢性毒性, 例えば発ガン性などが懸念される。カビ毒が引き起こすであろう健康被害と, その防除法について紹介した。

Keywords: 健康被害, 食中毒事例, 慢性毒性

小西良子: 食品汚染カビ毒を巡る最近の話題

食品衛生研究, **59**, 9-16 (2009)

近年アフラトキシンをはじめ, 食品を汚染する主要なカビ毒に対して, 国際的にその防御に対する取り組みが進められている。食品の国際規格を定める委員会(コーデックス委員会)では, 昨年開かれた総会において木の実(アーモンド, ヘーゼルナッツ, ピスタチオ)を対象としたトータルアフラトキシンおよび穀類を対象としたオクラトキシンAの基準値を採択している。

わが国もこのような国際的な動きを受け, 現在の汚染実態状況, 今後の基準値策定の可能性を紹介した。

Keywords: トータルアフラトキシン, アーモンド, ヘーゼルナッツ, ピスタチオ, オクラトキシンA, コーデックス委員会

小西良子: UJNR有毒微生物専門部会第43回日米合同部会報告

食品衛生研究, **59**, 10-11, 18-19 (2009)

米国ニューオーリンズにおいて行われた第43回UJNR有毒微生物専門部会の科学会議のセッションのうちカビ毒関係について発表の要約と紹介を行った。

keywords: UJNR, カビ毒, 毒性

小西良子: FAO/WHO 食品添加物合同専門家会議のマイコトキシン規制への役割

Mycotoxins, **59**, 29-33, (2009)

FAO/WHO食品添加物合同専門家会議(JECFA)は, 食品中の化学物質に対するリスクアセスメントの原則を作成し, 毒性を評価し一日耐容摂取量(PMTDI)の設定を行う。これらの評価を基に, JECFAはガイドラインや最大許容量(MLs)のシナリオをコーデックス委員会に答申する。いままでに行った, 主要マイコトキシンに対するJECFAの評価結果を解説した。

Keywords: 主要マイコトキシン, 一日耐容摂取量, 最大許容量, コーデックス委員会

宮原美知子, 塚本定三*: サルモネラの標準検査法の検討

月刊フードケミカル, '08 7月号, 55-61 (2008)

H5年に通知された食肉製品のサルモネラ検査法を検討し直すことになった。細菌の技術革新もあることから, まずは国内外で使われているサルモネラの検査法を検討

し, 日本で使用するのが妥当である方法を検討することになった。その経過, 検討などについて報告し, 食品中サルモネラ検査法の今後の方向を示した。

Keywords: *Salmonella*, Standard method, isolation

* 東邦微生物研究所

鎌田洋一, 小西良子: UJNR有毒微生物専門部会第43回日米合同部会報告

食品衛生研究, **59**, 13-15 (2009)

米国ニューオーリンズにおいて開催された第43回UJNR有毒微生物専門部会科学会議のセッションにおいて, セレウス菌嘔吐毒素についての発表の要約と, 米国の2007年食品由来疾患のアクティブサーベランスネットワークについて紹介を行った。

keywords: UJNR, カビ毒, 毒性

松谷佐知子: DNA上の転写因子結合部位を検索するソフト等

日本医事新報, **4391**, 95-96 (2008)

DNA上の転写因子結合部位を簡易に検索することができるソフトまたはインターネットのサイトについて, 結合配列を網羅したサイトや文献などを併せて解説した。

Keywords: transcription factor, binding site, software

工藤由起子: 食水系感染症病原体の検査法-3腸炎ビブリオ

モダンメディア, **54**, 189-192 (2008)

腸炎ビブリオは, 沿岸海水中に広く生息し河川が流れ込む海域においてもよく分離される。一般に, 水温が20°C以上の海水において腸炎ビブリオの生育が著しく活発になるため, 夏季に腸炎ビブリオ食中毒が集中する。腸炎ビブリオに汚染された食品を摂食した後, およそ6~24時間の潜伏期間において下痢, 腹痛, 悪心, 嘔吐, 発熱などの急性胃腸炎症状を発症する。検査法では分離培地として近年に開発された酵素基質培地が従来のTCBS培地に加えて有用である。また, 腸炎ビブリオと性質の似た海洋細菌から本菌を培養法では選択または鑑別し難い傾向にあるため, 他の細菌に阻害されにくい遺伝子検出法も利用されている。

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, detection, method

杉山寛治¹, 中口義次², 工藤由起子: 腸炎ビブリオ食中毒の変遷と現状 特集企画「食中毒の変遷と現状」化学療法の領域, **24**(7), 57-66 (2008)

1995年, アジアに出現した腸炎ビブリオの新クローン株(血清型O3:K6)は, 日本, 北米, 南米, ヨーロッパ

へと感染を拡大し世界的な大流行を引き起こした。日本の腸炎ビブリオ食中毒も1996年頃から増加し、1998年には患者数が12,318名、事例数が839件に激増する異常な事態となった。この時期に国内で採取された貝類（岩ガキ、アサリ、アオヤギ）、海水、海泥から患者と同じ腸炎ビブリオO3:K6の新クローン株が検出され、日本の湾岸海水域に新クローン株が定着し感染を引き起こしていると考えられた。1999年以降は、行政が打ち出した数々の対策が奏功し、腸炎ビブリオ食中毒の患者数は最盛期の1/10以下に減少した。しかし、海域などの腸炎ビブリオ汚染は続いているので、油断すれば、腸炎ビブリオ食中毒の再興もありうる。

KeyWords: 世界的な大流行, アジア, 新クローン株, 腸炎ビブリオ規格基準, 加工用海水

*1 静岡県環境衛生科学研究所

*2 京都大学東南アジア研究所

工藤由起子：最近注目される食中毒微生物-発生要因とその対策 サルモネラ 特集「細菌の微生物性食中毒と衛生管理の要点」

臨床栄養, 112(7), 824-827 (2008)

サルモネラ食中毒の歴史は古く、1885年にサルモネラが初めて分離され、1888年にはドイツで発生した食肉を介した食中毒が報告されている。サルモネラ食中毒は、日本でも以前から主要な食中毒であり、重篤な症状を伴うこともあるため、微生物性食中毒を語る上で欠くことができない食中毒のひとつである。世界的にもサルモネラ食中毒の発生が多く、海外からの食品や飼料などの輸入の多い日本では、国外の要因によって国内のサルモネラ食中毒発生が影響されることもある。

keywords: サルモネラ, 食中毒, 血清型, Enteritidis, 鶏卵

杉山圭一：第47回SOTにおけるマイコトキシン関連研究発表の動向 (From 47th SOT meeting)

Mycotoxins, 58, 155-157 (2008)

平成20年3月16日から20日にかけて米国のシアトルにて開催された「第47回Society of Toxicology Annual Meeting」において発表されたマイコトキシン関連の研究内容について概説した。

Keywords: toxicity, mycotoxin, Society of Toxicology

杉山圭一：自然免疫からみた免疫毒性

ImmunoTox Letter, 13, 8-9 (2008)

自然免疫系、特にToll-like receptorのシグナル伝達系へのマイコトキシンの影響に基づく新規なマイコトキシンの免疫毒性評価法について紹介した。

Keywords: immunotoxicity, innate immunity, mycotoxin, Toll-like receptor

杉山圭一：麹菌と*Aspergillus*属についての一考察

生物工学会誌, 86, 557 (2008)

醤油や味噌の醸造過程に欠かせない麹菌は分類学上*Aspergillus*属に分類される。

本稿では*A. parasiticus*のアフラトキシン産生機構に焦点をあて、主に醤油の醸造に用いられる麹菌である*A. sojae*と同菌との違いについて紹介するとともに、今後の麹菌の安全性の確保について考察した。

Keywords: koji mold, *Aspergillus*, aflatoxin

杉山圭一, 小西 良子：わが国におけるカビ毒による食中毒とその現状

公衆衛生, 73, 350-352 (2009)

近年、食品を汚染するカビ毒による健康被害への関心が高まりつつあるものの、その安定性からカビ毒は今なお食品衛生上対策が求められる食中毒原因物質の1つである。そこで本稿では、食品に汚染する主要なカビ毒とその中毒症状についてわが国の現状を踏まえ概説した。

Keywords: mycotoxin, mycotoxicosis, food hygiene

奥田晴宏, 宮田直樹*：薬の名前 ステムを知れば薬がわかる 第23回

PHRAM. TECH. JAPAN, 24, 1265-1270 (2008)

抗高血糖症薬を示すステム「-formin」, 「gi-, -gli-, (gly-）」, 「-glitazone」, 「-glitazar」に関してINN及びJAN収載品目の作用機序・構造等を含め例示しつつ紹介した。

Keywords: INN, JAN, stem

* 名古屋市立大学大学院

奥田晴宏, 宮田直樹*：薬の名前 ステムを知れば薬がわかる 第26回

PHRAM. TECH. JAPAN, 24, 2245-2251 (2008)

利尿薬を示すステム「-semide」 「-etanide」 「-pamide」 「-tizide」 「-crinat」 及び「mer-」 「-mer-」並びにポリマーを示すステム「-mer」をに関してINN及びJAN収載品目の作用機序・構造等を含め例示しつつ紹介した。

Keywords: INN, JAN, stem

* 名古屋市立大学大学院

奥田晴宏, 宮田直樹*：薬の名前 ステムを知れば薬がわかる 第29回

PHRAM. TECH. JAPAN, 24, 2687-2693 (2008)

ビタミンD関連医薬品およびカルシウム代謝調節薬を示すステム「calci」「-dronic acid」、ビタミンA関連の医薬品を示すステム「retin」「-arotene」、アルドステロン阻害薬として「-renone」、アルミニウム含有制酸薬を示すステム「-aldrate」「-ox」に関してINN及びJAN収載品目の作用機序・構造等を含め例示しつつ紹介した。

Keywords: INN, JAN, stem

* 名古屋市立大学大学院

奥田晴宏, 宮田直樹*: 薬の名前 ステムを知れば薬がわかる 第32回

PHRAM. TECH. JAPAN, 25, 519-525 (2009)

ビタミンB₃関連の医薬品を示すステム「nico-」「nic-」「ni-」、プロスタグランジン関連医薬品を示すステム「(-)prost (-)」「-prostil」、抗エストロゲン作用薬として「-ifene」に関してINN及びJAN収載品目の作用機序・構造等を含め例示しつつ紹介した。

Keywords: INN, JAN, stem

* 名古屋市立大学大学院

斎藤嘉朗, 佐井君江: イリノテカンの副作用回避に向けたゲノム薬理学的アプローチ

医学のあゆみ, 225, 936-940 (2008)

抗がん剤イリノテカンは、トポイソメラーゼ阻害活性を有するカンプトテシンの誘導体であり、多くの癌種に広く用いられている。イリノテカンの重篤副作用である好中球減少症発現の原因として、UDP-グルクロン酸転移酵素UGT1A1の*28多型((TA)₆>(TA)₇)が知られており、米国では、既に副作用回避のための診断キットが認可されている。本邦でも同様の動きがあるが、日本人を対象とする場合は、*28に加えて、東アジア人で頻度が高い*6多型(211G>A, Gly71Arg)を考慮する必要がある。筆者らの研究においても、単剤での使用およびシスプラチンとの併用において、*6及び*28に依存したグレード3以上の好中球減少症の増加が示されている。即ち、本邦においては、*28に加えて、*6を好中球減少症発現リスクの指標とする必要がある。

Keywords: pharmacogenomics, irinotecan, UGT1A1

斎藤嘉朗, 前川京子, 澤田純一: 遺伝子多型解析

日本臨床, 67(増刊1号), 186-191 (2008)

遺伝子多型はゲノム配列上の塩基の置換、欠失、挿入(以下、塩基置換等)であり、特に1塩基の置換をsingle nucleotide polymorphism (SNP)と呼ぶ。このような塩基置換等は、個人毎に相違があり、タンパク質の発現レベ

ルや機能の個人差をもたらさうる。特に近年、がんへの易罹患性や抗がん剤の低奏毒性・副作用発現の原因となりうる遺伝子多型の情報が蓄積されてきており、遺伝子多型診断に基づいて、生活習慣の改善によるがん発症の回避や患者個別化がん治療を行うことが可能となりつつある。遺伝子多型診断のための方法には、現在までに多くの手法が開発されており、診断の目的、遺伝子多型の性質及び周辺配列、試験対象となる試料、コスト、スループット、精度等の点から目的にかなった方法を選択することが可能となっている。本稿では、現在、比較的良好に用いられている方法に限って紹介した。

Keywords: genetic polymorphism, genotyping, cancer

前川京子, 斎藤嘉朗, 佐井君江, 澤田純一: 医薬品の応答性に関連する遺伝子多型—抗血栓薬を中心に—
血栓止血学会誌, 20, 27-36 (2009)

医薬品の効き方や副作用発現に個人差や人種差があることは、よく知られている。これら薬物応答性の変化をもたらす原因としては、併用薬、食事、生活習慣などの環境的要因の他に、遺伝因子がある。遺伝因子には、ゲノム配列上の塩基の置換、欠失、挿入(以下、塩基置換等)である遺伝子多型があり、特に1塩基の置換である一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)の頻度は高い。このような塩基置換等は、個人毎に相違があり、タンパク質の発現レベルや機能の変化を伴うものは、医薬品の有効性や副作用発現の個人差、さらには人種差の原因となりうる。既に医薬品の体内動態に関与する主要な薬物代謝酵素の遺伝子多型については、多くの情報が蓄積されてきている。中でも、抗がん剤に関しては、本邦においても添付文書の改訂やゲノム診断薬キットの承認など、遺伝子多型に基づく患者個別化治療が現実のものになっている。本総説では、抗血栓薬の薬効や副作用の発現と、薬物代謝酵素の遺伝子多型との相関を中心に概説した。

Keywords: genetic polymorphism, antithrombotic drug, drug response

手島玲子: 遺伝子組換え食品

食品衛生学雑誌, 49(4), J-269-J274 (2008)

遺伝子組換え食品の安全性評価に関しては、国際的なハーモナイゼーションに向けた動きがコーデックス委員会でもなされており、ますますグローバルな安全性確認が進んでゆくものと思われる。本稿では、遺伝子組換え食品の概要、安全性評価、表示制度について述べ、今後の展望についても概説した。

Keywords: genetically modified food, safety assessment, food labeling

手島玲子, 西島正弘: 遺伝子組換え食品の安全性評価
食品衛生研究, **58**(8), 51-56 (2008)

遺伝子組換え食品 (バイオテクノロジー応用) の消費者の方への不安に答えるためにも, 組換え食品の安全性評価の概要, 国際的な安全性評価の動向についての地道な説明が重要であると考えられる。本稿では, わが国における遺伝子組換え食品の安全性評価について述べ, 次いで, 厚生労働科学研究費の食品安全確保研究で行っている遺伝子組換え食品の安全性確保研究の概要, 組換え食品の開発の状況について概説した。

Keywords: genetically modified food, safety assessment, biotechnology

手島玲子: 遺伝子組換え用食品の安全性評価
理大科学フォーラム, **291**, 52-57 (2008)

現在までに遺伝子組換え技術を応用して作出され, 我が国で食品としての安全性審査を経た遺伝子組換え作物の大部分は害虫抵抗性, 除草剤耐性などを賦与された第一世代の遺伝子組換え作物である。それらの遺伝子組換え農作物の食品としての安全性を評価する上で必要とされる情報や評価の基本的な考え方を概説し, 国際動向についても概説した。

Keywords: genetically modified food, safety assessment, ISAAA

蜂須賀暁子, 川崎ナナ, 内田恵理子, 宮田直樹*: 薬の名前. ステムを知らば薬がわかる. 第28回
Pharm. Tech. Japan, **24**, 2515-2523 (2008)

生物薬品のステムの補足説明として, 放射性医薬品の命名法とポリエチレングリコール結合 (PEG化) 医薬品の命名法について解説した。

Keywords: 放射性医薬品, PEG化, INN, JAN

* 名古屋市立大学大学院

穂山 浩: 遺伝子組換え食品の検知法
ぶんせき, **3**, 140-143 (2009)

厚生労働省では, 平成13年4月から食品衛生法に基づく表示について義務化するに伴い, 「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」で遺伝子組換え (GM) 食品の検査方法を定めた (通知検査法)。本方法は, 世界で初めて国が定める標準法として, 我が国に輸入の可能性がある安全性未審査GM食品の検知法を定め, さらに表示制度に対応した安全性審査済みのGM食品の定量法を規定している。農林水産省では, 農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律 (JAS法) の定める品質表示制度のもとで, 安全性が確認されたGM農作物と

その加工食品に対する表示を行い, 厚生労働省と歩調を合わせ平成13年4月より表示制度を実施し, これに対応し, JAS分析試験ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル」を作成している。本稿では, 上記の通知検査法の検知法について紹介した。

Keywords: 遺伝子組換え食品, 検知法, PCR

穂山 浩, 安達玲子, 手島玲子: アレルゲン検知法の新たな開発状況

臨床免疫・アレルギー科, **51**, 363-370 (2009)

アレルギー物質を含む食品に関して, 表示による情報提供の必要性が高まったことから, 平成13年4月に食品衛生法関連法令の改正が行われ, アレルギー物質を含む食品の表示制度が定められた (本格的なスタートは平成14年4月から)。厚生労働省は, 原因物質別の発症数及び重篤度に関する調査結果を基に, 卵, 牛乳, 小麦, そば, 落花生の5品目を省令により特定原材料と定め, 全ての流通段階での表示を義務付けた¹⁾。また, 通知で定める特定原材料に準ずる20品目 (あわび, いか, いくら, えび, オレンジ, かに, 牛肉, くるみ, さけ, さば, 大豆, キウイフルーツ, 鶏肉, パナナ (平成16年12月追加), 豚肉, まつたけ, もも, やまいも, りんご, ゼラチン) については表示を推奨した。平成20年6月3日にはさらに省令が改正され, 重篤な症状を引き起こすことが知られているえび, かにの2品目が新たに特定原材料となり, これまでの推奨表示品目から義務表示品目となった。この結果, 特定原材料に準ずる品目は18品目となった。厚生労働科学研究食品表示研究班アレルギー表示検討会の報告書 (平成13年10月) では, 表示を必要とする含量 (微量の定義) について, 「数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度レベルまたは数 $\mu\text{g}/\text{g}$ 含有レベル以上の特定原材料等の総タンパク量を含有する食品については表示が必要と考えられる」とされた。現在の表示制度はこの原則に従って運用されており, ELISAによる定量法により食品1 gあたり特定原材料等由来のタンパク質を10 μg 以上 (10 ppm以上) 含有することが示された場合は, 微量を超える特定原材料が混入している可能性があるものと判断される。それに伴い, 「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」 (食安発第01220001号) には特定原材料7品目 (卵, 乳, 小麦, そば, 落花生, えび, かに) の検査方法が示されている (以下通知法)。まず検査特性の異なる2種のELISA法による定量検査を実施し, 両法で得られた結果と製造記録の確認により, 表示が適正であるかが判断される。判断が不可能な場合は, 特異性の高い定性検査法であるウェスタンブロット法 (卵, 乳), またはPCR法 (小麦, そば, 落花生, えび, かに) により確認検査を行う。厚生労働科学研究費補助金による研究班において, えび・かに等の特定原

材料等の検知法が開発された。本講座ではその検知法開発の動向について概説した。

Keywords: Food Allergen, Detection Method, ELISA

穂山 浩：食べ物のアレルギーに対する効果とは？

Q&Aでわかるアレルギー疾患, 4, 327-329 (2008)

我が国の食生活は戦前と戦後では大きく変化いたしました。戦前においては米と芋類などを含む雑穀が主食で、動物性タンパク質においての供給源は魚類に限られておりました。戦後においては野菜や米等の摂取の割合は減少し、欧米型の食生活である肉、卵、乳製品、油脂の摂取の割合が急激に増加しております。この食生活の急激な変化が我が国においてアレルギー疾患の増加や症状の増悪の原因の一つであると言われております。従って、食品や飲料をバランス良く摂取すれば、アレルギー疾患の予防やアレルギー症状の改善が期待できると考えられます。特に近年の研究の中から、適切に摂取することでアレルギー症状の予防や改善が期待できる食品成分をまとめてみた。

Keywords: ビタミン A, 経口免疫寛容, フラボノイド

安達玲子, 酒井信夫, 穂山 浩, 手島玲子：特定原材料表示と検査法～えび・かにかの表示義務化～

ジャパンフードサイエンス, 47, 27-31 (2008)

わが国のアレルギー物質を含む表示制度は平成13年にスタートした。その際、原因物質別の発症数及び重篤度に関する調査結果を基に、卵、牛乳、小麦、そば、落花生の5品目が特定原材料に指定され、全ての流通段階での表示が義務付けられた。また、20品目が特定原材料に準ずるものに指定され、表示が推奨された。平成20年度にはえびとかにかが新たに特定原材料に追加されるという大きな改正が行われた。わが国のアレルギー物質を含む食品の検査制度、及び新たに特定原材料となったえび・かにかの検査法について概説した。

Keywords: food allergy, labeling, detection methods

安達玲子：わが国のアレルギー表示制度と検査法。

月刊フードケミカル, 2, 19-23 (2009)

わが国のアレルギー物質を含む表示制度は平成13年にスタートした。その際、原因物質別の発症数及び重篤度に関する調査結果を基に、卵、牛乳、小麦、そば、落花生の5品目が特定原材料に指定され、全ての流通段階での表示が義務付けられた。また、20品目が特定原材料に準ずるものに指定され、表示が推奨された。平成20年度にはえびとかにかが新たに特定原材料に追加されるという大きな改正が行われた。わが国のアレルギー物質を含む食品の検査制度、えび・かにかが特定原材料となった経緯、

及び新たに開発されたえび・かにかの検査法について概説した。

Keywords: food allergy, labeling, detection methods

安達玲子, 酒井信夫, 穂山 浩, 手島玲子：特定原材料えび・かにかの表示と検査法について

食品衛生研究, 59, 7-14 (2009)

わが国のアレルギー物質を含む表示制度は平成13年にスタートした。その際、原因物質別の発症数及び重篤度に関する調査結果を基に、卵、牛乳、小麦、そば、落花生の5品目が特定原材料に指定され、全ての流通段階での表示が義務付けられた。また、20品目が特定原材料に準ずるものに指定され、表示が推奨された。平成20年度にはえびとかにかが新たに特定原材料に追加されるという大きな改正が行われた。わが国のアレルギー物質を含む食品の検査制度、えび・かにかが特定原材料となった経緯、新たに開発されたえび・かにかの検査法、及びこの検査法を含む形で改正された検査法通知の主な改正点について概説した。

Keywords: food allergy, labeling, detection methods

山本 都, 登田美桜, 畝山智香子, 森川 馨：食品衛生関連情報の収集における参考webサイトー化学物質関連情報を中心にー

食品衛生学雑誌, 49(3), J-249-250 (2008).

食品中の化学物質関連情報を調査する際に、国内外の最新情報のチェックや個別のテーマに関する詳細な調査の情報源として有用な主なwebサイトについて解説した。

Keywords: food safety, chemicals in food, information sources

窪田邦宏, 豊福 肇, 森川 馨：食品衛生関連情報の収集およびその提供に関してー微生物関連情報を中心にー

食品衛生学雑誌, 49(5), J-321-322 (2008).

食品中の微生物関連情報を調査する際に有用な海外の情報収集先を紹介し、収集した情報の提供方法等に関して実際の事例を紹介しつつ解説した。

Keywords: food safety, food microbiology, information sources

畝山智香子：食品安全に関連した情報の収集と提供について

イルシー, 95, 5-9 (2008)

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部では、医薬品や食品や化学物質の安全性に関する情報を収集・解析・評価・蓄積及び提供することを業務としている。筆者は食

品中化学物質に関する情報を担当し世界各国の食品安全担当機関や国際機関などの発表する情報を収集している。情報収集の実際について紹介する。

Keywords: food safety, chemicals in food, information sources

鹿庭なほ子：重症薬疹の発症に関連する遺伝子マーカーの探索研究

月刊薬事, 50, 2151-2154 (2008)

薬物による重篤な副作用のひとつに、皮膚障害を主症状とするスティーブンス・ジョンソン症候群(Stevens-Johnson syndrome) (SJS)及び中毒性表皮壊死症(toxic epidermal necrolysis) (TEN)がある。SJS/TENは、発症率こそ低いものの、80%以上の医薬品が発症原因と成り得ることが知られており、発症を予測することが難しい副作用である。本稿では、SJS/TENの発症と関連する遺伝子マーカーに関する最近の研究、並びに、国立医薬品食品衛生研究所(国立衛研)・医薬安全科学部が、SJS/TEN発症に関連するバイオマーカーの探索的研究を行うために構築した症例集積システムについて紹介した。

Keywords: Stevens-Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis, HLA-B locus

鹿庭なほ子：重篤副作用のバイオマーカー探索の最新の動向

ファームステージ, 10月号, 1-3 (2008)

薬物による重篤な副作用の発症と関連するバイオマーカーに関する最近の動向について、皮膚障害を主症状とするスティーブンス・ジョンソン症候群(Stevens-Johnson syndrome) (SJS)及び中毒性表皮壊死症(toxic epidermal necrolysis) (TEN)を中心に紹介した。

Keywords: 重篤副作用, 遺伝子マーカー, HLA

林 譲, 齋藤充生, 長谷川隆一：バイオテロに対する薬剤師の役割

社会薬学, 27, 11-18 (2008)

アメリカの文献から、バイオテロに対する薬剤師の役割をまとめたものである。

Keywords: bioterrorism, pharmacy, pharmacist, drug, FUMI theory

Inoue T, Kodama Y: Future alternatives in "3Rs": Learning from history.

Alternatives to Animal Testing and Experimentation, 14, 257-260 (2008)

A large decrease in the number of experimental animals utilized in testing and research was reported in the last

decade (Surveyed by Expt'l Animal Soc.¹). For rats, the numbers used in experiments in Japan were 2.09 million in 1995, 1.53 million in 1998, and 1.24 million in 2001. Thus, there was a 40% decrease in the number of rats used from 1995 to 2001. For mice, a larger decrease (58%) was also observed, from 6.68 million in 1995 to 2.80 million in 2001. These decreases were clearly due not only to the development of 3Rs (i.e., Reduction, Refinement, and Replacement of animal use) in alternative research, but also to marked changes in the focus of experimental animal biology. In the academia, animal experiments using wild-type mice have decreased in number to a large extent relative to those using genetically modified mice because of the mechanistically much reliable outcomes obtained by genetically modified mice than those from wild-type animals. Yet, biological safety studies for pharmaceutical development as well as industrial chemical safety studies utilize conventional toxicological bioassays.

Keywords: Claude Bernard, Bruce N. Ames, Patric O. Brown

井上 達：内分泌かく乱化学物質研究の世界的動向。Biophilia, 4, 8-12 (2008)

内分泌かく乱化学物質研究を、ヒトを含む野生動物が環境との間に営む生体異物相互作用と捉え、この10年間の研究のあゆみの中から、今後の研究に求められていることを述べた。

Keywords: 内分泌かく乱, 遺伝子発現, 低用量反応

井上忠志¹, 熊谷雄治², Heidel SM³, 木村和哉¹, 若田明裕¹, 久田 茂¹, 川上浩司⁴, 小野寺博志⁵, 篠田和俊⁵, 黒川美佐男¹, 中澤隆弘¹, 佐神文郎¹, 山崎恒義⁶, 井上 達：バイオ医薬品の安全性評価についての考え方 - ICHガイドラインの見直しに向けて -

医薬品研究, 40, 80-89 (2009)

ICH S6ガイドラインに関する国際動向として、2006年のICH横浜及びシカゴ会議において、ガイドライン改訂に関する議論がなされた。その結果、①ICH S6ガイドラインを改訂するかどうか、②改訂する場合どの部分が対象となるかについて、日米欧でそれぞれ検討することが決まり、2008年6月に各極の検討結果を持ち寄り、改訂の要否が判断される予定である。その概要をまとめた。

Keywords: バイオ医薬品の安全性評価, ICHS6ガイドライン, 新しいバイオリジクス

¹ 日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会

² 北里大学

*³ Eli Lilly

*⁴ 京都大学

*⁵ 独立行政法人医薬品医療機器総合機構

*⁶ 慶應義塾大学薬学部

井上 達: 巻頭言 “ストカスティックなトキシコロジーと「安全性」の進化”.

食品衛生研究, **59**(3), 5 (2009)

確率論の毒性学について述べた.

Keywords: 確率論, 安全性試験

Nakae D^{*1}, Onodera H^{*2}, Fueki O^{*2}, Urano T^{*2}, Komiya N^{*2}, Sagami F^{*3,4}, Kai S^{*3,5}, Nishimura C^{*3,6}, Inoue T. **Points to consider on the non-clinical safety evaluation of anticancer drugs.**

J. Toxicol Sci., **33**, 123-6 (2008)

Since malignant tumors are life-threatening, the death rate from these diseases is high, and existing therapies have limited effectiveness, it is desired to provide new effective anticancer drugs to tumor patients sooner. However, there is no guideline regarding non-clinical safety studies on the development of anticancer drugs required for the first in human clinical trials and for the approval applications in Japan. Then, the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) established the collaboration group including regulatory, academic and industrial scientists to prepare the guideline on the non-clinical safety evaluation of anticancer drugs in 2004. As a guide for basic concept of non-clinical safety studies on anticancer drugs, the “Points to Consider” document was prepared by this group in 2007.

Keywords: Anticancer drugs, First in human clinical trial, Approval application

*¹ Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

*² Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

*³ Non-clinical Evaluation Subcommittee, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

*⁴ Eisai Co., Ltd.

*⁵ Bristol-Myers K.K.

*⁶ Nippon Kayaku Co., Ltd.

Nakazawa T^{*1}, Kurokawa M^{*1}, Kimura K^{*1}, Wakata A^{*1}, Hisada S^{*1}, Inoue T^{*1}, Sagami F^{*1}, Heidel SM^{*2}, Kawakami K^{*3}, Shinoda K^{*4}, Onodera H^{*4}, Kumagai Y^{*5}, Ohno Y, Kawamura N^{*6}, Yamazaki T^{*7}, Inoue T : **Safety assessment of biopharmaceuticals: Japanese perspective**

on ICH S6 guideline maintenance.

J. Toxicol Sci., **33**, 277-82 (2008)

Safety assessment of biopharmaceuticals in preclinical studies is guided by the ICH S6 guideline issued in 1997. Along with enormous experiences and knowledge on safety assessment of some classes of biopharmaceuticals over the last decade, the necessity and feasibility of updating the guideline has been discussed. According to a recommendation by safety experts at the ICH meeting in Chicago in 2006, regional discussions of ICH S6 were held in the USA, EU and Japan. The meeting to clarify the values, challenges and recommendations for ICH S6 from Japanese perspective was held as a part of the first Drug Evaluation Forum in Tokyo on August 10, 2007. Of utmost importance, the “case-by-case” approach must be preserved as the basic principle of the ICH S6 guideline. It is our opinion that oligonucleotides, siRNA, aptamers and related molecules should be excluded from ICH S6 and may be more appropriate for separate guidance. However, based on experiences and accumulated knowledge, there are a number of issues that can be updated including new types of biopharmaceuticals such as bioconjugates, use of homologous proteins and transgenic animals, reproductive/developmental toxicity studies in non-human primates, in vitro cardiac ion channel assay and alternative approaches for carcinogenicity assessment. Preliminary recommendations for some of these topics were outlined at the meeting. The overall Japanese recommendation is that the ICH S6 guideline should be updated to address these topics.

Keywords: ICH S6 guideline, Biopharmaceutical, Safety assessment

*¹ Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Drug Evaluation Committee, Non-clinical Evaluation Subcommittee

*² Eli Lilly, Eli Lilly and Company

*³ Kyoto University

*⁴ Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

*⁵ Showa University, School of Pharmaceutical Sciences

*⁶ European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations

*⁷ Kyoritsu University of Pharmacy, Kyoritsu University of Pharmacy

菅野純, 北嶋聡, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 中津則之, 高木篤也, 種村健太郎, 小川幸男, 児玉幸夫, 関田清司 : **Percellome Project**

遺伝子医学MOOK, **10**, 363-371 (2008)

毒性学 (トキシコロジー) は人の健康・安全を確保することを目的とし, 外来性の物質 (化学物質など) が生体に進入した際の生体反応を記述し理解することにより, 身の回りの物質の毒性 (有害性) を予測し, それらの暴露による被害を未然に防ぐとともに, 暴露された場合の治療法を開発する研究分野である. この有害性予測の精度向上を目指した分子生物学レベルでの毒性研究は, 遺伝子, 遺伝子発現, 蛋白合成, 蛋白修飾などのあらゆる段階を対象とする. その際, 探索的な科学研究と異なる点として, 毒性学には「予期せぬ事態」を見逃がさない網羅性の確保が要求されることが挙げられる. 我々はその第一段階として, 遺伝子発現をほぼ全遺伝子についてカバーする高密度 cDNA マイクロアレイによる毒性学的トランスクリプトーム研究, 即ちトキシコゲノミクス研究を開始した.

Keywords: Percellome project, toxicology, microarray

Hirabayashi, Y., and Inoue, T.: **Aryl hydrocarbon receptor biology and xenobiotic responses in hematopoietic progenitor cells**

Biochem Pharmacol, **77**, 521-535 (2009).

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) の生物機能について, これまでに明らかにしてきた知見を, (1) AhR が分子進化に果たした役割, (2) AhR の造血前駆細胞の細胞周期制御に対する役割, 及び (3) その異物相互作用の上での役割の3点に要約してまとめた.

Keywords: Aryl hydrocarbon receptor, Hematopoietic stem/progenitor cells, Gompertzian expression

Nakajima, M.^{*1}, Usami, M., Nakazawa, K., Arishima, K.^{*2} and Yamamoto, M.^{*2}: **Developmental toxicity of indium: Embryotoxicity and teratogenicity in experimental animals**

Congenit Anom (Kyoto), **48**, 145-150 (2008)

Indium, a precious metal classified in group 13 (IIIB) in the periodic table, has been used increasingly in the semiconductor industry. Because indium is a rare metal, technology for indium recycling from transparent conducting films for liquid crystal displays is desired, and its safety evaluation is becoming increasingly necessary. The developmental toxicity of indium in experimental animals was summarized. The intravenous or oral administration of indium to pregnant animals causes growth inhibition and the death of embryos in hamsters, rats, and mice. The intravenous administration of indium to pregnant animals causes embryonic or fetal malformation, mainly involving digit and tail

deformities, in hamsters and rats. The oral administration of indium also induces fetal malformation in rats and rabbits, but requires higher doses. No teratogenicity has been observed in mice. Caudal hypoplasia, probably due to excessive cell loss by increased apoptosis in the tailbud, in the early postimplantation stage was considered to account for indium-induced tail malformation as a possible pathogenetic mechanism. Findings from in vitro experiments indicated that the embryotoxicity of indium could have direct effects on the conceptuses. Toxicokinetic studies showed that the embryonic exposure concentration was more critical than the exposure time regarding the embryotoxicity of indium. It is considered from these findings that the risk of the developmental toxicity of indium in humans is low, unless an accidentally high level of exposure or unknown toxic interaction occurs because of possible human exposure routes and levels (i.e. oral, very low-level exposure).

Keywords: embryotoxicity, indium, mechanisms, species differences, teratogenicity, toxicokinetics

*1 旭化成ファーマ (株) 医薬研究センター

*2 麻布大学獣医学部

小島 肇: **動物実験の3Rsにおける国内外の動向**
ファルマシア, **44**, 857-861 (2008)

「動物の愛護及び管理に関する法律」が2006年6月に施行され, さらに, 「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」が環境省より告示された. この基本的な考え方は, 3Rs (Reduction: 実験動物の削減, Refinement: 実験動物の苦痛の軽減, Replacement: 実験動物の置き換え) の徹底である. この3Rsの中でもRefinementについては, 実験動物の自己点検・評価として, 当該機関以外の者による認証システムが日本で普及しつつある.

一方, 削減や置換のために用いる試験法が公的な認証を受けるためには, バリデーションや専門家による第三者評価が必要である. この使命を果たすために, 2005年11月に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内に新規試験法評価室が設立された. この部署の活動をJaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) と呼ぶ. JaCVAMは日本における3Rsの促進や動物実験代替法に関する国際協調のために活動している.

Keywords: 動物実験代替法, バリデーション, 3Rs

小島 肇: **REACH対応に必要な動物実験代替法の現状**

コスメティックステージ, 2, 1-4 (2008)

2006年から施行されたREACH (Registration, Evaluation and Authorisation of CHemicals) とは、すでにEU市場に流通している約3万の化学物質および新規化学物質に関し、その製造・輸入を行う事業者は、その安全性データなどを揃え、登録することが義務つけられる規制を指すものである。この安全性の再評価には動物実験代替法の促進が謳われており、種々の試験法において、REACHのための戦略が練られている。

Keywords: REACH, 化学物質, 動物実験代替法

小島 肇: 動物実験代替法に関する2008年の国際動向
Fragrance Journal, 2009-1, 65-69 (2009)

JaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)の一員として国際的な交流機会が多い仕事柄、動物実験の3Rs (Reduction, Refinement, Replacement)のうち、動物実験代替法に関する国際情報を入手しやすい立場にいる¹⁻³⁾。そこで、私の知る限りではあるが、2008年の動物実験代替法に関する国際的な動向についてまとめてみた。

Keywords: 動物実験代替法, バリデーション, 3Rs

小島 肇: 動物実験代替法の現状と展望
J. Environ Dermatol Cutan Allergol, 3, 1-6 (2009)

「動物の愛護及び管理に関する法律」が2006年6月に施行され、さらに、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」が環境省より告示された。この基本的な考え方は、3Rs (Reduction:実験動物の削減, Refinement:実験動物の苦痛の軽減, Replacement:実験動物の置き換え)の徹底である。しかし、削減や置換に用いる試験法の確立のためにはバリデーションや第三者による評価が必要である。この使命を果たすために、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内に新規試験法評価室が2005年11月に設立された。この部門の活動をJaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)と呼び、1) 新規または既存試験法の改訂試験法の評価および公定化、2) 新規または既存試験法の改訂試験法バリデーションの支援、3) 3Rsの普及、4) 国際協調を推進している。

本書の中では、JaCVAMが行っている皮膚毒性に関するいくつかのバリデーション研究および専門家による第三者評価をまとめた。

Keywords: 動物実験代替法, バリデーション, 専門家による第三者評価

小島 肇: 動物実験の3Rsにおける国内外の動向
城西大学生命科学研究センター報告, 7, 37-50 (2009)

「動物の愛護及び管理に関する法律」が2006年6月に施行され、さらに、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」が環境省より告示された。この基本的な考え方は、3Rs (Reduction:実験動物の削減, Refinement:実験動物の苦痛の軽減, Replacement:実験動物の置き換え)の徹底である。この3Rsの中でもRefinementについては、実験動物の自己点検・評価として、当該機関以外の者による認証システムが日本で普及しつつある。

一方、削減や置換のために用いる試験法が公的な認証を受けるためには、バリデーションや専門家による第三者評価が必要である。この使命を果たすために、2005年11月に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内に新規試験法評価室が設立された。この部署を中心とした活動をJaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)と呼ぶ。JaCVAMは日本における3Rsの促進や動物実験代替法に関する国際協調のために活動している。

Keywords: 動物実験代替法, バリデーション, 3Rs

西川秋佳: 安全性試験におけるGLPの現状
Histo-Logic Japan, 36, 18-21 (2008)

Good Laboratory Practice (GLP)は「適正実験規範」や「優良試験所基準」などと翻訳されている場合が多いが、医薬品や医療機器について、現行では「安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令(GLP省令)」に示された基準と定義されている。その他の化学物質、農薬、動物用医薬品および飼料添加物にもGLPの適用対象分野は及んでいる。このような化学物質の安全性に関する非臨床試験(安全性試験)データの品質と信頼性を確保するための品質管理と品質保証のシステムとして、ソフトとハードについて基本的な規定を定めたものがGLPである。医薬品開発等において、安全性試験は重要な役割を果たすため、GLPを適用して実施することが薬事法で定められており、GLPの規定に従って実施された試験をGLP適用試験と呼ぶ。本総説では、以下GLPの歴史、概要および社会的意義について記載した。

keywords: GLP, 安全性試験, 品質, 信頼性

Nohmi, T., Toyoda-Hokaiwado, N., Yamada, M., Masumura, K., Honma, M., and Fukushima, S.: Meeting report "International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic Thresholds"
Genes and Environ., 30, 101-107 (2008)

To discuss the low dose effects of genotoxic and carcinogenic compounds and the implication in regulatory sciences, International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic

Thresholds has been held in Tokyo on July 22 and 23, 2008. Since the topic is related to multi expert area, 21 scientists including five oversea speakers were invited from various scientific fields such as genotoxicology, chemical pathology, radiation biology, analytical chemistry, statistics and drug metabolism. Administrative officials and a representative of consumers were also invited. We summarize the presentations to further discuss future perspectives in the threshold issue of genotoxic and carcinogenic compounds.

Keywords: threshold, genotoxicity, carcinogenicity

* 日本バイオアッセイ研究センター

Nohmi, T.: Possible mechanisms of practical thresholds for genotoxicity

Genes and Environ., **30**, 108-113 (2008)

Humans possess a number of defense mechanisms such as metabolic inactivation, DNA repair, error-free translesion DNA synthesis and so on. These mechanisms may constitute practical thresholds for genotoxicity. Error-free translesion DNA synthesis is a process where DNA polymerases bypass lesions in DNA by insertion of correct bases opposite the lesion and continue replication of whole chromosomes. These mechanisms might have been evolved because organisms from bacteria to humans are exposed to endogenous as well as exogenous genotoxic compounds. In fact, levels of spontaneous mutagenesis are strongly influenced by ability of DNA repair and translesion DNA synthesis of the host cells. Here, I show evidence that DNA repair and translesion DNA synthesis play roles in practical genotoxic thresholds in *Salmonella typhimurium* used for bacterial mutation assays, and discuss future directions of the research on genotoxic thresholds *in vivo*.

Keywords: genotoxic thresholds, DNA repair, translesion DNA synthesis

本間正充：遺伝毒性物質に閾値はあるのか？

ファルマシア, **45**, 143-148 (2009)

食品の安全性に対して、多くの国民が関心を寄せている今日、残留農薬や食品添加物等の食品中に含まれる微量の化学物質の安全性が問題となっている。多くの化学物質の毒性は、健康リスクを評価する場合、理論的、実証的研究から、これ以下であれば健康影響が見られないレベル、すなわち閾値がある用量反応モデルが用いられてきた。これにより一日摂取許容量(Acceptable Daily Intake; ADI)を定めることができる。しかしながら、その

化学物質の発がん性が問題となり、さらに遺伝毒性が認められるとやっかいである。他の毒性と異なり遺伝毒性には閾値がないとされているため、摂取量をゼロにしない限り、健康リスクもゼロにならないとの論理からADIを設定することができない。ここに遺伝毒性発がん物質のリスク管理の問題点がある。

Keywords: 遺伝毒性, 閾値, Virtual safety dose (VSD)

Masumura, K. and Nohmi, T.: Spontaneous mutagenesis in rodents: spontaneous gene mutations identified by neutral reporter genes in *gpt* delta transgenic mice and rats

Journal of Health Science, **55**, 40-49 (2009)

We have developed *gpt* delta transgenic mice (C57BL/6J background) and rats (Sprague-Dawley, SD and F344), which have the ability to identify both point mutations by the *gpt* assay and certain types of deletions by the Spi assay. The average spontaneous *gpt* mutation frequencies (MFs) are about 4.5×10^6 in both SD and F344 *gpt* delta rats as well as in *gpt* delta mice. The G:C to A:T transitions at 5'-CpG-3' sites and G:C to T:A transversions are the predominant spontaneous *gpt* mutations in rats and mice. However, there is one false mutation (e.g. A:T to T:A at position 299) in the rats. The base substitution may have arisen when the lambda EG10 transgene was introduced into the rat genome during transgenesis. In the Spi assay, 1 bp deletions in repetitive sequences are predominantly observed in both mice and rats. Possible mechanisms underlying the spontaneous mutations in *gpt* delta rodents are discussed.

Keywords: *gpt* delta transgenic mouse and rat, *gpt* assay, Spi assay

広瀬明彦, 平野靖史郎*: フロンティアレポート ナノ粒子・ナノ材料の健康問題 -その3- 「ナノ粒子の毒性・健康問題」

日本衛生学雑誌, **63**, 739-745 (2008)

As described before in the first Frontier Report of this series, there are two types of nanoparticles to be considered in hygiene science; One is the environmental nanoparticle emitted from automobiles and the other is the manufactured nanoparticle. In general nanoparticles (less than 100 nm) are reported to be permeable through cell membrane and tissues and their large surface area is responsible for the greater toxicity compared to larger particles. However, there are contradictory reports on the health effects of nanoparticles. Recent reports suggest that carbon nano-

tubes, fiber-shaped biopersistent nanoparticles, resemble asbestos in the pathogenesis of granuloma and mesothelioma. As such we summarize health effects of environmental and manufactured nanoparticles in the literature so far including our studies, in this report.

Keywords: environmental nanoparticle, manufactured nanoparticle, dose metric

* 国立環境研究所

広瀬明彦：器具・容器包装に用いられる合成樹脂の毒性評価の考え方

日本包装学会誌, 18, 3-10 (2008)

合成樹脂製の器具・容器包装には、その製造過程において原料モノマー、触媒、添加剤、原料中あるいは反応過程で生じる不純物など多種多様な化学物質が樹脂内に存在し、使用方法によってはその一部が食品中に溶出し、我々が摂取する可能性があると考えられる。これらの物質の健康影響に対する安全性を確保するためには、理想的には全ての物質についてその毒性の強さを評価すると共に実際の摂取量を算定し、その比較を行うことによって健康影響評価を行う、必要な場合は基準の設定を行うことが求められる。しかし、全ての物質について、健康影響評価を行うことは現実的に不可能であるほか、使用形態や接触する食品の特性などに応じて化学物質の食品への溶出量は様々に変化するため、食品添加物のように添加量を基にした評価は困難である。そのため、欧米の規制当局では、これらの物質に対する健康影響評価手法として、合成樹脂からの各化学物質の溶出量に基づいて推定暴露量を求め、これに対応した毒性試験項目を要求しその評価を行っている。また、安全性確保のためには、その評価に基づいて使用できるモノマー、添加剤等のポジティブリストを策定して対応している。一方、我が国においては、業界団体ごとの自主基準とそれらのポジティブリストで対応が行われている。これらのことを考慮し、我々は、食品健康評価技術研究として、我が国における食品と接触して使用される合成樹脂製器具・容器包装に由来する化学物質の健康影響を評価するためのガイドライン案の提案を行った。本稿では特に毒性評価法の基本的な考え方について概説する。

Keywords: Food contact use, plastics, Toxicological Threshold of Concern

Matsumoto, M., Hirose, A. and Ema, M.: **Review of testicular toxicity of dinitrophenolic compounds, 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol, 4,6-dinitro-o-cresol and 2,4-dinitrophenol**

Reprod. Toxicol., 26, 185-190 (2008)

The present review paper summarizes the data available in the literature concerning dinitrophenolic compounds and evaluates male reproductive toxicity in experimental animals. Gavage and feeding doses of 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol (dinoseb; CAS No. 88-85-7) manifested testicular toxicity, and 4,6-dinitro-o-cresol (DNOC; CAS No. 534-52-1) showed similar but weaker testicular toxicity in laboratory animals. Consecutive doses of dinoseb and DNOC by gavage seemed to induce spermatotoxicity by disturbing spermiogenesis or the maturation process of sperm in the epididymis, and the most probable target cells of spermatotoxicity were thought to be testicular spermatids in rats. Prolonged exposure to dinoseb and DNOC in the diet also induced testicular toxicity in rats. However, the feeding dose of dinoseb irreversibly affected the early stage of spermatogenesis and produced infertility in rats. On the other hand, 2,4-dinitrophenol (DNP; CAS No. 51-28-5) did not show testicular toxicity in laboratory animals according to available literature. Further studies in laboratory animals with nitrophenolic compounds are required for clarification of their testicular toxicity and for risk assessment in humans.

Keywords: Dinitrophenolic compounds, Testicular toxicity, Humans

Matsumoto, M., Poncipe, C. * and Ema, M.: **Review of developmental toxicity of nitrophenolic herbicide dinoseb, 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol**

Reprod. Toxicol., 25, 327-334 (2008)

The present review paper summarizes the data available in the literature concerning prenatal exposure to dinoseb (2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol; CAS No. 88-85-7), evaluating reported developmental toxicity in experimental animals. In particular, we have focused on the variable factors in the manifestation of the developmental toxicity of dinoseb. In this review, we showed that developmental toxicity of dinoseb was remarkably different between animal species used in experiments. Teratogenicity was detected in rats fed a diet containing dinoseb, in mice given dinoseb by gavage, intraperitoneally or subcutaneously, and in rabbits given dinoseb by gavage or dermally. Teratogenicity in rats given dinoseb by gavage was influenced by the dietary composition used in the experiments. We postulated that evaluation of the developmental toxicity after exposure by anticipated routes of human exposure would be important for risk assessment in humans.

Keywords: 2,4-Dinitrophenol, Risk Assessment, Species Specificity

* SafePharm Laboratories Ltd.

松本真理子, 山本展裕^{*1}, 宮地繁樹^{*2}, 菅谷芳雄^{*3}, 江馬 眞: **OECD高生産量化学物質点検プログラム: 第25回初期評価会議概要**

化学生物総合管理, 4, 136-143 (2008)

第25回のOECD高生産量化学物質初期評価会議が, 2007年10月17-18日にフィンランドのヘルシンキで開催された。この会議では計106物質の初期評価文書について審議され, すべての初期リスク評価結果および評価結果に基づく措置に関する勧告が合意された。日本政府は, Guanidine, N,N'-bis(2-methylphenyl)- (CAS:97-39-2)の初期評価文書を提出し合意が得られた。本稿では, 第25回初期評価会議の討議内容の概要を報告する。

Keywords: OECD, HPV, SIDS Initial Assessment Meeting

^{*1} 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室

^{*2} 化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所

^{*3} 国立環境研究所環境リスク研究センター

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹^{*1}, 菅野誠一郎^{*2}, 菅谷芳雄^{*3}, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬 眞: **OECD化学物質対策の動向(第14報) - 第23回, 第24回OECD高生産量化学物質初期評価会議(2006年済州, 2007年パリ)**

化学生物総合管理, 4, 225-236 (2009)

第23回OECD高生産量化学物質初期評価会議(SIAM 23)が2006年10月に韓国・済州で開催され, 日本が提出した2物質の初期評価文書について合意が得られた。また, SIAM 24が2007年4月にフランス・パリで開催され, 日本が提出した2物質および物質カテゴリーを構成する1物質の初期評価文書については全ての評価結果の合意が得られた。本稿では本会議で合意の得られたこれらの物質および物質カテゴリーの初期評価文書について紹介する。

Keywords: OECD, HPV programme, SIDS Initial Assessment Meeting

^{*1} 化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所

^{*2} 労働安全衛生総合研究所

^{*3} 国立環境研究所環境リスク研究センター

松本真理子, 宮地繁樹^{*1}, 菅谷芳雄^{*2}, 江馬 眞, 広瀬明彦: **OECD高生産量化学物質点検プログラム: 第26回**

初期評価会議概要

化学生物総合管理, 4, 237-245 (2009)

第26回のOECD高生産量化学物質初期評価会議が, 2008年4月16-18日にフランスのパリで開催された。この会議では計24物質の初期評価文書について審議され, 12物質の初期リスク評価結果および評価結果に基づく措置に関する勧告が合意された。日本は, 政府が原案を作成したBenzoic acid 4-methyl- (CAS:99-94-5) および国際化学工業協会協議会(ICCA)が原案作成したSodium sulfite (CAS:7757-83-7)の初期評価文書を提出し合意が得られた。本稿では, 第26回初期評価会議の討議内容の概要を報告する。

Keywords: OECD, HPV programme, SIDS Initial Assessment Meeting

^{*1} 化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所

^{*2} 国立環境研究所環境リスク研究センター

松本真理子, 宮地繁樹^{*1}, 菅谷芳雄^{*2}, 広瀬明彦: **OECD高生産量化学物質点検プログラム: 第27回初期評価会議概要**

化学生物総合管理, 5, 105-115 (2009)

第27回のOECD高生産量化学物質初期評価会議が, 2008年10月14-16日にカナダのオタワで開催された。この会議では計35物質の初期評価文書について審議され, すべての初期リスク評価結果が合意された。日本は, 政府が原案を作成したSodium p-toluenesulfonate (CAS: 657-84-1), 国際化学工業協会協議会(ICCA)が原案作成した1,3-Benzenediol (CAS: 108-46-3) およびEUの評価文書をもとに作成されたN-cyclohexylbenzothiazole-2-sulphenamide (CAS:95-33-0)の初期評価文書をドイツと共に提出した。本稿では, 第27回初期評価会議の討議内容の概要を報告する。

Keywords: OECD, HPV, SIDS Initial Assessment Meeting

^{*1} 化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所

^{*2} 国立環境研究所環境リスク研究センター

大野泰雄, 堀井郁夫^{*1}: “非臨床安全性試験のタイミング, 非臨床試験マニュアル” 野村 護, 堀井郁夫, 吉田武美監修, エルアイシー出版(2008), pp.37-62

^{*1}: ファイザー

大野泰雄: “治験における新しい手法(マイクロドーズ臨床試験), GCPハンドブック”, 渡邊裕司監修, じほう社(2009), pp.22-32

川西 徹: “バイオ医薬品における規格設定・試験法の考え方”, 情報機構, 東京(2008), pp.409-418

川西 徹: “ICHガイドライン” 浅越正監修, シーエムシー出版, 東京(2008), pp.292-301

坂本知昭: “分析法バリデーション”, 第1章 分析法バリデーション概要 — 規制当局の考え方 — 情報機構, 東京(2008), pp.3-13

坂本知昭: “試験検査室管理指針について”, 技術情報協会, 東京(2008), pp.248-254

坂本知昭: “<分野/材料別>造粒事例と頻出Q&A集 第6章 造粒物の評価方法 第10問 造粒物の品質分析・評価技術～医薬品設計・品質評価における分析アプローチとは?”, 情報機構, 東京(2008), pp.241-250

坂本知昭: “展望とトピックス 医療・生命部門 テラヘルツ波で医薬品を評価する”, 日本分析化学会, 東京(2008), pp.15

川崎ナナ, 石井明子, 荒戸照世*, 山口照英: “抗体医薬品の構造及び品質特性解析”

抗体医薬品における規格試験法・製造と承認申請. サイエンス&テクノロジー, 東京(2009), pp.119-132

* (独) 医薬品医療機器総合機構

川崎ナナ, 橋井則貴, 山口照英: “マスマスペクトロメトリーにより糖鎖の異常を解明する”

文部科学省特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能解析」(Functional GLycomics)研究成果公開発表シンポジウム「第3の生命鎖: 糖鎖の謎が今, 解る」, 古川鋼一監修, クバプロ, 東京(2008), pp.151-157

Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, and Teruhide Yamaguchi: “LC/MS of oligosaccharides”

Experimental Glycoscience, Eds. Naoyuki Taniguchi, Akemi Suzuki, Yasunari, Itoh, Hisashi Narimatsu, Toshiyuki Kawasaki, Sumihiro Hase, Springer, Tokyo (2008), pp.39-41

合田幸広: “食品添加物活用ハンドブック I・II”, 分担執筆, 日本食品化学学会編, 産業調査会事典出版センター, 東京(2008)

合田幸広: “食品安全の事典”, 分担執筆, 日本食品衛生学会編, 朝倉書店, 東京(2009)

Isama, K., Tsuchiya, T.: “Gamma-ray Irradiated Poly(L-lactide) for Bone Repair”, Biomaterials in Asia, Tateishi, T. ed., World Scientific Publishing Company, Singapore (2008), pp. 254-265

澤田留美, 土屋利江: “細胞組織医療機器の品質・安全性—ヒト間葉系幹細胞の遺伝子発現を指標とした特性解析—”, 幹細胞の分化誘導と応用—ES細胞・iPS細胞・体性幹細胞研究最前線—, エヌ・ティー・エス, 東京(2009), pp.496-508

松田りえ子(分担執筆): “食品安全の事典”, 信頼性保証, 汚染物の一日摂取量調査, その他の摂取量調査, 日本食品衛生学会編集, 朝倉書店, 東京(2009), pp.78-79, pp.574-577, pp.587-589

根本 了(分担執筆): “食品安全の事典”, 食品中残留農薬の分析法, 日本食品衛生学会編集, 朝倉書店, 東京(2009), pp.289-292

村山三徳(分担執筆): “食品安全の事典”, シアン配糖体, 食品中動物用医薬品・飼料添加物に対する規制, 日本食品衛生学会編集, 朝倉書店, 東京(2009), pp.235-236, pp.326-328

宮原 誠(分担執筆): “食品安全の事典”, TL法, その他の照射食品検知法, 日本食品衛生学会編集, 朝倉書店, 東京(2009), pp.549-555

長岡(浜野) 恵(分担執筆): “食品安全の事典”, ヒ素, 日本食品衛生学会編集, 朝倉書店, 東京(2009),

pp.240-242

渡邊敬浩 (分担執筆)：“**食品安全の辞典**”，遺伝子組換え食品・検知法，日本食品衛生学会編集，朝倉書店，東京 (2009)，pp. 536-540

河村葉子：“**食品添加物活用ハンドブック I 食品添加物 実用必須知識編**”，日本食品化学学会編食品添加物活用ハンドブック企画編集委員会，産業調査会事典出版センター，東京 (2009)，pp.70-73

佐藤恭子：“**食品添加物活用ハンドブック I 食品添加物 実用必須知識編**”，日本食品化学学会編食品添加物活用ハンドブック企画編集委員会，産業調査会事典出版センター，東京 (2009)，pp.23-25

山崎 壮：“**食品添加物活用ハンドブック I 食品添加物 実用必須知識編**”，日本食品化学学会編食品添加物活用ハンドブック企画編集委員会，産業調査会事典出版センター，東京 (2009)，pp.26-36

棚元憲一：“**食品添加物活用ハンドブック I 食品添加物 実用必須知識編**”，日本食品化学学会編食品添加物活用ハンドブック企画編集委員会，産業調査会事典出版センター，東京 (2009)，pp.17-22，pp.37-42

河村葉子：“**食品の化学物質危害防止ハンドブック**”，サイエンスフォーラム，東京 (2009)，pp.243-250

河村葉子：“**食品安全の事典**”，日本食品衛生学会編集，朝倉書店，東京 (2009)，pp.370-374

佐藤恭子，高橋仁一，丸山進平，山崎 壮：“**食品安全の事典**”，日本食品衛生学会編集，朝倉書店，東京 (2009)，pp.343-355

棚元憲一：“**エンドトキシン試験法 新GMP微生物試験法**”，佐々木次雄，棚元憲一，川村邦夫編集，株式会社じほう，東京 (2008)，pp.244-270

五十君静信：“**バイオセーフティの事典－病原微生物とハザード対策の実際－**”，カンピロバクター，医学評論社，東京 (2008)，pp. 172-173

五十君静信：“**ズーノーシスハンドブック**”，リステリア症，メディカルサイエンス，東京 (2009)

五十君静信：“**食品安全の事典**”，朝倉書店，東京 (2009)，pp.140-146，pp.152-154

小西良子，田端節子：“**食品安全の事典**”，2.4カビ毒 (マイコトキシン)，日本食品衛生学会，(株)朝倉書店，東京 (2009)，pp.244-254

工藤由起子，小沼博隆：“**食品安全の事典**”微生物の検査方法

日本食品衛生学会編集，朝倉書店，東京 (2009)，pp.150-152，pp.413-418

工藤由起子：“**ビブリオ・バルニフィカス**”，1.食中毒分野 II.各論 食品安全の事典
日本食品衛生学会編集，朝倉書店，東京 (2009)

Sai, K., Minami, H., Saito, Y. and Sawada, J.:” **Impact of UDP- glucuronosyltransferase 1A haplotypes on irinotecan treatment**”，In: Cancer Drug Discovery and Development: Genomics and Pharmacogenomics in Anticancer Drug Development and Clinical Response, ed., Innocenti, F. Humana Press, Totowa, NJ (2008)，pp.267-286

森川 馨，田崎武信：“**治験の統計解析 理論とSASによる実践**”，講談社，東京 (2009) (翻訳)

山本 都他，“**必携NBCテロ対処ハンドブック**”，診断と治療社，東京 (2008)，pp.11-32

登田美桜，畝山智香子，山本 都，森川 馨，“**いわゆる健康食品・サプリメントによる健康被害症例集**”，同文書院，東京 (2008)，pp.19-24

林 裕造，豊福 肇，畝山智香子：“**食品安全リスク分析**”，社団法人日本食品衛生協会，東京 (2008) (翻訳)

森田 健，城内 博：“**GHS健康有害性分類のための毒性情報収集ガイダンス**”，化学工業日報社，東京 (2008)

Saito, M., Hasegawa, R.:” **Investigation of new molecular entities of drugs approved in three regions, Japan, US and EU**”，in Drugs: Approval and Evaluation, Delivery and Control, ed. Hartmann, A. O., Neumann, L. K., Nova Science Publishers, Inc., New York (2008)，pp. 141-148

穂山 浩：“食品安全の事典”，日本食品衛生学会編集，朝倉書店，東京(2009)，pp.264-268

菅野 純，北嶋 聡，相崎健一，五十嵐勝秀，小川幸男，関田清司：“トキシコゲノミクスの大規模高精度データベースの構築と解析”，非臨床試験－ガイドラインへの対応と新しい試み－，野村護，堀井郁夫，吉田武美編集，株式会社エル・アイ・シー，東京(2008)，pp.561-568

Hirabayashi, Y., and Inoue, T.: “**Principles of data-mining in toxicogenomics**”, Toxicogenomics: A Powerful Tool for Toxicity Assessment, Ed. S. C. Sahu, John Wiley & Sons, Ltd., Hoboken, NJ (2008), pp. 57-84

簾内桃子：“ヒト肝細胞の調整，保存，および代謝・毒性研究への利用”，非臨床試験－ガイドラインへの対応と新しい試み－，野村護，堀井郁夫，吉田武美編集，株式会社エル・アイ・シー，東京(2008)，pp.480-493

小野 敦：“トキシコゲノミクス 3) 医薬品安全性評価とヒトにおける副作用予測”，遺伝子医学MOOK 10 DNAチップ/マイクロアレイ臨床応用の実際，油谷浩幸監修，株式会社メディカルドゥ，大阪(2008)，pp.378-386

日局へパリンナトリウム/カルシウム純度試験原案及び共同検定結果：川崎ナナ，橋井則貴，山口照英
厚生労働省庁費（平成20年4月～6月）
平成20年6月厚生労働省に報告

ソウジュツ及びソウジュツを含む漢方処方製剤（平胃散及び胃苓湯），ガジュツ及びガジュツを含む生薬製剤の分析試験：合田幸広，鎌倉浩之
医療用後発医薬品品質確保対策事業経費（平成19年4月～平成20年3月），平成20年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

健康食品買い上げ調査報告（瘦身用健康食品）：合田幸広，鎌倉浩之
医薬品審査等業務庁費健康食品買い上げ調査経費（平成19年4月～平成20年3月），平成20年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

あへん中のモルヒネ含量試験：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，最所和宏
アヘン等取り扱い業務庁費（平成20年4月～平成21年3月）平成20年10月及び平成21年3月（インド産あへん），平成20年10月（国産あへん）厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

麻薬及び向精神薬取締法に基づく薬物鑑定法策定・標準品整備について－鑑識用麻薬標準品の製造について（LSD及びオキシコドン塩酸塩）－：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子
厚生労働省庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

麻薬及び向精神薬取締法に基づく薬物鑑定法策定・標準品整備について－分析マニュアル策定について－：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，最所和宏
厚生労働省庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

健康食品買上調査における成分分析の実施について－強壯用健康食品－：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，最所和宏
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

健康食品買上調査における成分分析の実施について－強壯用健康食品－（ヨヒンビン）：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，最所和宏
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

違法ドラッグ買上調査における成分分析の実施について：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，最所和宏
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

違法ドラッグ買い上げ調査における成分分析の実施について（新規流通化合物の検出）：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の麻薬指定調査の実施について，1) 試験に供する標準品試料の確保，2) 試料の標準分析法の開発：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

違法ドラッグの分析法等の調査について：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

麻薬対策等において必要とされる薬物の鑑定法策定及び標準品整備等について：合田幸広，花尻（木倉）瑠理，緒方潤
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月），平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

平成20年度ナビゲーション医療（手術ロボット）第二分野（軟組織対象）審査ワーキンググループ報告書：森川康英^{*}，土屋利江，配島由二，植松美幸
厚生労働本省医薬品等審査業務庁費（平成20年4月～平

成21年3月), 平成21年4月厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室へ報告

* 慶応義塾大学

平成20年度ニューロモジュレーション分野審査ワーキンググループ報告書: 吉峰俊樹*, 土屋利江, 中岡竜介, 迫田秀行, 石川 格

厚生労働本省医薬品等審査業務庁費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年4月厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室へ報告

* 大阪大学

平成20年度再生医療(細胞シート)審査ワーキンググループ報告書: 西田幸二*, 土屋利江, 澤田留美, 加藤玲子
厚生労働本省医薬品等審査業務庁費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年4月厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室へ報告

* 東北大学

繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類の実態調査: 河上強志, 伊佐間和郎, 土屋利江, 松岡厚子
家庭用品等試験検査費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年5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

視力矯正を目的としないカラーコンタクト: 中岡竜介, 土屋利江
医薬品審査等業務庁費 (平成20年12月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室に報告

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, 西村哲治
環境省環境保全費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年6月環境省水・大気環境局大気環境課に報告

大型家庭用品に起因する室内空気環境汚染化学物質に関する調査: 神野透人, 香川聡子, 西村哲治
家庭用品等試験調査費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21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

アトピーへの効能を標榜する化粧品のステロイド配合に関する検査結果: 五十嵐良明

医薬品審査等業務庁費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

トリブロムサランの分析法に関する研究: 五十嵐良明
医薬品審査等業務庁費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬食品局審査管理課に報告

ニトロフラン系化合物の分析法に関する研究(中間報告): 五十嵐良明
医薬品審査等業務庁費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬食品局審査管理課に報告

塩化ストロンチウムの分析法に関する研究: 内野 正, 五十嵐良明, 西村哲治
医薬品審査等業務庁費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬食品局審査管理課に報告

水道法第20条に基づく水質検査を実施する検査機関を対象とした外部精度管理調査: 西村哲治, 杉本直樹, 久保田領志
厚生労働省食品等試験研究費水質管理調整費 (平成20年7月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省健康局水道課に報告

水質基準等検査方法検討調査: 西村哲治, 杉本直樹, 久保田領志
厚生労働省食品等試験研究費水質管理調整費 (平成20年7月～平成21年3月), 平成21年3月厚生労働省健康局水道課に報告

残留農薬等に関するポジティブリスト制度導入に係る分析法開発: 畜水産物中のエンロフロキサシン, オキシロニック酸, オフロキサシン, オルビフロキサシン, サラフロキサシン, ジフロキサシン, ダノフロキサシン, ナリジクス酸, ノルフロキサシン, フルメキン及びマルボフロキサシン試験法の開発: 坂井隆敏, 根本 了, 松田りえ子
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21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

残留農薬等に関するポジティブリスト制度導入に係る分析法開発: 畜水産物中のマラカイトグリーン試験法の開発: 坂井隆敏, 根本 了, 松田りえ子
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費 (平成20年4月～平成21年3月), 平成21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

残留農薬等に関するポジティブリスト制度導入に係る

分析法開発：畜水産物中のヒドロコルチゾン及びそのエステル類の試験法の開発：坂井隆敏，根本 了，松田りえ子

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

残留農薬等に関するポジティブリスト制度導入に係る分

析法開発：農産物中のピンドン試験法の開発：齊藤静夏，根本 了，松田りえ子

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

加工食品中の残留農薬等試験法等開発事業：加工食品中

に高濃度に残留する農薬等試験法の検討：坂井隆敏，根本 了，松田りえ子

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品中の汚染物質に係わる試験法の開発及び実態調査－

過塩素酸：松田りえ子，渡邊敬浩，高附 巧

食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品中の汚染物質に係る試験法の開発および実態調査－

多摂取食品群におけるヒ素：松田りえ子，渡邊敬浩

食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品中の汚染物質に係わる試験法の開発及び実態調査－

即席めん類の過酸化物価の測定法見直し：松田りえ子，渡邊敬浩

食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品中の汚染物質等の一日摂取量調査－一食当たり試料

(one serving 試料)の分析によるトランス脂肪酸摂取量の推定：松田りえ子，渡邊敬浩，高附 巧

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成

21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

食品中の汚染物質等の一日摂取量調査－モニタリング

データの集計と解析によるアセタミプリド汚染実態調

査：松田りえ子，渡邊敬浩
食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品中の汚染物質等の一日摂取量調査－焼き菓子里に含ま

れるシアン：松田りえ子，渡邊敬浩

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

輸入食品への化学物質等の混入を踏まえた緊急検査：松

田りえ子，渡邊敬浩

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

放射線照射された食品を対象とした検知法に関する検

証：堤智昭，渡邊敬浩，松田りえ子

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

国際的に汎用されている添加物の指定に向けた調査研究

等：建部（佐々木）千絵，古庄紀子，久保田浩樹，佐藤

恭子，棚元憲一
食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品添加物の規格基準の設定及び改良並びに製造基準の

改良等：建部（佐々木）千絵，河崎裕美，久保田浩樹，

佐藤恭子，棚元憲一
食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

食品添加物一日摂取量調査：佐藤恭子，久保田浩樹，

建部（佐々木）千絵，棚元憲一，浦嶋幸雄¹，関根百合子²，佐藤睦実²，田口信夫³，西岡千鶴⁴，安永 恵⁴，

川原るみ子⁵，酒井國嘉⁵，古謝あゆ子⁶
食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成

21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 長崎市保健環境試験所
- ⁶ 沖縄県衛生環境研究所

食品中の食品添加物分析法の設定－亜塩素酸水及びナイン分析に関する研究：久保田浩樹，伊藤裕才，佐藤恭子，棚元憲一

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

未指定添加物等対策－食品中のピコリン酸クロムの試験法に関する研究：久保田浩樹，建部（佐々木）千絵，河崎裕美，佐藤恭子，棚元憲一，中里光男¹，中西 資²，飯塚太由³，高畑 薫⁴，前田 守⁵

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

- ¹ 東京都健康安全研究センター
- ² 日本食品分析センター
- ³ 食品環境検査協会
- ⁴ 東京都食品衛生協会
- ⁵ 日本冷凍食品検査協会

第9版食品添加物公定書策定に向けた一般試験法等の検討：河崎裕美，久保田浩樹，建部（佐々木）千絵，古庄紀子，秋山卓美，伊藤裕才，杉本直樹，多田敦子，佐藤恭子，山崎 壮，棚元憲一

食品等試験検査費第9版食品添加物公定書策定に向けた一般試験法等の検討費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

構造活性相関に基づく食品香料化合物の安全性予測に関する研究：山崎 壮，佐藤恭子，棚元憲一，広瀬明彦，鎌田栄一，小野 敦，本間正充，山田雅巳，日本香料工業会

食品等試験検査費構造活性相関に基づく食品香料化合物の安全性予測調査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

既存添加物の成分規格の設定に関する研究：秋山卓美，伊藤裕才，杉本直樹，多田敦子，佐藤恭子，山崎 壮，棚元憲一

食品等試験検査費既存添加物の成分規格の設定費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

フタル酸エステル6種類の試験法の開発：阿部 裕，六鹿元雄，河村葉子

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

スズ合金製器具からの鉛等の溶出に係る試験検査：六鹿元雄，河村葉子

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

ナイロン製品中のモノマー類等の試験検査：六鹿元雄，山口未来，河村葉子

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

竹ばし等からの金属類の溶出に関する検討：六鹿元雄，河村葉子

食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月），平成21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

牛乳の加熱殺菌処理の妥当性に関する調査研究：五十君 静信，岡田由美子

食品等試験検査費（平成20年9月～平成21年3月），平成21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

ノロウイルス不活化条件に関する調査：山本茂貴，野田 衛

食品等試験検査費（平成20年10月～平成21年3月），平成21年5月厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課に報告

食中毒汚染実態調査の検査法に係る調査：小西良子，宮原美知子

厚生労働省食品等安全確保対策費食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課に報告

食品中のカビ毒の分析法にかかる試験検査：小西良子，鎌田洋一，杉山圭一

厚生労働省食品等安全確保対策費食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課に報告

カビ毒同時試験法開発と分布調査：小西良子，鎌田洋一，杉山圭一

厚生労働省食品等安全確保対策費食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課に報告

食品中のカビ毒にかかる試験検査：小西良子，鎌田洋一，杉山圭一

厚生労働省食品等安全確保対策費食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課に報告

食中毒菌汚染実態調査：小西良子，宮原美知子，鎌田洋一，工藤由起子，大西貴弘

厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課に平成20年6月実態調査方法を報告

遺伝子組換え食品検査の外部精度管理について：穂山浩，中島 治，手島玲子

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室に報告

安全性未承認GM食品監視対策：穂山 浩，近藤一成，手島玲子

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課に報告

網で無分別に捕獲した魚介類に含まれるエビ・カニに関する調査- (1) 健康食品中に含まれる甲殻類タンパク質の実態調査 (2) 食品原材料中に含まれる甲殻類の実態調査：手島玲子，安達玲子，穂山 浩，酒井信夫
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課に報告

輸出国における農薬等の使用状況等に関する調査：山本 都，登田美桜，畝山智香子，森川 馨
食品等試験検査費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課に報告

クローン動物由来食品の安全性等に関する文献収集調査の実施：登田美桜，山本 都，畝山智香子，森川 馨
食品等試験検査費（平成20年5月）、平成20年5月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室に報告

クローン動物由来食品の安全性等に関する文献収集調査の実施：登田美桜，山本 都，畝山智香子，森川 馨
食品等試験検査費（平成20年6月）、平成20年6月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室に報告

毒物劇物指定調査のための有害性情報の収集：8種の薬事法指定薬物の有害性情報調査（4-アセトキシ-N,N-ジイソプロピルトリプタミン [936015-60-0]，N-イソプロピル-N-メチルトリプタミン [96096-52-5]，N-イソプロピル-5-メトキシ-N-メチルトリプタミン [96096-55-8]，2-(4-エチル-2,5-ジメトキシフェニル)エタンアミン [71539-34-9]，2-(4-クロロ-2,5-ジメトキシフェニル)エタンアミン [88441-14-9]，サルピノリンA [83729-01-5]，N,N-ジイソプロピルトリプタミン [14780-24-6]およびN,N-ジエチル-5-メトキシトリプタミン [2454-70-8]）：
森田 健，森川 馨
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月）、平成21年3月厚生労働省医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

医療用医薬品の使用実態に関する調査

頭金 正博，斎藤 充生，長谷川 隆一
医薬品審査等業務庁費（平成20年4月～平成21年3月）
平成21年6月厚生労働省医薬品食品局安全対策課に報告

F344ラットによるばい煎コメヌカ抽出物の90日間反復投与毒性試験（最終報告）：関田清司，斎藤 実，小川幸男，松島裕子，菅野 純
食品等試験検査費（平成16年4月～平成17年3月）、平成21年1月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課に報告

N-エチルメタトルイジンの毒性試験に関する報告（ヒト皮膚3次元モデル *in vitro* 皮膚腐食性試験）：モルモット

を用いた皮膚感作性試験, ウサギを用いた急性皮膚刺激性試験, ラットを用いた急性経皮毒性試験): 関田清司, 斉藤 実, 菅野 純
医薬品審査等業務庁費 (平成18年4月~平成20年3月), 平成20年8月厚生労働省医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

2-アミノ-4-クロロフェノールの急性毒性試験に関する報告 (ヒト皮膚3次元モデル *in vitro* 腐食性試験, ラット用いた急性経皮毒性試験): 関田清司, 斉藤 実, 菅野 純
医薬品審査等業務庁費 (平成18年4月~平成20年3月), 平成20年7月厚生労働省医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

塩基性第二銅アンモニウムの急性毒性試験に関する報告 (ヒト皮膚3次元モデル *in vitro* 腐食性試験, ラットを用いた急性経口毒性試験, ラットを用いた急性経皮毒性試験): 関田清司, 斉藤 実, 菅野 純
医薬品審査等業務庁費 (平成18年4月~平成20年3月), 平成20年7月厚生労働省医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

3-クロロ-1,2-プロパンジオールの急性毒性試験に関する報告 (ヒト皮膚3次元モデル *in vitro* 腐食性試験): 関田清司, 安東朋子, 斉藤 実, 菅野 純
医薬品審査等業務庁費 (平成19年4月~平成20年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

オキシ三塩化バナジウムの急性毒性試験に関する報告 (ヒト皮膚3次元モデル *in vitro* 腐食性試験): 関田清司, 安東朋子, 斉藤 実, 菅野 純
医薬品審査等業務庁費 (平成19年4月~平成20年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬品食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告

F344ラットによるプロポリスの1年間反復投与毒性試験法による長期投与効果: 菅野 純, 関田清司, 北嶋 聡, 斎藤 実, 小野 敦, 松島裕子, 小川幸男
食品等業務庁費 (平成11年4月~平成20年3月), 平成19年11月厚生労働省医薬品食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室に報告

腐食性試験代替法の提案: 井上 達, 小島 肇
国際的動向を見据えた先端的安全性試験法の開発と評価に関する研究業務庁費 (平成20年4月~平成21年3月),

平成20年8月厚生労働省医薬審査課に報告

皮膚感作性試験代替法(LLNA-DA法)の提案: 井上 達, 小島 肇
国際的動向を見据えた先端的安全性試験法の開発と評価に関する研究業務庁費 (平成20年4月~平成21年3月), 平成20年11月厚生労働省医薬審査課に報告

レバミゾールの癌原性試験(最終報告書): 梅村隆志, 今沢孝喜, 石井雄二, 木島綾希, 西川秋佳
食品等試験検査費 (平成19年4月~平成20年3月), 平成21年3月厚生労働省医薬品食品局安全部基準審査課に報告

ラットを用いた塩酸セミカルバジドの慢性毒性・発がん性併合試験 (平成20年度中間報告書) 90日反復投与毒性試験: 高橋美和, 森川朋美, 井上 薫, 吉田 緑, 西川秋佳
食品等試験検査費 (平成19年4月~平成20年3月), 平成21年2月厚生労働省医薬品食品局安全部基準審査課に報告

没食子酸の90日間反復投与毒性試験および慢性毒性試験 (最終報告書): 高橋美和, 森川朋美, 井上 薫, 吉田 緑, 西川秋佳
食品等試験検査費 (平成17年4月~平成21年3月), 平成20年12月厚生労働省医薬品食品局安全部基準審査課に報告

既存化学物質等安全性調査 (1-クロロナフタレンに関する28日間反復投与毒性試験): 広瀬明彦, 小野 敦, 平田睦子, 鎌田栄一
家庭用品等試験調査費 (平成20年4月~平成21年3月), 平成21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 (3-ニトロフタル酸に関する28日間反復投与毒性試験): 広瀬明彦, 小野 敦, 平田睦子, 鎌田栄一
家庭用品等試験調査費(平成20年4月~平成21年3月), 平成21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

Kurebayashi, H., Nakazawa, K., Ohno, Y.: **Metabolism of bisphenol A in hepatocytes from rats, monkeys and humans**

2nd Asian Pacific regional meeting of for Studies on Xenobiotics (2008.5)

大野泰雄：探索的臨床試験の投与用量設定についてのコメント

第二回APDDミニシンポジウム (2008.5)

大野泰雄：ICH-M3ガイドライン案の改訂ポイントと実施上の課題 -はじめに-

日本トキシコロジー学会 (2008.6)

大野泰雄：厚生労働省基本指針について

HS動物実験実施施設認証事業説明会 (2008.7)

大野泰雄：非臨床試験法を巡る新たな流れ-JaCVAMの活動を中心に-

日本薬剤師研修センター 平成20年度GLP研修会プログラム (2008.11)

Sakaguchi, H.,^{*1}, Ashikaga, T.,^{*2}, Ryan, C.,^{*3}, Ovigne, J-M.^{*4}, Eschrich, D. ^{*5}, Okamoto, K. ^{*6}, Mizuno, M. ^{*7}, Sato, J.^{*8}, Yamada, T. ^{*9}, Yoshida, M. ^{*10}, and Ohno, Y.: **Evaluation of the inter-laboratory reproducibility for the human Cell Line Activation Test (h-CLAT) in the COLIPA and Japan ring trials**

The 21st Meeting of the ERGECD (2008.4)

^{*1} Kao Corporations

^{*2} Shiseido Co., Ltd.

^{*3} The Procter & Gamble Company

^{*4} L'Oréal

^{*5} Phenion-Henkel

^{*6} Kanebo Cosmetics INC

^{*7} Kose Corporation

^{*8} Lion Corporation

^{*9} Nippon Menard Cosmetic Co., Ltd

^{*10} Pola Chemical Industries

小坂七重^{*1}, 稲葉宏幸^{*2}, 岡本賢二^{*3}, 水野 誠^{*4}, 菌さき子^{*5}, 加藤義直^{*6}, 岸 正孝^{*6}, 足利太可雄^{*5}, 岡本裕子^{*4}, 桑原裕史^{*3}, 中村恒彰^{*2}, 坂口 斉^{*1}, 大野泰雄: **In vitro皮膚感作性試験: h-CLAT(human Cell Line**

Activation Test)の日本における共同研究 (第5報) -防腐剤の評価におけるh-CLATの有用性検討-

第21回日本動物実験代替法学会年会 (2008.11)

^{*1} 花王(株)

^{*2} ライオン(株)

^{*3} カネボウ化粧品(株)

^{*4} コーセー (株)

^{*5} 資生堂(株)

^{*6} 日本メナード化粧品(株)

菌さき子^{*1}, 水野 誠^{*2}, 小坂七重^{*3}, 岡本賢二^{*4}, 加藤義直^{*5}, 稲葉宏幸^{*6}, 中村恒彰^{*6}, 岸 正孝^{*5}, 桑原裕史^{*4}, 坂口 斉^{*3}, 岡本裕子^{*2}, 足利太可雄^{*1}, 大野泰雄: **In vitro皮膚感作性試験h-CLAT(human Cell Line Activation Test)の日本における共同研究 (第7報) -香料成分の評価におけるh-CLATの有用性検討-**

第21回日本動物実験代替法学会年会 (2008.11)

^{*1} 資生堂(株)

^{*2} コーセー (株)

^{*3} 花王(株)

^{*4} カネボウ化粧品(株)

^{*5} 日本メナード化粧品(株)

^{*6} ライオン(株)

岡本賢二^{*1}, 加藤義直^{*2}, 岸 正孝^{*2}, 桑原裕史^{*1}, 菌さき子^{*3}, 小坂七重^{*4}, 水野 誠^{*5}, 稲葉宏幸^{*6}, 中村恒彰^{*6}, 岡本裕子^{*5}, 坂口 斉^{*4}, 足利太可雄^{*3}, 大野泰雄: **In vitro皮膚感作性試験h-CLAT(human Cell Line Activation Test)の日本における共同研究 (第6報) -染毛剤の評価におけるh-CLATの有用性検討-**

日本動物実験代替法学会年会 (2008.11)

^{*1} カネボウ化粧品(株)

^{*2} 日本メナード化粧品(株)

^{*3} 資生堂(株)

^{*4} 花王(株)

^{*5} コーセー (株)

^{*6} ライオン(株)

大野泰雄: **マイクロドーズ臨床試験指針と早期探索的臨床試験への期待 早期臨床試験のあり方を考える**
第28回日本臨床薬理学会年会 (2008.12)

大野泰雄：肝細胞を用いた薬物代謝と毒作用解析

日本薬物動態学会，日本トキシコロジー学会，化学工業会バイオ部会，HAB研究機構共同主催シンポジウム「医薬品開発のための細胞アッセイ技術」(2009.1)

大野泰雄：『健康食品』の安全性確保の方向性 食品・健康食品の安全性確保の取組み

第16回健康食品フォーラム (2009.2)

大野泰雄：トキシコゲノミクス

薬学振興会講義 (2009.2)

大野泰雄：マイクロドーズ臨床試験の安全性に関する考察

平成20年度福島学術講演会 (2009.3)

川西 徹：ICH品質トピックの今 -Q8-Q10ガイドラインの背景と今後について-

製剤機械技術研究会 (2008.4)

川西 徹：医薬品の品質管理に関する最近の話題

第45回全国薬事指導協議会総会 (2008.10)

川西 徹：細胞死を視る

第17回日本バイオイメージング学会公開シンポジウム (2008.10)

川西 徹，鈴木琢雄，石井明子，山口照英：バイオフォトニクスプローブによる生体機能や体内動態の解析

第17回日本バイオイメージング学会シンポジウム (2008.10)

四方田千佳子：製剤試験の現状と今後

第33回製剤セミナー (2008.7)

Yomota, C., Hotate, H., Izutsu, K., Kawanishi, T.: **A Novel dissolution test for the transdermal preparations**

68th International Congress of FIP (2008.9)

Yomota, C., Hotate, H., Shibata, H., Kawanishi, T.: **Proposal of a rapid and simple preparation of the simulated intestinal fluids(FeSSIF) without methylene chloride**

American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual Meeting (2008.11)

四方田千佳子：溶出試験を巡る最近の話題

第18回固形製剤処方研究会シンポジウム(2008.12)

四方田千佳子：崩壊試験の現状と今後

PLCM研究会第3回シンポジウム「口腔内速崩壊錠の現状と展望」(2009.1)

Katori, N., Saito, Y., Sai, K., Tatewaki, N., Kaniwa, N., Yomota, C., Kawanishi, T., Minami, H. ^{*1}, Yoshida, T. ^{*1}, Yamamoto, N. ^{*1}, Tamura, T. ^{*1}, Saijo, N. ^{*1}, Sawada, J.: **Effects of genetic polymorphisms of MRP2(ABCC2) on paclitaxel pharmacokinetics in japanese cancer patients haplotype structures and influence of genetic polymorphisms on pharmacokinetics of paclitaxel in a japanese population**

15th ISSX North American Regional Meeting (2008.10)

^{*1} 国立がんセンター

香取典子，斎藤嘉朗，佐井君江，立脇直子，鹿庭なほ子，四方田千佳子，川西 徹，南 博信^{*1}，吉田輝彦^{*1}，山本 昇^{*1}，田村友秀^{*1}，西條長宏^{*1}，澤田純一：**Association of genetic polymorphisms of abc transporters with altered paclitaxel pharmacokinetics in cancer patients**

第23回日本薬物動態学会年会(2008.10)

^{*1} 国立がんセンター

Yamamoto, N.^{*1}, Sato, Y.^{*1}, Tamura, T.^{*1}, Kunitoh, H.^{*1}, Ohe, Y.^{*1}, Katori, N., Sawada, J., Sekine, A.^{*2}, Nakamura, Y.^{*3}, Saijo, N.^{*1}: **Genetic polymorphisms correlate with overall survival in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with carboplatin (CBDCA) and paclitaxel (PTX)**

The 2008 ASCO Annual Meeting (2008.5)

^{*1} 国立がんセンター

^{*2} 理化学研究所

^{*3} 東京大学医科学研究所

山本 昇^{*1}，佐藤泰憲^{*1}，田村友秀^{*1}，軒原 浩^{*1}，関根郁夫^{*1}，国頭英夫^{*1}，大江裕一郎^{*1}，香取典子，斎藤嘉朗，澤田純一，関根章博^{*2}，中村祐輔^{*3}，吉田輝彦^{*1}，南博信^{*1}，西條長宏^{*1}：**進行非小細胞肺癌 (NSCLC) における遺伝子多型と生存の検討**

第49回肺癌学会総会(2008.11)

^{*1} 国立がんセンター

*² 理化学研究所

*³ 東京大学医科学研究所

香取典子, 四方田千佳子, 川西 徹: **最近の試験検査機関間比較による技能試験の状況について**

第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)

伊豆津健一, 四方田千佳子, 川西 徹, 角谷沙織*, 米持悦生*, 寺田勝英*: **カルボン酸塩の凍結乾燥によるガラス固体化と水素結合の寄与**

第54回低温生物工学会大会 (2008.6)

* 東邦大学薬学部

藤井香穂梨*, 伊豆津健一, 四方田千佳子, 川西 徹, 香取知恵*, 吉橋泰生*, 米持悦生*, 寺田勝英*: **熱測定と凍結乾燥顕微鏡を用いた多成分溶液の凍結乾燥条件の検討**

第44回熱測定討論会 (2008.10)

* 東邦大学薬学部

Izutsu, K., Yomota, C., Kawanishi, T., Yonemochi, E.*, Terada, K.*: **Hydrogen-bonding network in glass-state amorphous salt solids**

American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual Meeting (2008.11)

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

Izutsu, K., Yomota, C., Kawanishi, T.: **Effect of fluidity and raft-forming lipid components on the drug permeability phosphatidylcholine-based vesicle barrier**

4th LogP Symposium on PhysChem and ADMET Profiling in Drug Research (2009.2)

藤井香穂梨*, 伊豆津健一, 四方田千佳子, 川西 徹, 香取知恵*, 吉橋泰生*, 米持悦生*, 寺田勝英*: **多成分溶液の凍結乾燥によるマイクロコラプスと製剤設計**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 東邦大学薬学部

伊豆津健一: **添加剤によるタンパク質の安定化機構と製剤設計**

日本薬剤学会第24年会 (2009.5)

藤井香穂梨*, 伊豆津健一, 四方田千佳子, 川西 徹, 吉橋泰生*, 米持悦生*, 寺田勝英*: **凍結乾燥顕微鏡を用いた多成分溶液のコラプス現象評価**

日本薬剤学会第24年会 (2009.5)

* 東邦大学薬学部

Shibata, H., Yomota, C., Kawanishi, T.: **In vitro analysis of drug release from long-circulating liposome-encapsulated doxorubicin**

68th International Congress of FIP (2008.9)

柴田寛子, 齋藤はる奈, 四方田千佳子, 川西 徹: **リポソーム製剤のin vitro薬物放出試験に関する基礎的検討**

日本薬剤学会第24年会 (2009.5)

野村鉄也¹, 吉岡靖雄³, 柴田寛子, 阿部康弘¹, 菘輪恭子⁴, 萱室裕之², 中川晋作¹, 山本 昌⁴, 鎌田春彦², 角田慎一², 堤 康央²: **アンタゴニスト活性を有するI型受容体指向性TNF変異体の評価 (1): 関節リウマチに対する治療効果および安全性の検討**

第24回DDS学会 (2008.6)

¹ 大阪大学薬学研究科

² 医薬基盤研

³ 大阪大学MEIセンター

Yoshida, H., Nishikawa, M.*, Yasuda, S.*, Mizuno, Y.*, Toyota, H.*, Takakura, Y.*: **Unique property of IFN- production upon intravenous injection of CpG plasmid DNA/cationic liposome complex**

The 4th Seoul-Kyoto-Osaka Joint Symposium on Pharmaceutical Sciences for Young Scientists (2008.4)

* 京都大学大学院薬学研究科

吉田寛幸, 西川元也*, 豊田敬康*, 安田幸代*, 水野友美子*, 高倉喜信*: **DNA刺激によるマクロファージ活性化に対するフィブロネクチンの細胞活性化抑制機構の解析**

日本薬剤学会第23年会 (2008.5)

* 京都大学大学院薬学研究科

豊田敬康*, 安田幸代*, 西川元也*, 吉田寛幸, 高倉喜信*: **CpGモチーフを含まないプラスミドDNA / リポソーム複合体によるマクロファージからのサイトカイン産生機構の解析**

日本薬学会第23年会 (2008.5)

* 京都大学大学院薬学研究科

清田豪志*, 吉田寛幸, 西川元也*, 豊田敬康*, 高倉喜信*: **酸化DNAによるCpGモチーフ依存的免疫細胞活性化の増強**

日本薬学会第24年会 (2009.5)

* 京都大学大学院薬学研究科

阿曾幸男, 宮崎玉樹, 川西 徹: **^{13}C 標識ニトレンジピン光学異性体の分子運動性に及ぼす高分子添加剤の影響**
第47回NMR討論会 (2008.11)

Aso, Y., Yoshioka, S., Miyazaki, T., Kawanishi, T.: **Molecular mobility of flufenamic acid in solid dispersions as determined by ^{19}F -NMR relaxation time**
American Association of Pharmaceutical Scientists Annual Meeting (2008.11)

Miyazaki, T., Aso, Y., Yoshioka, S., Kawanishi, T.: **Different crystallization rates of nitrendipine enantiomers in amorphous solid dispersions with chiral excipients**
American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual Meeting (2008.11)

阿曾幸男: **高分子医薬品製剤の保存安定性とNMR緩和**
よこはまNMR構造生物学研究会 第36回ワークショップ 「生体系固体NMRの基礎から応用への展開」(2009.3)

阿曾幸男, 太田 鋼, 宮崎玉樹, 川西 徹: **γ 線照射を利用して調製したデキストラナーゼ含有デキストランゲルからのタンパク質の放出制御**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

宮崎玉樹, 阿曾幸男, 川西 徹: **ニトレンジピンエナンチオマーとキラル高分子からなる非晶質固体分散体を用いた薬物-添加剤間相互作用の評価**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

阿曾幸男, 太田 鋼, 宮崎玉樹, 川西 徹: **熱刺激電流測定法による数種のセファロスポリン系抗生物質の水分子の運動性の測定**
日本薬学会第24年会 (2009.5)

宮崎玉樹, 阿曾幸男, 川西 徹: **原子間力顕微鏡を用いた非晶質ニフェジピン表面の結晶化観察**
日本薬学会第24年会 (2009.5)

檜山行雄: **ICH品質関連トピックの動向**
2008年成形技術研究会 (2008.11)

檜山行雄: **開発段階の品質管理と改訂治験薬GMP**
日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会第5回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム (2008.12)

Kazama H.^{*1}, Hiyama Y.: **Implementation of 2005 Pharmaceutical Affairs Law and ICH Q8-Q10 in Japan**
ISPE annual meeting (2008.10) Boca Raton

*1 MHLW

檜山行雄: **改正治験薬GMP 改正治験薬GMPのインパクト-早期臨床開発と分子イメージングの新展開に向けて- APDDシンポジウム** (2008.11)

Sakamoto T., Portieri A.^{*1}, Sasakura D.^{*2}, Matsubara T.^{*2}, Miura T.^{*2}, Taday P.^{*1}, Arnone D.^{*1}, Kawanishi T., Hiyama, Y.: **Terahertz spectroscopy and imaging study for quality evaluation of generic drugs I. Ciprofloxacin hydrochloride tablets**
International Pharmaceutical Federation (FIP2008) (2008.8)

*1 TeraView Limited

*2 Bruker Optics K.K.

佐々木哲朗^{*1}, 坂本知昭, 田邊匡生^{*2}, 小山 裕^{*2}, 西澤潤一^{*1}, 川西 徹, 檜山行雄: **ロイシンのテラヘルツスペクトル-テラヘルツ波による医薬品評価に向けて**
応用物理学会2008年秋季第69回学術講演会 (2008.9)

*1 首都大学東京

*2 東北大学院工

坂本知昭, 田邊匡生^{*1}, 佐々木哲朗^{*2}, 小山 裕^{*1}, 西澤潤一^{*2}, 川西 徹, 檜山行雄: **テラヘルツ波を用いた医薬品評価技術の開発に関する研究 I**
日本分析化学会第57年会 (2008.9)

*1 東北大学院工

*2 首都大学東京

Portieri, A.^{*1}, Sakamoto, T., Sasakura, D.^{*2}, Matsubara, T.^{*2}, Miura, T.^{*2}, Hiyama, Y., Taday, P.^{*1}: **Screening of generic and counterfeit drugs by Terahertz pulsed spectroscopy and imaging: a study on Ciprofloxacin Hydrochloride Tablets**

Annual Meeting of Eastern Analytical Symposium (EAS2008) (2008.10)

*1 TeraView Limited

*2 Bruker Optics K.K.

Sakamoto, T., Sasakura, D.^{*1}, Takada, Y.^{*2}, Aida, K.^{*2}, Fujimaki, Y.^{*3}, Matsubara, T.^{*1}, Miura, Y.^{*1}, Terahara, T.^{*2}, Kawanishi, T., Hiyama, Y.: **Qualitative investigation of tulobuterol transdermal (TDDS) tapes using Near-Infrared Spectroscopy and Imaging**

The 1st Asian NIR Symposium (2008.11)

*1 Bruker Optics K.K.

*2 TDDS Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Inc.

*3 Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute

Sakamoto, T., Tanabe, T.^{*1}, Sasaki, T.^{*2}, Oyama, Y.^{*1}, Nishizawa, J.^{*2}, Kawanishi, T., Hiyama, Y.: **Development of quality evaluation method for pharmaceuticals using terahertz wave – terahertz spectral features in re-crystallization DL mixture of amino acids and applicability for an optical purity analysis –**

Annual Meeting of the Spectroscopical Society (2008.11)

*1 Graduate School of Engineering, Tohoku University

*2 Center for Priority Area, Tokyo Metropolitan University

坂本知昭：医薬品の品質確保においてUHPLCに期待すること - 展望とトピックについて -
第19回クロマトグラフィー科学会議 (2008.12)

橋本政史^{*1}, 田邊匡生^{*1}, 坂本知昭, 佐々木哲朗^{*2}, 川西 徹, 檜山行雄, 小山 裕^{*1}, 西澤潤一^{*2}: **ロイシンのテラヘルツスペクトルにおける結晶状態の影響**
第63回冬季応用物理学会東北支部学術講演会 (2008.12)

*1 東北大学院工

*2 首都大学東京

坂本知昭, Portieri, A.^{*1}, 笹倉大督^{*2}, 松原智之^{*2}, 三浦剛^{*2}, Taday, P.^{*1}, Arnone, D.^{*1}, 川西 徹, 檜山行雄: **テラヘルツパルス分光イメージング技術を用いた同薬効錠剤間の識別性及び密度分布の比較**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*1 テラビューリミテッド

*2 ブルカーオプティクス株式会社

坂本知昭, 周 利, 檜山行雄: **超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) による合成工程のリアルタイム解析**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

橋本政史^{*1}, 田邊匡生^{*1}, 坂本知昭, 佐々木哲朗^{*2}, 川西 徹, 檜山行雄, 小山 裕^{*1}, 西澤潤一^{*2}: **結晶化過程が異なるロイシンのテラヘルツスペクトル**

第56回春季応用物理学関係連合講演会 (2009.3)

*1 東北大学院工

*2 首都大学東京

坂本知昭, Portieri, A.^{*1}, 笹倉大督^{*2}, 松原智之^{*2}, 三浦剛^{*2}, Taday, P.^{*1}, Arnone, D.^{*1}, 川西 徹, 檜山行雄: **テラヘルツ波を用いた医薬品評価技術の開発に関する研究 II. テラヘルツパルス分光イメージング技術を用いた市販錠剤コーティングの解析**

分析化学討論会第129年会 (2009.5)

*1 テラビューリミテッド

*2 ブルカーオプティクス株式会社

坂本知昭, 田邊匡生^{*1}, 佐々木哲朗^{*2}, 小山 裕^{*1}, 西澤潤一^{*2}, 川西 徹, 檜山行雄: **テラヘルツ波技術を用いた医薬品の機能性・品質評価手法の開発 I. 結晶作製条件とテラヘルツスペクトル**

日本薬剤学会第24年会 (2009.5)

*1 東北大学院工

*2 首都大学東京

中山幸治^{*1}, 坂本知昭, 檜山行雄, 笹倉大督^{*2}: **Global Spectroscopyの固形製剤評価への提案**

日本薬剤学会第24年会 (2009.5)

*1 東和薬品

*2 ブルカーオプティクス株式会社

Koide, T.: **Topics of Real Time Release in Japanese Regulation**

American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual meeting (2008.11)

Koide, T.: **Design Space Description and Submission in the Pharmaceutical Development Section of a Regulatory Filing—a MHLW Perspective**

American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual meeting (2008.11)

Koide, T., Nagato, T., Natsuyama, S., Matsui, K., Kawaniishi, T., Hiyama, Y.: **Study on the observation of the degree of granulation and prediction of the dissolution by NIR(Near Infrared) chemical imaging system**

American Association of Pharmaceutical Scientists, Annual meeting (2008.11)

* Powrex corporation

加納健雄*, 吉橋泰生*, 米持悦生*, 寺田勝英*, 小出達夫, 檜山行雄: **顕微イメージングを用いた難水溶性医薬品の造粒メカニズムの評価**

平成20年度標準処方研究フォーラム (2008.12)

* 東邦大学薬学部

小出達夫, 川西 徹, 檜山行雄: **近赤外イメージングと顕微ラマンシステムを用いた医薬品評価に関する研究**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

小出達夫, 長門琢也*, 松井 航*, 夏山 晋*, 川西 徹, 檜山行雄: **近赤外イメージングシステムを用いた医薬品製造における造粒メカニズムの解明**

第25回近赤外フォーラム (2009.5)

*(株) パウレック

加納健雄*, 吉橋泰生*, 米持悦生*, 寺田勝英*, 小出達夫, 檜山行雄: **顕微ラマン分光光法を用いたケミカルマッピングによる造粒メカニズムの解析**

日本薬剤学会 (2009.5)

* 東邦大学薬学部

小出達夫, 長門琢也*, 松井 航*, 加納良幸*, 夏山 晋*, 川西 徹, 檜山行雄: **NIRイメージングシステムを用い**

た顆粒中の偏析の観察と造粒メカニズムの考察

日本薬剤学会 (2009.5)

* パウレック

加藤くみ子, 齋藤栄子, 川西 徹: **創薬スクリーニングを指向したナノ粒子による膜タンパク質固定化法の開発**

第16回クロマトグラフィーシンポジウム(2009.5)

木野内忠稔^{*1}, 加藤くみ子, 藤井紀子^{*2}: **特異的な分解酵素を用いたD-アスパラギン酸含有蛋白質のスクリーニング法の開発**

第9回日本蛋白質科学会年会 (2009.5)

^{*1} 京都大学原子炉実験所

^{*2} 武蔵野大学薬学部

畑山 実^{*1}, 富沢 忠^{*1}, 加藤(酒井)くみ子, 横山茂之^{*1,2}, 楯 直子^{*3}, 御子柴克彦^{*1}, 木川隆則^{*1,4}, 有賀純^{*1}: **C2H2 Zinc finger モチーフにおける核移行シグナルの立体構造の解析**

第81回日本生化学会大会 (2008.12)

^{*1} 理化学研究所

^{*2} 東京大学大学院理学系研究科

^{*3} 武蔵野大学薬学部

^{*4} 東京工業大学大学院総合理工学研究科

加藤(酒井)くみ子, 楯 直子*: **アミロイドβペプチドの凝集とアミノ酸ラセミ化との相関関係に関する解析**

第81回日本生化学会大会 (2008.12)

* 武蔵野大学薬学部

加藤(酒井)くみ子, 木野内忠稔^{*1}, 藤井紀子^{*1}, 今井一洋^{*2}, 楯 直子^{*2}: **D-アスパラギン酸含有タンパク質の網羅的スクリーニング法の開発**

第19回クロマトグラフィー科学会議 (2008.12)

^{*1} 京都大学原子炉実験所

^{*2} 武蔵野大学薬学部

Sakai-Kato, K., Kinouchi, T.^{*1}, Fujii, N.^{*1}, Imai, K.^{*2}, Utsunomiya-Tate, N.^{*2}: **Development of screening system for D-Asp-containing proteins**

The 33rd international symposium on High performance liquid phase separations and related techniques (2008.12)

*¹ 京都大学原子炉実験所

*² 武蔵野大学薬学部

加藤（酒井）くみ子, 木野内忠稔^{*1}, 藤井紀子^{*1},
今井一洋^{*2}, 楯 直子^{*2}: 疾患プロテオミクスによるD-
アスパラギン酸含有タンパク質の網羅的スクリーニング
法の開発

第21回バイオメディカル分析科学シンポジウム(2008.8)

*¹ 京都大学原子炉実験所

*² 武蔵野大学薬学部

Nishimura, K.^{*}, Ohtaka, M.^{*}, Segawa, H.^{*}, Furuta, B.,
Uchida, E., Kanayasu-Toyoda, T., Yamaguchi, T., and Na-
kanishi, M.^{*}: **CHARACTERIZATION OF NOVEL
DEFECTIVE SENDAI VIRUS VECTORS CAPA-
BLE OF PERSISTENT EXPRESSION OF THER-
APEUTIC GENES**

American Society of Gene Therapy 11th Annual Meeting
(2008.5)

* 独立行政法人産業技術総合研究所

小林 哲, 鈴木琢雄, 石井明子, 川崎ナナ, 山口照英:
プロタミンのMALDI-TOF MSにおけるマトリックス
の影響

第56回 質量分析総合討論会 (2008.5)

Nishimura, K.^{*}, Ohtaka, M.^{*}, Segawa, H.^{*}, Furuta, B., Uchi-
da, E., Kanayasu-Toyoda, T., T., Yamaguchi, T., and Nakan-
ishi, M.^{*}: **CHARACTERIZATION OF NOVEL DE-
FECTIVE SENDAI VIRUS VECTORS CAPABLE
OF PERSISTENT EXPRESSION OF THERAPEU-
TIC GENES**

第14回日本遺伝子治療学会総会 (2008.6)

* 独立行政法人産業技術総合研究所

山口照英: 核酸医薬品の開発動向とその品質・安全性
確保

第35回トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

渡辺浩二^{*}, 日向須美子^{*}, 日向昌司, 山口照英, 及川哲郎^{*},
花輪壽彦^{*}: 安全性評価を前提とした産婦人科頻用漢方
処方の女性生殖器及び血中エストロゲンに対する影響

第48回先天性異常学会 (2008.6)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

伊東秀憲^{*}, 日向須美子^{*}, 日向昌司, 渡辺浩二^{*}, 津田篤
太郎^{*}, 及川哲郎^{*}, 花輪壽彦^{*}: 麻黄湯を内服した健常人
血清によるヒト乳がん細胞の運動能抑制効果の解析
第59回日本東洋医学会学術総会 (2008.6)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

日向須美子^{*}, 日向昌司, 伊東秀憲^{*}, 渡辺浩二^{*}, 津田篤
太郎^{*}, 花輪壽彦^{*}: 麻黄湯のがん転移関連遺伝子発現に
対する効果の解析

第59回日本東洋医学会学術総会 (2008.6)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

Na Le^{*1}, Ihara, Y.^{*1}, Sano, K.^{*1}, Oikawa-Matsushita, H.^{*1},
Nakayama, K.^{*2}, Umemura, M.^{*2}, Ishikawa, K.^{*2}, Nakajima
Y., Kawasaki, N., Ogawa, H.^{*1}: **Pancreatic a-amylases
target duodenal brush-border membrane and regu-
late starch digestion via carbohydrate-specific inter-
action**

24th International Carbohydrate Symposium (2008.7)

*¹ お茶の水女子大学

*² 産業技術総合研究所

山口照英: 臨床初期におけるバイオ医薬品の品質・安全
性確保～バイオ医薬品の開発初期での品質・安全性確保
第2回A PDDミニシンポジウム (2008.8)

菊池 裕, 中島 治, 山崎 壮, 手島玲子, 棚元憲一,
石黒直隆^{*}, 山口照英: ウシ角膜細胞株BCE C/D-1bが
発現するスプライス変異型GPIアンカー欠損プリオンタ
ンパク質mRNAの解析

2008年プリオン研究会 (2008.8)

* 岐阜大学応用生物科学部獣医学課程

川崎ナナ: 糖タンパク質糖鎖の検出とその構造解析

MPSA2008プレカンファレンス「プロテオミクスの最新
技術」(2008.8)

伊東秀憲^{*}, 日向須美子^{*}, 日向昌司, 渡辺浩二^{*}, 津田篤
太郎^{*}, 及川哲郎^{*}, 伊藤 剛^{*}, 花輪壽彦^{*}: 麻黄湯を服用
した健常人血清によるヒト乳がん細胞MDA-MB-231の

運動能抑制効果(続報)

第25回和漢医薬学会学術大会 (2008.8)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

津田篤太郎*, 日向須美子*, 日向昌司, 渡辺浩二*, 及川哲郎*, 花輪壽彦*: **がん細胞の薬剤耐性に対する漢方薬の作用～MDR-1に対する検討から～**

第25回和漢医薬学会学術大会 (2008.8)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

渡辺浩二*, 日向須美子*, 日向昌司, 関口敦子*, 遠藤真理*, 渡辺浩二*, 津田篤太郎*, 及川哲郎*, 山口照英, 花輪壽彦*: **温経湯の選択的エストロゲン受容体モジュレーター様作用について**

第25回和漢医薬学会学術大会 (2008.8)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

後藤洋子*¹, 張 紅*², 松浦知和*³, 新見伸吾: **ラクトース修飾絹フィブリンおよびコラーゲンスポンジのスポンジ基材で培養したヒト肝癌細胞株FLC-4細胞における機能発現**

第57回高分子討論会 (2008.9)

*¹ 農業生物資源研究所*² ACバイオ*³ 慈恵医大山口照英: **バイオ後続品の品質, 安全性及び有効性の確保方策について**

日本公定書協会第27回新薬審査部門定期説明 (2008.10)

大高真奈美, 西村 健, 瀬川宏知, 内田恵理子, 塙(古田)美玲, 豊田淑江, 山口照英, 中西真人: **持続発現型センダイウイルスベクターの性質検討とその応用**

第56回日本ウイルス学会学術集会 (2008.10)

鈴木琢雄, 石井明子, 小林 哲, 豊田淑江, 多田 稔, 川西 徹, 山口照英: **抗体医薬品およびFcドメイン融合タンパク質医薬品とFc受容体FcRnの相互作用特性解析**

日本薬物動態学会第23回年会 (2008.10)

常 賀*, 長尾朋和*, 鈴木琢雄, 川西 徹, 中山俊憲*, 鈴木和男*: **QD標識TNF- α を使った免疫グロブリン治療の作用解析**

第17回日本バイオイメージング学会 (2008.10)

* 千葉大学

後藤洋子*¹, 石塚保行*², 松浦知和*³, 新見伸吾: **ラクトース修飾絹フィブリンスポンジ基材におけるヒト肝細胞モデルFLC-4細胞のスフェロイド形成と維持**

農業生物資源研究所研究成果発表会 (2008.10)

*¹ 農業生物資源研究所*² ACバイオ*³ 慈恵医大日向須美子*, 日向昌司, 渡辺浩二*, 津田篤太郎*, 及川哲郎*, 花輪壽彦*: **Maoto, Kampo medicine, induces the alteration of metastatic-related gene expression in metastatic cells**

第67回日本癌学会総会 (2008.10)

* 北里研究所東洋医学総合研究所

橋井則貴, 川崎ナナ, 中島 紫, 伊藤さつき, 山口照英: **d₅-フェニルヒドラジンをを用いた同位体標識法及び液体クロマトグラフィー/質量分析による糖鎖の定量解析**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

伊藤さつき, 川崎ナナ, 篠原 聡, 橋井則貴, 山口照英: **ヒト間葉系幹細胞のThy-1の糖鎖構造解析**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

片桐洋子*, 佐藤 伴*, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 中島英規*, 大喜多肇*, 藤本純一郎*, 清河信敬*: **ヒトB前駆細胞株NALM6に発現するCD10分子のneutral endopeptidase活性と糖鎖構造**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

* 国立成育医療センター研究所

尾崎恵璃*, 米澤直人*, 伊藤さつき, 川崎ナナ, 橋爪一善*, 中野 寛*: **ウシ妊娠関連糖タンパク質(PAG)のN結合型糖鎖構造**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

* 千葉大院

村田大輔^{*1}, 野村和子^{*1}, 水口惣平^{*1}, 出嶋克史^{*1}, 安藤恵子^{*2}, 三谷 昌平^{*2}, 福島慶子^{*3}, 山下克子^{*3}, 中島 紫, 伊藤さつき, 川崎ナナ, 野村一也^{*1}: **GPIアンカー生合成遺伝子機能阻害における線虫 *C. elegans*の表現型解析**
第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

^{*1} 九大院^{*2} 東京女子医大^{*3} 東工大

水口惣平^{*1}, 野村和子^{*1}, 出嶋克史^{*1}, 泉川友美^{*2}, 中島 紫, 伊藤さつき, 川崎ナナ, 安藤 恵子^{*3}, 三谷昌平^{*3}, 北川裕之^{*2}, 菅原一幸^{*4}, 野村一也^{*1}: **モデル生物*C. elegans*を用いたコンとロイチンプロテオグリカンの生体内機能解析**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

^{*1} 九大院^{*2} 神戸薬大^{*3} 東京女子医大^{*4} 北大院

山口佳子^{*1}, 川寄伸子^{*1}, Kay-Hooi Khoo^{*2}, 石黒正路^{*1}, 澤田敏彦^{*1}, 川崎ナナ, 中尾広美^{*1}, Bruce Young Ma^{*1}, 川寄敏祐^{*1}: **マンナン結合タンパク質に対して高親和性結合を示すリガンド糖鎖の構造的特徴**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

^{*1} 立命館大学^{*2} Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica

豊田淑江, 石井明子, 鈴木 浩子^{*1}, 李 勤^{*2}, 田村悦臣^{*1}, 森田育男^{*2}, 山口照英: **血管内皮前駆細胞である Early EPCとOutgrowth Endothelial Cellの特性解析**
第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

^{*1} 慶応義塾大^{*2} 東京医科歯科大学

渡辺武紀^{*}, 伊東由真^{*}, 秋元美雪^{*}, 松嶋全人^{*}, 小川裕太^{*}, 関泰一郎^{*}, 新見伸吾, 有賀豊彦^{*}: **脂肪細胞前駆制御にお**

けるAnnexin A3の機能解析

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

* 日本大学生物資源科学部

原島 瑞^{*}, 新見伸吾, 長岡陽子^{*}, 斉藤千恵子^{*}, 布留川みなこ^{*}, 関泰一郎^{*}, 有賀豊彦^{*}, 山口照英: **初代培養ラット肝細胞におけるグルコシルコリド依存的チロシンアミノトランスフェラーゼおよびトリプトファンオキシゲナーゼmRNAレベルの増加のプロテアソーム阻害剤による阻害**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

* 日本大学生物資源科学部

山口照英: **医薬品及び治験薬の品質保証と開発時の CMC研究**

第5回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム(2008.12)

山口照英: **バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための要件**

バイオリジクスフォーラム第6回学術集会 (2009.2)

川崎ナナ: **抗体医薬品の承認状況と開発動向**

バイオリジクスフォーラム第6回学術集会 (2009.2)

山口照英: **Quality, Safety and Efficacy of Follow-on Biologics**

第3回PMDA 国際バイオリジクスシンポジウム(PMDA 3rd International Symposium) (2009.2)

山口照英: **バイオ後続品に対する日本のアプローチ**

政策研究大学院大学バイオ医薬品の知的財産と評価に関するシンポジウム「セッション4: バイオ医薬品の安全性・有効性確保に関する規制」(2009.2)

古田美玲, 内田恵理子, 押澤 正, 山口照英: **造血支持能を持つフィーダー細胞膜タンパク質のプロテオーム解析**

第8回日本再生医療学会総会 (2009.3)

橋井則貴, 川崎ナナ, 篠原 聡, 秦 艶, 黄 笑宇, 伊藤さつき, 山口照英: **糖鎖プロファイルを指標とした細胞治療薬の特性解析**

第8回日本再生医療学会総会 (2009.3)

鈴木浩子*, 石井明子, 豊田淑江, 田村悦臣*, 山口照英:
ヒト臍帯血単核球由来Outgrowth Endothelial Cellの
特性指標の探索と機能解析

第8回日本再生医療学会総会 (2009.3)

* 慶応義塾大

原園 景, 川崎ナナ, 橋井則貴, 山口照英: 低分子量ヘパ
リンの酸加水分解及びHPAEC-PADを用いた確認試験
及び純度試験法の検討

日本薬学会第129年会 (2009.3)

秦 艶, 橋井則貴, 川崎ナナ, 山口照英: 陰イオン交換
HPLCを用いたヘパリンナトリウム確認試験及び限度試
験に関する研究

日本薬学会第129年会 (2009.3)

橋井則貴, 川崎ナナ, 篠原 聡, 秦 艶, 黄 笑宇, 伊
藤さつき, 山口照英: 糖鎖を指標とした細胞治療薬の特
性解析

日本薬学会第129年会 (2009.3)

梶 直考*, 木下充弘*, 川崎ナナ, 早川堯夫*, 掛樋一晃*:
ヘパリンナトリウム純度試験へのキャピラリー電気泳動
法の適用について

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*近畿大学

平野 真*, Bruce Y Ma*, 川崎ナナ, 川寄伸子*, 川寄敏
祐*: 虚血系腎障害におけるマンナン結合タンパク質と
meprinとの相互作用

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*立命館大学

小川裕子*, 原園 景, 山口照英, 矢ノ下良平*: マムシ毒
BPP-CNP前駆体タンパク質のプロセッシング機構の解析

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*星薬科大学

鈴木琢雄, 石井明子, 多田 稔, 小林 哲, 豊田淑江,
川西 徹, 山口照英: 抗体医薬品およびFc ドメイン融
合タンパク質医薬品のFc 受容体FcRnとの結合親和性

比較

日本薬学会第129年会 (2009.3)

日向昌司, 日向須美子*, 原島 瑞*², 山口照英, 新見伸
吾: アネキシンA3のノックダウンはHuH7細胞の腫瘍形
成を抑制する

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*¹ 北里研究所東洋医学総合研究所

*² 日本大学生物資源科学部

片岡陽平*, 横田直人*, 橋井則貴, 川崎ナナ, 澤田 均*:
マボヤ精子20Sプロテアソームのサブユニット構成に関
する研究

第73回日本生化学会中部支部例会 (2009.5)

* 名古屋大院

原島 瑞*, 新見伸吾, 原田佳呼*, 日向昌司, 関泰一郎*,
有賀豊彦*, 山口照英: ラット肝再生モデルにおいてHGF
は肝細胞におけるAnnexin A3の発現を促進させる

第15回肝細胞研究会 (2009.6)

* 日本大学生物資源科学部

合田幸広: 日本における生薬中の不純物, 残留物とその
安全性

第59回日本東洋医学会学術総会 (2008.6)

Goda, Y.: **Studies on the safety, efficacy and quality
assurance of crude drugs and their related prod-
ucts**

The 4th KSP-JSP-CCTCNM Joint Symposium on Pharma-
cognosy, Gangneung, Republic of Korea (2008.6)

合田幸広: 日本における生薬中の不純物, 残留物とその
安全性

薬用植物フォーラム2008 (2008.7)

Goda, Y.: **Processes for marketing approval of herb-
al medicinal products in Japan**

International Symposium on Harmonization of Herbal Med-
icines, Seoul, Republic of Korea (2008.11)

合田幸広: 日本薬局方の充実と和漢薬の標準化

第2回和漢薬の科学研究シンポジウム (2009.2)

合田幸広, 糸数七恵, 袴塚高志, 中村高敏, 大屋のぞみ, 荻原幸夫^{*1}, 佐竹元吉^{*2}, 花輪壽彦^{*3}, 中田敬吾^{*4}, 平井俊樹^{*5}, 三上正利^{*6}: 一般用漢方処方「猪苓湯」を用いた使用実態調査研究AUR (Actual Use Research) 第二報
日本生薬学会第55回年会 (2008.9)

- ^{*1} 日本薬科大学
^{*2} お茶の水女子大学
^{*3} 北里大学東洋医学研究所
^{*4} 細野診療所
^{*5} 薬剤師研修センター
^{*6} 日本薬剤師会

合田幸広: 日本薬局方及び漢方・生薬製剤に関する最近の話題

日本生薬学会関西支部平成20年度秋季講演会 (2008.11)

新谷彰教^{*1}, 大槻 崇, 山本幸憲^{*2}, 袴塚高志, 川原信夫, 合田幸広, 石橋正己^{*1}: 変形菌 *Fuligo septica f. flava* より単離した新規ポリエン型ピロン化合物の構造
日本薬学会第129年会 (2009.3)

- ^{*1} 千葉大学大学院薬学研究院
^{*2} 高知市大津甲

大槻 崇, 宮川 高^{*1}, 小谷野喬^{*2}, T. Kowithayakorn^{*3}, 川原信夫, 合田幸広, 石橋正己^{*1}: *Sapindus emarginatus* および *Thevetia peruviana* からのTRAIL耐性克服作用をもつ天然物の探索

日本薬学会第129年会 (2009.3)

- ^{*1} 千葉大学大学院薬学研究院
^{*2} テムコ
^{*3} コンケン大学農学部

阿部 裕, 寺 正行^{*1}, 佐々木伸大^{*1}, 岡村正愛^{*2}, 梅基直行^{*3}, 百瀬眞幸^{*3}, 川原信夫, 鎌倉浩之, 合田幸広, 長澤和夫^{*1}, 小関良宏^{*1}: カーネーションにおけるリンゴ酸転移酵素活性の検出及び基質の同定と合成

日本植物細胞分子生物学会第26回大会 (2008.9)

- ^{*1} 東京農工大学大学院工学府
^{*2} キリンアグリバイオ (株)
^{*3} キリンホールディングス (株)

松葉由紀^{*1}, 奥田裕樹^{*1}, 阿部 裕, 北村美江^{*2}, 寺坂和洋^{*3}, 水上 元^{*3}, 鎌倉浩之, 川原信夫, 合田幸広, 佐々

木伸大^{*1}, 小関良宏^{*1}: ニンジン及びハマボウフウ培養細胞におけるアントシアニンアシル基転移酵素の基質特異性比較

日本植物細胞分子生物学会第26回大会 (2008.9)

- ^{*1} 東京農工大学大学院工学府
^{*2} 長崎大学環境科学部
^{*3} 名古屋市立大学薬学部

阿部 裕, 寺 正行^{*1}, 佐々木伸大^{*1}, 岡村正愛^{*2}, 梅基直行^{*3}, 百瀬眞幸^{*3}, 川原信夫, 鎌倉浩之, 合田幸広, 長澤和夫^{*1}, 小関良宏^{*1}: カーネーションにおけるリンゴ酸転移酵素について

日本植物学会 第72回大会 (2008.9)

- ^{*1} 東京農工大学大学院工学府
^{*2} キリンアグリバイオ (株)
^{*3} キリンホールディングス (株)

松葉由紀^{*1}, 奥田裕樹^{*1}, 阿部 裕, 北村美江^{*2}, 寺坂和祥^{*3}, 水上 元^{*3}, 鎌倉浩之, 川原信夫, 合田幸広, 佐々木伸大^{*1}, 小関良宏^{*1}: ニンジン及びハマボウフウ培養細胞におけるアントシアニンアシル基転移酵素の生化学的解析

日本植物学会 第72回大会 (2008.9)

- ^{*1} 東京農工大学大学院工学府
^{*2} 長崎大学環境科学部
^{*3} 名古屋市立大学薬学部

長谷川貴志^{*}, 高橋市長^{*}, 西篠雅明^{*}, 石井俊靖^{*}, 永田知子^{*}, 齋島由二, 川原信夫, 合田幸広: いわゆる健康食品中から検出された新規シルデナフィル類縁化合物及び新規タグラフィル類縁化合物について

第96回日本食品衛生学会学術講演会 (2008.9)

^{*} 千葉県衛生研究所

川原信夫, 安食菜穂子^{*1,2}, 細江潤子, 金 益輝, 御影雅幸^{*1}, 池崎秀和^{*2}, 合田幸広: 生薬中の残留二酸化硫黄が味に与える影響について

日本生薬学会第55回年会 (2008.9)

- ^{*1} 金沢大学大学院自然科学研究科
^{*2} (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

安食菜穂子^{*1,2}, 細江潤子, 瀧野裕之^{*3}, 木内文之^{*3}, 関

田節子^{*4}, 御影雅幸^{*1}, 池崎秀和^{*2}, 川原信夫, 合田幸広:
漢方処方味の認識に関する研究 (第8報) - ブシについて (1) -

日本生薬学会第55回年会 (2008.9)

^{*1} 金沢大学大学院自然科学研究科

^{*2} (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

^{*3} 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

^{*4} 徳島文理大学香川校

長谷川貴志^{*}, 高橋市長^{*}, 西篠雅明^{*}, 石井俊靖^{*}, 永田知子^{*},
齋島由二, 川原信夫, 合田幸広: いわゆる健康食品中から
検出された強壯成分について

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

^{*} 千葉県衛生研究所

Kawahara, N., Anjiki, N. ^{*}, Goda, Y.: **Evaluation of
Taste of Kampo Formulae and Crude Drugs by a
Taste-Sensing System**

2008' Shanghai International Symposium for Pharmaceutical
Sciences (2008.12)

^{*} (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

天倉吉章^{*}, 好村守生^{*}, 川原信夫, 合田幸広, 吉田隆志^{*}:
タンジンの確認試験に関する検討

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*} 松山大学薬学部

安食菜穂子^{*1,2}, 細江潤子, 瀧野裕之^{*3}, 木内文之^{*3}, 関
田節子^{*4}, 池崎秀和^{*2}, 御影雅幸^{*1}, 川原信夫, 合田幸広:
漢方処方味の認識に関する研究 (第9報) - ブシについ
て(2) -

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 金沢大学大学院自然科学研究科

^{*2} (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

^{*3} 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

^{*4} 徳島文理大学香川校

西村興一^{*}, 桐谷英昌^{*}, 戸塚ゆ加里^{*}, 川原信夫, 杉村 隆^{*},
若林敬二^{*}: アミノフェニルノルハルマン (APNH) リン
酸付加体の解析

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*} 国立がんセンター研究所

伏見裕利^{*1}, 小松かつ子^{*1}, 伏谷愼二^{*2}, 合田幸広, 川原
信夫, 伏見直子^{*3}, 蔡 少青^{*4}: 中国福建省及び山東省市
場品「カッセキ」の基原鉱物について

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 富山大学和漢医薬学総合研究所

^{*2} 日本薬科大学

^{*3} (株) ウチダ和漢薬

^{*4} 北京大学

大沼美貴^{*1}, 小林 進^{*1}, 末永恵美, 丸山卓郎, 袴塚高志,
合田幸広, 菱田敦之^{*2}, 木内文之^{*2}: 西洋ハーブの有効性・
安全性及び品質評価に関する研究 (4): ブラックコホシユ
の遺伝子鑑定法について

第14回日本食品化学学会総会・学術大会 (2008.5)

^{*1} 東京理科大学薬学部

^{*2} 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

丸山卓郎, Khan, A. A.^{*}, Chaudhary, M. I.^{*}, 津田喜典^{*},
合田幸広: パキスタン市場に流通するセロリ類似種子の
基原植物, 成分, 生物活性

第23回日本香辛料研究会学術集会 (2008.11)

^{*} カラチ大学

Zhu, S.^{*1}, 大家真由子^{*1}, 田中 謙^{*1}, Bai, Y.^{*1}, 小松か
つ子^{*1}, 丸山卓郎, 合田幸広, 川崎武志^{*2}, 藤田正雄^{*2}:
刺五加の基原と品質に関する研究 (3)-中国東北地方にお
ける遺伝的・成分的多様性-

日本生薬学会第 55 回年会 (2008.9)

^{*1} 富山大学和漢医薬学総合研究所

^{*2} (株) ウチダ和漢薬

緒方 潤, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 杉村康司^{*}, 飯田 修^{*},
花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: 違法ドラッグ市場に流通す
る Lotus (ロータス) 製品の DNA 解析について

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*} 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

大沼美貴^{*1}, 小林 進^{*1}, 末永恵美, 丸山卓郎, 袴塚高志,
合田幸広, 菱田敦之^{*2}, 木内文之^{*2}: 西洋ハーブの有効性・
安全性及び品質評価に関する研究 (5) ブラックコホシユ

市場品の品質評価

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*¹ 東京理科大学薬学部*² 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター末永恵美, 丸山卓郎, 袴塚高志, 飯田 修*, 合田幸広:
西洋ハーブの有効性・安全性及び品質評価に関する研究(6) *Vitex* 属植物におけるITS遺伝子領域の個体内変異

日本薬学会第 129 年会 (2009.3)

* 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

丸山卓郎, 近藤健児^{*1}, 四柳雄一^{*2}, 山本 豊^{*3}, 川崎武志^{*4}, 司馬真央^{*1}, 寺坂和祥^{*5}, 山根真由^{*2}, Zhu, S.^{*6}, 坂田こずえ, 藤田正雄^{*4}, 穂山 浩, 西村直行^{*2}, 小松かつ子^{*6}, 水上 元^{*5}, 合田幸広:「遺伝子情報を利用する生薬の純度試験」の改定に向けた妥当性確認試験について
日本薬学会第 129 年会 (2009.3)*¹ (株) ツムラ*² (株) 島津製作所*³ (株) 栃本天海堂*⁴ (株) ウチダ和漢薬*⁵ 名古屋市立大学薬学部*⁶ 富山大学和漢医薬学総合研究所

若菜大悟, 川原信夫, 合田幸広: トウジン (党参) の成分研究

日本薬学会第129年会 (2009.3)

若菜大悟, 細江智夫^{*1}, 板橋武史^{*1}, 矢口貴志^{*2}, 滝澤香代子^{*2}, 福島和貴^{*2}, 河合賢一^{*1}: *Malbranchea filamentosa* から得られる新規セスキテルペンの構造

日本生薬学会第 55 回年会 (2008.9)

*¹ 星薬科大学*² 千葉大学真菌医学研究センター石川和樹^{*1}, 若菜大悟, 板橋武史^{*1}, 細江智夫^{*1}, 滝澤香代子^{*2}, 矢口貴志^{*2}, 河合賢一^{*1}: *Aspergillus novofumigatus* の産生するジケトピペラジン化合物の立体化学
日本薬学会第129年会 (2009.3)*¹ 星薬科大学*² 千葉大学真菌医学研究センター

佐藤正幸*, 姉帯正樹*, 鎌倉浩之, 合田幸広: 漢方処方煎液及び煎出残渣中の有機リン系農薬

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 北海道衛生研究所

鎌倉浩之, 合田幸広: 生薬中のヒ素, 水銀, 鉛及びカドミウムについて (第2報)

日本薬学会第129年会 (2009.3)

袴塚高志, 合田幸広: 新規漢方処方の品質規格に関する基礎的検討 (9) 麗澤通気湯の品質評価について

日本薬学会第129年会 (2009.3)

柿木康宏*, 袴塚高志, 鴨脚 毅*, 望月直樹*, 合田幸広:
LC/CADを用いたイチョウ葉エキス中のテルペンラクトン類分析

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* アサヒビール株式会社

佐藤正幸*, 姉帯正樹*, 袴塚高志, 鎌倉浩之, 合田幸広:
漢方処方煎液の乾燥工程における有機リン系農薬の消長

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 北海道衛生研究所

吉沢明康*, 末永恵美, 倉地須美子*, 倉地幸徳*: マウス肝臓における遺伝子発現の年齢依存変化

日本分子生物学会 第8回春季シンポジウム (2008.5)

* (独) 産業技術総合研究所

長嶋 等*, 岩下恵子: ルプラトキシンB によるマウス肝臓中PEPCK活性の低下機構の解析

BMB2008日本分子生物学会・日本生化学会合同大会 (2008.12)

* (独) 農研機構・食総研

勢ノ康代, 遠藤明仁, 袴塚高志, 合田幸広: 腸内細菌バランスを整える漢方処方を探せ

日本薬学会第129年会 (2009.3)

勢ノ康代, 遠藤明仁, 袴塚高志, 合田幸広: 新規漢方処方の品質規格に関する基礎的検討 (8) 嫌気性腸内細菌の生育に影響を及ぼす漢方処方

日本薬学会第129年会 (2009.3)

伊藤崇敬^{*1}, 勢^レ康代, 藤井 勲^{*2}, 久城哲夫^{*1}, 海老塚豊^{*1}: 糸状菌由来メロテルペノイド化合物の生合成研究 (3) -pyripyropene A生合成におけるテルペノイド部位の環化に関与する酵素の機能解析-

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 東京大学大学院

^{*2} 岩手医科大学

勢^レ康代, 北本勝ひこ^{*1}, 海老塚豊^{*1}, 藤井 勲^{*2}: *Aspergillus flavus* 由来シクロピアゾン酸生合成遺伝子の機能解析

第60回日本生物工学会 (2008.8)

^{*1} 東京大学大学院

^{*2} 岩手医科大学

Tokuoka, M.^{*1}, Takahashi, T.^{*1}, Seshime, Y., Fujii, I.^{*2}, Kitamoto, K.^{*3}, Koyama, Y.^{*1}: Identification of biosynthetic pathway of cyclopiazonic acid in *Aspergillus oryzae*

The 9th European Conference on Fungal Genetics at Edinburgh, U.K. (2008.4)

^{*1}(財) 野田産業科学研究所

^{*2} 岩手医科大学

^{*3} 東京大学大学院

鄭 美和: *in vivo* における解析を中心とした当帰芍薬散の効果について

第11回天然薬物研究方法論アカデミー 呉羽山シンポジウム (第7回国際天然薬物と消化管エコロジーサテライトシンポジウム) (2008.8)

鄭 美和, 伊藤絵理^{*}, 服部征雄^{*}: 当帰芍薬散の海馬におけるdendritic spine回復に対する効果について-第3報-

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*} 富山大学和漢医薬学総合研究所

水野めぐみ^{*}, 鄭 美和, 陳 琮滢^{*}, 馬 超美^{*}, 服部征雄^{*}: 樟芝菌子体成分Antrodin Dのラットにおける体内動態

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*} 富山大学和漢医薬学総合研究所

鄭 美和, 陳 琮滢^{*}, 當房貴文^{*}, 服部征雄^{*}: (+/-)-enterolactoneの作用について

日本生薬学会第55年会 (2008.9)

^{*} 富山大学和漢医薬学総合研究所

Chung, MH., Suzuki, S.^{*}, Hattori, M.^{*}: Estrogenic Effects of Tokishakuyakusan (Japanese Traditional Medicine) and Differences Between Tokishakuyakusan and 17beta-Estradiol

JSPS-NRCT Core University Program on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences -The 8th Joint Seminar "Innovated Research in Natural Products for Sustainable Development" 20 Selected Posters for Poster Oral Presentation (2009.2)

^{*} 富山大学和漢医薬学総合研究所

Chung, MH., Suzuki, S.^{*}, Hattori, M.^{*}: Estrogenic Effects of Tokishakuyakusan (Japanese Traditional Medicine) and Differences Between Tokishakuyakusan and 17beta-Estradiol

JSPS-NRCT Core University Program on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences -The 8th Joint Seminar "Innovated Research in Natural Products for Sustainable Development" (2008.12)

^{*} 富山大学和漢医薬学総合研究所

鄭 美和, 服部征雄^{*}: 当帰芍薬散の海馬におけるdendritic spine回復に対する効果について-第2報-

第25回和漢医薬学会大会 (2008.8)

^{*} 富山大学和漢医薬学総合研究所

馬 紅^{*1,2,3}, 鄭 美和, 呂 曄^{*4}, 服部征雄^{*1}: 春至カプセルの生殖内分泌学的効果と作用メカニズム

第25回和漢医薬学会大会 (2008.8)

^{*1} 富山大学和漢医薬学総合研究所

^{*2} 南京中医薬大学基礎医学院

^{*3} 日本学術振興会 海外特別研究員

^{*4} 江蘇省中科院植物研究所

Chung, MH., Suzuki, S.^{*}, Hattori, M.^{*}: The Mechanism Differences Between Tokishakuyakusan and 17beta-estradiol Using Parous Ovariectomized Rats

The 7th International Symposium on Natural Medicine and Microflora (2008.8)

* 富山大学和漢医薬学総合研究所

El-Halawany, AM.^{*}, Chung, MH., Ma, CM.^{*}, Hattori, M.^{*}: **Estrogenic Activity of Hydroxyphenylalkanes and Diarylheptanoids from *Aframomum Melegueta***

The 7th International Symposium on Natural Medicine and Microflora, Japan-Egypt Year of Science and Technology 2008 Campaign in Toyama (2008.8)

* 富山大学和漢医薬学総合研究所

Tobo, T.^{*}, Jin, JS.^{*}, Chung, MH., Ma, CM.^{*}, Hattori, M.^{*}: **Synthesis of Enantiomeric EnteroLactone and EnteroDiol, and Their Estrogenic Potency**

The 7th International Symposium on Natural Medicine and Microflora (2008.8)

* 富山大学和漢医薬学総合研究所

Furuhashi, K.^{*}, Chung, MH., Hattori, M.^{*}: **Effect of Tokishakuyakusan on Ovary KiSS-1 mRNA Expression in Hypophysectomized (HPX) Rats**

The 7th International Symposium on Natural Medicine and Microflora (2008.8)

* 富山大学和漢医薬学総合研究所

最所和宏, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: **強壯を標榜した健康食品より検出されたイミダゾキノゾリン誘導体(チオキナピペリフィル)について**
第14回日本食品化学学会総会・学術大会(2008.5)

Kikura-Hanjiri, R., Kawamura, M., Goda, Y.: **Simple and rapid screening for psychotropic natural products using DART (Direct Analysis in Real Time)-TOF/MS**

The international association of forensic toxicologists 46th international meeting (2008.6)

花尻(木倉)瑠理, 河村麻衣子, 最所和宏, 合田幸広: **アルコール併用メチルフェニデート(リタリン®)投与ラットにおける毛髪中薬物のUPLC-MS/MSを用いた高感度迅速分析法について**
日本法中毒学会第27年会(2008.6)

最所和宏, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: **5MeO-DIPT及び5MeO-DPTのLC-MS/MSを用いたラット血漿及び毛髪中の分析法**

日本法中毒学会第27年会(2008.6)

最所和宏, 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: **強壯を標榜する健康食品からの「専ら医薬品成分」のDART-TOF-MSスクリーニング分析並びにLC-MSによる一斉分析と実態調査**

日本分析化学会第57年会(2008.9)

花尻(木倉)瑠理: **様々な製品に含有される無承認無許可医薬品成分の分析について—違法ドラッグを中心に—**
日本分析化学会第57年会(2008.9)

緒方 潤, 花尻(木倉)瑠理, 吉松嘉代^{*}, 木内文之^{*}, 合田幸広: **大麻種子の迅速発芽能力鑑別法**
第55回日本生薬学会(2008.9)

* 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

高橋美津子^{*}, 桜井克巳^{*}, 渡部健二郎^{*}, 日高利夫^{*}, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: **LC/MSスペクトルライブラリーを用いた違法ドラッグ中の医薬品及び指定薬物の検索**
第45回全国衛生化学技術協議会(2008.11)

* 横浜市衛生研究所

宮澤法政^{*}, 大村厚子^{*}, 生嶋昌子^{*}, 只木晋一^{*}, 野坂富雄^{*}, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 合田幸広: **未規制の亜硝酸エステルが確認された違法ドラッグの分析について**
第45回全国衛生化学技術協議会(2008.11)

* 埼玉県衛生研究所

最所和宏, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: **平成19年度無承認無許可医薬品の買い上げ調査について—強壯用健康食品—**
第45回全国衛生化学技術協議会(2008.11)

花尻(木倉)瑠理, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 最所和宏, 合田幸広: **平成19年度違法ドラッグ製品の全国買い上げ調査について**
第45回全国衛生化学技術協議会(2008.11)

関 俊哲^{*}, 畠中 俊^{*}, 豊岡利正^{*}, 稲垣真輔^{*}, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: **UPLC-ESI-TOF-MSによる蛍光**

標識化指定薬物の高感度迅速一斉分析法の開発
第19回クロマトグラフィー科学会議 (2008.12)

* 静岡県立大学薬学部

Min, J. Z.^{*}, Hatanaka, S.^{*}, Toyooka, T.^{*}, Inagaki, S.^{*}, Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y.: **Rapid, sensitive and simultaneous determination of fluorescence-labeled designated drugs by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray-ionization time-of-flight mass spectrometry**
HPLC 2008 Kyoto (2008.12)

* University of Shizuoka

花尻 (木倉) 瑠理, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 最所和宏, 宮島敦子, 簾内桃子, 合田幸広: **N-OH-MDMA投与ラットにおける生体試料中薬物のUPLC-MS/MSを用いた分析法について**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

内山奈穂子, 花尻 (木倉) 瑠理, 福原 潔, 合田幸広: **N-OH-MDMA及びN-OH-MDAのアルカリ溶液中における分解メカニズムについて**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: **DART-TOF/MSを用いた尿中覚せい剤及びMDMAの迅速スクリーニング法の検討**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

岩井真澄^{*}, 小暮紀行^{*}, 北島満里子^{*}, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 高山廣光^{*}: **キョウチクトウ科植物 *Voacanga africana* 含有新規アルカロイドの探索研究**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 千葉大学大学院薬学研究院

山下和秀^{*}, 関 俊哲^{*}, 豊岡利正^{*}, 稲垣真輔^{*}, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: **HPLC-クーロアレイ検出器(CAD)による指定薬物の高感度一斉分析法の開発**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 静岡県立大学薬学部

熊坂謙一^{*}, 宮澤真紀^{*}, 内山奈穂子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 小島 尚^{*}: **いわゆるケミカルドラッグ成分**

に関する検討(その5) ~違法ドラッグ成分を含有する製品の分析結果~

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 神奈川県衛生研究所

高橋美津子^{*}, 桜井克巳^{*}, 渡部健二郎^{*}, 日高利夫^{*}, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: **無承認無許可医薬品及び指定薬物のスクリーニング分析を指向したLC/MSライブラリーの構築**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 横浜市衛生研究所

畠中 俊^{*}, 関 俊哲^{*}, 豊岡利正^{*}, 稲垣真輔^{*}, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: **蛍光標識化指定薬物のUPLC-ESI-TOF-MSによる迅速高感度一斉分析法の開発**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 静岡県立大学薬学部

山原 梢^{*}, 池田理恵^{*}, 和田光弘^{*}, 花尻 (木倉) 瑠理, 中島憲一郎^{*}: **ラット血漿中2種のピペラジン系デザインードラッグのHPLC-蛍光定量**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

内山奈穂子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 川原信夫^{*}: **植物系違法ドラッグ製品中から検出された新規カンナビノイドアナログの同定**
第15回日本食品化学学会総会・学術大会 (2009.5)

* 現: 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター

最所和宏, 河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: **強壯を標榜する健康食品中から検出されたPDE 5阻害活性を有する医薬品類似成分のLC-MSによる一斉分析法と全国買い上げ調査結果及びスクリーニング法としてのDART-TOF-MS分析法**
日本分析化学会第57年会 (2008.9)

小川優子^{*1}, 東 朋子^{*2}, 松本直実^{*2}, 内山奈穂子, 裏出良博^{*2}, 小西天二^{*1}: **天然物に含まれる睡眠作用物質の探索 -オキシピナタニンの睡眠調節効果-**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

*¹ 同志社女子大学薬学部

*² 大阪バイオサイエンス研究所

内山奈穂子, 嶋田淳子^{*1}, 川原信夫, 中村憲夫^{*2}, 小西天二^{*2}, 板橋武史^{*3}, 河合賢一^{*3}: 菌類代謝産物の抗トリパノソーマ活性 (4)

日本生薬学会第55回年会 (2008.9)

*¹ 群馬大学医学部

*² 同志社女子大学薬学部

*³ 星薬科大学

Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., Wada, M.^{*}, Urade, Y.^{*}: **Effects of new fluoro-substituted amphetamine analogs on electroencephalogram (EEG) power spectra in rats**

The CINP XXVI CINP CONGRESS (2008.7)

* 大阪バイオサイエンス研究所

菊地博之, 大槻 崇, 小谷野喬^{*1}, T. Kowithayakorn^{*2}, 石橋正己^{*3}: *Garcinia mangostana* および放線菌からの

デスレセプター誘導作用をもつ天然物の探索

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*¹ テムコ

*² コンケン大学農学部

*³ 千葉大学大学院薬学研究院

中澤孝文^{*}, 大槻 崇, 菊地博之, 石橋正己^{*}: *Keam-pheria galanga* からのデスレセプター誘導作用をもつ天然物の探索

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 千葉大学大学院薬学研究院

菊地博之, 大槻 崇, 小谷野喬^{*1}, T. Kowithayakorn^{*2}, 酒井敏行^{*3}, 石橋正己^{*4}: デス受容体誘導作用をもつ天然物の探索: 新規イソフラボン等の単離とTRAIL耐性克服作用

第17回天然薬物の開発と応用シンポジウム (2008.11)

*¹ テムコ

*² コンケン大学農学部

*³ 京都府立医科大学

*⁴ 千葉大学大学院薬学研究院

Ohtsuki, T., Kikuchi, H., Sakai T.^{*1}, Ishibashi, M.^{*2}: **Studies on natural constituents inducing expression of death receptor 5**

第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

*¹ 京都府立医科大学

*² 千葉大学大学院薬学研究院

大槻 崇, 菊地博之, 平賀敬人^{*1}, 小谷野喬^{*2}, T. Kowithayakorn^{*3}, 酒井敏行^{*4}, 石橋正己^{*1}: 熱帯植物由来のデスレセプター誘導作用をもつ天然物の探索

日本生薬学会第55年会 (2008.9)

*¹ 千葉大学大学院薬学研究院

*² テムコ

*³ コンケン大学農学部

*⁴ 京都府立医科大学

大槻 崇, 菊地博之, 酒井敏行^{*1}, 石橋正己^{*2}: 熱帯植物由来のデスレセプター誘導作用をもつ天然物

第12回がん分子標的治療研究会学術総会 (2008.6)

*¹ 京都府立医科大学

*² 千葉大学大学院薬学研究院

川原信夫: 最近の生薬行政の動き—第十五改正日本薬局方第二追補を中心に—

第19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 (2008.12)

内田恵理子: 医薬品のウイルス安全性確保: NATによるC型肝炎ウイルス検出の評価とNATによる高感度検出のためのウイルス濃縮法の開発

日本薬学会第129年会 (2009.3)

Tanabe, S., Sato, Y., Suzuki, T., Suzuki, K., Yamaguchi, T.: **Gene expression profiling for identifying culture-stage markers of human mesenchymal stem cells**

第82回日本薬理学会年会 (2009.3)

Nishida, M.^{*1}, Sato, Y., Nakaya, M.^{*1}, Inoue, R.^{*2}, Mori, Y.^{*3}, Kurose, H.^{*1}: **Regulation of hypertrophic signaling pathway by functional interaction between G protein-coupled receptor and TRPC channels**

第82回日本薬理学会年会 (2009.3)

*¹ 九州大学大学院薬学研究院

*² 福岡大学医学部

*³ 京都大学工学部

Uemura, A.^{*}, Nishida, M.^{*}, Sato, Y., Narita, Y.^{*}, Tozaki-Saitoh, H.^{*}, Nakaya, M.^{*}, Inoue, K.^{*}, Kurose, H.^{*}: **Role of P2Y₆ receptor-Galpha12/13 signaling in pressure overload-induced cardiac fibrosis**

第82回日本薬理学会年会 (2009.3)

* 九州大学大学院薬学研究院

Yanagino, S., Satoh, M.^{*}, Suzuki, K., Nishimaki-Mogami, T., Sato, Y.: **Thyroid hormone targets genes associated with arterial elasticity**

第82回日本薬理学会年会 (2009.3)

* 東邦大学薬学部

鈴木孝昌, 田邊思帆里, 小木美恵子^{*}, 押澤 正, 佐藤陽治, 山口照英, 鈴木和博: **ヒト間葉系幹細胞の染色体安定性の解析**

第8回日本再生医療学会総会 (2009.3)

* 金沢工業大学バイオ・化学部

田邊思帆里, 佐藤陽治, 鈴木孝昌, 鈴木和博, 山口照英: **ヒト間葉系幹細胞における培養分化マーカー同定に関する遺伝子発現プロファイリング**

BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会) (2008.12)

押澤 正, 豊田淑江, 内田恵理子, 鈴木孝昌, 鈴木和博, 山口照英: **カルシウム結合タンパク質S100A8はHL-60細胞の好中球分化において増殖・分化に重要な働きをする (その2)**

BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会) (2008.12)

多田隈英未¹, 櫻井幹也¹, 渡辺貴志¹, 鈴木孝昌, 成見香瑞範², 浜田修一², 平山満朝³, 真田尚和⁴, 小枝暁子⁵, 中嶋 圓⁶, 大信田系裕⁷, 佐久間智宏⁸, 降旗千恵¹: **遺伝子傷害性肝発がん物質および非遺伝子傷害性肝発がん物質投与マウス肝臓における遺伝子発現の比較解析**

BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会) (2008.12)

*¹ 青山学院大・理工学部

*² 三菱安科研

*³ 富士フィルム

*⁴ 科研製薬

*⁵ イナリサーチ

*⁶ 安評センター

*⁷ 東レ

*⁸ 日本食品分析センター

西村 健^{*}, 大高真奈美^{*}, 瀬川宏知^{*}, 内田恵理子, 古田美玲, 豊田淑江, 山口照英, 中西真人^{*}: **細胞質持続発現型RNAベクターの性質検討と医療応用に向けた研究**
BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会) (2008.12)

* (独) 産業技術総合研究所

櫻井幹也^{*}, 多田隈英未^{*}, 花原 泉^{*}, 渡辺貴志^{*}, 鈴木孝昌, 降旗千恵^{*}: **マウス肝臓における遺伝子傷害性肝発がん物質Chrysene 投与後短時間での遺伝子発現解析**
BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会) (2008.12)

* 青山学院大・理工学部

新井祐子¹, 多田隈英未¹, 渡辺貴志¹, 浜田修一², 鈴木孝昌, 中嶋 圓³, 降旗千恵¹: **ジエチルニトロソアミン投与マウス肝臓における, 遺伝子発現の経時変化および用量依存性変化の解析**

BMB2008 (第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会) (2008.12)

*¹ 青山学院大・理工学部

*² 三菱安科研

*³ 安評センター

スレッシュ ティルパッティ, ラメッシュ ドス^{*}, 押澤 正, 鈴木和博, 鈴木孝昌: **プロテオミクス手法を用いた遺伝子傷害性の新しいバイオマーカー探索**
日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

* Rushmore Consultancy Services

鈴木孝昌, 降旗千恵^{*}: **Collaborative study on the toxicogenomics in JEMS/MMS**
日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

* 青山学院大・理工学部

鈴木孝昌, 小泉朋子, 本間正充, 中嶋 圓^{*1}, 濱田修一^{*2}, 渡辺貴志^{*3}, 降旗千恵^{*3}: トキシコゲノミクスに関するJEMS/MMS共同研究II: 遺伝子障害性発癌物質の迅速スクリーニング系としてのTaqMan Low Density Arrayの評価

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 安評センター

^{*2} 三菱安科研

^{*3} 青山学院大・理工学部

降旗千恵^{*1}, 渡辺貴志^{*1}, 夏目匡克^{*2}, 中嶋 圓^{*2}, 濱田修一^{*3}, 多田隈英未^{*1}, 櫻井幹也^{*1}, 花原 泉^{*1}, 小枝暁子^{*4}, 佐久間智宏^{*5}, 大信田系裕^{*6}, 前田晃央^{*6}, 成見香瑞範^{*3}, 真田尚和^{*7}, 平山満朝^{*8}, 大山ワカ子^{*9}, 岡田恵美子^{*9}, 本田大士^{*10}, 須藤鎮世^{*11}, 鈴木孝昌: トキシコゲノミクスに関するJEMS/MMS共同研究 (2008年): 遺伝子傷害性および非遺伝子傷害性肝がん原物質についての精選した27遺伝子に関するqPCR法による遺伝子発現解析

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 青山学院大・理工学部

^{*2} 安評センター

^{*3} 三菱安科研

^{*4} イナリサーチ

^{*5} 日本食品分析センター

^{*6} 東レ

^{*7} 科研製薬

^{*8} 富士フィルム

^{*9} ヤクルト

^{*10} 花王

^{*11} 就実大

浅野哲秀*, 西川貴史*, 笠松俊夫*, 青儀 巧*, 岡 宏明*, 小島 肇*, 伊東 悟*, 鈴木孝昌, 原 巧*, Gibson, D.*, 林 真*: 皮膚細胞を用いる小核試験-開発と検証-

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

* JEMS/MMS皮膚小核試験共同研究グループ

Suzuki, T., Kogi, M. ^{*1}, Kohara, A. ^{*2}, Honma, M., Tanabe, S., Yamaguchi, T.: SNP and CGH array analysis on amplification profile of the c-myc gene
第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

^{*1} 金沢工業大学, バイオ・化学部

^{*2} 医薬基盤研

Suzuki, T., Suresh, T., Oshizawa, T., Ramesh, K. ^{*}, Suzuki, K.: Proteomics approach to find new biomarkers for genotoxicity in mouse urine.

欧州環境変異原学会2008 (2008.9)

* Rushmore Consultancy Services

山口照英, 内田恵理子: 核酸医薬品の開発動向とその品質・安全性確保

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

齋島由二, 伊佐間和郎, 松岡厚子, 長谷川千恵, 橋本宣子^{*1}, 脇田比呂美^{*1}, 中島敏治^{*2}, 斉藤博久^{*1}, 土屋利江: ヒト細胞に対するスルホン化材料の機能解析に関する研究

日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

^{*1} 国立成育医療センター

^{*2} 横浜薬大

齋島由二, 伊佐間和郎, 松岡厚子, 長谷川千恵, 浅見仁美, 山口 透*, 土屋利江: エンドトキシン汚染と生物学的安全性: 規格値の設定と定量法について

平成19年度厚生科学研究成果発表会 (2008.2)

* 日本電子照射サービス

Nakamura, K. ^{*1}, Sato, K. ^{*1}, Tanamoto, T., Ushijima, H. ^{*2}, Hoshino, H. ^{*3}, Haishima, Y., Tsuchiya, T. and Ogawa, H. ^{*1}: Interaction of synthesized pseudoproteoglycan (PseudoPG) with heparin-specific proteins and its anti-HIV-1 activity

XXIV International Carbohydrate Symposium (2008.8)

^{*1} Ochanomizu University

^{*2} International University of Kagoshima

^{*3} Gunma University Graduate School of Medicine

伊佐間和郎, 齋島由二, 松岡厚子, 長谷川千恵, 松田良枝, 柚場俊康, 土屋利江: DEHPを含むPVCの紫外線照射により生成する毒性物質の同定

第45回全国衛生化学技術協議会学術年会 (2008.11)

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 土屋利江: **アクセサリ類を除く金属製品に含有する鉛量の調査**

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

中島晴信*, 沢辺善之*, 伊佐間和郎, 土屋利江: **高分子材料中のオクチル酸スズ(2-エチルヘキサン酸スズ)の分析**

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 大阪府立公衆衛生研究所

伊佐間和郎, 齋島由二, 松岡厚子, 長谷川千恵, 松田良枝, 柚場俊康, 土屋利江: **DEHPを含むPVCの紫外線照射により生成する毒性物質の同定**

日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

伊佐間和郎, 河上強志, 鹿庭正昭, 土屋利江: **アクセサリ類を除く金属製品に含有する有害金属の分析調査**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

Isama, K., Tsuchiya, T.: **Osteoblast compatibility of Ti-Zr-Nb alloys**

Biomaterials Asia 2009 (2009.4)

菅野文子*, 富澤朋絵*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **水試料から得られたXAD抽出有機物の組成とその安全性評価**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

富澤朋絵*, 菅野文子*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **合成ムスク系香料の塩素処理による分解生成物**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

西以和貴*, 小室隆昭*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **COX阻害活性を用いた水環境における生態影響評価法の検討**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

岸 智裕*, 鈴木翔太*, 河上強志, 小野寺祐夫*¹: **焼却過程におけるダイオキシン類の生成と抑制**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

中村仁美*¹, 河上強志, 新野竜大*², 高橋保雄*¹, 小野寺祐夫*¹: **ニトロフラン系抗菌剤の塩素処理水中での消長と変異原性変化**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

*¹ 東京理科大学薬学部

*² 三菱化学安全科学研究所

鈴木翔太*, 岸 智裕*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **高温条件下での金属酸化物によるダイオキシン発生低減化**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

小室隆昭*, 西以和貴*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **塩素処理水中におけるジクロフェナクの挙動と生成物の安全性評価**

第52回日本薬学会関東支部大会 (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

西以和貴*, 小室隆昭*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **COX阻害活性をバイオマーカーとして用いた水環境影響評価法の検討**

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

菅野文子*, 富澤朋絵*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **水試料から得られたXAD抽出有機物の特徴とその生理活性の変化**

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

岸 智裕*, 鈴木翔太*, 河上強志, 小野寺祐夫*: **焼却過程でのダイオキシン類生成抑制に寄与する共存有機物の化学構造**

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

出口雄也*¹, 河上強志, 小野寺祐夫*², 長岡(浜野) 恵, 長岡寛明*³: **大村湾海水における過マンガン酸カリウム**

消費量と全有機炭素の比較検討

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー
(2008.10)

*¹ 長崎国際大学薬学部

*² 東京理科大学薬学部

*³ 長崎国際大学健康管理学部

富澤朋絵*, 菅野文子*, 河上強志, 小野寺祐夫*: 塩素処理水中における合成香料ニトロムスクの消長

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー
(2008.10)

* 東京理科大学薬学部

小室隆昭*, 西以和貴*, 河上強志, 小野寺祐夫*: 塩素処理水中におけるジクロフェナクの消長及びシクロオキシゲナーゼ阻害活性の変化

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー
(2008.10)

* 東京理科大学薬学部

鈴木翔太*, 岸 智裕*, 河上強志, 小野寺祐夫*: 高温における塩素化フェノールからのダイオキシン類生成に及ぼす金属酸化物の影響

フォーラム2008 衛生薬学・環境トキシコロジー (2008.10)

* 東京理科大学薬学部

高木真衣*, 岸 智裕*, 河上強志, 小野寺祐夫*: 低塩素化フェノール類の熱分解によるダイオキシン類生成に及ぼす共存有機物の影響

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 東京理科大学薬学部

出口雄也¹, 岸 智裕², 河上強志, 長岡 恵, 小野寺祐夫², 長岡寛明³: TOCを用いた大村湾の水質汚染の特性について

日本薬学会第129年会 (2009.3)

*¹ 長崎国際大学薬学部

*² 東京理科大学薬学部

*³ 長崎国際大学健康管理学部

白山祐輝*, 西以和貴*, 小室隆昭*, 富倉光平*, 河上強志, 小野寺祐夫*: 塩素処理水中における蛍光増白剤 (DSBP) の消長及び反応生成物のAmes 試験,
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 東京理科大学薬学部

河上強志, 西以和貴*, 岸 智裕*, 小野寺祐夫*: 臭化物イオン存在下でのアルキルフェノール類の塩素処理に伴う塩素/臭素化アルキルフェノキシフェノール類の生成
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 東京理科大学薬学部

澤田留美, 山田貴史, 松岡厚子, 土屋利江: ヒト骨髄由来間葉系幹細胞の*in vitro*培養時における遺伝子発現の変化について—無血清培地の影響—
第8回日本再生医療学会(2009.3)

土屋利江, 石川 烈, 澤田留美, 町田一彦*, 志水洋志*, 大西保行*: 高感度, 高精度腫瘍細胞検出方法の開発と国際標準化に関する研究
第8回日本再生医療学会 (2009.3)

* (財) 実験動物中央研究所

鄭 連淑, 加藤玲子, 土屋利江: 生分解性ポリマーの遅延型アレルギー性の*in vitro*と*in vivo*試験による評価
日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

鄭 連淑, 加藤玲子, 土屋利江: Skin sensitizer assessments of Local Lymph Node Assay using biodegradable polymers
第8回日本再生医療学会総会 (2009.3)

加藤玲子, 土屋利江: 間葉系幹細胞の免疫調節効果に関わる液性因子の探索
第8回日本再生医療学会総会 (2009.3)

中岡竜介, 靄島由二, 土屋利江: 種々の官能基表面調製とその細胞挙動への影響について
日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

佐藤道夫, 土屋利江: 医療機器の不具合情報について
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

迫田秀行, 鄭 徳泳, 脇谷滋之¹, 天正恵治², 佐藤道夫,

土屋利江：微小試験片による抜去人工関節UHMWPEの疲労特性評価

日本機械学会2008年度年次大会 (2008.8)

^{*1} 大阪市立大学

^{*2} 信州大学

迫田秀行, 石川 格, 脇谷滋之^{*1}, 天正恵治^{*2}, 鄭 徳泳, 佐藤道夫, 土屋利江：人工関節の不具合要因分析 第2報 人工股関節

第35回日本臨床バイオメカニクス学会 (2008.11)

^{*1} 大阪市立大学

^{*2} 信州大学

迫田秀行, 石川 格, 脇谷滋之^{*1}, 天正恵治^{*2}, 鄭 徳泳, 佐藤道夫, 土屋利江：微小試験片を用いた高密度架橋ポリエチレンの疲労特性評価

第35回日本臨床バイオメカニクス学会 (2008.11)

^{*1} 大阪市立大学

^{*2} 信州大学

山田貴史, 石川 烈, 石川 格, 松岡厚子, 山越葉子*, 土屋利江：V79細胞および正常ヒトアストロサイトに対するフラレンとその誘導体の細胞毒性

日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

* ペンシルバニア大学 放射線医学

石川 格：コンピュータシミュレーションによる歯科用骨固定材のリスクアセスメント手法開発—医師の手による塑性変形の影響について—

平成20年度医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業研究成果発表会 (2009.1)

Shiraishi, Y.^{*1}, Yambe, T.^{*1}, Saijo, Y.^{*1}, Sato, F.^{*1}, Tanaka, A.^{*2}, Yoshizawa^{*1}, M., Sugai, T.^{*1}, K., Sakata, R.^{*3}, Luo, Y.^{*3}, Park, Y.^{*3}, Uematsu, M., Umezu, M.^{*3}, Fujimoto, T.^{*4}, Masumoto, N.^{*5}, Liu, H.^{*1}, Baba, A.^{*1}, Konno, S.^{*1}, Nitta, S.^{*1}, Imachi, K.^{*1}, Tabayashi, K.^{*1}, Sasada, H.^{*1}, and Homma, D.^{*6}: **Sensorless control for a sophisticated artificial myocardial contraction by using shape memory alloy fibre**

30th IEEE EMBS Annual International Conference (2008.8)

^{*1} 東北大学

^{*2} 福島大学

^{*3} 早稲田大学

^{*4} 芝浦工業大学

^{*5} 日本工業大学

^{*6} トキコーポーレーション

植松美幸：ガイドワイヤーの品質・安全性評価について 第6回医療機器フォーラム (2008.10)

植松美幸：心臓血管外科手術における画像情報支援システムの開発

第17回日本コンピュータ外科学 (2008.11)

松川紘大^{*1}, 植松美幸, 中野喜隆^{*1}, 宇都宮隆平^{*1}, 青見茂之^{*2}, 飯村 浩^{*2}, 中村亮一^{*2}, 村垣善浩^{*2}, 伊関 洋^{*2}, 梅津光生^{*1}: **胸部領域ナビゲーションにおける術中体位の変化を考慮した骨格変形補正法**

第17回日本コンピュータ外科学会 (2008.11)

^{*1} 早稲田大学

^{*2} 東京女子医科大学

中野喜隆^{*1}, 植松美幸, 松川紘大^{*1}, 宇都宮隆平^{*1}, 中村亮一^{*2}, 村垣善浩^{*2}, 伊関 洋^{*2}, 青見茂之^{*2}, 梅津光生^{*1}: **大血管ナビゲーションにおけるベッドの動きを補償するマーカーシステムの開発**

第17回日本コンピュータ外科学会 (2008.11)

^{*1} 早稲田大学

^{*2} 東京女子医科大学

村垣善浩^{*1}, 植松美幸, Gough Craig^{*2}, 鈴木孝司^{*1}, 中村亮一^{*1}, 土屋利江, 伊関 洋^{*1}: **治療機器の治験デザインとアメリカ食品医薬品局承認の意思決定**

第17回日本コンピュータ外科学会 (2008.11)

^{*1} 東京女子医科大学

^{*2} レコネシス

青見茂之^{*1}, 植松美幸, 松川紘大^{*2}, 中野喜隆^{*2}, 宇都宮隆平^{*2}, 梅津光生^{*2}, 中村亮一^{*1}, 村垣善浩^{*1}, 伊関 洋^{*1}: **医・理・工連携施設から発信する新しい医工学 胸腹部大動脈置換術用ナビゲーションシステムの臨床応用**

第17回日本コンピュータ外科学会 (2008.11)

^{*1} 東京女子医科大学

^{*2} 早稲田大学

植松美幸, 有田 誠^{*1}, 岩崎清隆^{*2}, 田中 隆^{*2}, 太田友博^{*2}, 梅津光生^{*2}, 土屋利江: 頸静脈に対するガイドワイヤおよびダイレタの挿入角度による血管穿孔可能性を評価する試験法の構築

第46回日本人工臓器学会大会 (2008.11)

^{*1} (株) エドワーズ・ライフサイエンス

^{*2} 早稲田大学

Uematsu, M., Arita, M.^{*1}, Iwasaki, K.^{*2}, Tanaka, T.^{*2}, Umezue, M.^{*2}, Tsuchiya, T.: **Development of Evaluation Test Method for the Possibility of Central Venous Catheter Perforation Caused by the Insertion Angle of a Guidewire and a Dilator**

13th International Conference on Biomedical Engineering (2008.12)

^{*1} (株) エドワーズ・ライフサイエンス

^{*2} 早稲田大学

Matsukawa, K.^{*1}, Uematsu, M., Nakano, Y.^{*1}, Utsunomiya, R.^{*1}, Aomi, S.^{*2}, Iimura, H.^{*2}, Nakamura, R.^{*2}, Muragaki, Y.^{*2}, Iseki, H.^{*2}, and Umezue, M.^{*1}: **Development of a Navigation System Included Correction Method of Anatomical Deformation for Aortic Surgery**

13th International Conference on Biomedical Engineering (2008.12)

^{*1} 早稲田大学

^{*2} 東京女子医科大学

Matsuoka, A., Matsuda, Y., Nakaoka, R., Haishima, Y., Yudasaka, M.^{*1}, Iijima, S.^{*2}, Tsuchiya, T.: **How small aggregates must be prepared in an in vitro safety evaluation system for nanomaterials?**

International Symposium on "Nanotoxicology Assessment and Biomedical, Environmental Application of Fine Particles and Nanotubes" (ISNT2008) (2008.6)

^{*1} (独) 産業技術総合研究所

^{*2} NEC,名城大学

松岡厚子, 松田良枝, 中岡竜介, 配島由二, 土屋利江: **ポリスチレンサイズ標準粒子の細胞毒性および遺伝毒性**
日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

松岡厚子, 浅倉真澄^{*1}, 中村 哲^{*2}, 中井 誠^{*3}, 藤島沙

織^{*3}, 松田良枝, 湯田坂雅子^{*4}, 飯島澄男^{*5}, 田中 勲^{*6}, 土屋利江: **ナノ材料の細胞毒性に及ぼす粒子径の影響について**

日本バイオマテリアル学会シンポジウム2008 (2008.11)

^{*1} 日本バイオアッセイ研究センター

^{*2} (財) 化学物質評価研究機構

^{*3} (財) 化学物質評価研究機構

^{*4} (独) 産業技術総合研究所

^{*5} NEC,名城大学

^{*6} 清水建設株式会社

Matsuoka, A., Matsuda, Y., Isama, K., Tsuchiya, T.: **Cytotoxicity and genotoxicity of eleven size-different polystyrene particles**

日本環境異変原学会37回大会 (2008.12)

Matsuoka, A., Matsuda, Y., Yudasaka, M.^{*1}, Iijima, S.^{*2}, Tanaka, I.^{*3}: **Development of an in vitro safety evaluation system for nanomaterials-3 Single-walled carbon nanohorns and multi-walled carbon nanotubes**

日本環境異変原学会37回大会 (2008.12)

^{*1} (独) 産業技術総合研究所

^{*2} NEC,名城大学

^{*3} 清水建設株式会社

Asakura, M.^{*}, Sugiyama, T.^{*}, Nagano, K.^{*}, Matsuoka, A., Fukushima, S.^{*}: **Development of an in vitro safety evaluation system for nanomaterials-1 Titanium dioxide**

日本環境異変原学会37回大会 (2008.12)

^{*} 日本バイオアッセイ研究センター

松岡厚子: **ナノマテリアルのin vitro 安全性評価系の開発と課題**

第3回ナノマテリアルの環境・健康影響評価および管理技術研究会 (2009.1)

高橋淳子^{*1}, 久保田佳子^{*1}, 大原直樹^{*1}, 小島幸一^{*1}, 香川 (田中) 聡子, 神野透人, 高鳥浩介^{*2}: **公衆浴場における消毒副生成物の曝露評価と微生物汚染について**
日本防菌防黴学会第35回年次大会 (2008.9)

^{*1} (財) 食品薬品安全センター-秦野研究所

^{*2} 東京農業大学

高橋淳子*, 久保田佳子*, 大原直樹*, 小島幸一*, 香川(田中)聡子, 神野透人: **公衆浴場における消毒副生成物(トリハロメタン, ハロ酢酸等)の曝露評価**
第8回環境技術学会研究発表大会(2008.9)

* (財) 食品薬品安全センター秦野研究所

神野透人, 香川(田中)聡子, 古川容子, 辻 清美¹, 林留美子², 田中博子³, 大河原晋⁴, 安藤正典⁴, 西村哲治: **常温揮散性ピレスロイドの経気道曝露評価に関する研究**
フォーラム2008衛生薬学・環境トキシコロジー(2008.10)

¹ 神奈川県衛生研究所

² 愛知県衛生研究所

³ 滋賀県衛生科学センター

⁴ 武蔵野大学薬学部

香川(田中)聡子, 神野透人, 古川容子, 大河原晋¹, 安藤正典¹, 西村哲治, 埴岡伸光², 成松鎮雄²: **含フッ素芳香族ピレスロイドの加水分解に関与するヒトCarboxylesteraseに関する研究**
フォーラム2008衛生薬学・環境トキシコロジー(2008.10)

¹ 武蔵野大学薬学部

² 岡山大学大学院

大河原晋*, 香川(田中)聡子, 古川容子, 西村哲治, 神野透人, 安藤正典*: **ケモタイプエッセンシャルオイルによるヒトTRPV1イオンチャネルのモジュレーション**
フォーラム2008衛生薬学・環境トキシコロジー(2008.10)

* 武蔵野大学薬学部

今津恭平¹, 香川(田中)聡子, 大河原晋², 古川容子, 小俣知世, 清野正子¹, 安藤正典², 西村哲治, 神野透人, 坂部 貢¹: **ミント類による冷刺激受容体 TRPM8 及び TRPA1 活性化に関する研究**
フォーラム2008衛生薬学・環境トキシコロジー(2008.10)

¹ 北里大学薬学部

² 武蔵野大学薬学部

香川(田中)聡子, 神野透人, 古川容子, 小濱とも子,

西村哲治, 徳永裕司: **大型家具・家電製品からの揮発性有機化合物の放散に関する研究**
第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)

神野透人, 香川(田中)聡子, 古川容子, 西村哲治, 埴岡伸光*, 成松鎮雄*: **ピレスロイド系殺虫剤の解毒代謝に関する研究**
平成20年度室内環境学会総会(2008.12)

* 岡山大学大学院

香川(田中)聡子, 古川容子, 辻 清美¹, 林留美子², 田中博子³, 大河原晋⁴, 安藤正典⁴, 西村哲治, 神野透人: **室内空气中常温揮散性ピレスロイドTransfluthrinおよびMetofluthrinの実態調査**
平成20年度室内環境学会総会(2008.12)

¹ 神奈川県衛生研究所

² 愛知県衛生研究所

³ 滋賀県衛生科学センター

⁴ 武蔵野大学薬学部

林留美子¹, 神野透人, 香川(田中)聡子, 古川容子, 辻 清美², 田中博子³, 数間 亨⁴, 武藤敦彦⁴, 西村哲治, 大野 勉¹: **室内空气中熱蒸散性ピレスロイドPrallethrinの実態調査**
平成20年度室内環境学会総会(2008.12)

¹ 愛知県衛生研究所

² 神奈川県衛生研究所

³ 滋賀県衛生科学センター

⁴ (財) 日本環境衛生センター

古川容子, 香川(田中)聡子, 辻 清美¹, 林留美子², 田中博子³, 西村哲治, 神野透人: **防虫剤の室内濃度予測に関する研究: 衣料収納容器の換気率**
平成20年度室内環境学会総会(2008.12)

¹ 神奈川県衛生研究所

² 愛知県衛生研究所

³ 滋賀県衛生科学センター

奥秋菜央¹, 神野透人, 香川(田中)聡子, 古川容子, 大河原晋², 高橋淳子³, 安藤正典², 西村哲治: **公衆浴場におけるジハロアセトニトリル類の曝露評価**
平成20年度室内環境学会総会(2008.12)

¹ 東京医薬専門学校

² 武蔵野大学薬学部

³ (財) 食品薬品安全センター秦野研究所

神野透人, 香川(田中) 聡子, 奥秋菜央¹, 古川容子, 大河原晋², 竹熊美貴子³, 吉田栄充³, 澁木優子⁴, 高橋淳子⁵, 安藤正典², 西村哲治: 公衆浴場及び室内遊泳プールにおけるジハロアセトニトリル類の暴露評価
日本薬学会第129年会 (2009.3)

¹ 東京医薬専門学校

² 武蔵野大学薬学部

³ 埼玉県衛生研究所

⁴ 埼玉県所沢保健所

⁵ (財) 食品薬品安全センター秦野研究所

香川(田中) 聡子, 大河原晋², 古川容子, 小俣知世, 安藤正典¹, 神野透人, 西村哲治: 和精油によるヒト冷刺激/侵害刺激受容体TRPA1の活性化
日本薬学会第129年会 (2009.3)

¹ 武蔵野大学薬学部

大河原晋², 香川(田中) 聡子, 古川容子, 西村哲治, 神野透人, 安藤正典¹: 糖化反応中間体によるヒトTRPA1イオンチャネルの活性化
日本薬学会第129年会 (2009.3)

¹ 武蔵野大学薬学部

竹熊美貴子¹, 吉田栄充¹, 澁木優子², 香川(田中) 聡子, 神野透人: 遊泳用プール水中及び空気中の消毒副生成物に関する調査
日本薬学会第129年会 (2009.3)

¹ 埼玉県衛生研究所

² 埼玉県所沢保健所

徳永裕司¹, 小濱とも子, 内野 正, 五十嵐良明: 経皮暴露研究について
第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

¹ 医薬品医療機器総合機構

小濱とも子, 徳永裕司¹, 五十嵐良明, 内野 正, 西村哲治: ナノマテリアル酸化チタンの経皮的な吸収及び体内分布

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

¹ 医薬品医療機器総合機構

松村由美¹, 宮地良樹¹, 五十嵐良明: ステロイド混入を突き止め製品回収に至った「天然」保湿クリームの事例
日本皮膚科学会第408回京滋地方会 (2008.12)

¹ 京都大学大学院

五十嵐良明, 三輪麻紀子, 内野 正, 徳永裕司¹: けい皮化合物の皮膚感作性強度の比較
第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

¹ 医薬品医療機器総合機構

五十嵐良明, 松村由美¹, 三輪麻紀子, 内野 正, 徳永裕司², 西村哲治: ステロイド剤の配合が疑われた化粧クリーム
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

¹ 京都大学大学院

² 医薬品医療機器総合機構

五十嵐良明, 徳永裕司¹, 大貫奈穂美², 宮沢法政³, 小島 尚⁴, 坂口 洋⁵, 藤井まき子⁶, 高野勝弘⁷, 林 正人⁸, 吉沢賢一⁹, 島村公雄¹⁰, 佐藤信夫¹¹: 化粧品中の紫外線吸収剤の一斉分析法: 2-[4-(ジエチルアミノ)-2-ヒドロキシベンゾイル]安息香酸ヘキシルエステルを主として
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

¹ 医薬品医療機器総合機構

² 東京都健康安全研究センター

³ 埼玉県衛生研究所

⁴ 神奈川県衛生研究所

⁵ 北里大学

⁶ 昭和薬科大学

⁷ 日本化粧品工業連合会

⁸ (株) 資生堂 (株)

⁹ (株) ポーラ化成工業

¹⁰ (株) カネボウ化粧品

¹¹ (株) コーセー

五十嵐良明, 宮澤法政¹, 島村公雄², 佐藤信夫³, 吉沢賢一⁴, 林 正人⁵, 高野勝弘⁶, 宮本道子⁷, 小島 尚⁸, 坂口 洋⁹, 藤井まき子¹⁰: 生活用品試験法 化粧品

試験法 クロルフェネシン

日本薬学会第129年会 (2009.3)

- ¹ 埼玉県衛生研究所
² (株) カネボウ化粧品
³ (株) コーセー
⁴ (株) ポーラ化成工業
⁵ (株) 資生堂
⁶ 日本化粧品工業連合会
⁷ 東京都健康安全研究センター
⁸ 神奈川県衛生研究所
⁹ 北里大学
¹⁰ 昭和薬科大学

内野 正, 五十嵐良明, 関 泰三¹, 森岡恒男¹, 奥村秀信², 高良健作³, 和田浩二³, 徳永裕司⁴: **酸化ストレスに対する β -hexosaminidase 放出抑制効果を指標とした黒糖抽出物中の活性物質の探索**
 第33回日本化粧品学会 (2008.6)

- ¹ 常盤薬品工業 (株)
² (株) ノエビア神戸研究所
³ 琉球大学農学部
⁴ 医薬品医療機器総合機構

Uchino, T., Ikarashi, Y., Nishimura, T., Tokunaga, H.* : **Studies for effect of surface coating on cytotoxicity of nano-sized titanium dioxide for the cultivated cell lines**

The 45th Congress of the European Society of Toxicology (2008.10)

* Pharmaceuticals and Medical Device Agency

橋本 希¹, 横平政直¹, 久野壽也¹, 山川けい子¹, 鈴木 智¹, 竿尾光祐², 内野 正, 徳永裕司³, 今井田克己¹: **気管内投与した酸化銅ナノ粒子はF344ラットにおいて肝発がんを促進する**
 第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

- ¹ 香川大学医学部
² 回生病院
³ 医薬品医療機器総合機構

内野 正, 五十嵐良明, 徳永裕司*, 西村哲治: **化粧品中の配合禁止成分酢酸鉛の測定について**
 第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 医薬品医療機器総合機構

内野 正, 竹澤俊明*, 五十嵐良明, 西村哲治: **コラーゲンビトリゲル薄膜を用いた3次元培養ヒト皮膚モデルの *in vitro* 皮膚感作性試験への応用 (その2: *in vivo* 法との相関性)**
 日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 農業生物資源研究所

竹澤俊明¹, 福田真野^{1,6}, McIntosh Ambroe Winnette^{1,3}, 高 知愛², Elisseff Jennifer H. ³, 芳賀早苗⁴, 尾崎倫孝⁴, 加藤聖子⁵, 王 碧昭⁶, 内野 正, 西田輝夫²: **コラーゲンビトリゲル薄膜の特徴を生かした新しい細胞培養システムの開発**
 日本薬学会第129年会シンポジウム (2009.3)

- ¹ 農業生物資源研究所
² 山口大学
³ ジョンホプキンス大学
⁴ 北海道大学
⁵ 九州大学
⁶ 筑波大学

久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 徳永裕司*, 西村哲治: **塩素及び活性炭による医薬品の処理性および挙動評価**
 第59回全国水道研究発表会 (2008.5)

* 医薬品医療機器総合機構

田原麻衣子, 田中美穂, 久保田領志, 中澤裕之¹, 徳永裕司², 西村哲治: **塩素反応試料における挙動解析と生理作用への影響評価の重要性**
 第59回全国水道研究発表会 (2008.5)

- ¹ 星薬科大学
² 医薬品医療機器総合機構

久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 徳永裕司*, 西村哲治: **浄水工程を想定した医薬品の処理性および挙動評価**
 第17回環境化学討論会 (2008.6)

* 医薬品医療機器総合機構

中田晴彦*, 岡本あゆみ*, 久保田領志, 西村哲治: 養豚場し尿処理施設とその周辺環境におけるテトラサイクリン類の残留特性

第17回環境化学討論会 (2008.6)

* 熊本大学

関 雅範*, 東 純治*, 安達竜太*, 中園金吾*, 久保田領志: PPCPsの環境モニタリング及びジクロフェナックの魚類長期毒性試験

第14回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (2008.8)

* 化学物質評価研究機構

西村哲治, 清水久美子, 田原麻衣子, 久保田領志, 広瀬明彦: フラーレン (C60) の培養細胞への取り込みと影響

第14回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (2008.8)

Nakata, H.*, Okamoto, A.*, Kubota, R., Nishimura, T.: **Occurrence and fate of veterinary antibiotics, tetracyclines, in manure treatment plant of a large-scale swine farm, Japan**

5th SETAC World Congress (2008.8)

* Kumamoto University

Nishimura, T., Shimizu, K., Kubota, R., Tahara, M., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A.: **Biological effects of fullerene (C60) exposed using liposome in HepG2 cells**

The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008.10)

Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., Hirose A., Shimizu, K.*, Oku, N. *, Nishimura, T.: **Tissue distribution of fullerene C60 in rat after oral and tail-vein administration by LC-MS/MS**

The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008.10)

* University of Shizuoka

Nishimura, T., Shimizu, K., Tahara, M., Kubota, R.: **The generation of volatile substances from environmental chemicals by the chlorination**

SETAC North America 29th Annual Meeting (2008.11)

Adachi, R. *, Fukui, H. *, Azuma, J. *, Seki, M. *, Nakazono, K. *, Kubota, R.: **Monitoring of PPCPs in Aquatic Environment and Chronic Toxicity Study on Fish**
SETAC North America 29th Annual Meeting (2008.11)

* Chemicals Evaluation and Research Institute

Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., Hirose A., Shimizu, K., Tokunaga, H. *¹, Seki, M. *², Nishimura, T.: **Monitoring of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Aquatic Environment in Japan and Evaluation of the Removal Efficiency on the Assumption of the Water Purification**

SETAC North America 29th Annual Meeting (2008.11)

*¹ Pharmaceuticals and Medical Device Agency

*² Chemicals Evaluation and Research Institute

久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 西村哲治: 塩素曝露による医薬品の処理性および反応生成物の挙動評価
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

西村哲治, 鈴木俊也*¹, 久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 徳永裕司*²: 利根川水系 (中川) における河川水中有機フッ素化合物の存在実態

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

*¹ 東京都健康安全研究センター

*² 医薬品医療機器総合機構

田原麻衣子, 久保田領志, 中澤裕之*, 西村哲治: 利根川水系 (中川) における河川水中コリンエステラーゼ阻害物質の存在実態

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 星薬科大学

久保田領志, 関 雅範*, 田原麻衣子, 清水久美子, 杉本直樹, 西村哲治: 水環境中PPCPsのモニタリングとヒトへの健康影響評価のための試算
第43回日本水環境学会年会 (2009.3)

* 化学物質評価研究機構

石井絢子, 久保田領志, 鈴木俊也*¹, 杉本直樹, 鎌田素之*², 西村哲治: 水環境中のキノロン系抗菌剤の存在実態と処理性の評価

第43回日本水環境学会年会 (2009.3)

*¹ 東京都健康安全研究センター*² 関東学院大学

田原麻衣子, 久保田領志, 中澤裕之*, 杉本直樹, 西村哲治:
フェンチオンのCYP代謝が及ぼす生体影響
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 星薬科大学

久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 杉本直樹, 西村
哲治: LC-MS/MSによるC60フラーレンのラットへの
経口, 尾静脈投与による体内分布
日本薬学会第129年会 (2009.3)

杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎 壯, 棚元憲一, 末松孝子*¹,
内海博明*¹, 齋藤 剛*², 井原俊英*², 小島 豊*³, 伊藤
澄夫*⁴: qNMRを用いた天然色素カルミン酸の絶対定量
日本生薬学会第55回年会 (2008.9)

*¹ 日本電子株式会社*² (独) 産業技術総合研究所*³ 和光純薬工業株式会社*⁴ 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

Saito, T.*¹, Miura, T.*¹, Ihara, T.*¹, Maeda, T.*¹, Yamada,
Y.*², Nakao, S.*², Nishimura, T., Sugimoto, N.: **A New
Approach for Producing SI Traceable High Purity
Reference Materials of Pesticides using Quantita-
tive NMR**
50th Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference
(2009.3)

*¹ (独) 産業技術総合研究所*² 和光純薬工業株式会社

鈴木俊也*, 宇佐美美穂子*, 保坂三蔵*, 西村哲治, 矢口
久美子*: 環境水中の有機フッ素化合物の分析法
第17回環境化学討論会 (2008.6)

* 東京都健康安全研究センター

坂本義光*¹, 福森信隆*¹, 上原真一*¹, 広瀬明彦, 西村哲
治, 前川昭彦*², 今井 清*³, 小縣昭夫*¹, 中江 大*¹: ラッ
トにおける多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の陰囊
腔内投与による中皮腫の誘発

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

*¹ 東京都健康安全研究センター*² (独) 製品評価技術基盤機構*³ (財) 食品農医薬品安全性評価センター

津田洋幸*¹, 徐 結荀*¹, 深町勝巳*¹, 井上義之*², 高月
峰夫*², 徳永裕司*³, 内野 正, 西村哲治, 広瀬明彦, 菅
野純: 発がんプロモーション試験によるナノ粒子のがん
原性早期検出の試み

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

*¹ 名古屋市立大学大学院*² (財) 化学物質評価研究機構*³ (独) 医薬品医療機器総合機構

西村哲治: 水道水質管理におけるバイオアッセイの適用
—有機リン系農薬のための水道水の安全性評価手法—
第14回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研
究発表会(2008.8)

Nishimura, T., Shimizu, K., Tahara, M., Kubota, R.: **Bio-
logical effects of six chlorinated polycyclic aromatic
hydrocarbons**

Dioxin 2008 (2008.8)

Nishimura, T., Kubota, R., Tahara, M., Shimizu, K., and
Tokunaga, H.: **A occurrence of pharmaceuticals and
personal care products in raw water for drinking
water supply and load to aqueous environment by
sewage treatment water in Japan.**
2008 IWA World Water Congress (2008.9)

* Pharmaceuticals and Medical Device Agency

鈴木俊也*, 西村哲治, 矢口久美子*, 小縣昭夫*: 都市河
川水中の医薬品の存在実態の調査水
フォーラム2008・衛生薬学・環境トキシコロジー
(2008.10)

* 東京都健康安全研究センター

徐 結荀*¹, ニロ 充*¹, 飯郷正明*¹, 深町勝巳*¹, アレ
クサンダーダビッド*¹, 内野 正, 徳永裕司*², 西村哲治,
広瀬明彦, 菅野 純, 津田洋幸*¹: **H-ras**トランスジェニッ
クラットにおける肺及び乳腺発ガンに対するナノTiO₂の
促進作用

第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

*¹ 名古屋市立大学大学院*² (独) 医薬品医療機器総合機構

中江 大¹, 坂本義光¹, 前川昭彦², 今井 清¹, 西村哲治,
広瀬明彦, 小縣昭夫¹: ラットにおける多層カーボンナ
ノチューブの陰嚢腔内投与による中皮腫の誘発

第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

*¹ 東京都健康安全研究センター*² (独) 製品評価技術基盤機構

鈴木俊也*, 宇佐美美穂子*, 西村哲治, 矢口久美子*, 小
縣昭夫*: 水環境中の有機フッ素化合物—多摩川水系に
おける存在実態—

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 東京都健康安全研究センター

西村哲治, 久保田領志: 水道水中の医薬品類の影響評価
日本リスク研究学会2008年度第21回年次大会 (2008.11)

根本 了: 加工食品試験法 I 及び II について

第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)

坂井隆敏, 内田一成¹, 齋藤晃一郎², 村山三徳, 根本 了,
松田りえ子, 米谷民雄: LC/MSを用いた畜水産食品中
のトルトラズリル及びその代謝物の分析法

日本食品衛生学会第96回学術講演会 (2008.9)

*¹ (財) 畜産生物科学安全研究所*² (財) 日本冷凍食品検査協会

坂井隆敏, 齊藤静夏, 根本 了, 松田りえ子: 加工食品
中に高濃度に残留する農薬等試験法の検討

第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)

松田高博¹, 藤田和弘¹, 渡井正俊¹, 原 貴彦², 飯塚
太由², 前田 守³, 戸田 聡³, 村山三徳: シメサバ中
のマラカイトグリーン分析法の検討

日本食品衛生学会第96回学術講演会 (2008.9)

*¹ (財) 日本食品分析センター*² (財) 食品環境検査協会*³ (財) 日本冷凍食品検査協会

水内優花¹, 市川覚士¹, 貝瀬利一¹, 花岡研一², 岡崎
恵美子¹, 長岡 (浜野) 恵, 米谷民雄: マウス体内にお
けるヒジキ中ヒ素化合物の動態と母体からの移行

第95回日本食品衛生学会学術講演会 (2008.5)

*¹ 東京薬科大学*² 水産大学校

長岡 (浜野) 恵, 松田りえ子, 米谷民雄: 農作物中の鉛
及びヒ素試験法の見直しについて

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

長岡 (浜野) 恵, 松田りえ子, 米谷民雄: 清涼飲料水中
のカドミウム, 鉛, ヒ素, スズ, 試験法の見直しについ
て—第四報—

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

杉恵理子¹, 川島郁男¹, 武川哲也², 須永博美¹, 棚瀬
正和¹, 宮原 誠: 放射線照射食品検知TL法の実験室
間の再現性について

日本薬学会第128年会 (2008.3)

*¹ 放振協*² 原燃工

川島郁男*, 杉恵理子*, 須永博美*, 棚瀬正和*, 宮原 誠:
ESR法による照射食品検知技術の確立に向けて(1)—予
備的検討—

日本食品衛生学会第95回学術講演会 (2008.5)

* 放振協

川島郁男*, 杉恵理子*, 須永博美*, 棚瀬正和*, 宮原 誠:
照射食品のTL法による検知技術の検討(5)—対象食品の
拡大と検知技術の進展に向けて—

日本食品衛生学会第95回学術講演会 (2008.5)

* 放振協

武川哲也¹, 宮原 誠, 越川富比古²: 照射食品検知のた
めの微生物法 (熱処理法) の開発と実験室間再現性につ
いて

日本食品衛生学会第95回学術講演会 (2008.5)

*¹ 原燃工*² 日本アイソトープ協会 甲賀研

宮原 誠：検知法を中心とした照射食品の最近の話題
放射線照射利用促進協議会20年度第1回大会 (2008.6)

川島郁男^{*}、杉恵理子^{*}、須永博美^{*}、棚瀬正和^{*}、宮原 誠：
照射食品検知技術確立への取り組み
第45回アイソトープ・放射線研究発表会 (2008.6)

^{*} 放振協

Miyahara, M., Takekawa, T.^{*1}, Furuta, M.^{*2}, Koshikawa, T.^{*3},
Oda, S.^{*4}, Akiba, T.^{*5}, Mori, T.^{*6}, Mimura, T.^{*7}, Sawada, C.^{*8},
Yamaguchi, T.^{*9}, Nishioka, S.^{*10}, Tada, M.^{*11}: **Verification
of the new detection method for irradiated spices
based on microbial survival by collaborative blind
trial**

IMRP2008, ロンドン (2008.9)

- ^{*1} Nuclear Fuel Industries Ltd.
- ^{*2} Osaka Prefecture University
- ^{*3} Japan Radio Isotope Association
- ^{*4} Japan Food Research Laboratories
- ^{*5} Japan Food Hygiene Association
- ^{*6} Tokyo Kenbikyō-In Foundation
- ^{*7} Japan Oilstuff Inspector's Corp.
- ^{*8} Japan Frozen Foods Inspection Corp.
- ^{*9} Japan Electron Beam Irradiation Service Co., Ltd.
- ^{*10} Mycotoxin Inspection Corp.
- ^{*11} Chugoku Gakuen University

増水章季^{*1}、竹下啓蔵^{*1}、吉田哲生^{*2}、武川哲也^{*2}、廣庭
隆行^{*3}、宮原 誠：放射線被曝線量計としてのESRの適
用について基礎検討
第12回ESRフォーラム研究会 (2008.7)

- ^{*1} 崇城大学 薬学部
- ^{*2} 原燃工
- ^{*3} 日本アイソトープ協会 甲賀研

柿平 僚^{*}、尾作浩司^{*}、加藤 毅^{*}、小木曾基樹^{*}、渡井正
俊^{*}、宮原 誠：新しい熱ルミネッセンス測定装置の通
知法 (TL試験) への適用に関する検証
日本食品衛生学会第96回学術講演会 (2008.9)

^{*} 日本食品分析センター

吉田哲生^{*1}、武川哲也^{*1}、廣庭隆行^{*2}、岡野和史^{*3}、原
英之^{*4}、増水章季^{*5}、竹下啓蔵^{*5}、宮原 誠：ESRによ

る照射乾燥果実の検知に関する基礎的研究その1糖類の
ESRシグナルについて

第47回電子スピンサイエンス学会年会 (2008.10)

- ^{*1} 原燃工
- ^{*2} 日本アイソトープ協会 甲賀研
- ^{*3} 日本電子
- ^{*4} ブルカー・バイオスピ
- ^{*5} 崇城大学 薬学部

増水章季^{*1}、吉田哲生^{*2}、武川哲也^{*2}、岡野和史^{*3}、原
英之^{*4}、廣庭隆行^{*5}、宮原 誠：骨付き肉及び魚介類の照
射食品検知に関する研究

第47回電子スピンサイエンス学会年会 (2008.10)

- ^{*1} 崇城大学 薬学部
- ^{*2} 原燃工
- ^{*3} 日本電子
- ^{*4} ブルカー・バイオスピ
- ^{*5} 日本アイソトープ協会 甲賀研

廣庭隆行^{*1}、吉田哲生^{*2}、岡野和史^{*3}、原 英之^{*4}、増水
章季^{*5}、宮原 誠：ESRを用いたセルロースを含む照射
食品検知に関する研究

第47回電子スピンサイエンス学会年会 (2008.10)

- ^{*1} 日本アイソトープ協会 甲賀研
- ^{*2} 原燃工
- ^{*3} 日本電子
- ^{*4} ブルカー・バイオスピ
- ^{*5} 崇城大学 薬学部

原 英之^{*1}、荒木力太^{*1}、廣庭隆行^{*2}、吉田哲生^{*3}、増水
章季^{*4}、宮原 誠：ESRによるアラニン線量及び照射食
品測定

第47回電子スピンサイエンス学会年会 (2008.10)

- ^{*1} ブルカー・バイオスピ
- ^{*2} 日本アイソトープ協会 甲賀研
- ^{*3} 原燃工
- ^{*4} 崇城大学 薬学部

宮原 誠：放射線照射された食品の検知について
日本保健物理学会 保物セミナー 2009 (2008.10)

杉恵理子^{*}、宮原 誠、須永博美^{*}、棚瀬正和^{*}：照射食品
のTL法による検知 その3標準物質の検討

日本薬学会第129年会(2009.3)

* 放振協

佐藤信彦*, 竹歳史紀*, 川上宏之*, 関 龍雄*, 宮原 誠,
米谷民雄: 放射線照射食品検知法 (TL試験法) の応用検討
日本食品衛生学会第97回学術講演会 (2009.5)

* 日本冷凍食品検査協会

中川礼子¹, 村田さつき¹, 芦塚由紀¹, 安武大輔¹, 堀
就英¹, 氏家愛子², 堤 智昭: 国内4地域で採取され
た魚介食品におけるヘキサブROMシクロドデカンの汚染
について
第17回環境化学討論会 (2008.6)

¹ 福岡県保健環境研究所

² 宮城県保健環境センター

Tsutsumi, T., Amakura¹, Y., Yanagi, T.², Kono, Y.², Naka-
mura, M.², Nomura, T.², Sasaki, K., Maitani, T., Matsuda,
R.: **Dietary exposure to dioxins in Japan: Nation-
wide total diet study 2002-2006**
28th International Symposium on Halogenated Persistent
Organic Pollutants (2008.8)

¹ Matsuyama University

² Japan Food Research Laboratories

He, G.^{*}, Baston, D.S.^{*}, Denison, M.S.^{*}, Tsutsumi, T.: **Third
generation CALUX luciferase reporter vectors –
Amplification of dioxin responsive elements dra-
matically increases CALUX bioassay sensitivity and
responsiveness**
28th International Symposium on Halogenated Persistent
Organic Pollutants (2008.8)

* University of California, Davis

Nakagawa, R.¹, Murata, S.¹, Ashizuka, Y.¹, Hori, T.¹,
Yasutake, D.¹, Ujiie, A.², Sasaki, K., Tsutsumi, T.: **Hexa-
bromo-cyclododecane in marine products collected
from four regions of Japan**
28th International Symposium on Halogenated Persistent
Organic Pollutants (2008.8)

¹ Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

² Miyagi Prefectural Institute of Public Health & Environ-
ment

天倉吉章¹, 堤 智昭, 中村昌文², 好村守生¹, 米谷民雄,
吉田隆志¹: 天然物濃縮加工食品AhR結合活性について
日本生薬学会第55年会 (2008.9)

¹ 松山大学

² (株) 日吉

堤 智昭, 天倉吉章, 柳 俊彦¹, 中村宗知¹, 河野洋
一¹, 野村孝一¹, 堀 就英², 飛石和大², 芦塚由紀²,
中川礼子², 飯田隆雄², 佐々木久美子, 豊田正武³, 米
谷民雄, 松田りえ子: 日本における市販食品のダイオキ
シン類汚染実態 ~厚生労働科学研究による調査結果
のまとめ~
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

¹ (財) 日本食品分析センター

² 福岡県保健環境研究所

³ 実践女子大学

堀 就英*, 安武大輔*, 中川礼子*, 堤 智昭: 食品中ダ
イオキシン類・PCBsの一斉迅速分析法の検討 - 市販内
部標準製品中の不純物の同定 -
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 福岡県保健環境研究所

芦塚由紀*, 安武大輔*, 中川礼子*, 村田さつき*, 堀 就英*,
堤 智昭: 魚介類中の臭素化ダイオキシン類及びその関
連化合物の分析
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 福岡県保健環境研究所

堤 智昭, 石塚菜穂子, 松田りえ子, Michael S.Denison*:
ダイオキシン類に対する高感度CALUXバイオアッセイ
の開発 - ダイオキシン類応答性領域を多数含むレポー
ターベクターを利用したアプローチ -
第11回環境ホルモン学会 (2008.12)

* University of California, Davis

渡邊敬浩, 白政優子, 吉光真人¹, 尾花裕孝¹, 門間公
夫², 井部明広², 松田りえ子, 米谷民雄³: 塩基配列情
報に基づくフグ種鑑別技術の改良と検証

第96回日本食品衛生学会学術講演会 (2008.10)

¹ 大阪府立公衆衛生研究所

² 東京都健康安全研究センター

³ 静岡県立大学

渡邊敬浩, 高附 巧, 樽見和枝, 松田りえ子: 日常食からのトランス脂肪酸摂取量の推定

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

渡邊敬浩, 高附 巧, 小山陽子, 松田りえ子: 生鮮野菜を対象とした農薬分析におけるサンプリングの不確かさの推定

日本薬学会第129年会 (2009.3)

渡邊敬浩, 大森清美¹, 峯岸恭孝², 松田りえ子: リアルタイムPCRにより得られる測定値の変動要因

第97回日本食品衛生学会学術講演会 (2009.5)

¹ 神奈川県衛生研究所

² 株式会社ニッポンジーン

河村葉子, 山口未来, 六鹿元雄, 棚元憲一, 和田岳成^{*}, 古川由佳子^{*}: 合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物試験における食品擬似溶媒の検討

日本食品衛生学会第96回学術講演会 (2008.9)

^{*}(財) 日本食品分析センター

河村葉子, 六鹿元雄, 棚元憲一: 玩具塗膜からのカドミウム及び鉛溶出試験法の検討

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

Kawamura, Y.: **Changes of the Endocrine Disruptors in Japanese Food Contact Articles**

4th International Symposium on Food Packaging: Scientific Developments supporting Safety and Quality (2008.11)

Ohmori, K.^{*}, Kawamura, Y.: **Cell Transformation Activities of Abietic Acid and Dehydroabietic Acid: Safety Assessment of Possible Contaminants in Paper and Paperboard for Food Contact Use**

4th International Symposium on Food Packaging: Scientific Developments supporting Safety and Quality (2008.11)

^{*} Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

河村葉子, 有菌幸司¹, 伊藤 誠², 大野浩之³, 金子令子⁴, 河野政美⁵, 羽石奈穂子⁴, 馬場二夫⁶, 堀江正一⁷, 三宅大輔⁸, 六鹿元雄: 生活用品試験法 器具・容器包装および玩具試験法 玩具塗膜の試験法
日本薬学会第129年会 (2009.3)

¹ 熊本県立大学

² 東洋製罐 (株)

³ 名古屋市衛生研究所

⁴ 東京都健康安全研究センター

⁵ 昭和ゴム (株)

⁶ 武庫川女子大学

⁷ 埼玉県衛生研究所

⁸ (財) 日本食品分析センター

久保田浩樹, 佐藤恭子, 棚元憲一, 河村葉子, 原 貴彦¹, 平川佳則¹, 飯塚太由¹, 田中麻紀子², 岩村真実²: 食品中の天然由来の安息香酸及びソルビン酸含有量の実態調査
日本食品化学学会第15回学術大会 (2009.5)

¹(財) 食品環境検査協会

²(財) 冷凍食品検査協会

建部千絵, 細川 晶¹, 木村慎太郎¹, 神藤浩平², 山下靖子³, 飯塚太由³, 高畑 薫⁴, 宮崎奉之⁴, 高橋仁一⁵, 河崎裕美, 佐藤恭子, 棚元憲一: タール色素およびタール色素アルミニウムレーキの純度試験の改良に関する研究 (2)

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

¹ 日本食品分析センター

²(財) 冷凍食品検査協会

³(財) 食品環境検査協会

⁴(社) 東京都食品衛生協会東京食品技術研究所

⁵ 日本食品添加物協会

建部千絵, 杉本直樹, 齋藤 剛¹, 井原俊英¹, 末松孝子², 有福和紀², 内海博明², 吉田雄一³, 多田敦子, 佐藤恭子, 山崎 壮, 棚元憲一, 西村哲治: qNMRに基づく食用合成色素の新規定量法
日本薬学会第129回年会 (2009.3)

¹ 独立行政法人産業技術総合研究所

² 日本電子 (株)

³ 和光純薬工業 (株)

箕川 剛, 久保田浩樹, 河崎裕美, 佐藤恭子, 棚元憲一,

河村葉子：LC/MSによるステアロイル乳酸ナトリウムの分析

日本食品化学学会第15回学術大会 (2009.5)

小林千種^{*1}, 大石充男^{*1}, 伊藤澄夫^{*2}, 岸 弘子^{*3}, 佐藤恭子, 杉本敏明^{*4}, 森 曜子^{*5}, 渡部健二郎^{*6}, 安田和男^{*7}: 飲食物試験法, 食品添加物試験法, ズルチン: HPLCによる定性・定量及びLC/MSによる定性

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 東京都健康安全研究センター

^{*2} 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

^{*3} 神奈川県衛生研究所

^{*4} (財) 日本食品分析センター

^{*5} 日本適合性認定協会

^{*6} 横浜市衛生研究所

^{*7} 東京顕微鏡院

秋山卓美, 山崎 壮, 棚元憲一: ジエチルジチオアセタール化を利用した増粘多糖類構成糖分析法

日本薬学会第129年会 (2009.3)

多田敦子, 石附京子, 濱田ひかり*, 小林義一*, 山崎 壮, 棚元憲一: 味認識装置による食品添加物イソアルファー苦味酸および含有苦味成分の測定

日本農芸化学学会第2009年度大会 (2009.3)

* (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

多田敦子, 杉本直樹, 石附京子, 末松孝子^{*1}, 有福和紀^{*1}, 齋藤 剛^{*2}, 井原俊英^{*2}, 吉田雄一^{*3}, 山崎 壮, 西村哲治, 棚元憲一, 河村葉子: NMRによる既存添加物中のquercetin配糖体の定量

日本食品化学学会第15回学術大会 (2009.5)

^{*1} 日本電子 (株)

^{*2} 独立行政法人産業技術総合研究所

^{*3} 和光純薬工業 (株)

伊藤裕才, 油井美紀*, 山崎 壮, 佐藤恭子, 棚元憲一: 食品中のナイシン分析法の検討

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

* 日本大学生物資源学部

伊藤裕才, 山崎 壮, 佐藤恭子, 棚元憲一, 河村葉子: LC/MSを用いた食品中のナイシン分析法の検討

日本食品化学学会第15回学術大会 (2009.5)

石附京子, 多田敦子, 杉本直樹, 山崎 壮, 棚元憲一: LC/MS/MSを用いたイソアルファー苦味酸およびホップ関連製品の分析

日本食品衛生学会第96回学術講演会 (2008.9)

島村智子^{*1}, 平山大剛^{*1}, 杉本直樹, 山崎 壮, 松井利郎^{*2}, 松本 清^{*2}, 受田浩之^{*1}: 酸化防止剤の力価評価に対する各種抗酸化活性評価法の適用性—天然物由来酸化防止剤について—

日本食品科学工学会第55回大会 (2008.9)

^{*1} 高知大学農学部

^{*2} 九州大学大学院

六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子, 棚元憲一: フッ素加工された食品用器具・容器包装中のペルフルオロ化合物の分析

日本食品衛生学会第96回学術大会 (2008.9)

六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子, 棚元憲一: ポリウレタン製品中のイソシアネートの分析

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

Mutsuga, M., Kawamura, Y., Tanamoto, K.: **Migration of lactic acid, lactide and oligomers from polylactide** 4th International Symposium on Food Packaging: Scientific Developments supporting Safety and Quality (2008.11)

六鹿元雄, 河村葉子, 有菌幸司^{*1}, 伊藤 誠^{*2}, 大野浩之^{*3}, 金子令子^{*4}, 河野政美^{*5}, 羽石奈穂子^{*4}, 馬場二夫^{*6}, 堀江正一^{*7}, 三宅大輔^{*8}: 生活用品試験法 器具・容器包装および玩具試験法 N-ニトロソアミン類ガスクロマトグラフィーによる定性および定量

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 熊本県立大学

^{*2} 東洋製罐 (株)

^{*3} 名古屋市衛生研究所

^{*4} 東京都健康安全研究センター

^{*5} 昭和ゴム (株)

^{*6} 武庫川女子大学

^{*7} 埼玉県衛生研究所

^{*8} (財) 日本食品分析センター

六鹿元雄, 大野浩之^{*1}, 河村葉子, 有菌幸司^{*2}, 伊藤

誠^{*3}, 金子令子^{*4}, 河野政美^{*5}, 羽石奈穂子^{*4}, 馬場二夫^{*6}, 堀江正一^{*7}, 三宅大輔^{*8}: 生活用品試験法 器具・容器包装および玩具試験法 総乳酸 高速液体クロマトグラフィーによる定性および定量
日本薬学会第129年会 (2009.3)

- ^{*1} 名古屋市衛生研究所
^{*2} 熊本県立大学
^{*3} 東洋製罐 (株)
^{*4} 東京都健康安全研究センター
^{*5} 昭和ゴム (株)
^{*6} 武庫川女子大学
^{*7} 埼玉県衛生研究所
^{*8} (財) 日本食品分析センター

六鹿元雄, 山口未来, 大野浩之^{*}, 河村葉子: ナイロン製品からのモノマーおよび芳香族第一級アミン類の溶出
日本食品化学学会第15回学術大会 (2009.5)

^{*}名古屋市衛生研究所

阿部 裕, 六鹿元雄, 河村葉子: ポリ塩化ビニル製品中の6種のフタル酸エステル試験法の検討
日本食品化学学会第15回学術大会 (2009.5)

大野浩之^{*}, 六鹿元雄, 河村葉子: メタクリル酸メチル製食品用器具中の揮発性物質の分析
日本食品衛生学会第96回学術大会 (2008.9)

^{*}名古屋市衛生研究所

森田幸雄^{*1}, Boonmar, S.^{*2}, Padungtad, P.^{*3}, Chanda, C.^{*4}, Chandra JHA, V.^{*5}, 佐藤輝夫^{*1}, 山本茂貴, 木村博一^{*6}, 壁谷英則^{*7}, 丸山総一^{*7}: アジア諸国の食品衛生状況
日本大学獣医学会(2008, 6)

- ^{*1} 群馬県環境衛生研究所
^{*2} カセサート大学 (タイ)
^{*3} チェンマイ大学 (タイ)
^{*4} ネパール農務省
^{*5} ラオス国立大学
^{*6} 国立感染症研究所
^{*7} 日本大学

Boonmar, S.^{*1}, Markvichitr, K.^{*1}, Chaunchom, S.^{*1}, Chanda, C.^{*2}, 森田幸雄^{*3}, 小澤邦壽^{*3}, 木村博一^{*4}, 丸山総一^{*5}, 山本茂貴: *Salmonella prevalence in slaughtered buf-*

faloes and pigs and antimicrobial susceptibility of isolates in Vientiane, Laos
第29回日本食品微生物学会(2008.11)

- ^{*1} カセサート大学 (タイ)
^{*2} ラオス国立大学
^{*3} 群馬県環境衛生研究所
^{*4} 国立感染症研究所
^{*5} 日本大学

山本茂貴: 輸入食品における食中毒菌のモニタリングシステム
第147回日本獣医学会学術集会(2009.4)

山本茂貴: 公衆衛生分野における獣疫医学
第27回獣疫学会学術集会(2009.4)

五十君静信: 食品からの微生物標準試験法における妥当性確認
AOACインターナショナル日本セクション第11回総会(2008.6)

五十君静信: 遺伝子組換え技術による乳酸菌の新しい機能の開発
日本微生物資源学会第15回大会(2008.7)

五十君静信: 食品の微生物規格の現状と今後の議論
食品流通安全研究会(2008.8)

五十君静信: 食品微生物検査における標準法作成の取り組み
東北食中毒研究会第21回全体会議(2008.8)

五十君静信: 遺伝子組換え乳酸菌を用いた経口粘膜ワクチン
第11回日本臨床腸内微生物学会(2008.9)

五十君静信: 食品の微生物試験法を国際規格にどのように対応していくか
ATP・迅速検査研究会 第19回講演会(2008.10)

五十君静信: 食品微生物試験の標準化に向けた我国の取り組み
第30回日本食品微生物学会学術セミナー (2008.10)

天野富美夫^{*1}, 田村 愛^{*1}, 寺井志織^{*1}, 山崎 学^{*2}, 五十君静信: サルモネラ環境分離株の病原性と環境スト

レス抵抗性を担う新規病原性関連因子, SEp22について
日本薬学会衛生薬学会「フォーラム2008衛生薬学・環境トキシコロジー (2008.10)

*1 大阪薬科大学
*2 微生物化学研究会

吉田朋高^{*1}, 河野潤一^{*2}, 清水 晃^{*2}, 松岡英明^{*3}, 小林政人^{*1}, 五十君静信: 黄色ブドウ球菌標準試験法のコロナポスタディ実験データの統計学的考察
日本食品微生物学会(2008.11)

*1 財団法人食品分析開発センター SUNATEC
*2 神戸大学
*3 東京農工大学

五十君静信: 食品の微生物試験標準法に関する国内の動向
日本食品微生物学会(2008.11)

五十君静信: コーデックスにおける食品の微生物規格基準作りの議論から, 求められるわが国の微生物標準試験法
食の安全を確保するための微生物検査協議会総会(2008.11)

五十君静信: コラボラティブ・スタディから見えてきたこと2黄色ブドウ球菌について
食の安全を確保するための微生物検査協議会総会(2008.11)

藤 英博^{*1}, 森田英利^{*2}, 大島健志朗^{*3}, 村上 賢^{*2}, 五十君静信, 服部正平^{*4}: プロバイオティクス乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 (GG)株のゲノム解析
日本分子生物学会年会(2008.12)

*1 理化学研究所
*2 麻布大学
*3 北里大学生命研究所
*4 東京大学

五十君静信: 食品を介したリステリア症の制御の考え方
第82回日本細菌学会総会(2009.3)

Kajikawa, A., and Igimi, S. : Expression of *Salmonella* OmpC in recombinant *Lactobacillus casei* induced

an attenuated pro-inflammatory response of RAW264.7 cell

9th Symposium on Lactic acid bacteria (2008.8-9)

岡田由美子, 小沼博隆^{*1}, 五十君静信, 関 龍雄^{*2}, 澤田千尋^{*2}, 森 久子^{*2}, 坂口真理^{*2}, 田中廣行^{*3}, 宇田川藤江^{*3}, 小澤一弘^{*4}, 三輪憲永^{*5}, 増田高志^{*6}, 原田哲也^{*6}, 春日文子: 冷凍食品及び凍結食品の微生物汚染実態調査第146回日本獣医学会(2008.9)

*1 東海大学
*2 財団法人日本冷凍食品検査協会
*3 財団法人日本食品分析センター
*4 株式会社中部衛生検査センター
*5 東海大学短期大学
*6 静岡県環境衛生科学研究所

岡田由美子: 冷凍食品の流通実態と安全性確保への展望
第30回日本食品微生物学会学術セミナー (2008.10)

森 久子^{*1}, 岡田由美子, 坂口真理^{*1}, 関 龍雄^{*1}, 澤田千尋^{*1}, 齋藤利江^{*1}, 小沼博隆^{*2}, 五十君静信, 春日文子: ISO法に基づく汚染指標菌検出法の検討及び冷凍流通食品の汚染実態調査 (1)
第29回日本食品微生物学会(2008.11)

*1 財団法人日本冷凍食品検査協会
*2 東海大学

坂口真理^{*1}, 岡田由美子, 森 久子^{*1}, 関 龍雄^{*1}, 澤田千尋^{*1}, 永田朝美^{*1}, 小沼博隆^{*2}, 五十君静信, 春日文子: ISO法に基づく汚染指標菌検出法の検討及び冷凍流通食品の汚染実態調査 (2)
第29回日本食品微生物学会(2008.11)

*1 財団法人日本冷凍食品検査協会
*2 東海大学

岡田由美子, 鈴木穂高, 五十君静信, 山本茂貴, 岡田信彦: *Listeria monocytogenes* の酸化ストレス応答における $\sigma 54$ の役割
第82回日本細菌学会 (2009.3)

* 北里大学

Okada, Y., Suzuki, H., Igimi, S., Yamamoto, S., and Okada, N.: Identification of genes associated with the

growth phase transition and its mechanisms in *Listeria monocytogenes*

109th General Meeting of American Society for Microbiology(2009.5)

* Kitasato University

Poapolathep, S.^{*1}, Poapolathep, A.^{*2}, Sugita-Konishi, Y., Machii, K., and Kumagai, S.^{*1}: **The effect of oral administration of curcumin on aflatoxin B1 metabolism and its acute toxicity in rats**

64th Meeting of the Japanese Society of Mycotoxicology (2008.8)

^{*1} University of Tokyo

^{*2} Kasetsart University, Thailand

Poapolathep, A.^{*1}, Poapolathep, S.^{*2}, Sugita-Konishi, Y., Itoh, Y., Machii, K. and Kumagai, S.^{*2}: **Effects of naringenin on dispositions of deoxynivalenol in pigs**

64th Meeting of the Japanese Society of Mycotoxicology (2008.8)

^{*1} Kasetsart University, Thailand

^{*2} University of Tokyo

Poapolathep, A.^{*1}, Poapolathep, S.^{*2}, Sugita-Konishi, Y., Machii, K., Itoh, Y. and Kumagai, S.^{*2}: **Effect of naringenin on dispositions of deoxynivalenol in piglets**

48th Annual Meeting and ToxExpo of Society of Toxicology (2009.3)

^{*1} Kasetsart University, Thailand

^{*2} University of Tokyo

鈴木穂高, 山本茂貴: **米国産輸入牛肉と我が国の腸管出血性大腸菌による食中毒, および感染症の発生状況**
第146回日本獣医学会 (2008.9)

大塚亮一*, 武田真記夫*, 鈴木穂高: **マウス小腸パイエル板の部位差-マイクロアレイによる解析-**
第147回日本獣医学会 (2009.4)

* 残留農薬研究所

Suzuki, H., and Yamamoto, S.: **A Literature Survey of *Campylobacter* Contamination in Retail Poultry**

Meats and By-Products in the World

The 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations FAVA - OIE Joint Symposium on Emerging Diseases (2008.10)

春日文子: **微生物学的リスク管理とリスク評価 - その境界と連携, それぞれに必要なデータと理論**

日本リスク研究学会第21回年次大会 (2008.11)

長谷川専^{*1}, 松下知己^{*1}, 山本昭夫^{*2}, 鈴木穂高, 筒井俊之^{*3}, 山本健久^{*3}, 澤田美樹子^{*4}, 本山恵子^{*4}, 岩堀淳一郎^{*5}, 春日文子: **鶏肉の喫食に伴うカンピロバクター感染のリスクアセスメント**

日本リスク研究学会第21回年次大会 (2008.11)

^{*1} (株) 三菱総合研究所

^{*2} 兵庫県立健康環境科学研究所

^{*3} (独) 農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所

^{*4} (株) 日立東日本ソリューションズ

^{*5} 高知大学医学部

岩堀淳一郎^{*1}, 山本昭夫^{*2}, 鈴木穂高, 山本健久^{*3}, 筒井俊之^{*3}, 本山恵子^{*4}, 澤田美樹子^{*4}, 松下知己^{*5}, 長谷川専^{*5}, 春日文子: **アジ生食に伴う腸炎ビブリオ食中毒のリスク評価**

日本リスク研究学会第21回年次大会 (2008.11)

^{*1} 高知大学医学部

^{*2} 兵庫県立健康環境科学研究所

^{*3} (独) 農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所

^{*4} (株) 日立東日本ソリューションズ

^{*5} (株) 三菱総合研究所

伊藤嘉典: **1972-1991年までの輸入ピーナッツのアフラトキシン汚染**

第35回カビ毒研究連絡会 (2008.8)

Noda, M., Ushijima K.^{*1}, Nishio, O.^{*2}: **Relatedness between norovirus contamination in oysters and epidemics of acute gastroenteritis in humans**

The 7th Japan-China International Conference of Virology (2008.6)

^{*1} Faculty of Nursing and Rehabilitation, Aino University

^{*2} Infectious Disease Surveillance Center, National Institute

of Infectious Diseases

田村 務^{*1}, 西川 眞^{*1}, 野田 衛, 武田直和^{*2}, 田中智之^{*3}, 鈴木 宏^{*4}: 急性胃腸炎患者から嘔吐後に採取された口腔うがい液中のノロウイルスの定量
第56回日本ウイルス学会学術総会 (2008.10)

^{*1} 新潟県保健環境科学研究所

^{*2} 国立感染症研究所ウイルス第二部

^{*3} 堺市衛生研究所

^{*4} 新潟大学大学院医歯薬総合研究科

植木 洋^{*1}, 庄司美加^{*1}, 山本美和子^{*2}, 阿部勝彦^{*2}, 伊藤文明^{*2}, 池田義文^{*2}, 西尾 治^{*3}, 岡智一郎^{*4}, 片山和彦^{*4}, 武田直和^{*4}, 野田 衛: カキを用いたサポウイルスの環境調査
第56回日本ウイルス学会学術総会 (2008.10)

^{*1} 宮城県保健環境センター

^{*2} 広島市衛生研究所

^{*3} 国立感染症研究所感染症情報センター

^{*4} 国立感染症研究所ウイルス第二部

飯塚節子^{*1}, 岡智一郎^{*2}, 片山和彦^{*2}, 武田直和^{*2}, 野田 衛: サポウイルスとノロウイルスが検出された食中毒事例
第56回日本ウイルス学会学術総会 (2008.10)

^{*1} 島根県保健環境科学研究所

^{*2} 国立感染症研究所ウイルス第二部

野田 衛, 阿部勝彦^{*1}, 伊藤文明^{*1}, 武田直和^{*2}: 表面汚染が推定される食品からのノロウイルス検出法に関する検討
第29回日本食品微生物学会学術総会 (2008.11)

^{*1} 広島市衛生研究所

^{*2} 国立感染症研究所ウイルス第二部

阿部勝彦^{*}, 山本美和子^{*}, 国井悦子^{*}, 国寄勝也^{*}, 伊藤文明^{*}, 池田義文^{*}, 笠間良雄^{*}, 野田 衛: 2006年~2008年に広島市で流行しているNorovirus G2/4の分子疫学について
第29回日本食品微生物学会学術総会 (2008.11)

^{*} 広島市衛生研究所

Ueki, Y.^{*1}, Shoji, M.^{*1}, Okimura, Y.^{*1}, Masago, Y.^{*2}, Miura, T.^{*2}, Omura, T.^{*2}, Oka, T.^{*3}, Katayama, O.^{*3}, Takeda, N.^{*4},

Noda, M., Miyota, Y.^{*1}: **Prevalence and genotypes of Sapovirus in wastewater, oysters and gastroenteritis patients in Japan**

15th International Symposium on the Health-Related Water Microbiology (2009.5-6)

^{*1} Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment

^{*2} Tohoku University

^{*3} National Institute of Infectious Diseases

^{*4} Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections, Thailand

Fuke, Y.^{*1}, Kobayashi, S.^{*1}, Sugita-Konishi, Y., Akiyama, H., Nomura, T.^{*2}, Ryoyama, K.^{*3}, Saiki, I.^{*4}: **Preventive effect and immune responses of 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate from wasabi (*Wasabia japonica* Matsum) on the pulmonary metastasis of B16-BL6 mouse melanoma cells**

20th International Union against cancer-world Cancer Congress (2008.8)

^{*1} Tokyo Metropolitan University

^{*2} Kanazawa Gakuin College

^{*3} Aomori University

^{*4} University of Toyama

Tsunoda, M.^{*1}, Tsunoda, H.^{*2}, Itai, K.^{*3}, Zhang, Y.^{*1,3}, Kodama, Y., Sugita-Konishi, Y., Katagiri, H.^{*4}, Hosokawa, M.^{*1}, Sugaya, C.^{*1}, Inoue, Y.^{*1}, Miki, T.^{*1}, Kudo, Y.^{*1}, Satoh, T.^{*1}, Aizawa, Y.^{*1}: **Effect of fluoride on viability and splenic cytokine productions of male hereditary nephrotic mice after oral administration**

28th International Society for Fluoride Research (2008.8)

^{*1} Kitasato University School of Medicine

^{*2} Iwate Medical University

^{*3} Fukushima Rehabilitation Academy

^{*4} Kitasato University School of Allied Health Sciences

齊藤史朗^{*1}, 佐藤敏彦^{*2}, 田中敏嗣^{*3}, 高橋正紀^{*4}, 田中宏輝^{*5}, 小木曾基樹^{*6}, 前田 守^{*7}, 杉山圭一, 小西良子: 国産小麦粉中のNIVの汚染実態とそれに基づいた暴露評価

第96回学術講演会日本食品衛生学会 (2008.9)

^{*1} 東京大学大学院

*2 北里大学医学部

*3 神戸市環境保健研究所

*4 (社) 全日本検数協会

*5 サントリー (株) 安全性科学センター

*6 (財) 日本食品分析センター

*7 (財) 日本冷凍食品検査協会

門田智之^{*1}, 伊藤勇二^{*1}, 竹澤陽子^{*1}, 坂元雄二^{*1}, Maragos Chris^{*2}, 小西良子, 田中敏嗣^{*3}: **SPRによる小麦中のニバレノール及びデオキシニバレノールの迅速分析法の検討**

第96回学術講演会日本食品衛生学会 (2008.9)

*1 キリンホールディングス (株)

*2 USDA-ARS-NCAUR

*3 神戸市環境保健研究所

中島正博^{*1}, 永山敏廣^{*2}, 石黒瑛一^{*3}, 内藤成弘^{*4}, 伊藤嘉典, 鎌田洋一, 小西良子, 山本勝彦^{*5}, 田中敏嗣^{*6}: **デオキシニバレノール及びニバレノール同時分析法妥当性試験の評価**

第96回学術講演会日本食品衛生学会 (2008.9)

*1 名古屋市衛生研究所

*2 東京都健康安全研究センター

*3 (財) 日本食品分析センター

*4 (独) 農研機構・食品総合研究所

*5 名古屋学芸大学

*6 神戸市環境保健研究所

青山幸二^{*1}, 中島正博^{*2}, 堤 徹^{*3}, 法月廣子^{*3}, 小木曾基樹^{*4}, 石黒瑛一^{*4}, 甲斐茂美^{*5}, 田端節子^{*6}, 山口茂明^{*7}, 前田 守^{*7}, 田中敏嗣^{*8}, 杉山圭一, 伊藤嘉典, 小西良子: **日本に流通する食品中のオクラトキシンAおよびフモニシン汚染実態調査 (平成19年度)**

第96回学術講演会日本食品衛生学会 (2008.9)

*1 (独) 農林水産消費安全技術センター

*2 名古屋市衛生研究所

*3 (財) 日本穀物検定協会

*4 (財) 日本食品分析センター

*5 神奈川県衛生研究所

*6 東京都健康安全研究センター

*7 (財) 日本冷凍食品検査協会

*8 神戸市環境保健研究所

佐久間久子, 鎌田洋一, 佐藤敏彦^{*1}, 斉藤史朗^{*2}, 小西良子:

バター・チーズ中のアフラトキシンM₁分析法の検討

第96回学術講演会日本食品衛生学会 (2008.9)

*1 北里大学医学部

*2 東京大学大学院

露木利枝^{*1}, 矢口 篤^{*1}, 吉成知也^{*1}, 高橋治男, 中島隆^{*2}, 小西良子, 長澤寛道^{*1}, 作田庄平^{*1}: **精油に含まれるデオキシニバレノール生産阻害物質**

第64回日本マイコトキシン学会学術講演会 (2008.8)

*1 東京大学大学院

*2 九州沖縄農研

滝埜昌彦^{*1}, 亀井克彦^{*2}, 落合恵理^{*2}, 小西良子: **LC / TOF-MSおよびLC / MS / MSを用いた真菌中の大環状トリコテセン類及びグリオトキシンの分析**

第64回日本マイコトキシン学会学術講演会 (2008.8)

*1 アジレント・テクノロジー (株)

*2 千葉大学真菌医学研究センター

Poapolathep, A.^{*1}, Poapolathep, S.^{*2}, Sugita-Konishi, Y., Machii, K., Itoh, Y., Kumagai, S.: **Effect of naringenin on dispositions of deoxynivalenol in pigs.**

第64回日本マイコトキシン学会学術講演会 (2008.8)

*1 Kasetsart University

*2 University of Tokyo

濱田美影^{*1}, 薩 秀夫^{*1}, 芦田 均^{*2}, 小西良子, 清水誠^{*1}: **腸管上皮透過時のフラボノイドの動態及びその生理活性に対するダイオキシンの影響**

第13回フードファクター学会 (2008.11)

*1 東京大学

*2 神戸大学

落合恵理^{*1}, 亀井克彦^{*1}, 滝埜昌彦^{*2}, 小西良子, 矢口貴志^{*1}, 松澤哲宏^{*1}, 佐藤綾香^{*1}, 永吉 優^{*1,3}, 渡辺 哲^{*1,4}, 豊留孝仁, 渋谷和俊^{*5}: **Stachybotrys chartarumによるマイコトキシン産生性についての検討**

真菌症フォーラム第10回学術集会 (2009.2)

*1 千葉大学真菌医療センター

*2 アジレント・テクノロジー (株)

*3 千葉大学医学研究院

^{*4} 千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部

^{*5} 東邦大学大森病院

Sugita-Konishi, Y., Sugiyama, K., Saito, S.^{*1}, Sato, T.^{*2}, Maragos, C.^{*3}, Kodaka, T.^{*4}, Takezawa, Y., Kamata, Y., Tanaka, T.^{*5}: **Co-contamination of DON and NIV in domestic flour in Japan: Survey, intake, reduction and rapid assay**

United States-Japan Cooperative Program on Development&Utilization of Natural Resources Joint Panel on Toxic Microorganisms (2008.11)

^{*1} The University of Tokyo

^{*2} Kitasato University

^{*3} USDA-ARS-NCAUR

^{*4} Kirin Holdings Company, Limited

^{*5} Kobe Institute of Health

Kadota, T.^{*1}, Ito, Y.^{*1}, Takezawa, Y.^{*1}, Sakamoto, Y.^{*1}, Maragos, C.^{*2}, Nakajima, T.^{*3}, Tanaka, T.^{*4}, Sugita-Konishi, Y.: **Rapid screening assay for the detection of Nivaleanol and Deoxynivalenol using monoclonal antibody and Surface Plasmon Resonance**

The fifth conference of The World Mycotoxin Forum (2008.11)

^{*1} Kirin Holdings Company, Limited

^{*2} USDA-ARS-NCAUR

^{*3} National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region

^{*4} Kobe Institute of Health

滝埜昌彦^{*1}, 落合恵理^{*2}, 亀井克彦^{*3}, 小西良子: **LC/TOF-MSを用いた *Stachbotrys chartarum* 及び *Aspergillus fumigatus* のキャラクタリゼーション**
第65回日本マイコトキシン学会学術講演会(2009.1)

^{*1} アジレント・テクノロジー (株)

^{*2} 千葉大学真菌医学研究センター

濱田美影^{*1}, 薩 秀夫^{*1}, 芦田 均^{*2}, 小西良子, 清水 誠^{*1}: **腸管上皮細胞におけるメトキシフラボノイドの吸収・代謝**

日本農芸化学会2009年度大会 (2009.3)

^{*1} 東京大学

^{*2} 神戸大学

Takino, M.^{*1}, Sugita-Konishi, Y., Pestka, J.^{*2}: **Determination of macrocyclic trichothecenes in a water damaged house by LC/MS**

The 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry (2008.6)

^{*1} Agilent Technologies

^{*2} Michigan State University

塩入利一, 室井正志, 畑尾史彦^{*}, 西田正人^{*}, 小川利久^{*}, 三村芳和^{*}, 棚元憲一, 上西紀夫^{*}: **エンドトキシンによる血管内皮細胞のアポトーシス誘導および可溶性CD14, MD-2の効果について**

日本外科代謝栄養学会 第45回学術集会 (2008.7)

* 東京大学

西田正人^{*1}, 畑尾史彦^{*1}, 比企直樹^{*2}, 小川利久^{*1}, 三村芳和^{*1}, 塩入利一, 室井正志, 棚元憲一, 上西紀夫^{*1}: **TLR4/MD-2/CD14定常発現細胞を用いたTLR4刺激能測定による, グラム陰性菌への抗生剤投与後のLPS生物活性の評価**

日本外科代謝栄養学会 第45回学術集会 (2008.7)

^{*1} 東京大学

^{*2} 癌研究会有明病院

Muroi, M., Ohnishi, T., Tanamoto, K.: **TRAF6 distinctively mediates MyD88- and IRAK-1-induced activation of NF-κB**

10th Biennial Meeting of the International Endotoxin and Innate Immunity Society (2008.7)

Ohnishi, T., Muroi, M., Tanamoto, K.: **Dimerization of intracellular domain of TLR4 is not required for the activation of MyD88-independent signaling pathway**

10th Biennial Meeting of the International Endotoxin and Innate Immunity Society (2008.7)

Nishida, M.^{*1}, Hatao, F.^{*1}, Hiki, N.^{*2}, Ogawa, T.^{*1}, Mimura, Y.^{*1}, Seto, Y.^{*1}. Muroi, M., and Tanamoto K.: **New assay for biologically active of lipopolysaccharide using NF-κB activity in Toll-like receptor (TLR) 4/MD-2/CD14-transfected HEK293 cells**

10th Biennial Meeting of the International Endotoxin and Innate Immunity Society (2008.7)

^{*1} 東京大学

^{*2} 癌研究会明病院

大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: **MyD88非依存性経路活性化におけるTLR4二量体形成の役割の解析**
第14回日本エンドトキシン研究会 (2008.10)

大西貴弘: **平成20年度日本エンドトキシン研究会奨励賞受賞講演 -マクロファージ細胞膜表面におけるエンドトキシン認識機構に関する研究-**
第14回日本エンドトキシン研究会 (2008.10)

塩入利一^{*}, 室井正志, 大西貴弘, 棚元憲一: **エンドトキシンによる血管内皮細胞のアポトーシス誘導と可溶性CD14, MD-2の効果**
第14回日本エンドトキシン研究会 (2008.10)

^{*} 東京大学

天野憲一^{*1}, 横田伸一^{*2}, 大西貴弘, 三澤尚明^{*3}: **自然免疫におけるカンピロバクターとヘリコバクター由来LPSの炎症性サイトカイン誘導能**
第1回日本カンピロバクター研究会(2008.12)

^{*1} 秋田大学

^{*2} 札幌医科大学

^{*3} 宮崎大学

室井正志, 棚元憲一: **IRAK-1との相互作用によるTRAF6のproteasome依存性の分解**
第82回日本細菌学会総会 (2009.3)

大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: **LPS刺激はTRIFをTLR4から解離させる**
第82回日本細菌学会総会 (2009.3)

宮原美知子: **各分野における迅速微生物検査の現状と今後の展望 食品の分野から**
日本防菌防黴学会第35回年次大会(2008.9)

宮原美知子, 内藤理恵子, 野口陽一郎, 宮原 誠: **ウェルシュ菌の食中毒事件原因検討**
日本防菌防黴学会第35回年次大会(2008.9)

荒川英二^{*}, 宮原美知子: **PCRによる食品中腸炎ビブリオの迅速検出法の検討**
第42回腸炎ビブリオシンポジウム(2008.10)

^{*} 国立感染研

宮原美知子, 内藤理恵子, 野口陽一郎: **食品中の細菌検査における乳剤の影響の検討**
第29回日本食品微生物学会学術総会(2008.11)

宮原美知子: **生肉からの大腸菌検出方法についての検討**
第82回日本細菌学会総会(2009.3)

松谷佐知子: **大腸菌ArtAタンパク質のDNA結合活性**
第31回日本分子生物学会年会 (2008.12)

Hara-Kudo, Y., Niizuma, J. ^{*1}, Goto, I. ^{*2}, Iizuka, S. ^{*1}, Kaji, Y. ^{*1}, Kamakura, K. ^{*2} and Suzuki, S. ^{*2}: **Effective procedures independent of serotype to detect Shiga toxin-producing Escherichia coli surveillance on beef**
International Association of Food Protection 95th Annual Meeting. (2008.8)

^{*1} 横浜検疫所

^{*2} 神戸検疫所

野田裕之^{*1}, 千須和美母衣^{*1}, 金子通治^{*2}, 工藤由起子: **エビの冷凍保存下におけるサルモネラの生残性**
第95回日本食品衛生学会学術講演会 (2008.5)

^{*1} 山梨県衛生公害研究所

^{*2} 前山梨県公衆公害研究所

大塚佳代子^{*1}, 齋藤志保子^{*2}, 杉山寛治^{*3}, 山崎省吾^{*4}, 八尋俊輔^{*5}, 大友良光^{*6}, 田中廣行^{*7}, 中川 弘^{*8}, 小沼博隆^{*9}, 熊谷 進^{*10}, 小西良子, 工藤由起子: **腸炎ビブリオ食中毒が減少した日本における本菌の二枚貝等鮮魚貝類汚染状況**
第96回日本食品衛生学会学術講演会. (2008.9)

^{*1} 埼玉県衛生研究所

^{*2} 秋田県健康環境センター

^{*3} 静岡県環境衛生科学研究所

^{*4} 長崎県環境保健研究センター

^{*5} 熊本県保健環境科学研究所

^{*6} 弘前大学大学院

^{*7} 財団法人日本食品分析センター

^{*8} 株式会社BMLフード・サイエンス

^{*9} 東海大学

^{*10} 東京大学大学院

山崎省吾^{*1}, 齊藤志保子^{*2}, 大塚佳代子^{*3}, 杉山寛治^{*4}, 八尋俊輔^{*5}, 大友良光^{*6}, 田中廣行^{*7}, 中川 弘^{*8}, 小沼博隆^{*9}, 熊谷 進^{*10}, 小西良子, 工藤由起子: わが国における鮮魚介類の腸炎ビブリオおよびTDH産生株の分離状況

第12回腸炎ビブリオシンポジウム (2008.10)

- ^{*1} 長崎県環境保健研究センター所
^{*2} 秋田県健康環境センター
^{*3} 埼玉県衛生研究
^{*4} 静岡県環境衛生科学研究所
^{*5} 熊本県保健環境科学研究所
^{*6} 弘前大学大学院
^{*7} 財団法人日本食品分析センター
^{*8} 株式会社BMLフード・サイエンス
^{*9} 東海大学
^{*10} 東京大学大学院

Hidaka, A. ^{*1}, Hokyō, T., Arikawa^{*1}, T., Fujiwara, S. ^{*2}, Ogasawara, J. ^{*3}, Hase, A. ^{*3}, Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y.: **Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic Escherichia coli**

The 21st ICFMH (International Committee on Food Microbiology and Hygiene) Symposium (2008.9)

- ^{*1} 大阪市立大学大学院
^{*2} 大阪生活衛生協会
^{*3} 大阪市環境科学研究所

菊池 裕, 中島 治, 山崎 壮, 手島玲子, 棚元憲一, 石黒直隆, 山口照英: **ウシ角膜細胞株 BCE C/D-1b が発現するスプライス変異型 GPI アンカー欠損プリオン蛋白質 mRNA の解析**

2008年プリオン研究会 (2008.8)

^{*} 岐阜大学応用生物科学部獣医学課程

菊池 裕, 遊佐精一, 中島 治, 手島玲子, 山口照英: **GPIアンカー欠損型プリオン蛋白質産生に關与する低酸素誘導因子の発現解析**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(2008.12)

Sugiyama, K., Muroi, M., Tanamoto, K., Nishijima, M. ^{*1}, and Sugita-Konishi, Y.: **Effect of deoxynivalenol and nivalenol on LPS-induced nitric oxide production by mouse macrophages**

The 10th Biennial Meeting of the International Endotoxin and Innate Immunity Society (2008.7)

^{*1} 実践女子大学

杉山圭一, 齊藤史朗^{*1}, 佐藤敏彦^{*2}, 鎌田洋一, 田中宏輝^{*3}, 田中敏嗣^{*4}, 小西良子: わが国に流通している国産小麦由来食パン等におけるDONおよびNIVの減衰に関する研究

日本マイコトキシン学会第64回学術講演会 (2008.8)

- ^{*1} 東京大学大学院
^{*2} 北里大学医学部
^{*3} サントリー (株)
^{*4} 神戸市環境保健研究所

杉山圭一, 室井正志, 栗袋裕二^{*1}, 棚元憲一, 芳賀 実^{*1}, 小西良子: **デオキシニバレノールのToll-like receptorシグナル伝達系に対する作用機構の解析**

第15回日本免疫毒性学会学術大会 (2008.9)

^{*1} 玉川大学農学部

杉山圭一, 室井正志, 棚元憲一, 小西良子: **マウスマクロファージにおけるLPS誘導性NO産生に与えるデオキシニバレノールおよびニバレノールの影響**

第14回日本エンドトキシン研究会 (2008.10)

杉山圭一, 川上 浩^{*1}, 鎌田洋一, 小西良子: **マクロファージのLPS誘導性NO産生を指標としたデオキシニバレノールとニバレノールの複合毒性の解析**

2009年度日本農芸化学会大会 (2009.3)

^{*1} 共立女子大学大学院

奥田晴宏: **Implementation of Quality by Design: Japan Regulator Perspective**

Drug Information Association 44th Annual Meeting (2008.6)

奥田晴宏: **クオリティーバイデザインの円滑な実施に向けて: 我が国の状況**

インターフェックスジャパン(2008.7)

奥田晴宏: **Quality by Design in Japan. An Agency perspective**

ABPI JAPANESE FORUM 2008(2008.11)

奥田晴宏：Q8 製剤開発

日本薬学会第5回医薬品レギュラトリーサイエンス
フォーラム (2008.12)

奥田晴宏：原薬品質保証に関する国際的視点から見た問題点の提起

医薬品品質フォーラム (2009.1)

奥田晴宏：品質に関するトピックの動向 Q8(R1)：製剤開発（補遺）

第19回ICH即時報告会(2009.1)

奥田晴宏：INN命名のプロセスと現状

第18回 薬事委員会 バイオ医薬品諸問題検討グループ定例会合 (2009.1)

奥田晴宏：Q8と医薬品のライフサイクルマネージメント-Q11はトリオから何を学べるか-

日本製薬工業協会 品質委員会総会(2009.4)

中西郁夫^{*1}, 宇都義浩^{*2}, 大久保 敬^{*3}, 白井 斉^{*1}, 中田栄司^{*1}, Sushma Manda, 永澤秀子^{*4}, 堀 均^{*2}, 福原 潔, 奥田晴宏, 伊古田暢夫^{*5}, 福住俊一^{*3}, 安西和紀^{*1}, 小澤俊彦^{*6}：**ヒドロキノン類によるラジカル消去速度に及ぼす金属イオンの効果**

第18回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(2008.6)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 徳島大学

^{*3} 大阪大学

^{*4} 岐阜薬科大学

^{*5} 就実大学

^{*6} 横浜薬科大学

中西郁夫^{*1}, 宇都義浩^{*2}, 大久保 敬^{*3}, Sushma Manda^{*1}, 松本謙一郎^{*1}, 永澤秀子^{*4}, 堀 均^{*2}, 福原 潔, 奥田晴宏, 伊古田暢夫^{*5}, 福住俊一^{*3}, 安西和紀^{*1}, 小澤俊彦^{*6}：**天然抗酸化物質の生合成前駆体およびその類縁体のラジカル消去活性**

第8回AOB (Antioxidant Biofactor)研究会(2008.6)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 徳島大学

^{*3} 大阪大学

^{*4} 岐阜薬科大学

^{*5} 就実大学

^{*6} 横浜薬科大学

中西郁夫^{*1}, 大久保 敬^{*2}, 宇都義浩^{*3}, Sushma Manda^{*1}, 乳井美奈子^{*1}, 永澤秀子^{*4}, 堀 均^{*3}, 福原 潔, 奥田晴宏, 伊古田暢夫^{*5}, 福住俊一^{*2}, 小澤俊彦^{*6}, 安西和紀^{*1}：**金属イオン存在下におけるヒドロキノン類のラジカル消去反応**

第61回日本酸化ストレス学会学術集会(2008.6)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 大阪大学

^{*3} 徳島大学

^{*4} 岐阜薬科大学

^{*5} 就実大学

^{*6} 横浜薬科大学

福原 潔, 中西郁夫^{*1}, 島田知一^{*2}, 小澤俊彦^{*3}, 伊古田暢夫^{*4}, 浦野四郎^{*2}, 宮田直樹^{*5}, 安西和紀^{*1}, 奥田晴宏：**ラジカル消去活性の増強と遺伝毒性の軽減を目的としたレスベラトロールの誘導化**

第61回日本酸化ストレス学会学術集会(2008.6)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 芝浦工業大学

^{*3} 横浜薬科大学

^{*4} 就実大学

^{*5} 名古屋市立大学

正田卓司, 福原 潔, 奥田晴宏：肝マイクロゾームによるMDMA代謝物の合成とUGTの同定

日本分析化学会(2008.9)

中西郁夫^{*1}, 宇都義浩^{*2}, 大久保 敬^{*3}, 堀 均^{*2}, 福原 潔, 奥田晴宏, 伊古田暢夫^{*4}, 福住俊一^{*3}, 小澤俊彦^{*5}, 安西和紀^{*1}：**ビタミンE生合成前駆体p-ヒドロキノンのラジカル消去機構**

第3回バイオ関連化学合同シンポジウム(2008.9)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 徳島大学

^{*3} 大阪大学

^{*4} 就実大学

^{*5} 横浜薬科大学

中西郁夫^{*1}, 大久保 敬^{*2}, 宇都義浩^{*3}, 川島知憲^{*2}, 松本謙一郎^{*1}, Sushma Manda^{*1}, 堀 均^{*3}, 福原 潔, 奥田晴宏, 伊古田暢夫^{*4}, 福住俊一^{*2}, 小澤俊彦^{*5}, 安西和紀^{*1}：**アルテピリンCおよびその誘導体のラジカル消去反応における構造活性相関**

第47回電子スピンスイエンズ学会年会(SEST2008)
(2008.10)

- *¹ 放射線医学総合研究所
- *² 大阪大学
- *³ 徳島大学
- *⁴ 就実大学
- *⁵ 横浜薬科大学

今井耕平^{*1}, 中村朝夫^{*1}, 奥田晴宏, 福原 潔: **光線力学療法を目的としたポルフィリン誘導体の合成**
第52回日本薬学会関東支部大会(2008.10)

- *¹ 芝浦工業大学

Nakanishi, I.^{*1}, Uto, Y.^{*2}, Ohkubo, K.^{*3}, Kawashima, T.^{*3}, Manda, S.^{*1}, Matsumoto, K.^{*1}, Hori, H.^{*2}, Fukuhara, K., Okuda, H., Ikota, N.^{*4}, Fukuzumi, S.^{*3}, Ozawa, T.^{*5}, Anzai, K.^{*1}: **Structure-Activity Relationship in Radical-Scavenging Reactions of Naturally-Oriented Artepillin C Derivatives**

XIV Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research International, Beijing, China (2008.10)

- *¹ 放射線医学総合研究所
- *² 徳島大学
- *³ 大阪大学
- *⁴ 就実大学
- *⁵ 横浜薬科大学

福原 潔, 中西郁夫^{*1}, 島田知一^{*2}, 小澤俊彦^{*3}, 伊古田暢夫^{*4}, 浦野四朗^{*2}, 宮田直樹^{*5}, 安西和紀^{*1}, 奥田晴宏: **レスベラトロールをテンプレートとした新規化学予防物質の開発**
第27回メディシナルケミストリーシンポジウム(2008.11)

- *¹ 放射線医学総合研究所
- *² 芝浦工業大学
- *³ 横浜薬科大学
- *⁴ 就実大学
- *⁵ 名古屋市立大学

中西郁夫^{*1}, 大久保 敬^{*2}, 宇都義浩^{*3}, 川島知憲^{*2}, Sushma Manda^{*1}, 堀 均^{*2}, 福原 潔, 奥田晴宏, 小澤俊彦^{*4}, 伊古田暢夫^{*5}, 福住俊一^{*2}, 安西和紀^{*1}: **ブラジル産プロポリスに含まれるフェノール性抗酸化物質および**

その誘導体のラジカル消去活性
第41回酸化反応討論会 (2008.11)

- *¹ 放射線医学総合研究所
- *² 大阪大学
- *³ 徳島大学
- *⁴ 横浜薬科大学
- *⁵ 就実大学

Nakanishi, I.^{*1}, Ohkubo, K.^{*2}, Uto, Y.^{*3}, Kawashima, T.^{*2}, Manda, S.^{*1}, Fukuhara, K., Okuda, H., Hori, H.^{*3}, Ikota, N.^{*4}, Fukuzumi, S.^{*2}, Ozawa, T.^{*5}, and Anzai, K.^{*1}: **One-Step Hydrogen Atom Transfer in Radical-Scavenging Reactions by Artepillin C Derivatives Enhanced by Electron-Donating Groups**

15th Annual Meeting of the Society for Free Radical Biology and Medicine (SFRBM), Indianapolis, Indiana, USA, (2008.11)

- *¹ 放射線医学総合研究所
- *² 大阪大学
- *³ 徳島大学
- *⁴ 就実大学
- *⁵ 横浜薬科大学

福原 潔: **天然抗酸化成分をファーマコフォアとした創薬を目指して**
第23回日本酸化ストレス学会関東支部会(2008.12)

今井耕平^{*}, 中村朝夫^{*}, 奥田晴宏, 福原 潔: **細胞への集積性を向上させた新規光線力学療法剤の合成**
第23回日本酸化ストレス学会関東支部会(2008.12)

- * 芝浦工業大学

中西郁夫^{*1}, 乳井美奈子^{*1}, 薬丸晴子^{*1}, 大久保敬^{*2}, 川島知憲^{*2}, 福原 潔, 奥田晴宏, 稲見圭子^{*3}, 望月正隆^{*3}, 福住俊一^{*2}, 伊古田暢夫^{*4}, 小澤俊彦^{*5}, 安西和紀^{*1}: **放射線防護剤を指向した分子内に塩基性部位を有する新規ビタミンE誘導体の開発**
日本環境変異原学会第37回大会(2008.12)

- *¹ 放射線医学総合研究所
- *² 大阪大学
- *³ 東京理科大学
- *⁴ 就実大学
- *⁵ 横浜薬科大学

今井耕平^{*1}, 中西郁夫^{*2}, 安西和紀^{*2}, 中村朝夫^{*1}, 奥田晴宏,
福原 潔: エピカテキンの抗酸化作用の増強を目的とし
た立体構造固定化

日本環境変異原学会第37回大会(2008.12)

^{*1} 芝浦工業大学

^{*2} 放射線医学総合研究所

稲見圭子^{*1}, 中西郁夫^{*2}, 大久保 敬^{*3}, 福原 潔, 奥田晴宏,
伊古田暢夫^{*4}, 福住俊一^{*3}, 小澤俊彦^{*5}, 安西和紀^{*2}, 望月
正隆^{*1}: ラジカル消去活性の増強を目的としたビタミンE
誘導体の開発

第20回ビタミンE研究会(2009.1)

^{*1} 東京理科大学

^{*2} 放射線医学総合研究所

^{*3} 大阪大学

^{*4} 就実大学

^{*5} 横浜薬科大学

正田卓司, 福原 潔, 合田幸広, 奥田晴宏: シロシン代
謝物の合成に関する検討

日本薬学会第129年会(2009.3)

中西郁夫^{*1}, 宇都義浩^{*2}, 大久保 敬^{*3}, 川島知憲^{*3}, 松
本謙一郎^{*1}, Sushma Manda^{*1}, 堀 均^{*2}, 福原 潔, 奥田
晴宏, 伊古田暢夫^{*4}, 小澤俊彦^{*5}, 安西和紀^{*1}: ブラジル
産プロポリスに含まれるフェノール性抗酸化物質および
その誘導体のラジカル消去機構

日本薬学会第129年会(2009.3)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 徳島大学

^{*3} 大阪大学

^{*4} 就実大学

^{*5} 横浜薬科大学

今井耕平^{*1}, 中西郁夫^{*2}, 安西和紀^{*2}, 小澤俊彦^{*3}, 宮田
直樹^{*4}, 中村朝夫^{*1}, 奥田晴宏, 福原 潔: ラジカル消去
活性増強を目的とした立体固定化エピカテキンの合成

日本薬学会第129年会(2009.3)

^{*1} 芝浦工業大学

^{*2} 放射線医学総合研究所

^{*3} 横浜薬科大学

^{*4} 名古屋市立大学

福原 潔, 大野彰子, 中西郁夫^{*1}, 今井耕平^{*2}, 中村朝
夫^{*2}, 安西和紀^{*1}, 宮田直樹^{*3}, 奥田晴宏: ニンヒドリン
の反応特性を利用した新規カテキン誘導体の合成

日本薬学会第129年会(2009.3)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 芝浦工業大学

^{*3} 名古屋市立大学

福原 潔, 矢本 敬^{*}, 奥田晴宏: ¹H NMRを用いたメ
タポロミクス: ラット肝傷害モデルにおけるバイオマー
カーの探索

日本薬学会第129年会(2009.3)

^{*} 第一三共株式会社

家田直弥^{*}, 中川秀彦^{*}, 鈴木孝禎^{*}, 福原 潔, 宮田 直
樹^{*1}: 光作動性NOドナーにおける水酸基の影響

日本薬学会第129年会(2009.3)

^{*} 名古屋市立大学

菱川和宏^{*}, 中川秀彦^{*}, 古田寿明^{*}, 福原 潔, 鈴木孝禎^{*},
宮田直樹^{*}: 二光子励起で作動する一酸化窒素(NO)放出
剤の合成とそのNO放出能の評価

日本薬学会第129年会(2009.3)

^{*} 名古屋市立大学

石川奈保子^{*}, 田中正一^{*}, 長野正展^{*}, 栗原正明, 末宗
洋^{*}: キラルアセタールを有する6員環状アミノ酸とその
ペプチドの合成

第45回化学関連支部合同九州大会 (2008.7)

^{*} 九州大学大学院

Nagano, M.^{*1}, Tanaka, M.^{*1}, Doi, M.^{*2}, Kurihara, M., Sue-
mune, H.^{*1}: **Helical-screw handedness of peptides
composed of diastereoisomeric cyclic amino acids**
30th European Peptide Symposium (2008.8)

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

Tanaka, M.^{*1}, Nagano, M.^{*1}, Demizu, Y., Doi, M.^{*2}, Kuriha-
ra, M., Suemune, H.^{*1}: **Controlling α -helical secondary
structure of oligopeptides and its use as a chiral**

catalyst

30th European Peptide Symposium (2008.8)

*¹ 九州大学大学院

*² 大阪薬科大学

Sugiyama, T.^{*1}, Imamura, Y.^{*2}, Kurihara, M., Kittaka, A.^{*2} :
Cooperative strand invasion by peptide nucleic acid
第45回ペプチド討論会 (2008.9)

*¹ 東京大学大学院

*² 工学院大学

*³ 帝京大学薬学部

Kurihara, M., Sato, Y., Yamagata, N., Okuda, H., Nagano, M.^{*1}, Demizu, Y., Doi, M.^{*2}, Tanaka, M.^{*1}, Suemune, H.^{*1} : **Computational study on helical structure of α , α -disubstituted oligopeptides containing chiral α -amino acids**
第45回ペプチド討論会 (2008.9)

*¹ 九州大学大学院

*² 大阪薬科大学

Takazaki, H.^{*1}, Tanaka, M.^{*1}, Kawabe, N.^{*1}, Nagano, M.^{*1}, Doi, M.^{*2}, Kurihara, M., Suemune, H.^{*1} : **Design and synthesis of chiral cyclic α , α -disubstituted amino acid having azido functions and its oligopeptides**
第45回ペプチド討論会 (2008.9)

*¹ 九州大学大学院

*² 大阪薬科大学

長野正展^{*1}, 田中正一^{*1}, 末宗 洋^{*1}, 土井光暢^{*2}, 栗原正明:
環状アミノ酸含有ヘリカルペプチドを用いた不斉エポキシ化反応
第34回反応と合成の進歩シンポジウム (2008.11)

*¹ 九州大学大学院

*² 大阪薬科大学

金子文也, 佐藤由紀子, 岩井すみれ, 本澤 忍^{*1}, 山下 純^{*1}, 橘高教史^{*1}, 加藤茂明^{*2}, 奥田晴宏, 栗原正明:
VDR及び変異VDRに作用するノンセコ型リガンドの設計と合成
第27回メディシナルケミストリーシンポジウム (2008.10)

*¹ 帝京大学

*² 東京大学大学院

石川奈保子^{*1}, 田中正一^{*1}, 栗原正明, 末宗 洋^{*1} : **キラルアセタール部位を有する環状アミノ酸とそのペプチドの合成**
第25回有機合成化学セミナー (2008.9)

*¹ 九州大学大学院

反田和宏^{*1}, 田中正一^{*1}, 栗原正明, 末宗 洋^{*1} : **4つの不斉中心を有する6員環状アミノ酸とそのペプチドの合成**
第45回化学関連支部合同九州大会 (2008.7)

*¹ 九州大学大学院

反田和宏^{*1}, 田中正一^{*1}, 土井光暢^{*2}, 栗原正明, 末宗 洋^{*1} : **4つの不斉中心を有する環状アミノ酸の合成とそのペプチドの2次構造解析**
第25回日本薬学会九州支部大会 (2008.12)

*¹ 九州大学大学院

*² 大阪薬科大学

岩井すみれ, 金子文也, 佐藤由紀子, 出水庸介, 奥田晴宏, 栗原正明 : **ノンセコステロイド型VDRリガンドの設計と合成**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

金子文也, 岩井すみれ, 佐藤由紀子, 出水庸介, 奥田晴宏, 角田真二, 岡田和久, 江口広志, 上村みどり, 高木健一郎, 竹之内一弥, 栗原正明 : **ノンセコ型リガンドとVDRの結合様式**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

栗原正明, 佐藤由紀子, 山縣奈々子, 出水庸介, 奥田晴宏, 長野正展^{*1}, 土井光暢^{*2}, 田中正一^{*1}, 末宗 洋^{*1} : **α , α -ジ置換アミノ酸ペプチドのコンフォメーション予測**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

*¹ 九州大学大学院

*² 大阪薬科大学

佐野嘉一, 寺山直樹, 出水庸介, 奥田晴宏, 井上英史^{*1}, 栗原正明 : **PET薬合成のための固相法によるF導入反応の開発**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 東京薬科大学生命

山縣奈々子, 佐藤由紀子, 出水庸介, 奥田晴宏, 井上英史^{*1}, 栗原正明: **コンフォメーション変化するモデルペプチドの設計と合成**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 東京薬科大学生命

石川奈保子^{*1}, 田中正一^{*1}, 栗原正明, 末宗 洋^{*1}: **キラールアセタールを有する六員環状アミノ酸の合成とそのペプチドのコンフォメーション解析**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

長野正展^{*1}, 田中 正一^{*1}, 栗原正明, 土井光暢^{*2}, 末宗 洋^{*1}: **ヘリカルペプチドを触媒とした不斉エポキシ化反応**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 九州大学大学院

^{*2} 大阪薬科大学

最上 (西巻) 知子: **Activation of SREBP-2-driven liver-type ABCA1 promoter underlies the HDL increase by statins**

第40回日本動脈硬化学会総会シンポジウム(2008.7)

最上 (西巻) 知子: **核内レセプターと胆汁酸・脂質代謝**
第30回胆汁酸研究会サテライトシンポジウム(2008.10)

奥平桂一郎, 大岡伸通, 崔 紅艶, 澤田純一, 最上 (西巻) 知子: **ABCA1相互作用タンパク質とRhoAによるHDL形成制御機構**

日本薬学会第129年会(2009.3)

高橋幸利^{*1}, 池田浩子^{*1}, 山崎悦子^{*1}, 藤原建樹^{*1}, 鹿庭なほ子, 斎藤嘉朗, 相原道子^{*2}: **個に応じた医療を目指して, カルバマゼピンによる重症薬疹に係わるHLAの研究**

日本人類遺伝学会第53回大会(2008.9)

^{*1} 静岡てんかん・神経医療センター

^{*2} SJS/TEN遺伝子多型研究班

澤田純一: **遺伝子多型と抗がん剤の骨髄毒性**

第15回日本免疫毒性学会学術大会(2008.9)

斎藤嘉朗, 頭金正博, 黒瀬光一, 澤田純一, 長谷川隆一, 外園千恵*, 木下 茂*, 高橋幸利*, 古谷博和*, 村松正明*, 松永佳世子*, 相原道子*, 池澤善郎*, 鹿庭なほ子: **日本人におけるスティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮壊死症と相関するHLAタイプの探索 (第一報)**
第15回日本免疫毒性学会学術大会(2008.9)

* SJS/TEN遺伝子多型研究班

Saito, Y., Sai, K., Maekawa, K., Kaniwa, N., Shirao, K.*, Hamaguchi, T.*, Yamamoto, N.*, Kunitoh, H.*, Ohe, Y.*, Yamada, Y.*, Tamura, T.*, Yoshida, T.*, Minami, H.*, Ohtsu, A.*, Matsumura, Y.*, Saijo, N.* and Sawada, J.: **Association of UGT1A9 IVS1+399C>T with UGT1A1 Polymorphisms and Its Influence on Irinotecan Pharmacokinetics in Japanese**

International Society for the Study of Xenobiotics,
15th North American meeting (2008.10)

* 国立がんセンター

斎藤嘉朗, 佐井君江, 前川京子, 鹿庭なほ子, 白尾国昭*, 濱口哲弥*, 山本 昇*, 国頭英夫*, 大江裕一郎*, 山田康秀*, 田村友秀*, 吉田輝彦*, 南 博信*, 大津 敦*, 松村保広*, 西條長宏*, 澤田純一: **日本人がん患者におけるイリノテカン薬物動態に対するUGT1A9 IVS1+399C>T多型の影響**

第23回日本薬物動態学会年会(2008.10)

* 国立がんセンター

斎藤嘉朗, 頭金正博, 福島 (上坂) 浩実, 前川京子, 長谷川隆一, 鈴木佳寿子^{*1}, 柳川達生^{*1}, 高橋義彦^{*2}, 梶尾 裕^{*2}, 葛谷信明^{*2}, 野田光彦^{*2}, 安田和基^{*2}, 澤田純一: **スルホニルウレア受容体SUR2をコードするABCC9 遺伝子の多型探索およびハプロタイプ解析**
第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会の合同大会(2008.12)

^{*1} 練馬総合病院

^{*2} 国立国際医療センター

斎藤嘉朗, 鹿庭なほ子, 杉山永見子, 金 秀良, 長谷川隆一, 吉田輝彦*, 山口智宏*, 池田公史*, 森実千種*, 近藤俊輔*, 上野秀樹*, 奥坂拓志*, 西條長宏*, 澤田純一: **抗がん剤ゲムシタピンによる重篤副作用発現における CDA*3 ホモ接合の臨床的意義**

日本薬学会第129年会(2009.3)

* 国立がんセンター

原川則子, 前川京子, 金 秀良, 斎藤嘉朗, 澤田純一: **CYP2C9.28及び30における多型依存的な薬物阻害プロフィール**

日本薬学会第129年会(2009.3)

Maekawa, K., Gay, S.C.*¹, Sun, L.*², Halpert, J.R.*¹ and Stout, C.D.*³: **Purification of cytochrome P450 2B4 and its single and triple ligand occupancy crystal structures in complex with the inhibitor 1-biphenyl-4-methyl-1H-imidazole (1-PBI)**

8th Southwest P450 meeting(2009.5)

¹ University of California, San Diego

² University of Texas, Medical Branch

³ Scripps Research Institute

Kakahata, K.*¹, Sai, K., Mori, A.*², Saito, Y., Suzuki, T.*¹, Ando, Y.*³, Hasegawa, Y.*³, Sawada, J. and Yoshida, T.*⁴: **Role of UGT1A1*6 in irinotecan toxicity in Japanese cancer patients**

The 33rd European Society for Medical Oncology Congress(2008.9)

*¹ 第一三共株式会社

*² 積水メディカル株式会社

*³ 名古屋大学医学部

*⁴ 国立がんセンター研究所

Sai, K., Saito, Y., Maekawa, K., Kim, S.R., Kaniwa, N., Nishimaki-Mogami, T., Shirao, K.*, Hamaguchi, T.*, Yamamoto, N.*, Kunitoh, H.*, Ohe, Y.*, Tamura, T.*, Yamada, Y.*, Minami, H.*, Matsumura, Y.*, Ohtsu, A.*, Yoshida, T.*, Saijo, N.* and Sawada, J.*: **Effects of genetic polymorphisms of drug transporters on irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients**

International Society for the Study of Xenobiotics, 15th North American meeting(2008.10)

* 国立がんセンター

佐井君江, 斎藤嘉朗, 前川京子, 金 秀良, 鹿庭なほ子, 最上(西巻)知子, 白尾国昭*, 濱口哲弥*, 山本 昇*, 国頭英夫*, 大江裕一郎*, 山田康秀*, 田村友秀*, 吉田輝彦*, 南 博信*, 大津 敦*, 松村保広*, 西條長宏*, 澤田純一: **日本人癌患者における薬物トランスポーター遺伝子多型のイリノテカン薬物動態への影響**

第23回日本薬物動態学会年会(2008.10)

* 国立がんセンター

新藤智子*, 金澤由基子*, 小島幸一*, 手島玲子: **腸管免疫を介したアレルギー - マウスの食物アレルギーモデルの確立 -**

第15回免疫毒性学会 (2008.9)

* 食品薬品安全センター

手島玲子: **組換え植物の安全性評価の実際**

平成20年度日本植物細胞分子生物学会市民公開シンポジウム (2008.11)

佐藤里絵, 中村里香, 小松 晃*, 大島正弘*, 手島玲子: **トリプトファン含量の高い遺伝子組換えイネのアレルゲン性の解析**

日本生化学第81年会 (2008.12)

* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所稲遺伝子技術研究チーム

佐藤里絵, 児矢野聡, 高木加代子, 中村里香, 澤田純一, 手島玲子: **ソバ主要アレルゲンBWp16の解析**

第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 (2008.11)

手島玲子: **GM作物の食品安全性評価の現状と課題**

2009年日本育種学会つくば大会シンポジウム (2009.3)

Teshima, R.: **Regulation of Allergen Products in Japan** 12th International Paul-Ehrlich-Seminar (2008.9)

岡 和夫*¹, 中村里香, 手島玲子, 中村亮介, 伊納義和*², 古野忠秀*², 中西 守*², 三島 敏*¹: **プロポリスの抗アレルギー作用**

第2回岐阜薬科大学高次機能性食品(蜂産品)研究講演会 (2008.8)

*¹ アピ(株)長良リサーチセンター

*² 愛知学院大・薬学部

中村亮介, 酒井信夫, 松岡英樹, 秋山晴代, 佐藤雄嗣,
手島玲子: **c-kit欠損W/W^mマウスにおけるタンパク質の
経口感作とその関連遺伝子**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会
合同年会 (2008.12)

中村亮介, 中村里香, 手島玲子: **アレルギーデータベース
SADFS (Allergen Database for Food Safety) のデー
タ改訂について**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

中村里香, 中村亮介, 堀内浩幸*, 手島玲子: **遺伝子組
換え食品のアレルギー性評価法の確立**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 広島大学大学院生物圏科学研究科

田口大夢*, 平尾宣司*, 穂山 浩, 酒井信夫, 手島玲子:
PCR法を用いた食品中のエビおよびカニの識別検出法

日本食品衛生学会第95回学術大会 (2008.5)

* ハウス食品株式会社

伊藤歌奈子^{*1}, 田中裕之^{*1}, 橋本博之^{*2}, 員壁祐樹^{*2}, 長
谷川康行^{*2}, 佐二木順子^{*2}, 宮本文夫^{*2}, 穂山 浩, 手島
玲子: **特定原材料 (小麦) 検査におけるELISA法とネ
ステッドPCR法との比較**

日本食品衛生学会第95回学術大会 (2008.5)

*¹ 森永生科学研究所

*² 千葉県衛生研究所

田口大夢*, 平尾宣司*, 穂山 浩, 酒井信夫, 坂田こずえ,
手島玲子: **エビおよびカニの識別検出PCR法を用いた
市販製品の分析**

日本食品化学学会第14回学術大会 (2008.5)

* ハウス食品株式会社

穂山 浩, 扇谷陽子^{*1}, 荒川史博^{*2}, 伊藤澄夫^{*2}, 酒井信夫,
吉岡靖雄, 林 芳樹, 山川有子^{*3,4}, 池澤善郎^{*4}, 手島玲子:
**コチニール色素中の主要アレルギータンパク質のcDNA
クローニング**

日本食品化学学会第14回学術大会 (2008.5)

*¹ 札幌市衛生研究所

*² 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

*³ 山川皮ふ科

*⁴ 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科

張替直輝*, 木下健司*, 穂山 浩, 近藤一成, 手島玲子:
**Duplex real-time PCRを使用した内部標準法による遺
伝子組換え大豆の検出**

日本食品化学学会第14回学術大会 (2008.5)

* 武庫川女子大学薬学部

Akiyama, H., Sakata, K., Kodo, K., Tanaka, A.^{*1}, Liu, M.S.^{*2},
Oguchi, T.^{*3}, Furui, S.^{*3}, Kitta, K.^{*3}, Hino, A.^{*3}, Teshima, R.:
**Individual detection of genetically modified maize
varieties in non-identity preserved maize samples**
1st global conference on GMO analysis (2008.6)

*¹ Daiichi Pure Chemicals Company

*² eGene, Inc.

*³ National Food Research Institute

Minegishi, Y.^{*1,4}, Kurosawa, Y.^{*2}, Nishikawa, C.^{*1}, Doi, N.^{*1},
Kanayama, S.^{*1}, Kodama, T.^{*3}, Kasahara, M.^{*2,3}, Matsuoka,
T.^{*3}, Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Mano, J.^{*2},
Furui, S.^{*2}, Hino, A.^{*2}, Kitta, K.^{*2}: **Evaluation of a new
DNA Extraction method for PCR detection of Ge
netically Modified Soybean**
1st global conference on GMO analysis (2008.6)

*¹ Nippon Gene Co., Ltd.

*² National Agriculture and Food Research Organization

*³ Food and Agricultural Materials Inspection Center

*⁴ Toyama Prefectural University

Shimizu, E.^{*1}, Kato, H.^{*2}, Nakagawa, Y.^{*2}, Kodama, T.^{*3},
Futo, S.^{*1}, Minegishi, Y.^{*4}, Watanabe, T., Akiyama, H.,
Teshima, R., Furui, S.^{*5}, Hino, A.^{*5}, Kitta, K.^{*5}: **Plasmid
Based quantitative-competitive PCR as screening
method for Genetically Modified Soybean**
1st global conference on GMO analysis (2008.6)

*¹ Fasmac Co., Ltd.

*² Showa Sangyo Co., Ltd.

*³ Food and Agricultural Materials Inspection Center

*⁴ Nippon Gene Co., Ltd.

^{*5} National Food Research Institute

Furui, S.^{*1}, Chikagawa, Y.^{*2}, Nohda, M.^{*1}, Kodama, T.^{*3}, Kasahara, M.^{*2}, Minegishi, Y.^{*4}, Futo, S.^{*2}, Kanayama, S.^{*4}, Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A.^{*2}, Mano, J.^{*1}, Kitta, K.^{*1}: **A Qualitative Detection Method for Genetically Modified Alfalfa Events J101 and J163**
1st global conference on GMO analysis (2008.6)

^{*1} National Food Research Institute

^{*2} Fasmac Co., Ltd.

^{*3} Food and Agricultural Materials Inspection Center

^{*4} Nippon Gene Co., Ltd.

Mano, J.^{*}, Oguchi, T.^{*}, Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A.^{*}, Furui, S.^{*}, Kitta, K.^{*}: **Broad-range detection of genetically modified crops with using ligase chain reaction**
1st global conference on GMO analysis (2008.6)

^{*} National Food Research Institute

Oguchi, T.^{*1}, Onishi, M.^{*2}, Minegishi, Y.^{*3}, Kurosawa, Y.^{*1}, Kasahara, M.^{*1,4}, Akiyama, H., Teshima, R., Futo, S.^{*2}, S. Furui, S.^{*1}, Hino, A.^{*1}, Kitta, K.^{*1}: **Development of duplex real-time PCR method for quantitative screening analysis of genetically modified (GM) maize**
1st global conference on GMO analysis (2008.6)

^{*1} National Food Research Institute

^{*2} Fasmac Co., Ltd.

^{*3} Nippon Gene Co., Ltd.

^{*4} Food and Agricultural Materials Inspection Center

Akiyama, H.: **Food Allergy Situation in Japan: The Institute of Food Research and Product Development**
Food Allergen Symposium (2008.9)

穂山 浩 : 検知法 (アレルゲン) の最近の進歩について
第20回日本アレルギー学会春季臨床総会 (2008.6)

Akiyama, H.: **Japanese Labeling and Testing Requirements for Allergens in Food**
122st. AOAC International Annual Meeting & Exposition (2008.9)

穂山 浩, 坂田こずえ, 中村文美, 中島 治, 近藤一成, 古井 聡*, 橘田和美*, 手島玲子 : 未承認DAS59132系

統トウモロコシの定性検査法の多機関バリデーション
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

^{*} 食品総合研究所

Shimizu, E.^{*1}, Kato, H.^{*2}, Nakagawa, Y.^{*2}, Kodama, T.^{*3}, Futo, S.^{*1}, Minegishi, Y.^{*4}, Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S.^{*5}, Hino, A.^{*5}, Kitta, K.^{*5}: **Development of Screening Method for Genetically Modified Soybean; Plasmid Based Quantitative-Competitive PCR**
AACC (2008.9)

^{*1} FASMAC Co., Ltd.

^{*2} Showa Sangyo Co., Ltd.

^{*3} Food and Agricultural Materials Inspection Center

^{*4} Nippon Gene Co., Ltd.

^{*5} Japan Food Research Laboratories

Fuke, Y.^{*1}, Kobayashi, S.^{*1}, Konishi, Y., Akiyama, H., Nomura, T.^{*2}, Ryoyama, K.^{*3}, Saiki, I.^{*4}: **Preventive effect and immune responses of 6 - (methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate from wasabi (Wasabia japonica Matsum) on the pulmonary metastasis of B16 - BL6 mouse melanoma cells**
Custom Integrated Circuits Conference (2008.9)

^{*1} Department of Food Science and Human Nutrition, Tokyo Metropolitan University

^{*2} Department of Food and Nutritional Science, Kanazawa Gakuin College

^{*3} Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Aomori University

^{*4} Division of Pathogenic Biochemistry, Institute of Natural Medicine, University of Toyama

Ito, K.^{*}, Tanaka, Y.^{*}, Maeda, M.^{*}, Gomi, K.^{*}, Inouye, S.^{*}, Akiyama, H., Arakawa, H.^{*}: **Simultaneous multiplex Bio- and Chemiluminescent enzyme immunoassay for PCR products derived from genetically modified papaya**
15th ISBC (2008.5)

^{*} School of Pharmaceutical Sciences, Showa University

井上雪乃*, 笠間菊子*, 鈴木達也*, 大島赴夫*, 穂山 浩, 中島 治, 手島玲子 : 中国産安全性未審査遺伝子組換え米を対象とした外部精度管理調査における試料作製の

検討

日本食品衛生学会第96回学術大会 (2008.9)

* (財) 食品薬品安全センター秦野研究所

Akiyama, H., Sato, Y., Matsuoka, H., Sakata, K., Nakamura, R., Nakamura, R., Ishikawa, S.^{*1}, Inakuma, T.^{*1}, Totsuka, M.^{*2}, Teshima, R.: **Carotenoides intake inhibits the oral sensitization and the development of food allergy**

日本免疫毒性学会 (2008.9)

^{*1} カゴメ株式会社総合研究所

^{*2} 東京大学大学院農学生命科学研究科

穂山 浩: **遺伝子組換え食品の表示の現状と検査法**

第6回食品安全フォーラム (2008.11)

橋本博之^{*1}, 眞壁祐樹^{*1}, 中西希代子^{*1}, 佐二木順子^{*1}, 宮本文夫^{*1}, 伊藤歌奈子^{*2}, 田中裕之^{*2}, 穂山 浩, 手島玲子: **ネステッドPCR法を用いたモデル加工食品中の特定原材料 (小麦) の検出**

第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

^{*1} 千葉県衛生研究所

^{*2} 森永生科学研究所

扇谷陽子^{*1}, 穂山 浩, 荒川史博^{*2}, 酒井信夫, 吉岡靖雄, 山川有子^{*3,4}, 池澤善郎^{*4}, 手島玲子: **コチニール色素中の主要アレルゲンタンパク質の解析**

第20回日本アレルギー学会秋期学術総会 (2008.11)

^{*1} 札幌市衛生研究所

^{*2} 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

^{*3} 山川皮ふ科

^{*4} 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科

大西真理^{*1}, 小口太一^{*2}, 眞野潤一^{*2}, 穂山 浩, 手島玲子, 布藤 聡^{*1}, 古井 聡^{*2}, 橘田和美^{*2}: **マルチプレックスPCR法による遺伝子組換えトウモロコシDAS-59122-7, MIR604, MON863, MON88017系統の一斉定性分析法の開発**

2009年度農芸化学学会講演要旨 (2009.3)

^{*1} ファスマック

^{*2} 食品総合研究所

眞野潤一^{*1}, 重光なつき^{*1}, 布藤 聡^{*2}, 穂山 浩, 手島玲子,

日野明寛^{*1}, 古井 聡^{*1}, 橘田和美^{*1}: **遺伝子組換え農作物網羅的検知手法リアルタイムPCRアレイの開発**

2009年度農芸化学学会講演要旨 (2009.3)

^{*1} 食品総合研究所

^{*2} ファスマック

張替直輝^{*1}, 齋藤 晋^{*2}, 阿部 碧^{*2}, 近藤一成, 橘田和美^{*3}, 穂山 浩, 手島玲子, 木下健司^{*1}: **大豆及び遺伝子組換え大豆のオリゴ固定PCRチューブを使用した定量PCR法**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} 武庫川女子大学薬学部

^{*2} 住友ベークライト

^{*3} 食品総合研究所

好村守生^{*}, 穂山 浩, 坂田こずえ, 松岡英樹, 天倉吉章^{*}, 吉田隆志^{*}: **タンニンの樹状細胞を介した免疫系に与える影響**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*} 松山大学薬学部

近藤一成, 太田小夜香, 穂山 浩, 手島玲子: **各産地からのスギヒラタケ中の毒性物質について**

第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)

Kondo, K., Ohta, S., Teshima, R.: **Detection of reactive oxygen species in cells using a fluorescent probe – application and limitation**

35th FACSS meeting (2008.10)

近藤一成, 太田小夜香, 手島玲子: **共役トリエン脂肪酸 eleostearic acidによるERKを介したアポトーシス様プログラム細胞死**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (2008.12)

渡辺 聡^{*}, 平尾宜司^{*}, 酒井信夫, 安達玲子, 穂山 浩, 手島玲子: **PCR法を用いた食品中のモモおよびリンゴの検出法について**

日本食品衛生学会第95回学術大会 (2008.5)

^{*} ハウス食品株式会社

安達玲子, 穂山 浩, 手島玲子: **アレルゲン表示の現状**

と海外の表示制度について

日本食品科学工学会第55回大会 (2008.9)

安達玲子, 酒井信夫, 穂山 浩, 手島玲子: **エビ, カニを特異的に検知する定性PCR法の多機関バリデーション**
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

安達玲子: **特定原材料えび・かにの検査法について**
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

櫻井智子*, 安達玲子, 笠原 忠*, 鈴木和博, 手島玲子:
破骨細胞の形態維持・機能発現におけるビメンチンの役割について

第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会大会合同大会 (2008.12)

* 慶應義塾大学

安達玲子, 酒井信夫, 穂山 浩, 手島玲子, 田口大夢*, 渡辺 聡*, 平尾宜司*: **特定原材料えび・かにを検知する特異的定性PCR法の妥当性確認**
第97回日本食品衛生学会学術講演会 (2009.5)

* ハウス食品(株)

伊藤花織*, 小山由利子*, 渡邊恵理子*, 鶴間理恵子*, 山本貴之*, 加藤正俊*, 本庄 勉*, 安達玲子, 穂山 浩, 手島玲子: **新抽出液を用いた特定原材料タンパク質の測定**
第97回日本食品衛生学会学術講演会 (2009.5)

* (株) 森永生科学研究所

酒井信夫: **食品関連成分の機能と分析に関する研究**
第14回日本食品化学学会総会・学術大会 (2008.5)

Sakai, S., Adachi, R., Akiyama, H., Urisu, A.*, Teshima, R.:
Interlaboratory Evaluation of Two Kinds of ELISA Kits for the Determination of Soybean Protein and Walnut Protein in Processed Foods.
122nd AOAC Annual Meeting (2008.9)

* Fujita Health University

酒井信夫, 安達玲子, 穂山 浩, 手島玲子: **加工食品中に含まれる甲殻類タンパク質の実態調査**
第45回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11)

酒井信夫, 穂山 浩, 安達玲子, 手島玲子: **2次元HPLCシステムを利用した食物アレルギー原因物質のプロファイリング分析**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

森川 馨, 牧内隆司, 長嶺敬彦: **大規模副作用症例データベース(AERS)を用いた抗精神病薬の副作用の解析**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

森川 馨: **大規模副作用症例データベースAERSを用いた医薬品安全性情報の解析 一般シンポジウム**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

天沼喜美子, 小嶋 靖, 太田有子, 竹村玲子^{*1}, 芦澤一英, 森川 馨: **海外規制機関からの医薬品安全性情報—エリスロポエチン製剤について—**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

*1 国立看護大

天沼喜美子, 芦澤一英, 森川 馨: **海外規制機関からの医薬品安全性情報 一般シンポジウム**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

芦澤一英, 小嶋 靖, 太田有子, 天沼喜美子, 森川 馨: **海外安全性情報にみられる医薬品の製剤的側面が関係した有害事象について**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

牧内隆司, 天沼喜美子, 森川 馨: **大規模副作用症例データベース(AERS)を用いた麦角系パーキンソン病治療薬の解析**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

小嶋 靖, 大塚 文, 太田有子, 前田初代, 芦澤一英, 天沼喜美子, 森川 馨: **海外における医薬品安全性情報に関する動向 (2008年医薬品安全性情報から)**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

太田有子, 小嶋 靖, 芦澤一英, 天沼喜美子, 森川 馨: **カナダにおける市販後医薬品の安全性確保の取り組み**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

佐賀野修一, 牧内隆司, 森川 馨: **AERSを用いた抗HIV治療薬の解析**
日本薬学会第129年会 (2009.3)

長野浩三, 宮原 寛, 牧内隆司, 森川 馨: オートマトン (SIGMA 技術) を用いた医薬品安全性情報の解析
日本薬学会第129年会 (2009.3)

橋本公子, 野村明生, 秋山良司, 但馬 烈, 西畑利明, 森川 馨: FDA 大規模副作用症例データベース (AERS) を用いたプロスタグランジン系緑内障治療点眼薬の Class Effect の検討
日本薬学会第129年会 (2009.3)

小林典弘, 田崎武信, 森川 馨: AERSデータにおける薬剤のクラスタリング
日本薬学会第129年会 (2009.3)

Kubota, K., Iwasaki, E., Inagaki, S., Abe, K., Hiroshima, K., Kumagai, M., Oguro, M., Sakurai, Y., Komatsu, M., Toyofuku, H., Kasuga, F., Angulo, F. J., Scallan, E., Morikawa, K.: **Estimation of the burden of diarrheal diseases study in Miyagi Prefecture, Japan, 2005-2006.**
95th Annual Meeting, International Association for Food Protection (2008.8)

窪田邦宏, 天沼宏, 酒井真由美, 荻原恵美子, 森川馨: 「食品安全情報」 - 海外における食品微生物関連情報の動向2005 ~ 2007
日本薬学会第129年会 (2009.3)

天沼 宏, 窪田邦宏, 森川 馨: **Eurosurveillance**誌に見る欧州のサルモネラ感染症の最近動向
日本薬学会第129年会 (2009.3)

山本 都, 登田美桜, 畝山智香子, 森川 馨: わが国及び各国の食品中の残留動物用医薬品の検出状況等について
日本薬学会第129年会 (2009.3)

登田美桜, 畝山智香子, 山本 都, 森川 馨: わが国の輸入食品中の残留農薬違反の傾向について: 2004 ~ 2007年
日本薬学会第129年会 (2009.3)

Toda, M., Uneyama, C., Yamamoto, M., Morikawa, K.: **Trends in Monitoring Results of Pesticides Residue in Foods in Japan**
4th Pan Pacific Conference on Pesticide Science (2008.6)

Morita, T., Sasaki, S., Fukushima, K., Morikawa, K. :

Comparison between EU and German MAK Classifications of Chemicals on Mutagenicity
37th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (2008.12)

Morita, T. : **Weight of Evidence Approach in Hazard Classification on Genotoxicity**
International Symposium on Genotoxicity Assessment, New Concept, Strategy and Regulation (2008.12)

森田 健, 古田光子*, 森川 馨: 指定薬物は毒物劇物に適用可能か?
日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 厚生労働省

齋藤充生, 長谷川隆一, 澤田康文*: 医師及び製薬企業への添付文書に関するアンケート結果の比較解析
第11回日本医薬品情報学会 (2008.7)

* 東京大学大学院薬学系研究科

齋藤充生, 林 譲, 長谷川隆一: 産学連携活動と利益相反に対する医師及び薬剤師の意識に関する比較解析
医療薬学フォーラム (2008.7)

齋藤充生, 長谷川隆一: 市販レセプト情報を用いた高脂血症治療薬の使用量と横紋筋融解症発生数の解析
医療薬学フォーラム (2008.7)

Hasegawa, R., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A.: **Proposal of New Uncertainty Factor Application to Derive Tolerable Daily Intake**
45th Congress of The European Societies of Toxicology (2008.10)

Tohkin, M.: **Japan's Study Group on Ethnic Factors in Clinical Data: Purpose and Current State**
East Asian Pharmaceutical regulatory Symposium 2008 (2008.4)

Tohkin, M., Kurose, K., Saeki, M., Hasegawa R. : **Promoter Analysis of Human MDR1 Gene**
International Society for the Study of Xenobiotics 15th North American Regional Meeting (2008.10)

頭金正博: 医薬品の安全性評価における薬物相互作用研

究の役割

日本薬物動態学会 (2008.11)

頭金正博：民族的要因を評価するための研究班：設立の背景とその目的

日本臨床薬理学会第29回年会 (2008.12)

頭金正博, 鹿庭なほ子, 黒瀬光一, 斎藤嘉朗, 長谷川隆一, 高橋幸利*, 古谷博和*, 松永佳世子*, 村松正明*, 小菅治彦*, 木下 茂*, 池田浩子*, 安部正通*, 柏木麻理子*, 宋イシュアン*, 外園千恵*, 上田真由美*, 相原道子*, 池澤善郎*: スティーブンス・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症の発症と関連する遺伝子多型の網羅的探索

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* SJS/TEN遺伝子多型研究班

Kurose, K., Saito, Y., Tohkin, M., Kaniwa, N., Aihara, M.^{*1}, Matsunaga, K.^{*2}, Takahashi, Y.^{*3}, Furuya, H.^{*4}, Muramatsu, M.^{*5}, Kinoshita, S.^{*6}, Ikezawa, Z.^{*1}, Sawada, J., Hasegawa, R. and for the JSAR Research Group: **Association between HLA alleles and carbamazepine- and allopurinol-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients**

5th North American regional ISSX meeting in San Diego (2008.10)

^{*1} 横浜市大医学部

^{*2} 藤田保健衛生大学医学部

^{*3} 静岡てんかん・神経医療センター

^{*4} 大牟田病院

^{*5} 東京医科歯科大学

^{*6} 京都府立医科大学

Yasuda, K.^{*}, Kurose, K., Lanl, L.^{*} and Schuetz, E.^{*}: **Regulating the Human PXR Regulator in Liver and Intestinal cells**

5th North American regional ISSX meeting in San Diego (2008.10)

* St. Jude Children's Research Hospital

佐伯真弓, 黒瀬光一, 頭金正博, 長谷川隆一: **Functional analysis of genetic variations at the 5'-flanking region of human MDR1 gene**

第23回日本薬物動態学会年会 (2008.10)

中田晋太郎*, 埴岡伸光*, 小枝暁子*, 森川裕司*, 内藤真策*, 黒瀬光一, 成松鎮雄*: **Functional characterization of cynomolgus monkey constitutive androstane receptor (CAR): comparison with human CAR**

第23回日本薬物動態学会年会 (2008.10)

* 岡山大学・院・医歯薬総合研究科

黒瀬光一, 石渡和也, 平塚一幸^{*1}, 南畝晋平^{*2}, 福田剛史^{*2}, 東 純一^{*2}, 奥川 学^{*3}, 木下利彦^{*3}, 長谷川隆一: **抗うつ薬SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) の薬物応答性に関する遺伝子マーカーの探索**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (2008.12)

^{*1} (株) 明治製菓医薬総合研究所

^{*2} 大阪大学・院・薬学研究科

^{*3} 関西医科大学

黒瀬光一, 石渡和也, 平塚一幸^{*1}, 南畝晋平^{*2}, 東 純一^{*2}, 奥川 学^{*3}, 加藤正樹^{*3}, 木下利彦^{*3}, 黒沢 亨^{*1}, 長谷川隆一: **抗うつ薬SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) による性機能障害の発現に関する遺伝子マーカーの探索**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} (株) 明治製菓医薬総合研究所

^{*2} 大阪大学・院・薬学研究科

^{*3} 関西医科大学

石渡和也, 平塚一幸^{*1}, 南畝晋平^{*2}, 東 純一^{*2}, 奥川学^{*3}, 加藤正樹^{*3}, 木下利彦^{*3}, 長谷川隆一, 黒沢 亨^{*1}, 黒瀬光一: **抗うつ薬SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) による嘔気の発現に関する遺伝子マーカーの探索**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} (株) 明治製菓医薬総合研究所

^{*2} 大阪大学・院・薬学研究科

^{*3} 関西医科大学

平塚一幸^{*1}, 石渡和也, 南畝晋平^{*2}, 東 純一^{*2}, 奥川学^{*3}, 加藤正樹^{*3}, 木下利彦^{*3}, 長谷川隆一, 黒沢 亨^{*1}, 黒瀬光一: **抗うつ薬SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) の有効性の指標となる遺伝子マーカーの探索**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

^{*1} (株) 明治製菓医薬総合研究所

*2 大阪大学・院・薬学研究科

*3 関西医科大学

鹿庭なほ子：**Population PKとベイズ法による個人動態の予測と用量設定**

第35回日本日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

鹿庭なほ子：**ゲノム情報を利用した安全性評価への取組 -SJS/TENの例**

第11回日本医薬品情報学会総会・学術大会 (2008.7)

鹿庭なほ子：**重篤副作用のバイオマーカー探索 -SJS/TENを例として**

第3回医薬品評価フォーラム (日本薬学会) (2008.7)

Kaniwa, N., Saito, Y., Aihara, M.^{*1}, Matsunaga, K.^{*1}, Tohkin, M., Kurose, K., Furuya, H.^{*1}, Takahashi, Y.^{*1}, Muramatsu, M.^{*1}, Kinoshita, S.^{*1}, Ikezawa, Z.^{*1} and Hasegawa, R., and for the JSAR research group : **An exploratory study of genetic biomarkers associated with Japanese SJS/TEN patients: A nation-wide multi-center study in Japan**

The 15th North American Regional Meeting of International Society for the Study of Cenobiotics (2008.10)

*1 SJS/TEN遺伝子多型解析研究班

鹿庭なほ子, 上野秀樹：**ゲムシタピンの有効性・安全性に及ぼすCDA関連バイオマーカーの影響**

第23回薬物動態学会年会 (日本薬学会) (2008.11)

杉山永見子, 鹿庭なほ子, 金 秀良, 斎藤嘉朗, 長谷川隆一, 前川京子, 澤田純一, 上野秀樹^{*1}, 奥坂拓志^{*1}, 古瀬純司^{*2}, 石井 浩^{*3}, 吉田輝彦^{*1}, 西條長宏^{*1}：**日本人におけるゲムシタピンの母集団薬物動態解析**

日本薬学会第129 回年会(2009.4)

*1 国立がんセンター中央病院

*2 杏林大学病院

*3 癌研有明病院

鹿庭なほ子, 斎藤嘉朗, 頭金正博, 黒瀬光一, 長谷川隆一, 高橋幸利^{*1}, 古谷博和^{*1}, 松永佳世子^{*1}, 村松正明^{*1}, 小菅治彦^{*1}, 木下 茂^{*1}, 池田浩子^{*1}, 安部正通^{*1}, 柏木麻理子^{*1}, 宋イシューアン^{*1}, 外園千恵^{*1}, 上田真由美^{*1}, 相原道子^{*1}, 池澤善郎^{*1}：**日本人における重症薬疹発症に関連するバイオマーカーの探索**

日本薬学会第129 回年会 (2009.4)

*1 SJS/TEN遺伝子多型解析研究班

伊集院一成^{*1}, 林 譲, 矢島毅彦^{*2}：**在庫管理が困難な医薬品のFUMI理論を用いた管理**

日本薬剤師会学術大会 (2008.10)

*1 田無薬品

*2 東邦大学

岩木和夫^{*1}, 長嶋友美^{*1}, 小針 剛^{*2}, 林 譲, 矢島毅彦^{*3}：**インフルエンザ大流行の早期発見のアルゴリズム (2)**

日本薬学会第129年回 (2009.3)

*1 奥羽大学

*2 コスモ調剤薬局

*3 東邦大学

沖山佳生^{*1}, 渡邊博文^{*1}, 石川岳志^{*2}, 福澤 薫^{*3}, 望月祐志^{*4}, 中野達也, 蛭名邦禎^{*1}, 田中成典^{*1}：**フラグメント分子軌道法を用いたポリペプチド・タンパク質のESP電荷の決定とMD応用**

第11回理論化学討論会 (2008.5)

*1 神戸大学

*2 岐阜大学

*3 みずほ情報総研

*4 立教大学

田口尚貴^{*1}, 望月祐志^{*1}, 中野達也, 石川岳志^{*2}, 福澤 薫^{*3}, 櫻井 実^{*4}, 田中成典^{*5}：**フラグメント分子軌道法によるDsRed類縁種の励起状態に関する理論的研究**

第11回理論化学討論会 (2008.5)

*1 立教大学

*2 岐阜大学

*3 みずほ情報総研

*4 東京工業大学

*5 神戸大学

渡邊博文^{*1}, 竹松和友^{*1}, 福澤 薫^{*2}, 望月祐志^{*3}, 中野達也, Kufareva, I.^{*4}, Abagyan, R.^{*4}, 田中成典^{*1}：**変異のあるエストロゲン受容体とリガンドの結合エネルギーの第一原理的解析**

第11回理論化学討論会 (2008.5)

- *¹ 神戸大学
 *² みずほ情報総研
 *³ 立教大学
 *⁴ Scripps Institute

中野達也, 小林将人*¹, 小川哲司*¹, 長谷川浩司*¹, 日野 理*¹, 望月祐志*²: フラグメント分子軌道法に基づいた部分構造最適化アルゴリズム
 分子科学討論会2008 (2008.9)

- *¹ アドバンスソフト
 *² 立教大学

望月祐志*¹, 山下勝美*², 中野達也, 田中成典*³: フラグメント分子軌道法におけるpost-HF計算の高速化
 分子科学討論会2008 (2008.9)

- *¹ 立教大学
 *² NECソフト
 *³ 神戸大学

田口尚貴*¹, 望月祐志*¹, 石川岳志*², 中野達也, 森 寛敏*³, 三好永作*⁴, 田中成典*⁵: フラグメント分子軌道法によるポリシラン類の物性に関する理論的研究
 分子科学討論会2008 (2008.9)

- *¹ 立教大学
 *² 岐阜大学
 *³ お茶の水女子大学
 *⁴ 九州大学
 *⁵ 神戸大学

Taguchi, N.*¹, Mochizuki, Y.*¹, Nakano, T., Ishikawa, T.*², Fukuzawa, K.*³, Sakurai, M.*⁴, Tanaka, S.*⁵: **Theoretical Study of the Excited States of DsRed Mutants by Fragment Molecular Orbital Method**
 WATOC2008 (2008.9)

- *¹ 立教大学
 *² 岐阜大学
 *³ みずほ情報総研
 *⁴ 東京工業大学
 *⁵ 神戸大学

Tanaka, S.*¹, Takematsu, K.*¹, Iwata, T.*¹, Fukuzawa, K.*², Nakajima, K.*³, Nakano, T., Yamashita, K.*⁴, Murase, T.*⁴, Mochizuki, Y.*⁵: **Molecular Recognition in Influenza**

Viral Hemagglutinin Systems Analyzed by Fragment Molecular Orbital Method

WATOC2008 (2008.9)

- *¹ 神戸大学
 *² みずほ情報総研
 *³ 名古屋市立大学
 *⁴ NECソフト
 *⁵ 立教大学

Ito, M.*¹, Fukuzawa, K.*², Ishikawa, T.*³, Mochizuki, Y.*⁴, Nakano, T., Tanaka, S.*¹: **Ab Initio Fragment Molecular Orbital Study of Molecular Interactions in Liganded Retinoid X Receptor: Specification of Residues Associated with Ligand Inducible Information Transmission**
 WATOC2008 (2008.9)

- *¹ 神戸大学
 *² みずほ情報総研
 *³ 岐阜大学
 *⁴ 立教大学

Komeiji, Y.*¹, Sato, M.*², Ishikawa, T.*², Mochizuki, Y.*², Yamataka, H.*², Nakano, T.: **Fragment Molecular Orbital Method-Based Molecular Dynamics (FMO-MD) as a Simulator for Chemical Reactions in Explicit Solvation**
 WATOC2008 (2008.9)

- *¹ 産業技術総合研究所
 *² 立教大学

中野達也: **Ab initio fragment molecular orbital calculations of binding of bisphosphonates to farnesyl diphosphate synthase**
 CBI学会2008年大会 (2008.10)

田口尚貴*¹, 望月祐志*¹, 中野達也, 甘利真司*², 福澤 薫*³, 石川岳志*⁴, 櫻井 実*⁵, 田中成典*⁶: **赤色蛍光タンパク質の励起状態に関する理論的研究**
 バイオスーパーコンピューティング・シンポジウム2008 (2008.12)

- *¹ 立教大学
 *² 菱化システム
 *³ みずほ情報総研

*⁴ 岐阜大学

*⁵ 東京工業大学

*⁶ 神戸大学

田口尚貴^{*1}, 望月祐志^{*1}, 石川岳志^{*2}, 中野達也, 森 寛敏^{*3}, 三好永作^{*4}, 田中成典^{*5}: フラグメント分子軌道法によるポリシラン類の物性に関する理論的研究
日本化学会第89春季年会 (2009.3)

*¹ 立教大学

*² 岐阜大学

*³ お茶の水女子大学

*⁴ 九州大学

*⁵ 神戸大学

佐藤 真^{*1}, 山高 博^{*1}, 古明地勇人^{*2}, 望月祐志^{*1}, 中野達也: FMO-MDを利用した基礎有機反応解析: 水溶液中におけるホルムアルデヒドのアミノ化反応
日本化学会第89春季年会 (2009.3)

*¹ 立教大学

*² 産業技術総合研究所

井上 達, 壺井 功, 北田邦夫^{*1}, 五十嵐勝秀, 児玉幸夫, 菅野 純, 吉田和子^{*2}, 平林容子: マウス放射線誘発骨髄性白血病の遺伝子発現プロファイルの確率論的特異性: 自然発症白血病との比較
第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008) (2008.12)

*¹ 中外製薬株式会社鎌倉研究所

*² 放射線医学総合研究所

井上 達, 尹 秉一, 児玉幸夫, 菅野 純, 藤井義明*, 平林容子: ベンゼンの造血障害発現機構: 多環芳香族炭化水素受容体の関与と骨髄特異的異物代謝 続報
第70回日本血液学会総会 (2008.10)

* 筑波大学

Inoue, T., Hirabayashi, Y.: **Gompertzian expression of the life span: Toxicological ultimate risk for xenobiotic responses**
The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008.10)

井上 達, 松下智哉*, 五十嵐勝秀, 菅野 純, 平林容子:

一般口演「血液2」マウス自然発症及び放射線誘発骨髄性白血病の遺伝子発現プロファイルの主要因解析による分別遺伝子の抽出
第97回日本病理学会総会 (2008.5)

* 中外製薬株式会社富士御殿場研究所

高木篤也, 広瀬明彦, 西村哲治, 福森信隆, 小縣昭夫, 大橋則雄, 北嶋 聡, 菅野 純: p53+/-マウス腹腔内投与による多層型カーボンナノチューブの中皮腫誘発作用について
第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

高木篤也, 広瀬明彦: ナノマテリアルの評価手法に関する研究の伸展 -腹腔内投与試験系について-
第35回日本トキシコロジー学会学術年会シンポジウム (2008.6)

菅野 純, 高木篤也, 広瀬明彦, 西村哲治, 福森信隆, 小縣昭夫, 大橋則雄, 北嶋 聡, 関田清司: 多層カーボンナノチューブのp53ヘテロ欠失マウス腹腔内投与による中皮腫の誘発
第23回発癌病理研究会(2008.8)

菅野 純, 高木篤也, 広瀬明彦, 西村哲治, 福森信隆, 小縣昭夫, 大橋則雄, 北嶋 聡, 関田清司: 多層カーボンナノチューブのp53ヘテロ欠失マウス腹腔内投与による中皮腫の誘発-異物発癌としての若干の考察を副えて-
モロシヌス研究会(2008.9)

菅野 純, 高木篤也, 広瀬明彦, 西村哲治, 福森信隆, 小縣昭夫, 大橋則雄, 北嶋 聡, 関田清司: 多層カーボンナノチューブのp53ヘテロ欠失マウス腹腔内投与による中皮腫の誘発
第67回日本癌学会総会(2008.10)

菅野 純: トキシコゲノミクス(Percellome Project)を基盤とした分子毒性学の展開の試み
第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

菅野 純: Percellome遺伝子発現解析標準化及び解析手法
第11回癌治療増感研究シンポジウム(2009.2)

菅野 純, 相崎健一, 北嶋 聡, 五十嵐勝秀, 種村健太郎, 小川幸男, 関田清司: 肝障害性薬剤による初期遺伝子発現応答のPercellome解析

薬学会第129年会(2009.3)

種村健太郎, 五十嵐勝秀, 相崎健一, 北嶋 聡, 菅野 純: 発生期ドーモイ酸暴露によるマウス脳微細構造異常と情動-認知行動障害

第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

種村健太郎, 菅野 純: 受容体原性毒性モデルとしてのERノックダウンマウスの中枢神経症状, 及び神経伝達かく乱による遅発影響の解析

第20回環境ホルモン学会講演会 (2009.2)

種村健太郎, 五十嵐勝秀, 相崎健一, 北嶋 聡, 菅野 純: エストロゲン受容体 (α 型) ノックダウンマウスの神経行動解析

第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

今井 清, 坪井 優, 向井大輔, 山下 龍, 関田清司, 高木篤也, 北嶋 聡, 菅野 純: フタル酸エステルDEHPとその活性代謝産物MEHPの比較毒性学的研究

第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

北嶋 聡, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 児玉幸夫, 高木篤也, 関田清司, 今井 清, 菅野 純: Percellome手法を用いたフタル酸エステルDEHPとその活性代謝産物MEHPの腎に及ぼす遺伝子発現変動の比較

第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

北嶋 聡, 菅野 純: トキシコゲノミクスによる毒性評価法の高精細化

第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

五十嵐勝秀, 小川幸男, 笠井辰也, 長野嘉介, 北嶋 聡, 相崎健一, 菅野 純: シックハウス指針値レベルの経気道暴露による遺伝子発現変化のPercellome解析

第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

荒瀬栄樹^{*1}, 石井健一朗^{*1}, 五十嵐勝秀, 相崎健一, 小倉友二^{*1}, 今村哲也^{*1}, 吉尾裕子^{*1}, 有馬公伸^{*1}, 菅野 純, 杉村芳樹^{*1}: ビスフェノールA経胎盤曝露によりマウス泌尿生殖洞で発現変動する性分化関連遺伝子群の同定

第13回日本生殖内分泌学会(2008.11)

^{*1} 三重大学医学部

五十嵐勝秀, 菅野 純: 網羅的エピジェネティクス解析技術の精神疾患への応用

生体機能と創薬シンポジウム (2008.9)

板倉 寛^{*1}, 五十嵐勝秀, 松島裕子, 相崎健一, 菅野 純, 村松正明¹, 佐藤憲子¹: SF-1遺伝子発現のエピジェネティック制御に与える内分泌かく乱物質の影響

第二回日本エピジェネティクス研究会年会(2008.5)

^{*1} 東京医科歯科大学・難治疾患研究所

Yukuto Yasuhiko, Satoshi Kitajima, Yu Takahashi, Masayuki Oginuma, Harumi Kagiwada, Jun Kanno and Yumiko Saga : **Functional importance and evolutionary conservation of Tbx6 binding sites in presomitic mesoderm (PSM) specific enhancer of Mesp2.**

第41回日本発生生物学会年会 (2008.5)

Yukuto Yasuhiko, Satoshi Kitajima, Yu Takahashi, Masayuki Oginuma, Harumi Kagiwada, Jun Kanno and Yumiko Saga : **Multiple, evolutionally conserved T-box binding sites in cis- regulatory sequence are required for presomitic mesoderm (PSM) specific expression of Mesp2**

日本発生生物学会・フランス発生生物学会合同年会 "Frontiers in Developmental Biology 2008" (2008.9)

Yukuto Yasuhiko, Satoshi Kitajima, Yu Takahashi, Masayuki Oginuma, Harumi Kagiwada, Jun Kanno and Yumiko Saga : **Functional Importance of Evolutionally Conserved Tbx6 Binding Sites in the Presomitic Mesoderm (PSM) Specific Enhancer of Mesp2.**

The 16th CDB Meeting, "Cis-sequence Regulation and its Evolution" (2008.10)

高橋 雄, 北嶋 聡, 安彦行人, 菅野 純, 相賀裕美子^{*1}: **Delta-like 3 (Dll3) does not substitute for Delta-like 1 (Dll1) in somitogenesis in vivo but modulates Dll1/Notch signaling in the posterior PSM**

第41回日本発生生物学会 (2008.5)

^{*1} 国立遺伝学研究所

高橋 雄, 北嶋 聡, 安彦行人, 菅野 純, 相賀裕美子^{*1}: **Overexpression of Delta-like 3 (Dll3) in the presomitic mesoderm causes defects in the axial skeletal formation**

第3回Notch研究会 (2008.7)

*¹ 国立遺伝学研究所

高橋 雄, 北嶋 聡, 安彦行人, 菅野 純, 相賀裕美子*¹: **Novel mouse Delta-like 1 (Dll1) alleles yield insights into involvement of Notch signal in segmentation of vertebrae**
BMB2008 (2008.12)

*¹ 国立遺伝学研究所

荒瀬栄樹, 石井健一朗, 五十嵐勝秀, 相崎健一, 小倉友二, 今村哲也, 吉尾裕子, 有馬公伸, 菅野 純, 杉村芳樹: **ビスフェノールA経胎盤投与によるマウス泌尿生殖洞でのSF1発現誘導**
第96回日本泌尿器科学会総会 (2008.4)

関根 司, 吉田 功, 相崎健一, 桐生悠史, 大草敏史, 菅野 純, 岡安 勲: **潰瘍性大腸炎in vitroモデルにおける酪酸によるp53活性化機序の解明: CITED2の関与**
第97回日本病理学会総会(2008.5)

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Tsuboi, I., Kodama, Y., Kanno, J., Inoue, T.: **Benzene-inhalation enhanced the incidence of hematopoietic neoplasms in p53-deficient mice with respect to strain-differences between C57BL/6 and C3H/He**
Society of Toxicology 48th Annual Meeting & ToxExpo (2009.3)

平林容子, 壺井 功, 尹 秉一, 五十嵐勝秀, 菅野 純, 淀井淳司*, 井上 達: **酸化ストレス高感受性(チオレドキシノックアウト=TrxKO)マウスに対する放射線照射後の網羅的遺伝子発現を用いた生体応答解析**
第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008) (2008.12)

* 京都大学

壺井 功*, 原田智紀*, 平林容子, 菅野 純, 井上 達, 相澤 信*: **加齢に伴う造血微小環境の機能低下は5-Fluorouracil投与後のB細胞産生を遅延さす**
第70回日本血液学会総会 (2008.10)

* 日本大学

平林容子, 尹 秉一, 五十嵐勝秀, 菅野 純, 淀井淳司*, 井上 達: **チオレドキシノ(Trx) 遺伝子改変(ノック**

アウト及び過剰発現) マウスにおける異物相互作用
第70回日本血液学会総会 (2008.10)

* 京都大学

Hirabayashi, Y.: **Diseases of hematopoietic system Toxicological mechanism of hematopoietic disorders**
2008 Annual meeting of the Korean Society of Toxicologic Pathology, (2008.9)

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Li, G.X., Kaneko, T., Kanno, J., Fujii-Kuriyama, Y.*, Inoue, T.: **AhR-mediated benzene-induced hematopoietic toxicities: Differential toxicities between one from AhR in the hematopoietic stem cells for the bone marrow and the other from possible hepatic-AhR for the peripheral blood**
28th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2008) (2008.8)

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Li, G.X., Fujii-Kuriyama, Y.*, Kaneko, T., Kanno, J., Inoue, T.: **Benzene-induced hematopoietic impairment is mediated by aryl hydrocarbon receptor (AhR) function compartmentalized in the bone marrow**
The 37th Annual Scientific Meeting (2008.7)

* Tsukuba University

壺井 功*, 平林容子, 原田智紀*, 児玉幸夫, 菅野 純, 井上 達, 相澤 信*: **加齢に伴う造血微小環境の機能低下は5-Fluorouracil投与後のB細胞産生を遅延させる**
第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

* 日本大学

平林容子, 李 光勲, 尹 秉一, 藤井義明¹, 金子豊蔵, 黒川雄二², 菅野 純, 井上 達: **アリーールハイドロカーボン受容体の生物学とトキシコロジー**
第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

¹ 筑波大学

² 佐々木研究所

Hirabayashi, Y., Yoon, B.I., Tsuboi, I., Huo, Y., Kodama, Y., Kanno, J., Ott, T.¹, Trosko, J.E.², Inoue, T.: **Connexin 32 maintains quiescent hematopoietic progenitor cells in Lin⁻/c-kit⁺ /Sca1⁺ fraction: Analysis of the cell cycle.**

6th ISSCR Annual Meeting (2008.6)

^{*1} Hertie-Institut für Klinische Hirnforschung

^{*2} Michigan State University, College of Human Medicine

平林容子, 李 光勲, 尹 秉一, 淀井淳司^{*1}, 黒川雄二^{*2},
菅野 純, 井上 達: 一般口演「血液2」ベンゼン誘発白血病の分子機構: チオレドキシン過剰発現によるROS消去と白血病の抑制

第97回日本病理学会総会(2008.5)

^{*1} 京都大学

^{*2} 佐々木研究所

中澤憲一: **ICH-M3 (R2) Step 2 ガイドラインの概要**
-単回投与, 反復投与試験を中心に-

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2009.8)

佐藤 薫, 斉藤善彦^{*1}, 岡淳一郎^{*1}, 大和田智彦^{*2}, 中澤憲一: **グルタミン酸トランスポーターに対するタモキシフェンの作用**

第31回日本神経科学大会 (2008. 9)

^{*1} 東京理科大学

^{*2} 東京大学

Sato, K., Saito, Y. ^{*1}, Oka, J-I. ^{*1}, Ohwada, T. ^{*1}, Nakazawa, K.: **Effects of tamoxifen and the related compounds on L-glutamate transport activity of cultured astrocytes.**
2008 Annual Meeting of Society for Neuroscience (2008. 11)

^{*1} Tokyo Univ. Sci.

^{*2} Univ. Tokyo

最上由香里, 中澤憲一, 佐藤 薫: **ミクログリアは脳室下帯において神経新生・グリア新生に影響を与えている**
日本薬学会第 129 年会 (2009. 3)

高橋華奈子^{*}, 中澤憲一, 野澤 (石井) 玲子^{*}, 大野泰雄, 竹内幸一^{*}, 佐藤 薫: **NSAIDs はアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた興奮性アミノ酸トランスポーター EAAT1/GLAST を抑制する**

日本薬学会第 129 年会 (2009. 3)

^{*} 明治薬科大学

佐藤 薫, 斉藤善彦^{*1}, 岡淳一郎^{*1}, Goldman, J.E.^{*2}, 中澤

憲一: **生後初期脳のリスクアセスメントシステムの確立**
第 82 回日本薬理学会 (2009. 3)

^{*1} 東京理科大学

^{*2} Columbia Univ.

高橋華奈子^{*}, 中澤憲一, 野澤 (石井) 玲子^{*}, 大野泰雄, 竹内幸一^{*}, 佐藤 薫: **非ステロイド性抗炎症薬であるニフルミック酸, ジクロフェナクは, 異なるメカニズムを介してアストロサイトグルタミン酸トランスポーター EAAT1/GLAST電流を阻害する**

第4回トランスポーター研究会 (2009.5)

^{*} 明治薬科大学

諫田泰成, 中澤憲一: **ドパミン刺激による活性酸素を介した神経前駆細胞の増殖**

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (2008.12)

諫田泰成, 中澤憲一: **活性酸素を介した神経前駆細胞の遊走機構**

第8回日本再生医療学会 (2009.3)

諫田泰成, 中澤憲一: **C6グリオーマ細胞における GPR30の機能解析**

第82回日本薬理学会 (2009.3)

石田誠一, 堀内新一郎, 堀 環, 宮島敦子, 簾内桃子, 本郷有克^{*1}, 石川陽一^{*1}, 澤田純一, 小澤正吾^{*2}, 中澤憲一: **Effects of Three-Dimensional Culture on the Drug Metabolism Gene Expressions in HepG2 Human Hepatoma Cell Line**

第23回日本薬物動態学会年会 (2008.10)

^{*1} エイブル株式会社

^{*2} 岩手医科大学

Ninomiya, M.,^{*1} Yamaguchi, Y.^{*1}, Motohashi, R.^{*2}, Adachi, Y.^{*2}, Sekiya, Y.^{*3}, Mizuki, Y.^{*3}, Hashimoto, H.^{*4}, Yamada, Y.^{*4}, Shimada, K.^{*5}, Miyajima, A., Sunouchi, M., Yoshinari, K.^{*6}, Yamazoe, Y. ^{*6}, and Nakazawa, K.: **Application of an adenoviral human CYP expression system toward a study for the prediction of *in vivo* metabolism in humans (2)**

The 23rd JSSX Annual Meeting (2008.10)

*¹ Shionogi & Co., Ltd.

*² Sekisui Medical Co., Ltd

*³ Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.

*⁴ Mitsubishi Tanabe Pharma Co

*⁵ Pfizer Japan Inc

*⁶ Tohoku Univ

Miyajima-Tabata, A., Sunouchi, M., Nakazawa, K., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y. : **Reductive metabolism of N-(1-(3,4-methylenedioxyphenyl) propan-2-yl)-N-methylhydroxylamine in human hepatocytes**

The 48th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2009.3)

宮島敦子, 簾内桃子, 中澤憲一, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広 : **N-OH-MDMAのヒト肝におけるN-脱水酸化およびN-脱メチル化反応について**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

紅林秀雄, 南部尚美*, 浜井憂子*, 重松昭世*, 今井俊夫, 中澤憲一, 大野泰雄 : **成熟雌性ラットにおける[2,3-¹⁴C] Acrylamide 2.5 mg/kg経口投与後の体内動態**

第35回日本トキシコロジー学会年会 (2008.6)

* 生体科学研究所

Kurebayashi, H., Nanbu, N.*, Hamai, Y.*, Shigematsu, A.*, Imai, T., Nakazawa, K., Ohno, Y. : **Disposition of [2,3-¹⁴C]acrylamide orally dosed to juvenile and adult female rats**

The 48th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2009.3)

* Institute of Whole Body Metabolism, Japan

紅林秀雄, 奥平和穂*, 中澤憲一, 大野泰雄 : **ビスフェノールAのヒト, サル, ラットの凍結肝細胞を用いた代謝**

日本薬学会第129年会 (2009.3)

* 東邦大学薬学部

Kurebayashi, H. : **In vitro metabolism of alicyclic ketoxime to ketone by rabbit liver preparations**

The 3rd Asian Pacific Regional ISSX Meeting (2009.5)

宇佐見 誠 : **プロテオミクスによる化学物質の発生毒性研究**

第16回 生殖・発生毒性学東京セミナー (2009.3)

小島 肇 : **REACH対応と動物実験代替法**

第128回FJセミナー (2008.5)

Kojima, H.: **Japanese Collaboration on Alternative to Animal Toxicology Testing**

World Congress on in Vitro Biology (2008.6)

小島 肇, 武吉正博^{*1}, 大森 崇^{*2}, 寒水孝司^{*3}, 有馬和範^{*4}, 出原賢治^{*5}, 金澤由基子^{*6}, 牧 栄二^{*7}, 中桐直人^{*8}, 五十嵐良明, 田中正志^{*9}, 吉村 功^{*10}, 湯浅敦子^{*11} : **LLNA-BrdU法の施設間バリデーション研究**

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.7)

*¹ (財) 化学物質評価研究機構

*² 京都大学

*³ 大阪大学

*⁴ 大正製薬 (株)

*⁵ ダイセル化学工業 (株)

*⁶ (財) 食品薬品安全センター秦野研究所

*⁷ (財) 食品農医薬品安全性評価センター

*⁸ 大塚製薬 (株)

*⁹ 明治製菓 (株)

*¹⁰ 東京理科大学工学部

*¹¹ 富士フイルム (株)

小島 肇, 武吉正博^{*1}, 出原賢治^{*2} : **非RI法による皮膚感作性試験代替法 (LLNA法) のバリデーション研究-試験法概要-**

第15回日本免疫毒性学会学術大会 (2008.9)

*¹ (財) 化学物質評価研究機構

*² ダイセル化学工業 (株)

出原賢治^{*1}, 小島 肇, 武吉正博^{*2} : **非RI法によるLLNA法の比較**

第38回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会(2008.11)

*¹ ダイセル化学工業 (株)

*² (財) 化学物質評価研究機構

Kojima, H.: **Japanese Collaboration on Alternative to Animal Toxicology Testing**

International Current of 3Rs International Symposium on the 3Rs Promotion in Asia (2008.11)

小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会報告

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

杉山真理子^{*1}，河合敬一^{*2}，小島 肇，寒水孝司^{*3}，辰見寿^{*4}，夏秋 優^{*5}，森 福義^{*6}：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 皮膚刺激性分科会からの報告

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} (株) 資生堂
- ^{*2} 河合敬一皮膚科医院
- ^{*3} 大阪大学
- ^{*4} サンスター (株)
- ^{*5} 兵庫医科大学
- ^{*6} (株) ポーラ

金澤由基子^{*1}，横関博雄^{*2}，中田土起丈^{*3}，坂口 齊^{*4}，大野泰雄，小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 感作性試験分科会からの報告

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} (財) 食品薬品安全センター
- ^{*2} 東京医科歯科大学
- ^{*3} 昭和大学
- ^{*4} 花王 (株)

瀬戸洋一^{*1}，萩野滋延^{*2}，島賢一郎^{*3}，森田正道^{*4}，平野耕治^{*5}，金子豊蔵，小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 眼刺激性分科会からの報告

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} P&Gジャパン (株)
- ^{*2} (株) 資生堂
- ^{*3} (株) ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
- ^{*4} アイリス動物医療センター
- ^{*5} 藤田保健衛生大学

藤井まき子^{*1}，小島 肇，杉林堅次^{*2}，上月裕一^{*3}，桑原裕史^{*4}：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 皮膚透過・経皮吸収試験分科会からの報告

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} 昭和薬科大学

^{*2} 城西大学

^{*3} (株) 資生堂

^{*4} カネボウ化粧品 (株)

笠松俊夫^{*1}，江幡真也^{*2}，林 真^{*3}，能美建彦，本間正充，小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 遺伝毒性分科会からの報告

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} 花王 (株)
- ^{*2} ライオン (株)
- ^{*3} (財) 食品農医薬品安全性評価研究センター

武吉正博^{*1}，小島 肇，大森 崇^{*2}，寒水孝司^{*3}，有馬和範^{*4}，出原賢治^{*5}，金澤由基子^{*6}，牧 栄二^{*7}，中桐直人^{*8}，五十嵐良明，田中正志^{*9}，吉村 功^{*10}，湯浅敦子^{*11}：LLNA-BrdU法の施設間バリデーション研究

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} (財) 化学物質評価研究機構
- ^{*2} 京都大学
- ^{*3} 大阪大学
- ^{*4} 大正製薬 (株) 安全性研究所
- ^{*5} ダイセル化学工業 (株)
- ^{*6} (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所
- ^{*7} (財) 食品農医薬品安全性評価センター
- ^{*8} 大塚製薬 (株)
- ^{*9} 明治製菓 (株)
- ^{*10} 東京理科大学工学部
- ^{*11} 富士フイルム (株)

小島 肇，安藤洋子^{*1}，山口能宏^{*2}，小坂忠司^{*3}，鈴木民恵^{*4}，湯浅敦子^{*5}，渡邊幸彦^{*6}，篠田伸介^{*7}，出原賢治^{*8}，吉村 功^{*9}，宮岡悦良^{*9}，石山賢也^{*9}，加藤雅一^{*10}，大森崇^{*11}：培養皮膚モデルLabCyte EPI-MODEL24を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究 予備試験結果

日本動物実験代替法学会第21回大会 (2008.11)

- ^{*1} (株) 愛研
- ^{*2} 小林製薬 (株)
- ^{*3} 残留農薬研究所
- ^{*4} (株) ファンケル
- ^{*5} 富士フイルム (株)
- ^{*6} 丸石製薬 (株)
- ^{*7} 薬物安全性試験センター

*8 ダイセル化学工業 (株)

*9 東京理科大学

*10 (株) ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング

*11 京都大学

小島 肇: **in vitro**遺伝毒性試験-光と影-
第37回日本環境変異原学会 (2008.12)

小島 肇: 毒性試験における培養細胞の利用
安全性評価研究会2008年冬のセミナー (2008.12)

小島 肇: 動物実験適正化のグローバルな動き-代替法
の動きを中心に-
日本製薬工業協会医薬品評価委員会 第102回基礎研究
部会総会 (2009.2)

Kojima, H.: **Current aspects of LLNA-DA and LL-
NA-BrdU as alternatives for skin sensitizer classifi-
cation in Japan**

2009 Winter Conference of Korean Society of Alterna-
tives to Animal Experiments (2009.2)

Tice, R.*¹, Deal, F.*², Ceger, P.*², Allen, D.*², Gordon, J.*³,
DeLange, J.*⁴, Bremer, S.*⁴, Nakamura, M.*⁵, Kojima, H.,
Ono, A., Stokes, W.*¹: **Establishing a Historical Da-
tatabase for a Multi-phased International Validation
Study of a Stably-Transfected Estrogen Receptor
(ER) Transcriptional Activation (TA) Test Method**
48th Annual SOT meeting, Baltimore (2009.3)

*¹ NICEATM

*² ILS, Inc.

*³ XDS, Inc.

*⁴ ECVAM

*⁵ Hiyoshi Corp.

Strickland, J.*¹, Paris, M.*¹, Allen, D.*¹, Tice, R.*², Kojima,
H., Prieto, P.*³, Wind, M.*⁴, Stokes, W.*²: **ICCVAM/
NICEATM/ECVAM/JaCVAM Scientific Workshop
on Acute Chemical Safety Testing: Advancing In
Vitro Approaches and Humane Endpoints for
Acute Systemic Toxicity Evaluations**
48th Annual SOT meeting, Baltimore (2009.3)

*¹ ILS, Inc.

*² NICEATM

*³ ECVAM

*4 CPSC

小島 肇: **バリデーション研究とは何か? & 国際動向**
JaCVAM第2回ワークショップ (2009.4)

小島 肇: **培養皮膚モデルバリデーション研究**
JaCVAM第2回ワークショップ (2009.4)

小島 肇: **動物実験代替法における培養細胞の利用**
日本組織培養学会第82回大会 (2009.5)

小島 肇: **動物実験代替法に関する国内外の動向**
JALAMシンポジウム (2009.5)

梅村隆志, 岡村俊也, 木島綾希, 田崎雅子, 井上知紀,
石井雄二, 西川秋佳: **臭素酸カリウム誘発腎酸化的スト
レスおよび細胞増殖に対するsodium ascorbic acidの予
防効果**
第15回がん予防学会 (2008.5)

大柄敦資*, 坂本泰洋*, 岩崎雄介*, 石井雄二, 伊藤里恵*,
斉藤貢一*, 西川秋佳, 中澤裕之*: **カフェイン酸のProoxi-
dant作用にニトロ化反応が及ぼす影響**
第69回分析化学討論会 (2008.5)

* 星薬科大学・薬品分析化学教室

吉田 緑, 井上 薫, 高橋美和, 西川秋佳: **ショ糖酸エ
ステルのラットにおける慢性毒性・発がん性試験**
第14回日本食品化学学会 (2008.5)

曹 永晩, 今井俊夫, 高見成昭, 広瀬雅雄*, 西川秋佳:
**ダイズサポニンのF344ラットにおける90日間経口反復
投与毒性試験**
第14回日本食品化学学会 (2008.5)

* 内閣府・食品安全委員会

田崎雅子, 井上知紀, 岡村俊也, 石井雄二, 高木久宣*,
能美健彦, 梅村隆志, 西川秋佳: **ピペロニルブトキサイ
ド誘発ラット肝の酸化的DNA損傷ならびに *in vivo* 変異
原性**
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.6)

* 日本エスエルシー株式会社

井上知紀, 前田真智子, 岡村俊也, 石井雄二, 田崎雅子,

梅村隆志, 西川秋佳: パプリカ色素のF344ラットにおける52週間反復経口投与による毒性評価
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.6)

岡村俊也, 石井雄二, 井上知紀, 田崎雅子, 広瀬雅雄*, 梅村隆志, 西川秋佳: グルコン酸銅摂取によるラット肝酸化ストレスの誘発と抗酸化物質併用投与による複合影響の検討
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.7)

* 内閣府食品安全委員会

根本清光*, 小林章男*, 吉田 緑, 西川秋佳, 安田隆宏*, 山田将貴*, 水上将典*, 関本征史*, 下位香代子*, 榊原啓之*, 出川雅邦*: 肝肥大化学物質の血清総コレステロール量に対する影響: 化学物質の安全性評価に向けて
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.6)

* 静岡県立大

吉田 緑, 都築伸幸^{*1}, 宇木俊晴^{*1}, 渡邊栄喜^{*1}, 小澤正吾^{*2}, 鈴木勝士^{*3}, 西川秋佳: 農薬リスク評価におけるイヌ慢性毒性試験およびマウスマウス発がん性試験の有用性
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.6)

*¹ 食品安全委員会

*² 岩手医科大

*³ 日本獣医生命科学大

Cho, Y.M., Imai, T., Takami, S. and Nishikawa, A.: **Serum biochemical and histological properties in each genotype of Zucker rats**
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.6)

Takami, S., Imai, T., Cho, Y.M., Hirose, M.* and Nishikawa, A.: **Inhibitory effects of prepubertal administration of decabromodiphenyl ether on susceptibility to thyroid and renal carcinogenesis in rats exposed to DHPN and DMBA during adolescence**
第35回日本トキシコロジー学会 (2008.6)

* 食品安全委員会

Nishikawa A.: **Nodular hepatocellular lesion in rats: Part II**
27th Annual Symposium of the Society of Toxicologic Pa-

thology (2008.6)

Imai, T., Takami, S., Cho, Y.M. and Nishikawa, A.: **Mitigating effect of prepubertal administration of anti-thyroidal substances on subsequent carcinogenic susceptibility in thyroid of rats**
27th Annual Symposium of the Society of Toxicologic Pathology (2008.6)

Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Fujimoto, H., Shibutani, M.^{*1}, Hirose, M.^{*2} and Nishikawa, A.: **Potent carcinogenicity of madder-color-related alizarin and rubiadin in a rat medium-term multi-organ bioassay**
6th European Congress of Toxicologic Pathology (2008.9)

*¹ 東京農工大

*² 食品安全委員会

Takahashi, M., Inoue, K., Yoshida, M., Shibutani, M.* and Nishikawa, A.: **Susceptibilities to acrylamide-induced neurotoxicity and testicular toxicity between young and adult rats**
6th European Congress of Toxicologic Pathology (2008.9)

* 東京農工大

Umemura, T., Ishii, Y., Okamura, T., Inoue, T., Tasaki, M., Kodama, Y., Nishikawa, A.: **Possible participation of Nrf2 in prevention against dicyclanil-induced oxidative stress in the mouse liver**
67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

Okamura, T., Ishii, Y., Inoue, T., Tasaki, M., Kodama, Y., Nohmi, T., Umemura, T., Nishikawa, A.: **Enhancement of in vivo mutagenicity of MeIQx in the liver of gpt delta mice treated with CCl₄**
67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

Inoue, T., Ishii, Y., Okamura, T., Tasaki, M., Umemura, T., Nishikawa, A.: **Lack of carcinogenicity of paprika color in F344 rats given in the diet for two years**
67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

Ishii, Y., Okamura, T., Tasaki, M., Inoue, T., Fukuhara, K., Umemura, T., Nishikawa, A.: **Determination of chemical structure for specific DNA adduct formed in the reaction of lucidin with 2'-deoxyguanosine**

67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi M., Shibutani, M^{*1}., Hirose, M^{*2}. and Nishikawa, A.: **A rat medium-term multi-organ assay for a madder color component and metabolite**

67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

*¹ 東京農工大

*² 食品安全委員会

Takahashi, M., Yoshida, M., Inoue, K., Nakae, D^{*}. and Nishikawa, A.: **Lack of chronic toxicity and carcinogenicity of dietary administered catechin in GALAS rats**

67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

* 東京健安研

Imai, T., Cho, Y.M., Takami, S. and Nishikawa, A.: **Susceptibility of heterozygous (*Fa/fa*) lean Zucker rats to DMBA-induced mammary carcinogenesis**

67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

Cho, Y.M., Imai, T., Takami, S. and Nishikawa, A.: **Effects of prepubertal exposure of hexabromocyclododecane on susceptibility to multi-organ carcinogenesis in rats**

67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

Takami, S., Imai, T., Cho, Y.M., Hirose^{*}, A. and Nishikawa, A.: **Effect of prepubertal exposure of acrylamide on susceptibility to multi-organ carcinogenesis in rats**

67th Annual Meeting of Japanese Cancer Association (2008.10)

* 食品安全委員会

Ishii, Y., Okamura, T., Tasaki, M., Inoue, T., Nohmi, T., Umemura, T., Nishiakwa, A.: ***In vivo* mutagenicity of madder color and its constituents using *gpt* delta rats**

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

梅村隆志, 福原 潔, 木島綾希, 井上知紀, 田崎雅子, 岡村俊也, 鈴木裕太, 石井雄二, 西川秋佳: **合成平面型カテキンの反復投与毒性試験ならびに2-ニトロプロパン誘発酸化的DNA損傷への修飾効果**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

黒岩有一, 田崎雅子, 岡村俊也, 井上知紀, 石井雄二, 梅村隆志, 西川秋佳: **ヘテロサイクリックアミンPhIPのマウス肝イニシエーション作用の検討**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

田崎雅子, 井上知紀, 岡村俊也, 木島綾希, 鈴木裕太, 石井雄二, 児玉幸夫, 能美健彦, 梅村隆志, 西川秋佳: **ピペロニルブトキサイドのp53欠損 *gpt* deltaマウスを用いた *in vivo* 変異原性**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

岡村俊也, 石井雄二, 井上知紀, 田崎雅子, 鈴木裕太, 児玉幸夫, 能美健彦, 梅村隆志, 西川秋佳: **MeIQx誘発 *gpt* deltaマウス大腸の *in vivo* 変異原性ならびに発がん性に対する慢性炎症の影響**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

井上知紀, 豊田尚美, 田崎雅子, 岡村俊也, 石井雄二, 増井則夫^{*}, 能美健彦, 梅村隆志, 西川秋佳: **F344 *gpt* deltaラット肝におけるDEN誘発 *in vivo* 変異原性ならびに前がん病変に対するトコトリエノールの修飾効果**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* (株) 日本エスエルシー

石井雄二, 岡村俊也, 田崎雅子, 井上知紀, 増井則夫^{*}, 福原潔, 能美健彦, 梅村隆志, 西川秋佳: **アカネ色素ラット腎発がん過程に関する色素成分の検索**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* (株) 日本エスエルシー

鈴木裕太, 木島綾希, 田崎雅子, 井上知紀, 岡村俊也, 石井雄二, 梅村隆志, 西川秋佳: **ラットにおけるオゾキライトの慢性反復投与毒性試験**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

吉田 緑, 井上 薫, 高橋美和, 西川秋佳: **正常性周期におけるラット卵巣の形態学的特徴**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

井上 薫, 吉田 緑, 高橋美和, 小西良子, 西川秋佳: **ニバレノール短期間投与による遺伝性ネフローゼモデルマウスの腎病変に及ぼす影響**
第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

渋谷 淳^{*}, 谷合枝里子^{*}, 出羽康明^{*}, 西村次平^{*}, 島

智美*, 吾郷恭平*, 高橋美和, 三森国敏*: ラット肝プロモーションにより生じるGST-P陽性の変異肝細胞巣と腫瘍で特異的に発現変化を示すPTEN/Akt2経路分子とTGF・受容体

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* 東京農工大

松本 明¹, 富士本仁, 川合正臣¹, 三枝由紀恵¹, 金美蘭¹, 井上 薫, 高橋美和, 広瀬雅雄², 西川秋佳, 三森国敏¹, 渋谷 淳¹: ラット甲状腺二段階発がんモデルにおいてSulfadimethoxineのプロモーション作用により高率に形成される被膜浸潤がんに対するCalcitriolの抗腫瘍効果の検討

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

¹ 東京農工大

² 食品安全委員会

藤本成明¹, 吉田 緑, 西川秋佳, 根本清光², 出川雅邦²: 化学物質による肝肥大の毒性指標としての性ホルモン受容体発現の検討

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

¹ 広島大

² 静岡県立大

則座由依*, 梯アンナ*, 多胡善幸*, 吉田 緑, 鱒淵英機*: 乳腺および子宮発がんにおけるインフラボンアグリコンの修飾作用

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* 大阪市立大

今井俊夫*, 曹 永晩, 高見成昭, 西川秋佳: ラットにおけるレプチン受容体遺伝子の異常と乳腺発がん

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* 国立がんセンター研究所

Cho, Y.M., Imai, T., Takami, S., and Nishikawa, A.: **Serum biochemistry and histological characteristics of mammary glands in homozygous (*fa/fa*) and heterozygous (*+fa*) zucker rats**

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* 国立がんセンター研究所

高見成昭, 今井俊夫*, 曹 永晩, 西川秋佳: 塩酸セミカルバジドのB6C3F1マウスにおける90日間反復投与毒性

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* 国立がんセンター研究所

Yoshida, M., Sanbuisso, A.¹, Hisada, S.², Takahashi, M.³, Ohno, Y. and Nishikawa, A.: **Collaborative work to evaluate ovarian toxicity by repeated dose and female fertility studies in rats: Morphological characteristics of normal cycling ovary in rats and their viewpoints for ovarian toxicity detection**

48th Annual Meeting of Society of Toxicology (2009.3)

¹ 第一三共

² アスカ製薬

³ 病理ピアレビュー

Takami, S., Imai, T.¹, Cho, Y.M., Maeda, M. Hirose, M.² and Nishikawa, A.: **Effects of prepubertal exposure to acrylamide on *N*-methyl-*N*-nitrosourea induced multi-organ carcinogenesis in rats**

48th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2009.3)

¹ 国立がんセンター研究所

² 食品安全委員会

Sambuisso, A.¹, Yoshida, M., Hisada, S.², Sagami, F.³, Takahashi, M.⁴, Kubo, S.⁵, Kumazawa T.⁶, Ube, M.⁶, Komatsu, S.⁷ and Ohno, Y.: **Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity: Effects of 2- or 4-week repeated dose studies and fertility study in female rats**

48th Annual Meeting of Society of Toxicology (2009.3)

¹ 第一三共

² アスカ製薬

³ エーザイ

⁴ 病理ピアレビュー

⁵ 杏林製薬

⁶ 三和化学研究所

⁷ 三菱田辺製薬

Yasui, M., Koyama, N.¹, Koizumi, T., Sakuraba, M., Sakamoto, H., Takashima, Y.², Sugimoto, K.³, Hayashi, M.⁴, and Honma, M.: **Emergence and fate of micronuclei by fluorescent live cell imaging analysis**

99th American Association of Cancer Research (2008.4)

^{*1} 静岡県立大学・院

^{*2} 放射線医学総合研究所

^{*3} 大阪府立大学・院

^{*4} 食品農医薬品安全性評価センター

本間正充：医薬品に不純物として含まれる遺伝毒性物質の分類と許容量

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

本間正充：ICHにおける新しい遺伝毒性試験ガイドライン (S2R1) と試験実施タイミング

第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

Honma, M.: **Ultimate threshold and genetic consequence of a single double strand break in human cells**

International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic Thresholds (2008.7)

Honma, M.: **Genome mapping of damaged chromosome regions induced by ionizing irradiation using DNA microarray analysis**

38th European Environmental Mutagen Society (2008.9)

Yamada, M., Matsui, K., and Nohmi, T.: **Development of a tester strain sensitive to chemicals inducing oxidative pyrimidines.**

38th European Environmental Mutagen Society (2008.9)

Totsuka, Y.^{*1}, Ichinose, T.^{*2}, Hiyoshi, K.^{*2}, Kato, T.^{*3}, Masuda, S.^{*3}, Nohmi, T., Sugimura, T.^{*1}, and Wakabayashi, K.^{*1}: **Genotoxicity of nanoparticles in *in vivo* mutation assay systems**

38th European Environmental Mutagen Society (2008.9)

^{*1} 国立がんセンター研究所

^{*2} 大分県立看護科学大学

^{*3} 静岡県立大学・院

増村健一, 坂元康晃, 池田 恵^{*1}, 塚本徹哉^{*2}, 池畑広伸^{*3}, 黒岩有一, 梅村隆志, 西川秋佳, 立松正衛^{*2}, 小野哲也^{*3}, 能美健彦：p53はUVB照射および非照射マウスの表皮で誘発される欠失変異を抑制する

第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

^{*1} 女子栄養大学 (現 神奈川県立保健福祉大学)

^{*2} 愛知がんセンター研究所

^{*3} 東北大学・院

外岩戸 (豊田) 尚美, 増村健一, 林 宏行^{*}, 川村祐司^{*}, 倉田 靖^{*}, 井上知紀, 梅村隆志, 西川秋佳, 能美健彦：**F344 *gpt delta*トランスジェニックラットにおける構造異性体2,4-DATおよび2,6-DATの変異原性の検討**
第67回日本癌学会学術総会 (2008.10)

^{*} 明治製菓 (株)

Ikeda, M., Masumura, K., Sakamoto, Y., Wang, B.^{*1}, Neno, M.^{*1}, Sakuma, K.^{*2}, Hayata, I.^{*1}, Yamamoto, A., Honma, M., and Nohmi, T.: ***gpt delta* transgenic mice for *in vivo* genotoxicity assays: application for analysis of combined effects of radiation and chemicals**

The 7th Japan-France Workshop on Radiation Biology (2008.10)

^{*1} 放射線医学総合研究所

^{*2} 女子栄養大学

Nohmi, T.: **Recent topics of mutation research with *gpt delta* mice and rats**

39th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society (2008.10)

Niimi, N., Sassa, A., Katafuchi, A., Grúz, P., Fujimoto, H.^{*1}, Ohta, T.^{*2}, and Nohmi, T.: **The steric gate tyrosine 112 is crucial to the efficient mismatched-primer extension by human DNA polymerase κ**

3R (Replication, Recombination, Repair) meeting 2008 (2008.10)

^{*1} 国立感染症研究所

^{*2} 東京薬科大学・院

Nohmi, T.: **Combined genotoxic effects of a methylating agent and radiation on human cells**

New Nuclear Research Symposium, Biological Responses to Low Dose Radiation (2008.11)

谷田貝文夫^{*}, 菅澤 薫^{*}, 榎本秀一^{*}, 本間正充：**DSB修復効率からの適応応答の追求**

日本放射線影響学会第51回大会 (2008.11)

^{*} 理化学研究所

片渕 淳, 佐々 彰, 清水雅富^{*1}, 益谷央豪^{*2}, 花岡文雄^{*2}, 能美健彦: ヒトポリメラーゼ η R61残基の8ox-odGTP取り込み特異性への寄与

日本放射線影響学会第51回大会 (2008.11)

^{*1} 東京医療保健大学

^{*2} 大阪大学・院

能美健彦: *In vivo* 突然変異を解析するための *gpt delta* トランスジェニックマウスおよびラット

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

本間正充: DNA二本鎖切断修復と遺伝的不安定性

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

安井 学, 本間正充: ヒトリンパ球細胞のゲノム内に導入させた8-オキソグアニン 1分子の突然変異誘発能

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

小山直己^{*1}, 木村 葵^{*2}, 安井 学, 高見成昭, 高橋美和, 今井俊夫, 山本 歩, 汲田和歌子, 増村健一, 増田修一^{*1}, 木苗直秀^{*1}, 松田知成^{*3}, 能美健彦, 本間正充: ライフステージを考慮したアクリルアミドの多臓器遺伝毒性評価

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 静岡県立大学・院

^{*2} 新日本科学

^{*3} 京都大学・院

斉藤美香^{*1}, 松藤 寛^{*1}, 千野 誠^{*1}, 林 真^{*2}, 本間正充, 山形一雄^{*1}: 過酸化水素によって誘導されたヒトリンパ芽球細胞TK6の細胞増殖と遺伝毒性に対する天然抗酸化物質の保護効果

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 日本大学

^{*2} 食品農医薬品安全性評価センター

木村 葵^{*}, 坂本浩子, 西郷和彦^{*}, 洲加本孝幸^{*}, 本間正充: *In vitro* コメットアッセイプロトコルの検証

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*} 新日本科学

Wang, J.^{*}, Sawyer, J.^{*}, Honma, M., Chen, T.^{*}, and Moore, M.^{*}: The mouse lymphoma assay detects recombi-

nation, deletion, and aneuploidy

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*} FDA, National Center for Toxicological Research

谷田貝文夫^{*1,4}, 高橋昭久^{*2}, 本間正充, 鈴木ひろみ^{*3}, 大森克徳^{*4}, 関 真也^{*5}, 橋爪藤子^{*5}, 島津 徹^{*3}, 榎本秀一^{*1}, 大西武雄^{*2}, 石岡憲昭^{*4,5}: 宇宙実験: 放射線影響のLOH検出系による解析

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 理化学研究所

^{*2} 奈良県立医大

^{*3} 日本宇宙フォーラム

^{*4} 宇宙航空研究開発機構

^{*5} 鹿児島大学・院

本間正充, 櫻庭真弓, 汲田和歌子, 林 真^{*}: DNAマイクロアレイによる放射線損傷領域のゲノムマッピング

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*} 食品農医薬品安全性評価センター

中嶋 圓^{*}, 鈴木雅也^{*}, 田中 仁^{*}, 本間正充, 林 真^{*}: *In vitro* コメットアッセイ国際バリデーションデータ解析に関する一考察

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*} 食品農医薬品安全性評価センター

新見直子, 飯泉 晋^{*}, 足立典隆^{*}, 小山秀機^{*}, 能美健彦: 細胞におけるヒトDNAポリメラーゼ κ の機能解析

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*} 横浜市立大学

大浦 健^{*1}, 小田美光^{*2}, 山田雅巳, 能美健彦, 雨谷敬史^{*1}, 下位香代子^{*1}: 塩素化多環芳香族炭化水素類の変異原性評価

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 静岡県立大学

^{*2} 近畿大学

山田雅巳, 高宗万希子, 松井恵子, 能美健彦: 改変Ames試験菌株を用いた内在性の変異原物質の検索とその変異誘発機構に関する研究

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

戸塚ゆ加里^{*1}, 加藤竜也^{*2}, 増田修一^{*2}, 能美健彦, 杉村隆^{*1}, 若林敬二^{*1}: ナノ粒子により誘発される遺伝毒性の*in vivo*アッセイによる解析

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

^{*1} 国立がんセンター研究所

^{*2} 静岡県立大学・院

須井 哉*, 川上久美子*, 大山徳子*, 奥富弘子*, 太田 亮*, 能美健彦: ハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法の検討4

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

* 食品薬品安全センター・秦野研究所

豊田尚美, 井上知紀, 増村健一, 林 宏行*, 川村祐司*, 倉田 靖*, 梅村隆志, 西川秋佳, 能美健彦: *gpt delta transgenic rat*を用いた発がん標的臓器における構造異性体2,4-DAT, 2,6-DATの遺伝毒性解析

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

* 明治製菓 (株)

山内一己*, 柿沼志津子*, 高貴貴志*, 増村健一, 能美健彦, 西村まゆみ*, 島田義也*: The effect of post-irradiation on ENU mutagenesis in thymocytes of B6C3F1 *gpt-delta* mice.

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

* 放射線医学総合研究所

増村健一, 能美健彦: *gpt delta*トランスジェニックマウスおよびラットにおける自然突然変異の解析

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

増村健一: *gpt delta*トランスジェニックマウス試験系を用いた点突然変異と欠失変異の選択的検出

日本環境変異原学会第37回大会 (2008.12)

Nohmi, T.: Transgenic *in vivo* genotoxicity assays: basic features and the possible applications

14th Alexander Hollaender Course on Genetic Toxicology: Genomic and Proteomic Approaches & Special Workshop on Arsenic Exposure Assessment (2008.12)

安井 学, 鈴木奈緒美*, 澁谷真也*, 本間正充: 一酸化窒素によって形成するDNA付加体の誤塩基対形成メカニズム: 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (2008.12)

* ニューヨーク州立大学

佐々 彰, 新見直子, Petr Grúz, 太田敏博*, 能美健彦: ヒトDNAポリメラーゼ κ におけるcleftアミノ酸変異の損傷DNAに対する親和性への影響

第31回日本分子生物学会年会, 第81回日本生化学会大会 (2008.12)

* 東京薬科大学・院

豊田尚美, 井上知紀, 増村健一, 林 宏行*, 川村祐司*, 倉田 靖*, 梅村隆志, 西川秋佳, 能美健彦: *gpt delta transgenic rat*を用いた発がん標的臓器における構造異性体2,4-DAT, 2,6-DATの遺伝毒性解析

第25回日本毒性病理学会 (2009.1)

* 明治製菓 (株)

Honma, M., Kumita, W., and Sakuraba, M.: Demonstration of ionizing irradiation inducing genomic instability via breakage-fusion-bridge cycle in human cells by CGH-microarray

Keystone symposia "Genome Instability and DNA Repair (2009. 3)

Honma, M., Koyama, N., Kimura, A., Yasui, M., Takami, S., Takahashi, M., Imai, T., Yamamoto, Y., Kumita, W., Masumura, K., Masuda, S.^{*1}, Kinae, N.^{*1}, Matsuda, T.^{*2}, and Nohmi, T.: Child-adult differences in evaluation of *in vivo* genotoxicity of acrylamide

48th Annual Meeting for Society of Toxicology (2009.3)

^{*1} 静岡県立大学・院

^{*2} 京都大学・院

Kimura, A.*, Sakamoto, H., Saigo, K.*, Sukamoto, T.*, and Honma, M.: Establishment of simple *in vitro* Comet Assay Protocol

48th Annual Meeting for Society of Toxicology (2009.3)

* 新日本科学

Aoki, Y.^{*}, Hashimoto, A.^{*}, Amanuma, K., Masumura, K., and Nohmi, T.: **In vivo mutagenesis caused by diesel exhaust in the testis of gpt delta transgenic mice**
48th Annual Meeting for Society of Toxicology (2009.3)

^{*} 国立環境研究所

平田睦子：離乳前ラットにおける紫外線吸収剤2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl) benzotriazolの毒性影響
第48回日本先天異常学会学術集会(2008.6)

平田睦子, 松野喜代美^{*1}, 川端光彦^{*1}, 矢島加奈子^{*1}, 松山隆史^{*1}, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬 眞: **2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole (HDBB)の毒性 — 血中濃度及び肝薬物代謝酵素活性に対する影響**
第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

^{*1} (株) 新日本科学

緒方英博^{*1}, 平田睦子, 今井俊夫, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬 眞: **2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl) benzotriazole (HDBB)の52週間反復投与毒性試験**
第35回日本トキシコロジー学会学術年会 (2008.6)

^{*1} (株) 三菱化学安全科学研究所 熊本研究所

中津則之^{*1}, 小野 敦, 山田 弘^{*1}, 宮城島利一^{*1}, 漆谷徹郎^{*2}, 大野泰雄: **ラットにおける遺伝子発現測定実験の施設間バリデーション**
第35回日本トキシコロジー学会学術年会(2008.6)

^{*1} 医薬基盤研究所

^{*2} 同志社女子大学

平田睦子, 野田 篤^{*1}, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬 眞: **Tetrahydrofurfuryl alcoholの簡易生殖毒性試験**
第48回日本先天異常学会学術集会 (2008.6)

^{*1} (財) 畜産生物化学安全研究所

Hirata-Koizumi, M., Noda, A.^{*1}, Hirose, A., Kamata, E. and Ema, M.: **Screening study for reproductive and developmental toxicity of tetrahydrofurfuryl alcohol in rats**
The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008.10)

^{*1} Research Institute for Animal Science in Biochemistry & Toxicology

Hirose, A., Ishiwa, S.^{*1}, Ciloy, J. M.^{*2}, Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Kamata, E., Ono, A., Ema, M.^{*3} and Hayashi, M.^{*4}: **Development of in silico hepatotoxicity predicting system on sub-acute repeated dose toxicity test for industrial chemicals**
The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008.10)

^{*1} CTC Laboratory Systems Co. Ltd.

^{*2} Fujitsu Kyushu System Engineering Ltd.

^{*3} National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

^{*4} Biosafety Research Center Foods, Drugs, Pesticides

Ema, M., Matsumoto, M., Pncipe, C.^{*}, Hirose, A.: **Developmental toxicity of dinoseb, nitrophenolic herbicide, in laboratory animals**
The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008.10)

^{*} SafePharm Laboratories Ltd.

Hirose, A., Schlueter, T.^{*1}, Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Kamata, E., Kremoser, C.^{*1} and Ema, M.^{*2}: **Modulation of Nuclear Receptor Cofactor Recruitment by Tributyltin and Dibutyltin in Gal4 Assays**
Dioxin2008(2008.8)

^{*1} Phenex Pharmaceuticals AG

^{*2} National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

Hirose, A.: **Emerging Areas in Toxicity Prediction: NIHS Perspective**
Symposium on New Horizons in Toxicity Prediction(2008.12)

Minowa, Y.^{*1}, Kondo, C.^{*2}, Uehara, T.^{*2}, Okuno, Y.^{*3}, Nakatsu, N.^{*1}, Ono, A., Maruyama, T.^{*2}, Kato, I.^{*2}, Yamada, H.^{*1}, Ohno, Y. and Urushidani, T.^{*4}: **Identification of genomic biomarkers that predict future onset of drug-induced renal tubular injury**

Society of Toxicology 48th Annual meeting(2009.3)

*¹ National Institute of Biomedical Innovation

*² Shionogi & Co., Ltd.

*³ Kyoto University

*⁴ Doshisha Women's College of Liberal Arts

小野 敦 : 内分泌かく乱物質スクリーニングの国際バリ
デーション研究

JaCVAM第2回ワークショップ(2009.4)

Uehara, T.^{*1}, Ono, A., Yamada, H.^{*2}, Ohno, Y. and Urushi-
dani, T.^{*3}: **A toxicogenomic approach for early as-
sessment of potential non-genotoxic hepatotoxicity /
carcinogenicity with special reference to coumarin**
SKLM symposium 2009(2009.3)

*¹ Shionogi & Co., Ltd.

*² National Institute of Biomedical Innovation

*³ Doshisha Women's College of Liberal Arts

会議名：ICH専門家会議Q10(医薬品品質システムPharmaceutical Quality System: PQS)

出席者：薬品部 檜山行雄

開催場所，時期：米国，オレゴン州ポートランド，2008年6月1日~3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20名出席

会議内容：2007年5月に合意されたICHQ10ガイドライン(ステップ2)案へ対するパブリックコメントが行われ、具体的な解説が欲しいという要望、各極における具体的な導入・実践に関する質問が多く寄せられた。パブリックコメントおよびheparinなど原材料流通問題を踏まえ、2008年5月には2度の電話会議が開催され、原材料流通問題に対応するセクションの記述の充実、ガイドライン全体を説明する分かりやすい図の作成の2点を行動方針として採択した。ポートランドの会議においては、外部委託作業及び購入原材料の管理に対し以下の原則および手順を経営陣の責任の章に盛り込むこととなった。

- ① 医薬品品質システムは、あらゆる外部委託作業及び購入原材料の質の監督及びレビューにまで及ぶ。
- ② 外部委託の運用及び原材料供給者の決定に先立ち、相手方が業務を遂行するまたは規定されたサプライチェーンを用いて原材料を供給する適性及び能力についても審査すること；
 - (a) 関与する当事者の品質関連活動に対する責任及び情報伝達プロセスを規定すること。外部委託作業については、このことは委託者と受託者間の契約書に含まれること；
 - (b) 受託者の業務遂行能力または供給者からの原材料の品質をモニタリング及びレビューすること、またあらゆる必要とされる改善を特定及び実施すること；
 - (c) 入荷した成分及び原材料について、それらが合意されたサプライチェーンを用い、承認された供給源からのものであることを確実にするためにモニタリングを実施すること。

又、ガイドラインの構造を大きく把握してもらうために付属書2にはICHQ10医薬品品質システムモデルの図解を示し、文章をもって図解を説明することとなった。

このような議論を通じQ10は最終合意文書であるステップ4に到達した。

会議名：ICH専門家会議Q-IWG(Q8, Q9, Q10 Implementation Working Group)

出席者：薬品部 檜山行雄

開催場所，時期：米国，オレゴン州ポートランド，2008

年6月4日~5日，及びベルギー，ブリュッセル2008年11月10日~13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20名出席

会議内容：2007年10月横浜においてQ8, Q9, Q10 Implementation予備会合が開催され、ICH自身が各ガイドラインの実践に関して、Q&Aを作成するなどして積極的な関与をすべきであると結論された。以下が基本合意された。①Q8-Q10は相互に関連するため、Q8, Q9, Q10に対応する個別の作業グループを結成するのではなく、一つの作業グループを結成する。②ガイドラインの導入・実践を推進するためには、ICH外部からの事例研究を引用し、又、ICHの作業グループでQ&Aを作成する。③2008年6月の専門家会合で第一回目の正式Implementation group会合を開催する。

2008年6月ポートランドの会議においては、電話会議などを通じ集められていたQ8, Q9, Q10に関連する課題をリスト化し、Knowledge management, Quality by Design, Quality systemの3つの大きな領域にわたる作業を行った。さらに分科会に分かれ、議論を深めた。

IWGの成果物として、簡単なQ&Aは出来るだけ早く公表(2008年秋か2009年春)することが合意された。引用する論文・事例などはグローバルに貢献できるものという条件も採択された。2008年秋のブリュッセル会議までにKnowledge management, Quality by Design, Quality systemの3つの領域に関するQ&A案を、日本、アメリカ、欧州の地域を作成担当としてたき台を作成することとなった。この後、電話会議などを通じ、Q&A案は集計、修正をされ、ブリュッセル専門家会議で調整されることとなった。

2008年11月ブリュッセル会議では、合計42のQ&A案が集められ、議論され多くが仮採択された。例えば、製品試験結果に代え、工程試験(リアルタイムリリース試験: RTRT)結果を基に出荷判断をするリアルタイムリリース(RTR)では、RTRTを設定した上でも最終の製品の規格および試験法の設定は必須であるという原則を示し、又、何らかの理由でRTRTが使えない場合(逸脱)の逸脱管理についても注意喚起している。

仮採択したQ&A案は各極内で非公式の意見募集を行った。2009年3月には電話会議が開催され、約20のQ&Aが最終合意された。2009年4月に再度電話会議を開催し、2009年6月開催の横浜専門家会議を含めたIWGの今後の活動計画が調整される。

会議名：遺伝子治療専門家会議

出席者：生物薬品部 山口照英

開催場所, 時期: ポートランド (米国), 2008年6月2日～7日

参加者内訳, 人数: 約20人

会議内容: 遺伝子治療専門家会議に参加し, 日本の現状を紹介すると共に, 世界の専門家との討議を交えて各国の情報収集を行い, 且つ意見交流の促進を図った。

会議名: ICH遺伝子治療専門家会議

出席者: 生物薬品部 山口照英

開催場所, 時期: ポートランド (米国), 2008年6月2日～7日

参加者内訳, 人数: 約20人

会議内容: 遺伝子治療専門家会議に参加し, 日本の現状を紹介すると共に, 世界の専門家との討議を交えて各国の情報収集を行い, 且つ意見交流の促進を図った。

会議名: ICH遺伝子治療専門家会議

出席者: 生物薬品部 山口照英

開催場所, 時期: ブラッセル (ベルギー), 2008年11月8日～15日

参加者内訳, 人数: 約20人

会議内容: 遺伝子治療専門家会議に参加し, 日本の現状を紹介すると共に, 世界の専門家との討議を交えて各国の情報収集を行い, 且つ意見交流の促進を図った。

会議名: 国際医薬品一般名専門家会議

出席者: 有機化学部 奥田晴宏, 生物薬品部 川崎ナナ

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス)

第47回2008年11月17日～19日

第48回2009年3月31日～4月2日

参加者内訳, 人数: 約15人

会議内容: 各回約70の新規申請名称の妥当性を検討し, 国際一般名 (INN) を定めるとともに, 持ち越し品目に関しても検討を行った。バイオ医薬品に関して, 抗体医薬品の命名のあり方やエポエチンの定義に関する議論を行った。

会議名: 第2回ヘパリン製剤特性解析に関するワークショップ

出席者: 生物薬品部 川崎ナナ

開催場所, 時期: ストラスブール (フランス), 2008年6月19日～20日

参加者内訳, 人数: 日欧米等の担当者, 専門家, 大学研究者, 及び製造販売業者等約150名

会議内容: ヘパリン製剤における異物混入に関連して, EUから市場調査結果, FDAから米国における有害事象の要約, 各国規制当局から各国における対応, 大学及び

企業から今後の分析方法, 並びに, 日局, 米国薬局方, 及び欧州薬局方からそれぞれの対応について報告があった。また, 未分画ヘパリンの品質確保における現行の試験法の妥当性と今後検討すべき新しい手法について話し合いが行われた。さらに, 低分子量ヘパリンの特性解析法や各局方における各条低分子量ヘパリンの現状と今後の方針について紹介があった。

会議名: 第6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

開催場所, 時期: ソウル (韓国), 2008年11月5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, カナダ, モンゴルの生薬・薬用植物の担当者・専門家25名

会議内容: 第6回Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH) Standing Committee会議がソウル大学で開催された。本会議では各地域の現状に関する報告並びにNomenclature and Standardization, Quality Assurance and Information及びAdverse Drug Reactionに関する3つのSub-Committeeの活動報告がなされた。特に日本が主催するSub-Committee I (Nomenclature and Standardization) では, 前回の本会議に引き続きクリーンアナリシスを念頭に国際調和を推進する観点から, TLCを用いた確認試験で使用される有害試薬の排除を目的とした各国共同の比較試験に関する報告を行った。また, 他国における検討結果については次回の第7回FHH Standing Committeeにおいて, 各国が報告することとなった。

会議名: ISO/TC 150/SC 7 (再生医療機器)・ISO/TC 194/SC 1 (身体組織製品の安全性) 合同会議

出席者: 療品部 土屋利江, 中岡竜介

開催場所, 期間: ベルリン (ドイツ), 2008年9月4日～6日

参加者内訳, 人数: 日本, 韓国, フランス, ドイツ, オランダ, 英国, 米国の関係者・専門家33名

会議内容: 再生医療機器に関する国際標準規格文書作成を目的とした討議が行われるとともに, 当該機器の安全性に関わる国際標準規格文書作成の担当に関する調整が行われた。その結果, TC 150/SC 7は再生医療機器の一般的要求や有効性評価に関する規格作成を, TC 194/SC 1は再生医療機器の生物学的安全性やそのリスクマネージメントに関する規格作成を基本的に担当することが決定された。

会議名: ISO/TC 150 (外科用インプラント) 総会

出席者: 療品部 土屋利江

開催場所, 期間: ベルリン (ドイツ), 2008年9月8日～12日

参加者内訳, 人数: 日本, 韓国, 中国, オーストリア, デンマーク, フランス, ドイツ, イタリア, ポルトガル, スウェーデン, スイス, 英国, 米国の関係者・専門家 95名

会議内容: 整形外科用インプラント (骨固定器具, 人工股関節など), 循環器系医療機器, 電気駆動型医療機器等の体内埋め込み型医療機器の国際標準規格作成, および既存規格の見直し作業に関する討議が行われた。前年度に引き続き薬剤とのコンビネーション医療機器に関する提案が行われた他, 新規のものとしてマイクロチップを埋め込んだインプラントに関するものが提案された。さらに, ペースメーカなどの能動インプラントがMRIなどの装置に影響される問題についての審議が活発に行われた。

会議名: ISO/TC 194/WG 6およびWG 11 医療機器の生物学的評価会議/遺伝毒性・発癌性・生殖毒性作業部会および溶出物の許容値に関する作業部会

出席者: 療品部 土屋利江, 松岡厚子

開催場所, 時期: ウィーン (2008年9月23日～26日)

参加者内訳, 人数: 日本, ドイツ, オランダ, 英国, スウェーデン, 米国の関係者・専門家約30名

会議内容: WG6では, 2010年3月の最終化に向けてISO10993-3文書本文の見直しが行われた。米国FDAが遺伝毒性試験の最初のバッテリーにin vivo試験も加えることを提案したが, 他の国からの賛同が得られず採択されなかった。WG 11では, 米国より医療機器の試験実施にあたって毒性学的閾値の導入が提案され, 日本も対案を提出し, 今後これらを新規提案として討議を続けていくことが決定された。

会議名: ASTM International F04 医用および外科用材料並びに医療機器に関する国際会議

出席者: 療品部 土屋利江

開催場所, 時期: ロンドン (2008年10月27日～28日)

参加者内訳, 人数: 日本, ドイツ, オランダ, 英国, 米国の関係者・専門家約50名

会議内容: 提案文書の修正が行われた。

会議名: 第30回Codex分析法サンプリング部会

出席者: 食品部 渡邊敬浩

開催場所, 時期: バラトンアルマーディ (ハンガリー), 2009年3月9日～13日

参加者内訳, 人数: 米国, カナダ, フランス, ニュージーランド, 英国, 日本等47加盟国, EC, 及び10国際機

関からの約144名

会議内容: 本会議は, Codex分析法の採択を含む分析及びサンプリング法に関する種々の討論及び提案を行い, 食品分析の国際的枠組みを整備すること(国際ガイドラインの作成)を目的に毎年開催されている。本年の会議では, 合計50を超える分析法が採択された。分析値の違いに起因する二国間係争の解決ならびにCodex分析用語に関するガイドライン案は, Step 8として総会で採択されることとなった。また, 分析法の妥当性を設定された性能基準を満たすか否かにより判断する方法(クライテリアアプローチ)に関するガイドライン原案は, Codex手続きマニュアルの改訂作業とすることを総会で採択されることとなった。モダンバイオテクノロジー応用食品分析法の評価基準設定についてはスコープの設定, また測定値の不確かさに関するガイドライン原案についてはサンプリングを対象として含めるかに議論が集中し, いずれもStep 2に差し戻した上で継続審議されることとなった。

会議名: 第41回Codex食品添加物部会

出席者: 食品添加物部 佐藤恭子

開催場所, 時期: 上海 (中国), 2009年3月13日～21日

参加者内訳, 人数: 56加盟国, 25加盟組織及び国際団体約220名

会議内容: コーデックス規格における食品添加物及び加工助剤の最大使用基準値の承認・改訂, 食品添加物のコーデックス一般基準 (GSFA) の検討, 加工助剤の使用に関するガイドライン及び原則, 食品添加物の国際番号システム (INS), JECFAによる評価のための食品添加物の優先リスト等が検討された。

会議名: 第69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 梅村隆志

開催場所, 時期: ローマ (イタリア), 2008年6月17日～26日

参加者内訳, 人数: 毒性23名, 規格12名, 摂取量5名の合計40名

会議内容: 香料物質の摂取量評価法について検討した。また, エチルラウロイルアルギネート, カルシウムリグノスルフォネート, パプリカ抽出物, 植物ステロール類, ポリジメチルシロキサンなどの添加物及び各種香料物質の安全性評価を行うとともに, 添加物や香料物質の規格の新規作成及び見直しを行った。

会議名: 天然資源の開発利用に関する日米会議 (UJNR)

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 小西良子, 鎌田洋一

開催場所, 時期: ニューオリンズ (米国), 2008年11月3日~7日

会議内容: 日米の政府機関の研究者間で病原微生物やカビ毒, 魚貝毒に関する情報を交換した。

会議名: OIEによるBSEステータス評価アドホック会議

出席者: 食品衛生管理部 山本茂貴

開催場所, 時期: フランス パリ市, 2009年2月2日~5日

会議内容: 日本, チリ, コロンビアのBSEステータスを評価した。

会議名: WHO食品由来疾病被害疫学レファレンスグループ (FERG) 疾病原因究明タスクフォース会議

出席者: 食品衛生管理部 春日文子

開催場所, 時期: クアラルンプール, 2008年4月28日~30日

参加者内訳, 人数: 11カ国1機関より21名

会議内容: 食品由来の可能性のある疾患のうち, 実際に食品由来の比率や食品群ごとの寄与率を推定するための最新の手法と理論について報告があり, 実用性に関する議論が行われた。

会議名: 第5回腸管感染症被害実数推定に関する国際協力会議

出席者: 安全情報部 窪田邦宏, 食品衛生管理部 春日文子

開催場所, 時期: イギリス アバディーン, 2008年8月31日

参加者内訳, 人数: 6カ国より15名

会議内容: 腸管感染症の被害実数推定に関する各国の取組みが紹介され, 意見交換が行われた。

会議名: 国際食品微生物規格委員会(ICMSF)年次会議ならびにシンポジウム

出席者: 食品衛生管理部 春日文子

開催場所, 時期: ニューデリー, 2008年10月20日~11月1日

参加者内訳, 人数: 年次会議: ICMSFのメンバーおよびコンサルタント約25名, シンポジウム: インド国内より約150名

会議内容: 年次会合において, Microorganisms in Foods 第8巻の発行準備, コーデックス食品衛生部会議題への対応, FAO/WHO専門家会議への準備食品微生物規格に関する国際的な問題点について討議が行なわれるとともに, インド国際生命科学研究所(ILSI)と共催してシンポ

ジウムが開催され, インド国内の研究者との交流ならびに情報交換を行なわれた。

会議名: WHO食品由来疾病被害疫学レファレンスグループ (FERG) 全体会議

出席者: 食品衛生管理部 春日文子

開催場所, 時期: ジュネーブ, 2008年11月17日~21日

参加者内訳, 人数: 15カ国2機関より専門家55名 (日本人1名)

会議内容: 食品由来疾病の実被害や原因を疫学的に解析するWHO専門家会議の第2回の全体会議である。腸管感染症, 寄生虫疾患, 化学物質由来疾患の3部会ごとに1年間の作業報告が行われ, 今後の活動方針について議論された。

会議名: CCFH作業部会

出席者: 食品衛生管理部 野田 衛

開催場所, 時期: ビルソーベン(オランダ), 2009年3月25日~27日

参加者内訳, 人数: 16カ国・31名

会議内容: 「食品中のウイルス制御に関する衛生規範」作業部会案作成を行った。一日目は, 本作業部会が設立に至った経緯, 対象となる病原体と食品, 今後の作業計画などについて説明があった。二日目は午前中に「生鮮食品とノロウイルス・A型肝炎ウイルス」, 「二枚貝とノロウイルス・A型肝炎ウイルス」, 「調理従事者からの汚染食品とノロウイルス・A型肝炎ウイルス」に関する説明と質疑応答を行った後, 午後から①一般的ガイドライン, ②生鮮食品, ③二枚貝, ④調理従事者汚染食品, の4グループに分かれ, 原案作成作業を実施した。三日目は, 各グループが作成した原案の説明とそれに対する意見交換を行った。期間内には原案作成作業は完成せず, 今後メールで作成作業を継続することとなった。

会議名: ICH準備会議Q11

出席者:

①ポートランド会議: 有機化学部 奥田晴宏,

②ブラッセル: 有機化学部 奥田晴宏

開催場所・時期:

①ポートランド会議: ポートランド, 2008年6月2日~5日

②ブラッセル: ブラッセル, 2008年11月10日~13日

参加者内訳, 人数:

①ブラッセル会議及び

②横浜会議: 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

会議内容: 日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)の品質ガイドライン「原薬製造と開発」(ICHコード番号Q11)

に関して補遺の作成(Q8(R))を行っている。

Q11ガイドラインは、Q8Rガイドラインで合意した製剤開発研究の原則を原薬に適用することを意図するガイドラインであり、①のブラッセル会合から正式なトピックとなった。Q11は開発プロセスのみならず、製造プロセスもスコープに含まれることおよび、化学薬品のみならず生物薬品も対象とすることなど、Q8に比してカバーすべき領域が広い。2回の準備会合を通じて、Manufacturing Process Development (CTD Section S 2.6), Description of Manufacturing Process and Process Controls, Process Validation, Control Strategyの観点から記載することが合意され、ドラフト作成に取り組んだ。

会議名：ICH準備会議Q8R

出席者：有機化学部 奥田晴宏

開催場所、時期：ブラッセル、2008年11月8日～12日

会議内容：Q8ガイドライン「製剤開発」は、製剤開発研究に科学的な手法とリスクマネジメントを適用することを推奨するためのガイドラインである。Q8ガイドラインの完成に引き続き、補遺(Q8(R))を作成し、quality by design (QbD)のハイレベルな原則、重要な用語の解説、用語集に焦点を絞りガイドラインを作成することとなった。前々回の横浜会合でステップ2に達し、ステップ2文書に関して各極からのコメントを取り入れた調和文書を作成し、ステップ4の合意に達した。

会議名：国際医薬品一般名専門家会議

出席者：有機化学部 奥田晴宏(第44,45回)、川崎ナナ(第45回)

開催場所・時期：ジュネーブ(スイス)

①第46回2008年4月1日～3日

②第47回2008年 11月18日～20日

参加者内訳、人数：約15名

会議内容：各回約70の新規申請名称の妥当性を検討し、国際一般名称(INN)を定めるとともに、持ち越し品目に関しても検討を行った。また、バイオテクノロジー応用医薬品のINNの現状、ステム等に関しても議論をした。

会議名：WHO/IPCS免疫毒性ガイドライン作成グループ会合

出席者：代謝生化学部 手島玲子

開催場所、時期：ビルトーベン(オランダ)、2009年4月26日～30日

参加者内訳、人数：約20名

会議内容：この会議は、オランダ国立公衆衛生環境研究所(RIVM)の免疫毒性アレルギー過敏症に関するWHO協力センターのセンター長であるHenk van Loveren教授によって主催された。今回のWHOの免疫毒性専門家会議

では、ヨーロッパ、米国EPAを中心に、日本の免疫毒性に関する専門家も加わって、化学物質の免疫毒性評価に関する国際調和されたガイダンスを作成するための議論を行った。この会議で作成されたガイダンス案に加え、個別事例研究の結果を加えて、今年度中には一般の方からのコメント募集のために公表される予定である。

会議名：OECD拡張一世代生殖毒性研究テストガイドライン専門家会合

出席者：代謝生化学部 中村亮介

開催場所、時期：パリ(フランス)、2008年10月15日～17日

参加者内訳、人数：約40名

会議内容：この会議は、Aldert Piersma(オランダ)およびElizabeth Mendez(アメリカ)両博士を共同議長として主催された。出席者はヨーロッパ・アメリカなどのOECD加盟諸国ならびに欧州化学物質庁(ECHA)や動物保護国際委員会(ICAPO)などの関係諸機関の代表者で、日本からは2名が参加した。本会議では、化学物質の周産期暴露が及ぼす生殖毒性・神経毒性・免疫毒性を解析するテストガイドライン案について、各分野の専門家としての立場から科学的知見に基づくコメントが集められ、ナショナルコーディネーター会合(WNT)へ上げるべき議題や論点の整理、文言の修正等が行なわれた。

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 森田 健

開催場所、時期：ヘルシンキ(フィンランド)、2008年4月7日～11日

参加者内訳、人数：ICSC作成担当機関、IPCS、ILO、EU委員会等31名

会議内容：各国の担当者が分担して作成したICSC原案(新規作成あるいは更新)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・医学の専門家により、原案を詳細に検討するもので、27物質のICSCが最終化された。加えて、ICSC作成用新システム構築のための標準語句の整備、ICSC作成担当機関の新規組合せ、ICSC作成作業過程、GHS対応等について協議した。日本は、1,4-Dioxane, Benzotrifluoride, 1,1-Dimethylhydrazine, Dimethyl sulfate, 3-Chloro-1,2-propanediol, 1,3-Dichloro-2-propanolの計6物質(いずれも前回のリヨン会議からの持越し)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 森田 健

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス), 2008年11月10日～14日

参加者内訳, 人数: ICSC作成担当機関, IPCS, ILO, EU委員会等30名

会議内容: 各国の担当者が分担して作成したICSC原案(新規作成あるいは更新)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・医学の専門家により、原案を詳細に検討するもので、35物質のICSCが最終化された。加えて、ICSC作成用新システム構築のための標準語句の整備、ICSC作成担当機関の新規組合せ、ICSC作成作業過程、GHS対応等について協議した。日本は、1,4-Dioxane, Benzotrichloride, Chloroprene, 1,1-Dimethylhydrazine, Dimethyl sulfate, Propylene oxide, Cycloheximide, 3-Chloro-1,2-propanediol, 1,3-Dichloro-2-propanolの計9物質(Chloroprene, Propylene oxide, Cycloheximide以外は、前回のヘルシンキ会議からの持越し)の原案作成を分担した。

会議名: 第15回国連GHS小委員会

出席者: 安全情報部 森田 健

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス), 2008年7月9日～11日

参加者内訳, 人数: 各国, 国際機関, 産業界等約100名

会議内容: 健康有害性に関連して以下の議論がなされた。急性毒性におけるTable 3.1.2の正式修正提案がドイツからなされた。すなわち、混合物の急性毒性分類において、GHSの当該Tableに従い急性推定毒性変換値(cATPe)を利用すると、100%カテゴリー2成分を含んでいる混合物がカテゴリー1に、粉塵/ミストの吸入カテゴリー3のものが、カテゴリー2と分類されてしまうことが判明したため、cATPeを一部修正する必要があると提案された。この過剰分類を制御するための提案はある程度の会議参加者の同意を得られたが、「大部分の混合物に対し、現行のcATPeの使用は適切であり、過小評価を避けるためにもcATPeは現行どおりが望ましい。過剰評価の可能性を避けるために、“混合物の全成分のcATPeが同じカテゴリー内にあるのであれば、当該混合物はそのカテゴリーに分類すべきである”との一文を付記する。」との意見が出され、当該代替案が採択された。

吸引性呼吸器有害性の変更正式提案が、IPIECA(国際石油工業環境保護協会)からなされた。すなわち、GHSでは、「誤嚥」を“液体または固体の化学物質が口または鼻腔から直接、または嘔吐によって間接的に、気管および下気道へ侵入すること”と定義しているが、GHSでは、固体について吸引性呼吸器有害性を生ずる可能性のある物理化学的特性についてのガイダンスを提供してお

らず、分類ができない。そのため、混乱を避ける観点からも、吸引性呼吸器有害性の対象物質は液体に限るのが妥当と考えられ、新たに「3.10.1.2では誤嚥の定義に固体の呼吸器系への侵入を含めているが、吸引性呼吸器有害性に関するGHS分類基準には、液体物質およびその混合物のみを対象とする。」を追加することを提案した。議論ののち、「3.10.1.2では誤嚥の定義に固体の呼吸器系への侵入を含めているが、吸引性呼吸器有害性に関する分類基準は、区分1あるいは区分2の判定のための判定基準(b)をもとにした表3.10.1の基準にのみ従い、液体物質および混合物に適用されることを目的としている。」という文章を追加することで採択された。

皮膚腐食性/刺激性および眼刺激性の問題点がドイツおよびECからなされた。すなわち、これらの章の記述は他の章と比べても試験の進め方が詳しく書かれており、分類するために勧告されている試験が少ない。また、2つの図は一部重複しており、使い勝手が悪いというものである。GHS本文の修正が必要という点で認識は一致し、作業グループなどを作り、次回の会合などで正式提案することとなった。

感作性において、分類区分に強い感作性物質と弱い感作性物質を設けるという提案がOECDから出された。細区分の設定ならびにその判定基準の提案は、基本的に採択可能なものであり、正式提案として提出することが求められた。

GHS分類実施に関する問題点が、UNITARから出された。すなわち、使用する情報ソースセット(リスト)により分類結果が異なるため、国際的調和リストを作成すべきというものである。

会議名: 第16回国連GHS小委員会

出席者: 安全情報部 森田 健

開催場所, 時期: ジュネーブ (スイス), 2008年12月10日～12日

参加者内訳, 人数: 各国, 国際機関, 産業界等約100名

会議内容: 前回OECDから出された感作性に関し、正式提案がなされた。呼吸器感作性および皮膚感作性ともに、分類区分に強い感作性物質と弱い感作性物質を設けるといふ提案で、現行の区分1に区分1Aおよび区分1Bを設け、反応の程度に応じて区分するというものである。本提案は、編集上の修正を加え、承認された。特に皮膚感作性においては、Local lymph node assay, Maximisation test, Buehler assayにおける反応の程度と対応分類区分が提示され、これらについても採択された。なお、区分1Aと区分1Bの細区分において、カットオフ値をそれぞれ記載するとの提案は承認されなかった。

健康有害性も含む事項として、次期2年の計画に「ナ

ノマテリアル」がフランスから提案されたが、注目を集めている事項ではあるが、UNのGHSの場で議論するには時期尚早との認識が強く、承認されなかった。

会議名：第1回日中韓GHS専門家会合

出席者：安全情報部 森田 健

開催場所、時期：ソウル（韓国）、2008年9月1日

参加者内訳、人数：環境省ならびに学識経験者等を含む日中韓の関係者約30名

会議内容：GHSに対する日中韓3カ国の対応状況について情報交換が行われ、化学物質の有害性分類の国際調和をさらに進めるため、3カ国における個別物質の分類結果の比較検討作業を行うことが合意された。

会議名：第2回日中韓GHS専門家会合

出席者：安全情報部 森田 健

開催場所、時期：東京、2009年3月16日～18日

参加者内訳、人数：環境省ならびに学識経験者等を含む日中韓の関係者24名

会議内容：日中韓3カ国のGHS導入状況が報告され、続いて、選択された約30物質について各国のGHS分類結果を比較した。異なった結果を導いた要因について議論がなされ、情報源の違い、採用するGHS分類区分の違い、GHS分類結果の利用の違い（任意あるいは必須）、分類実施者の専門性、専門家判断が関与していることが明らかとなった。

会議名：ICH会議（M3部門）

出席者：薬理部 中澤憲一、大野泰雄

開催場所（開催日）：ポートランド（米国オレゴン州）（平成20年5月31日～6月7日）

参加者：日欧米より二十数名

会議内容：日米欧の医薬品に関する規制の国際的協調会議（ICH）のM3部門は、臨床試験に必要な非臨床試験の内容及びタイミングを討議する部門である。今回の協議においては、現行の急性毒性試験、最大用量、非げっ歯類における反復投与毒性試験の期間、早期探索型臨床試験、遺伝毒性、生殖毒性、その他の特殊な試験（小児における臨床試験、免疫毒性、光毒性、薬物乱用に関する非臨床試験、固定比率配合剤に関する非臨床試験）について修正を加えることで一致をみた。これに加え、生物製剤の非臨床安全性試験のガイドライン化についての討議を行い、新しく専門家を招集して協議を行うことが決定した。

会議名：ICH会議（M3部門）

出席者：薬理部 中澤憲一、大野泰雄

開催場所（開催日）：ブリュッセル会議（平成19年11月9日～11月15日）

参加者：日欧米より二十数名

会議内容：日米欧の医薬品に関する規制の国際的協調会議（ICH）のM3部門は、臨床試験に必要な非臨床試験の内容及びタイミングを討議する部門である。今回の協議においては、“臨床試験および販売申請に必要な非臨床安全性試験”をテーマとした。その結果、1) 薬理試験に薬力学的試験を追加する、2) 動物とヒトでプロファイルが異なる代謝物に関する試験のタイミングを薬物動態に加える、3) 毒性試験一般についての限界用量を一般原則の一部とする、4) げっ歯類における限界用量をこれまでの2000 mg/kgから1000 mg/kgに減じるとともに、50倍の安全域の確保ができればそれを限界用量として良いものとする、5) 不純物について検査を行うタイミングを設定する、などの修正および新規設定を行うとともに、薬物乱用性、光毒性、小児への臨床試験に必要なとなる非臨床試験などについて、さらなる適正化を図った。

会議名：OECD試験法ガイドラインプログラムの各国コーディネーターワーキンググループ第20回会議および内分泌かく乱物質試験法および評価のタスクフォース（EDTA）第11回会議

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所、時期：パリ（フランス）2008年4月1日～3日

参加者内訳、人数：OECD加盟国代表、NGO 約40名

会議内容：ヒト健康評価試験、環境毒性試験などの試験法についてのガイドライン化について審議がなされた。主な議題としては、①EDTAを今後どうするか、②EUのREACH（化学物質の安全性再評価）対応もあって増え続けている申請試験にどう対応するか、特に作用が似た試験（me-too）の扱いについて審議された。

会議名：動物実験代替法に関する国際化粧品規制会議（ICCR）

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所、時期：メリーランド州ベセズダ（米国）2008年4月9日～10日

参加者内訳、人数：米国FDA関係者、EU代表 約20名

会議内容：ICCRのworking groupの一つであるalternative testing（動物実験代替法：以下代替法と記す）に関して行政官および専門家が集い、審議が行われた。化粧品の安全性評価のために代替法を利用するに当たり、米国の代替法に関する省庁間連絡会議（ICCVAM）より、国際的なバリデーションや評価組織（ICATM）を作る提案がなされた。これに対して、EUや欧州代替法バリデーションセンター（ECVAM）は国際的なバリデーション組織

は不要と抵抗し、評価組織だけで十分との見解を示した。

会議名：ECVAM(欧州動物実験代替法センター)第28回顧問会議

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：イスプラ（イタリア）2008年5月7日～8日

参加者内訳，人数：欧州各国の代表，EU行政官，関連国際機関の代表，ECVAM職員 約30名

会議内容：欧州における動物実験代替法の進捗等について説明がなされ，数種類の試験法が行政的に受け入れられた。私から日本の動向を説明した。

会議名：動物実験代替法省庁間調整会議(ICCVAM)－米国動物実験代替法センター(NICEATM)顧問会議(SA-CATM)

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：イスプラ（イタリア）2008年6月19日～20日

参加者内訳，人数：米国各省庁の行政官，ICCVAM関係者，NICEATM職員 約50名

会議内容：米国における動物実験代替法の進捗等について説明がなされ，その活動内容について審議がなされた。私から日本の動向を説明した。

会議名：ICCR（化粧品規制協力国際会議）

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：メリーランド州ロックビル（米国）2008年7月30日～8月1日

参加者内訳，人数：米国FDA関係者，カナダ代表，EU代表，化粧品業界関係者 約40名

会議内容：厚生労働省，米国FDA，カナダ厚生省及び欧州委員会企業産業総局の代表が，それぞれの地域の化粧品業界団体と対話しつつ，以下の化粧品関連の問題について議論した。

GMP，市場監視，成分の安全性／認可物質リスト，日焼け止め剤，動物代替試験法，ナノテクノロジー，INCI命名法

会議名：OECDテストガイドラインのための皮膚刺激性の専門家会議

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：ベルリン（ドイツ）2008年10月20日～21日

参加者内訳，人数：米国EPA代表，EU代表，ECVAM関係者 約20名

会議内容：OECDからin vitro Skin irritation assayのガイ

ドラインが提案されたことを受け，日本を初めとする各国がパブリックコメントを寄せた。これらのコメントをもとにガイドライン案を改訂するため，皮膚刺激性の専門家会議が開催された。培養表皮モデルEPISKIN，EpiDermやSkinEthicsを対象としたガイドライン案承認のための議論が進んだ。

会議名：ECVAM(欧州動物実験代替法センター)第29回顧問会議

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：ブリュッセル（ベルギー）2008年11月3日～4日

参加者内訳，人数：欧州各国の代表，EU行政官，関連国際機関の代表，ECVAM職員 約30名

会議内容：欧州における動物実験代替法の進捗等について説明がなされ，数種類の試験法が行政的に受け入れられた。私から日本の動向を説明した。

会議名：OECDテストガイドラインのための非動物試験バリデーション実行グループ 第6回会議出席者：薬理部 小島 肇，総合評価室 小野 敦

開催場所，時期：パリ（フランス）2008年11月19日～21日

参加者内訳，人数：欧州各国の代表，米国EPA代表，EU代表，ECVAM関係者 約20名

会議内容：日本が中心となって行っている内分泌かく乱物質スクリーニング法に関する試験法(International validation study of ERa STTA antagonist assay using HeLa9930)のガイドライン案が審議された。また，日米欧が中心となって進めている他の関連試験法のバリデーション研究についても審議された。

会議名：ECVAM(欧州動物実験代替法センター)第30回顧問会議

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：イスプラ（イタリア）2009年3月9日～10日

参加者内訳，人数：欧州各国の代表，EU行政官，関連国際機関の代表，ECVAM職員 約30名

会議内容：欧州における動物実験代替法の進捗等について説明がなされ，数種類の試験法が行政的に受け入れられた。私から日本の動向を説明した。

会議名：OECD試験法ガイドラインプログラムの各国コーディネーターワーキンググループ第21回会議

出席者：薬理部 小島 肇

開催場所，時期：パリ（フランス）2008年3月31日～4

月1日

参加者内訳、人数：OECD加盟国代表，NGO 約40名
会議内容：ヒト健康評価試験，環境毒性試験などの試験法についてのガイドライン化について審議がなされた。なお，日本から提案してきた内分泌かく乱物質スクリーニング法に関する試験法（International validation study of ERa STTA antagonist assay using HeLa9930）が，OECDテストガイドラインNo.455として承認された。

会議名：動物実験代替法に関する国際協調組織（ICATM）
出席者：薬理部 小島 肇
開催場所、**時期**：メリーランド州ベセズダ（米国）
2008年4月28日

参加者内訳、人数：米国FDA関係者，EU代表 約20名
会議内容：日米欧カナダの代表が参加して，ICATMの合意書にサインをした。以後，国際協力により，動物実験代替法の公定化を分業し，スピードアップして行うことが合意された。

会議名：2008年 FAO/WHO 合同残留農薬専門家委員会（JMPR）
出席者：病理部 吉田 緑第二室長
開催場所、**時期**：イタリア，ローマ FAO本部，平成20年9月9日～18日
参加内訳：WHO側毒性専門家グループ会合20名，FAO側作物残留専門家グループとして19名，計39名
会議内容：JMPRはヒトの1日当たりの許容摂取量（ADI）の設定を行うWHO専門家パネルと，食物と環境中の農薬残留量設定のFAO専門家パネルから構成され，基本的にはそれぞれの専門家パネルに分かれて討議され，数回合同会議も開催された。今回のJMPRでは10品目の農薬について毒性評価を行いADIおよび必要な場合は急性参照用量（Acute reference dose）の設定を行った。

会議名：第70回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会（JECFA）
出席者：病理部 今井俊夫第三室長
開催場所、**時期**：スイス，ジュネーブWHO本部，2008年10月20日～30日
参加内訳：WHO側毒性専門家グループ19名，FAO側残留専門家グループとして12名，計31名
会議内容：標記会議にWHO側の臨時専門家として参加し，審議予定の安全性評価および残留基準値の設定が行われた動物用医薬品ないし汚染物質 6品目，残留基準値の設定のみが行われた動物用医薬品3品目について，およびハチミツへの動物用医薬品残留とMRLs設定に向けた提案等，動物薬評価に係わる諸問題について各国専門

家と協議した。

会議名：WHO飲料水水質ガイドライン第4版のための専門家会議

出席者：総合評価研究室 広瀬明彦

開催場所、**時期**：（シンガポール），2008年6月18日～24日

参加者内訳、人数：日本，米国，英国，ドイツ，カナダ等からの専門家およびWHO事務局の約40名

会議内容：WHO飲料水水質ガイドライン第4版の作成に向け，第3版逐次改正の作業計画の進捗状況についてレビューを行うとともに，第4版の主な課題等について議論することを目的として開催された。全体的な事項として第4版は，水系感染症の防止を主要な戦略とすることが確認された。また，濃度記載のmg/Lの位以上の数値については，丸めないこと，必須元素について，必要量を摂取できなくなる集団が生じるようなガイドライン値は適切ではなく，バックグラウンド・ドキュメントとサマリー中に必要レベルを記載すべきとされた。total THMs & HAAsの指標項目については，トータル塩素消毒副生成物の指標として使えうると結論された。その他，Terminologyについては，“Lexicon”では3000語を超える用語が抽出されており，350語の定義づけが終わっているが，いくつかの用語はアップデートが必要であるとされた。また，日本語版の作成につき要請があった。さらに，関連事項としてWSP（Water Safety Plan）マニュアルにおけるケーススタディとRegNetで作られている国家基準・規制作成に関するガイダンスに対してのWHO飲料水水質ガイドラインとの対応について議論が行われた。個別の項目については，今回の会合で新たなガイドライン値が定められたものは多くないが，以下の項目についての今後特に注意を要すると思われた物質として以下のものがあつた。硬度については，必須元素として必要レベルの記載の観点から，Mg濃度と心血管系疾病による死亡率との関係についての多国間調査が検討中であることが報告された。ホウ素は，0.5mg/L(P)から2.4mg/Lに緩和されたが，各国ごとにアロケーションを考慮して基準値が設定できる旨の記載を入れることになった。フッ化物については，低濃度での健康影響について，カナダや米国での評価が行われていることやシンガポールで基準値強化が行われたことが報告された。アルミニウムについては，JECFAでは，小規模水道ではアルミの使用を許すべきでなく，さらに自然起因レベルでも問題がありうるとしているが，本会合では慎重な考察を求めることとしており，第4版後の検討課題とすることとなった。環境中の医薬品汚染に関しては，EPA，WHO及び他の国際機関の協力により，検出状況，分析方法，除去方法，

廃棄方法, 優先順位付けスキーム, 健康リスク評価について研究を進めるべきであり, 本年秋にタスクフォースを設け, 今後の作業のスコープを決めていくこととされた。消毒副生成物については, 各方面の多大なる貢献によって書かれたものであるが, 改訂はほとんど困難な状況である。関係国でのインフォーマルな議論を行うべきであることが示された。新たな項目として, 過塩素酸については, 2009年にJECFAの評価が終了する見込みであること, PFOS と PFOA については, 英国の評価した TDI をベースに CICAD における毒性評価が行われる模様であることが報告された。

今後の第4版発行のスケジュールとしては, 2008年12月までに原稿提出が行われ, 2009年10月にタスクフォース会合をジュネーブにて開催, 2009年に第4版ドラフトを作成し, 2010年に出版予定である。

会議名: 第27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 広瀬明彦

開催場所, 時期: オタワ (カナダ), 2008年10月13日~18日

参加者内訳, 人数: OECD加盟国, EC, 産業界からの約55名

会議内容: 会議では35物質 (37CAS) の初期評価文書が審議され, すべての初期リスク評価結果が合意された。審議は, SIAP (SIDS Initial Assessment Profile) の内容を紹介したのち, CDG (Committee Discussion Group) に提出されたコメントに回答する形式で行われた。日本は, 日本政府が原案を作成した Sodium p-toluenesulfonate (CAS: 657-84-1), ICCAが原案作成した1,3-Benzenediol (CAS: 108-46-3), および日本政府とドイツがEUの評価文書をもとに作成したN-Cyclohexylbenzothiazole-2-sulphenamide(CAS:95-33-0)の初期評価文書を提出し, 合意が得られた。

【審議物質】 物質/カテゴリー名 (CAS#): スポンサー。
Sulfone, bis(p-chlorophenyl) (80-07-9): スウェーデン/ICCA, 1,3-Benzenediol(108-46-3): 日本/ICCA, Nickels and nickel compounds (3333-67-3, 7440-02-0, 7718-54-9, 7786-81-4, 12122-15-5, 12607-70-4, 13138-45-9): デンマーク:eu, Propyl acetate (109-60-4): 米国/ICCA, Sodium p-toluenesulfonate (657-84-1): 日本, Antimony (III) oxide (Sb₂O₃) (1309-64-4, 12412-52-1, 1317-98-2): スウェーデン:eu, Barium chloride (10361-37-2): 韓国, Acid Chloride Category (760-67-8, 764-85-2, 3282-30-2, 40292-82-8): 米国/ICCA, Linear alkylbenzene alkylate bottoms (68515-32-2, 68515-34-4, 68855-24-3, 84961-70-6, 85117-41-5, 94094-93-6, 129813-62-3, 151911-58-9): 米国/ICCA, N-Cyclohexyl-2-benzothiaz-

olsulfenamide (95-33-0): 日本+ドイツ:eu, Ethyl silicates (28767, 11099-06-2, 68412-37-3): 米国/ICCA, Hydroperoxides (80-15-9, 3425-61-4): 米国/ICCA, Methyl mercaptans Category (74-93-1, 5188-07-8): 米国/ICCA, Bis(hydroxylammonium) sulphate, (10039-54-0): ドイツ:eu: Pentene, 2,4,4-trimethyl-, (25167-70-8): ドイツ:eu.

今後の予定について, 2009年4月14-17日にSIAM 28としてパリ (フランス) で, また2009年10月にSIAM 29としてオランダ (ハーグ) で開催することとなった。

会議名: 内分泌かく乱物質の試験・評価プログラム (EDTA) タスクフォースにおける, 第6回VMG-NA (非動物試験検証管理グループ) 会議およびQSARワーキンググループ会議

出席者: 総合評価研究室 小野 敦

開催場所, 時期: パリ (フランス), 2008年11月18日~21日

参加者内訳, 人数: OECD加盟国, EC, 産業界からの約30名

会議内容: OECDの内分泌かく乱物質の試験・評価プログラム (EDTA) タスクフォースにおける, 第6回VMG-NA (非動物試験検証管理グループ) 会議およびそれに先立って行われたQSARグループ会議に出席し, 我が国におけるスクリーニング試験法の開発現状について報告を行うとともに, 各国の取り組みについて議論を行った。QSARタスクグループには, 日本, EC, EPAからの代表者が参加し, 日本からはARドッキングモデルの開発状況について報告を行った。EPAからはエストロゲン受容体結合エキスパートモデルの開発状況とエキスパートモデルをOECD QSARツールボックスの機能として提案しているとの報告があった。これに関連して, VMG-NA会合において, OECD担当者からQSARツールボックスについて報告があり, さらにEPAの提案するモデルのツールボックスへの組込の有用性について議論を行うためのワークショップ開催を予定しており, ED-QSARグループへの協力が求められ, ED-QSARグループとして積極的に協力していくこととなった。VMG-NA会合では, 我が国からはHela9903細胞を用いた転写活性化アッセイ法によるER α アンタゴニストアッセイ系のバリデーション進捗状況について報告を行った。関連してHela9903細胞入手のためのMTAの記載内容について非常に多くの要求が出された。内容に関しては, 細胞の開発企業に伝え, 今後の対応を検討することとなった。また, 転写活性化アッセイ法については, これ以外にもいくつかの試験系についてバリデーションが各国で進められており, それらを包括したパフォーマンススペースガイドライン化に関して, 記載内容や要求項目についてサブ

グループの検討結果をもとに議論を行い、今後の各試験法のバリデーション進捗状況により1つのガイドラインとするための議論をワーキンググループを組織して検討することとなった。

会議名：第1回OECDQSARアプリケーションツールボックス管理のための専門家会議およびエストロゲンレセプター結合モデルについての専門家レビュー会議

出席者：総合評価研究室 小野 敦

開催場所，時期：パリ（フランス），2009年2月17日～19日

参加者内訳，人数：OECD加盟国，EC，産業界からの約50名

会議内容：本会議は、OECDで開発を進めているQSARアプリケーションツールボックスの第2期開発計画について検討を行い、開発のマネジメントを行うための加盟各国からの専門家による第1回専門家会合である。専門家会合に先立ち、EPAが開発したエストロゲン受容体結合性評価のためのエキスパートモデルに関してツールボックスの新たな化合物グルーピングメカニズムとしての有用性について検討するレビュー会議が開催され、小野はレビューワーの一人としてレビュー報告を行った。レビュー結果は、EPAモデルは適用可能な化合物構造の範囲が非常に限られているものの、適用可能範囲においては信頼性は高いとの評価を得た。また、エキスパートモデルであることから評価結果の理由が明確化出来ることや、モデルの拡張が容易であることが評価された。一方、エストロゲン受容体結合性そのものの毒性評価における有用性について疑問視する意見も示されたが、これに関しては事務局よりツールボックスの第2期開発においては、個々の毒性メカニズムについてのモデル構築を進める方針であり、エストロゲン受容体結合は、生殖毒性の重要な毒性メカニズムの一つであるとの見解が示された。レビュー会議における議論の結論としてEPAモデルのツールボックスへの組み込みを専門家会合に提案することとなった。専門家会合では、事務局より提案された第2期開発計画および今後の専門家会合の活動について議論された。第2期開発では第1期における経験をもとに、毒性エンドポイントそのものよりむしろ、様々な毒性発現に重要な分子イベント（毒性パスウェイ）に焦点をあてたモデルを組み合わせて毒性評価を行うことで予測精度の向上を目指すとのことであった。会議ではパスウェイモデルの毒性エンドポイント評価における有用性やどれくらいの毒性についてパスウェイモデルが構築可能なのか不明との意見が示されたが、開発計画の提案は概ね了承された。今後、より具体的な毒性パスウェイについては、第2回会合において提案されることとなった。ま

た、今回のエストロゲン受容体モデルのレビュー会議は、個別のモデルの有用性の議論に有用であったとの意見が多く出されたことから、今後、組込むモデルについてもレビュー会議を開いてはどうかとの意見が出され、まずは現在、再構築を検討しているDNA結合モデルについて、2009年秋に予定している第2回専門家会合に併せてレビュー会議を開くこととなった。

会議名：スポンサーシッププログラム会議及び第5回OECD工業用ナノ材料作業部会

出席者：総合評価研究室 広瀬明彦，環境衛生化学部 西村哲治

開催場所，時期：パリ（フランス），2009年3月1日～6日

参加者内訳，人数：OECD加盟国，EC，IPCS，NGO，産業界からの約100名

会議内容：近年のナノテクノロジーの急速な開発の中で、その開発と共にナノテクノロジーの社会的影響を把握しナノテクノロジーを安心して活用できる基盤の構築の必要性が国際的に議論されている。OECDの化学物質合同会議においても工業用ナノ材料の安全性評価に関する作業部会が平成18年より設置され、今回で第5回工業用ナノ材料作業部会が開催された。また、本会議に先立って、作業グループの中のステアリンググループ3（SG3）で行われる各国のスポンサーシッププログラムの初期評価文章作成計画書（DDP）のレビュー委員会が行われた。

両会議の主な論点は、以下のようであった。

- ・第1回会合から議長を務めたJim Willis（アメリカ）が、今回合限りで議長を降板し、次回会合以降の議長候補として、ECの Bjorn Hansenが紹介された。
- ・各国における最近の活動報告において、日本から、環境省、厚生労働省及び経済産業省が実施しているナノ材料の安全性に関する検討会について報告を行った。特に本作業部会の前日に環境省の報告書が取りまとめられ、今後、英訳版も作成されることを説明した。
- ・プロジェクト1（OECDデータベースの開発）とプロジェクト2（ナノ材料試験戦略）の合併が行われ、両プロジェクトの議長であるオーストラリア（旧プロジェクト1）、ドイツ及び日本（旧プロジェクト2）が、当面の間、合併プロジェクトの議長を共同で務めることとされた。
- ・ナノ材料の環境に対するベネフィットに関する新プロジェクトが設立され、ECのEva Hellstenがステアリング・グループの議長に選出された。また、本プロジェクトの対象に「イノベーション」がキーワードとして加えられることが合意された。
- ・初期評価文書作成計画書（DDP）レビュー委員会では、日本からのコメントも含め、複数のDDPに共通する

指摘事項がまとめられ、試験実施者はこれに基づいてDDPを修正することとなった。

- ・スポンサーシップ会合において、共同スポンサーとなっている炭素系3物質の進捗状況を日本から報告し、細かな点でいくつかの指摘はあったものの、全般的に高い評価を得た。

今後の会合日程としては、第6回作業部会が2009年10月25-27日、第7回作業部会が2010年5月26-28日に予定されている。

会議名：OECD化学物質有害性評価プログラム臨時専門家会合およびOECD第一回有害性評価タスクフォース会議

出席者：総合評価研究室 広瀬明彦

開催場所、時期：パリ（フランス）、2009年3月23日～28日

参加者内訳、人数：OECD加盟国、EC、IPCS、NGO、産業界からの約100名

会議内容：OECDの高生産量化学物質点検プログラムは、1991年のOECD理事会で既存化学物質の点検とリスク削減のための協力に関する決定に基づき1992年から開始されている取り組みである。このプログラムでは、加盟国で年間1000トン以上生産されている約4800物質に対して、1993年より始まった初期評価会議（SIAM Screening information data set, Initial Assessment Meeting）において順次評価を行ってきている。2005～2010年までの間に1000物質を評価するという目標を掲げ、現在までそのうち600物質が終了し、プログラム全体としては約900の化学物質が評価されてきている。一方、既存化学物質については、持続可能な開発に関する世界首脳会議ヨハネスブルグサミット（WSSD）の中において、2020年までに化学物質の製造と使用による人の健康と環境への悪影響の最小化が目標として掲げられている。これに向けて、各国の化学物質の安全性評価に対する速度を加速することが計画あるいは実行されており、OECDにおいても、2010年以降、2020年に向けて、現在のOECDの高生産量化学物質点検プログラムを改良することを計画している。

今回の臨時専門家会議では、各国の国内評価システムや欧州REACHシステム、業界の取り組み等をレビューし、これらの活動をOECDの有害性評価プログラムに効率的に取り入れながら且つ重複を避けて、WSSDの目標に向けた改良の方針を決定することを目的としている。その結果、カナダの優先物質スクリーニング評価、米国のチャレンジプログラム、EU化学品庁の評価報告書、オーストラリアの優先物質スクリーニング評価、日本の化審法およびチャレンジプログラム、工業協会のGlobal Product Strategyのアウトプットなどを次期OECD

化学物質有害性評価プログラムに取り組むことは有用であることが確認された。そのためには、現在の全てのSIDSエンドポイントを必須とするSIAMの評価手続きも引き続き有用であるとはしながらも、部分的でのみOECDのSIDSエンドポイントと共有可能な、各国の評価結果（Targeted hazard Assessment）を取り入れるために、柔軟性を持ったシステムとすべきであることも確認された。今後は、SIAM等でリード国による試験的な評価を行っていくと共に、その際に出てきた問題点を解決するためのガイダンスやOECDでの評価過程における各国のデータの取扱や手続き等についても順に整備していくことの必要性が勧告された。

その直後に行われた有害性評価タスクフォース会議は、以前の新規化学物質および既存化学物質のタスクフォース会議から有害性評価を中心として再構成されたタスクフォース会議で、OECDの化学物質の有害性評価に関するプログラムを概観している。第一回の会議では、上記の勧告を受けて、タスクフォースメンバーによる確認が行われると共に、OECD事務局より2008年のOECD高生産量プログラム、化学物質情報のグローバルポータル、IUCLD専門家会合、QSARアプリケーションツールボックスについての進捗状況が報告された。2010以降の高生産量化学物質プログラムにおいては、各国独自の評価プログラムとの協調作業に加え、OECDアプリケーションツールボックスや暴露評価タスクフォースとの連携の重要性が確認された。

会議名：第28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 広瀬明彦

開催場所、時期：パリ（フランス）、2009年4月14日～17日

参加者内訳、人数：OECD加盟国、EC、産業界からの50名

会議内容：会議では29物質（31CAS）の初期評価文書が審議され、28物質（29CAS）の初期リスク評価結果が合意された。審議は、SIAP（SIDS Initial Assessment Profile）の内容を紹介したのち、CDG（Committee Discussion Group）に提出されたコメントに回答する形式で行われた。日本は、日本政府が原案を作成した2(1-Methylethoxy)ethanol (CAS: 109-59-1) 及びFluorescent-271 (CAS: 41267-43-0)、ICCAが原案作成した2-tert-Butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol (CAS: 3896-11-5) の初期評価文書を提出し、合意が得られた。

【審議物質】物質／カテゴリー名（CAS#）：スポンサー。Phosphoric acid (7664-38-2)：韓国、2(1-Methylethoxy)ethanol (109-59-1)：日本、Trimethoxy(methyl)silane (MTMS) (1185-55-3)：米国/ICCA、1,1,1-Trichloroethane

(71-55-6) : 米国/ICCA, Vinyl trimethoxysilane (VTMS)
(2768-02-7) : 米国/ICCA, Oximino silanes (2224-33-1, 22984-54-9) : 米国/ICCA, 1,3,4,6,7,8-Hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-g-2-benzopyran (HHCB)
(1222-05-5) : オランダ/eu, 1-(5,6,7,8-Tetrahydro-3,5,5,6,8,8-hexamethyl-2-naphthyl)ethan-1-one (AHTN)
(1506-02-1, 21145-77-7) : オランダ/eu, Dodecylbenzenesulfonic acid (27176-87-0) : 韓国, Tris(2-chloro-1-methylethyl)phosphate (TCPP) (13674-84-5) : アイルランド/eu, Tris[2-chloro-1-(chloromethyl)ethyl] phosphate (TDCP) (13674-87-8) : アイルランド/eu, 2,2-Bis(chloromethyl)trimethylene bis(bis(2-chloroethyl) phosphate) (V6) (38051-10-4) : アイルランド/eu, Fluorescent-271 (41267-43-0) : 日本, Copper cyanide (544-92-3) : 韓国, Alkyl phenate sulphides (68784-25-8, 122384-86-5, 68784-26-9, 68815-67-8, 68855-45-8, 73758-62-0, 122384-84-3, 122384-85-4, 122384-87-6) : 英国/ICCA, 2-tert-Butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol (3896-11-5) : 日本/ICCA, Isobutyl triethoxysilane (17980-47-1) : 米国/ICCA, Mercapto esters (107-96-0, 2935-90-2) : 米国/ICCA, Thioglycolic acid and salts (68-11-1, 5421-46-5) : 経済産業諮問委員会/ICCA.

今後の予定について、2009年10月14-17日にSIAM 29としてオランダ（ハーグ）で、また2010年4月にSIAM 30としてフランス（パリ）で開催することとなった。

各審議会、委員会等について

Committee Members List in Fiscal Year 2008

○厚生労働省

薬事・食品衛生審議会

薬事分科会：西島正弘，大野泰雄

日本薬局方部会：四方田千佳子，合田幸広，棚元憲一，奥田晴宏

医薬品第一部会：川西 徹，檜山行雄，澤田純一，手島玲子，中澤憲一

血液事業部会：山口照英

血液事業部会運営委員会：山口照英

安全性技術調査会：山口照英

医療機器・体外診断薬部会：石井明子，土屋利江，菅野 純

医薬品再評価部会：川西 徹，四方田千佳子

指定薬物部会：合田幸広，花尻（木倉）瑠理

生物由来技術部会：西島正弘，新見伸吾，土屋利江，澤田純一，手島玲子

一般用医薬品部会：川西 徹，阿曾幸男，合田幸広

化粧品・医薬部外品部会：西島正弘，井上 達，西村哲治，奥田晴宏

医薬品等安全対策部会：新見伸吾，中澤憲一，小島 肇

医薬品等安全対策調査会：中澤憲一

伝達性海綿状脳症対策部会：山本茂貴

伝達性海綿状脳症対策調査会：井上 達，山口照英，棚元憲一，澤田純一

医療機器安全対策部会：西島正弘，内田恵理子，土屋利江，齋島由二

医療機器安全対策調査会：土屋利江

毒物劇物部会：大野泰雄，菅野 純

毒劇物調査会：奥田晴宏，中澤憲一，石田誠一，梅村隆志

化学物質安全対策部会：西島正弘，土屋利江

化学物質調査会：菅野 純，高木篤也，能美健彦

PRTR対象物質調査会：菅野 純

家庭用品安全対策調査会：土屋利江，鹿庭正昭，高木篤也，中澤憲一

動物用医薬品部会：井上 達，合田幸広

動物用一般用医薬品調査会：袴塚高志，村山三徳，児玉幸夫

動物用医薬品残留問題調査会：村山三徳，松田りえ子，児玉幸夫，今井俊夫，能美健彦

動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会：山口照英，鈴木和博，澤田純一

動物用抗菌性物質調査会：村山三徳，松田りえ子，児玉幸夫

動物用医薬品再評価調査会：村山三徳

食品衛生分科会：西島正弘，大野泰雄，山本茂貴

食品規格部会：松田りえ子，宮原 誠，五十君静信，小西良子，西川秋佳

食中毒部会：山本茂貴，五十君静信，小西良子

乳肉水産食品部会：山本茂貴，五十君静信

添加物部会：棚元憲一，佐藤恭子

農薬・動物用医薬品部会：大野泰雄，松田りえ子

器具・容器包装部会：西島正弘，土屋利江，棚元憲一，河村葉子，野田 衛，山本 都

表示部会：棚元憲一，手島玲子

食品表示調査会：手島玲子

新開発食品調査部会：大野泰雄，手島玲子

新開発食品評価第一調査会：山崎 壮

新開発食品評価第二調査会：合田幸広，春日文子

厚生科学審議会：西島正弘，大野泰雄，山口照英，山本茂貴，山本 都，菅野 純

化学物質制度改正検討部会：西島正弘，土屋利江

科学技術部会：西島正弘

健康危機管理部会：大野泰雄，山本 都

遺伝子治療臨床研究に係る生物多様性影響評価に関する作業委員会：山口照英

ヒト幹細胞臨床研究に関する審査委員会：山口照英

変異原性試験等結果検討委員：西川秋佳，本間正充

依存性薬物検討会：合田幸広

既存化学物質安全性点検事業におけるピアレビュー委員会：簾内桃子，宮島敦子，今井俊夫，能美健彦，本間正充，山田雅巳，増村健一，鎌田栄一，広瀬明彦，小野 敦

平成20年度厚生労働省獣医系技術職員採用試験問題作成委員会：山本茂貴，五十君静信，春日文子，小西良子，工藤由起子

医薬品の成分本質に関するワーキンググループ：合田幸広，花尻（木倉）瑠理

一般用医薬品漢方処方に関する検討会：合田幸広

生物学的同等性試験ガイドライン委員会：四方田千佳子，鹿庭なほ子

皮膚適用製剤生物学的同等性試験ガイドライン検討委員会：四方田千佳子，香取典子，坂本知昭，鹿庭なほ子

パッチテスト試薬意見交換会：神野透人

殺虫剤指針等の改訂に関する検討委員会：井上 達，檜山行雄，坂本知昭，平林容子

保険医療材料組織 保健医療専門審査員：大野泰雄，棚元憲一，澤田純一

薬価算定組織：大野泰雄，棚元憲一，澤田純一

保険医療材料専門組織：棚元憲一

労働安全衛生法GLP評価会議委員：梅村隆志，能美健彦，鎌田栄一

労働安全衛生法GLP査察専門家：梅村隆志，能美健彦

鎌田栄一

安衛法変異原性試験結果検討委員会：本間正充
化審法GLP査察専門家：本間正充，山田雅巳，増村健一
化学物質GLP評価会議：西川秋佳，本間正充，鎌田栄一
健康危機管理支援情報システム運営委員会：森川 馨
健康危機管理調整会議：森川 馨
残留農薬等分析法検討会：松田りえ子，根本 了，村山三徳，坂井隆敏
残留農薬等公示分析法検討会：松田りえ子，根本 了，村山三徳，坂井隆敏
食品添加物安全性評価検討会：井上 達，棚元憲一，菅野 純，中澤憲一，西川秋佳，広瀬明彦
食品健康影響評価依頼物質選定検討会：大野泰雄
水質基準逐次改正検討会：西村哲治，広瀬明彦
水道水質検査精度管理検討会：西村哲治，久保田領志
水道水質検査法検討会：西村哲治
薬剤師試験委員会：山崎 壮
がん原性試験指示検討委員会：西川秋佳
がん原性試験の評価に係る専門検討委員：西川秋佳
創薬基盤推進研究事業（ヒトゲノムテラーメード研究）事前評価委員会：澤田純一
治験のあり方に関する検討会：西島正弘
全国食品衛生監視員研修会において審査員：山本茂貴
食肉衛生技術研修会において審査員：山本茂貴，小西良子
未承認薬使用問題検討委員会：川西 徹
医薬部外品原料規格検討会：坂本知昭
日本医療機材工業会承認基準原案作成委員会：土屋利江，靄島由二
次世代医療機器評価指標検討委員：山口照英，土屋利江
日本医療機材工業会JIS原案作成委員会：靄島由二
次世代医療機器評価指標作成審査ワーキンググループ事務局：土屋利江，石川 格，靄島由二，植松美幸，中岡竜介，迫田秀行，澤田留美，加藤玲子
公衆衛生情報研究協議会：森川 馨
IFCS関係省庁連絡会議：森田 健
危険物等海上輸送国際基準検討委員会：森田 健
内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会：菅野 純
ナノマテリアルの安全対策に関する検討会：長谷川隆一，菅野 純
リン酸オセルタミビルの基礎的調査検討のためのワーキンググループ：大野泰雄，中澤憲一
医薬部外品原料規格検討委員会：坂本知昭，五十嵐良明
化学物質安全性評価委員会：宮島敦子，梅村隆志，今井俊夫，本間正充，山田雅巳，増村健一，簾内桃子，広瀬明彦，小野 敦

家庭用品による製品事故対策検討委員会：伊佐間和郎，森田 健，高木篤也
家庭用品安全確保マニュアル検討会：森田 健
家庭用品安全確保マニュアル（洗浄剤・漂白剤）検討会：森田 健
「健康食品」の安全性確保に関する検討会：大野泰雄
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業事前評価委員会移植医療分野小委員会：山口照英
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業中間・事後評価委員会移植医療分野小委員会：山口照英
創薬基盤推進研究事業（生物資源研究）事前評価委員会：山口照英
創薬基盤推進研究事業（生物資源・創薬モデル動物研究）中間・事後評価委員会：山口照英
中国産冷凍食品による薬物中毒事案の実態把握に関する検討会：大野泰雄
加工食品中の残留農薬等分析法検討会：松田りえ子，根本 了，村山三徳，坂井隆敏
GHS関係省庁連絡会議：森田 健
労働安全衛生法関連GHS分類検討委員会：森田 健
獣医系技術職員採用試験問題作成委員：高木篤也，今井俊夫
野菜等健康食生活委員会委員：西川秋佳
労働安全衛生法第57条の3第1項第2号の確認に係る有害性の評価等に関する検討会：西川秋佳
審議参加と寄付金等に関する基準策定ワーキンググループ：西島正弘
再生医療における制度的枠組みに関する検討会：鈴木和博
ナノマテリアル安全対策調査・支援業務評価委員：西村哲治
ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会委員：菅野純
フタル酸エステル含有おもちゃ等に関する検討会委員：菅野 純
食品添加物安全性評価検討会委員：西川秋佳
既存化学物質安全性点検事業におけるピアレビュー委員会：梅村隆志

○人事院

国家公務員採用I種試験（理工IV）試験専門委員：鈴木和博

○内閣府

食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会：合田幸広，小西良子，高島浩介
食品安全委員会新開発食品専門調査会：菅野 純，山崎壮，本間正充

食品安全委員会新開発食品専門調査会ワーキンググループ(体細胞クローン家畜由来食品): 澤田純一, 手島玲子

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会: 頭金正博, 今井俊夫, 吉田 緑, 能美健彦

食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会: 春日文字, 工藤由起子

食品安全委員会肥料・飼料専門調査会: 高木篤也

食品安全委員会器具・容器包装専門調査会: 河村葉子, 能美健彦, 広瀬明彦

食品安全委員会緊急時対応専門調査会: 春日文字, 山本都

食品安全委員会農薬専門調査会: 高木篤也, 中澤憲一, 西川秋佳, 本間正充, 吉田 緑

食品安全委員会プリオン専門調査会: 山本茂貴

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会: 五十君静信, 澤田純一, 手島玲子, 山崎 壮

食品安全委員会添加物専門調査会: 頭金正博, 梅村隆志

食品安全委員会リスクコミュニケーション専門調査会: 山本茂貴

食品安全委員会汚染物質専門調査会: 奥田晴宏, 長谷川隆一, 広瀬明彦

食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会鉛ワーキンググループ: 河村葉子, 広瀬明彦

食品安全委員会食品添加物の複合影響に関する委員会: 西川秋佳

食品安全委員会カビ毒汚染実態調査検討会: 小西良子

食品安全委員会農薬の複合評価法に関する文献調査検討会: 小澤正吾

食品安全委員会新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ: 吉田 緑

総合科学技術会議バイオテクノロジー戦略推進官民会議: 西島正弘

総合科学技術会議基本政策専門調査会: 菅野 純

総合科学技術会議 iPS細胞研究ワーキング・グループメンバー: 土屋利江

日本学術会議会員: 春日文字

○環境省

中央環境審議会: 菅野 純

中央環境審議会水環境部会環境基準健康項目専門委員会: 広瀬明彦

健康リスク評価検討会(日本エヌ・ユー・エス): 菅野 純

ダイオキシン類環境測定調査受注資格審査検討会: 松田りえ子

環境測定分析統一精度管理調査に係る環境測定分析検討会統一精度管理調査部会: 西村哲治

化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会: 井上 達
「ジフェニルアルシン酸の毒性試験に関するワーキングチーム」検討会: 井上 達

新規POPs等研究会: 広瀬明彦

ペットボトルを始めとした容器包装のリユース・デポジット等の循環的な利用に関する研究会: 西川秋佳

1,4-ジオキササン等に係る公定分析法検討調査に係る検討委員(環境省): 西村哲治

日中韓におけるGHS比較検討委員会: 森田 健

非食用農薬作物専用農薬安全評価検討会委員: 吉田 緑

○農林水産省

農業資材審議会: 小西良子

飼料分科会: 小西良子

農林物資規格調査会: 手島玲子

先端技術を活用した農林水産研究高度化事業専門評価委員会: 山本茂貴, 小西良子

新需要創造対策事業外部有識者検討会及び審査委員会: 合田幸広

ISO/TC34/WG7遺伝子組換え分析法専門分科会: 穂山 浩
ISO/TS21098国内専門委員: 手島玲子

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律施行規則第10条の規定に基づく農林水産大臣及び環境大臣が意見を聴く学識経験者: 西島正弘, 山口照英, 土屋利江, 澤田純一, 鈴木和博

輸入畜産物検査最適化検討会: 松田りえ子, 渡邊敬浩

政府米のカビに関する科学委員会: 小西良子

飼料添加物効果安全性委員会専門委員: 梅村隆志

○経済産業省

国際規格回答原案作成等調査ISO/TC106分科会: 土屋利江
日本医療機器産業連合会ISO/TC210 JIS原案作成委員会: 土屋利江

国内規格回答原案作成ISO/TC69/SC6国内委員会: 林 讓
ISO/TC147国際標準規格回答原案作成委員会(ISO): 西村哲治

ISO TC150 SC7 再生医療用具 幹事国業務委員会: 土屋利江, 中岡竜介, 迫田秀行

ISO TC150外科用インプラント国際規格回答原案作成事業委員会: 佐藤道夫

ISO TC194医療機器の生物学的評価 国内委員会: 土屋利江, 靫島由二, 松岡厚子, 中岡竜介, 加藤玲子, 五十嵐良明, 菊池 裕

化学物質審議会: 菅野 純

化学物質評価研究機構 内分泌攪乱物質に対する検討委員会: 菅野 純

日本工業標準調査会: 西島正弘

日本工業標準調査会臨時委員：土屋利江
 JIS Z 8462-4原案作成委員会：林 諡
 化管法指定物質のGHS分類調査委員会：森田 健
 GHSに基づく化学物質などの分類に関するJIS原案作成
 検討会：森田 健
 GHS分類マニュアル等作成検討委員会：森田 健

○文部科学省

文部科学省リーディングプロジェクト「ナノテクノロジー
 を活用した人工臓器の開発」研究推進委員：土屋利江
 文部科学省科学技術振興調整費プロジェクト「組織医工
 学における材料・組織評価法の確立」運営委員会：土屋
 利江
 学校給食における衛生管理の改善・充実に関する調査研
 究協力者会議：春日文子
 iPS細胞等補助金事前審査委員：土屋利江

○防衛省

生物剤検知関連技術に関する外部評価委員会：林 諡

○独立行政法人医薬品医療機器総合機構

日本薬局方原案審議委員会総合委員会：川西 徹，四方
 田千佳子，棚元憲一，奥田晴宏，合田幸広
 総合小委員会：川西 徹，檜山行雄，四方田千佳子，香
 取典子，阿曾幸男，奥田晴宏
 国際調和検討委員会：川西 徹，四方田千佳子，棚元憲
 一，川原信夫
 化学薬品委員会：檜山行雄，香取典子，坂本知昭，奥田
 晴宏，福原 潔，花尻（木倉）瑠理
 生薬等委員会A及びB：合田幸広，川原信夫
 抗生物質委員会：香取典子
 製剤委員会：川西 徹，四方田千佳子，伊豆津健一
 標準品委員会：川西 徹，川原信夫
 理化学試験法委員会：四方田千佳子，花尻（木倉）瑠理
 理化学試験法委員会近赤外WG：坂本知昭
 生物薬品委員会：山口照英，川崎ナナ，石井明子，新見
 伸吾，日向昌司，内田恵理子
 医薬品添加物委員会：阿曾幸男，宮崎玉樹，佐藤恭子
 医薬品名称委員会：川崎ナナ，内田恵理子，山崎 壮，
 奥田晴宏，栗原正明，中野達也
 生物試験法委員会：棚元憲一，室井正志
 医薬品名称専門協議：川崎ナナ，内田恵理子，山崎 壮，
 奥田晴宏，中野達也，中澤憲一
 医薬品GLP評価委員会：井上 達，長谷川隆一，菅野 純，
 中澤憲一，西川秋佳，本間正充
 医療機器GLP評価委員会：井上 達，土屋利江，齋島由二，
 長谷川隆一，菅野 純，中澤憲一，西川秋佳，本間正充

医療機器の不具合評価体制に関する検討会：佐藤道夫
 医療機器承認基準等審議委員会：鈴木孝昌，土屋利江
 専門委員：西島正弘，大野泰雄，川西 徹，四方田千佳
 子，檜山行雄，香取典子，阿曾幸男，伊豆津健一，合田
 幸広，内田恵理子，佐藤陽治，土屋利江，松岡厚子，齋
 島由二，佐藤道夫，棚元憲一，佐藤恭子，山崎 壮，室
 井正志，澤田純一，斎藤嘉朗，手島玲子，森川 馨，菅
 野 純，関田清司，高木篤也，紅林秀雄，西川秋佳，梅
 村隆志，吉田 緑，能美健彦，本間正充
 運営評議会 審査・安全業務委員会：西島正弘
 遺伝子組換え医薬品の生物多様性影響評価に関する専門
 協議：山口照英，鈴木和博，澤田純一
 日本薬局方溶出試験WG：四方田千佳子，伊豆津健一
 日本薬局方インハレーションWG：四方田千佳子，伊豆
 津健一
 審査専門協議（殺虫剤・殺そ剤分野）専門委員：五十嵐
 良明，神野透人
 審査専門協議（化粧品・部外品分野）専門委員：五十嵐
 良明

○独立行政法人

新エネルギー・産業技術総合開発機構委託研究事業「間
 葉系幹細胞を用いた再生医療早期実用化のための橋渡し
 研究」研究開発委員会：土屋利江
 新エネルギー・産業技術総合開発機構委託研究事業「再
 生・細胞医療の世界標準品質を確立する治療法および培
 養システム」研究開発委員会：土屋利江
 新エネルギー・産業技術総合開発機構委託研究事業「疾
 患動物を用いた新規治療機器の安全性・有効性評価手法
 の開発」研究開発委員会：土屋利江
 物質・材料研究機構生体材料研究センター：組織工学製
 品の標準化に関するVAMAS・TEMPS国内委員会：土屋
 利江，伊佐間和郎
 日本スポーツ振興センター学校給食衛生管理推進指導者
 派遣・巡回指導委員会：春日文子
 医薬基盤研究所基盤研基礎的研究評価委員会：西島正弘，
 鈴木和博，佐藤陽治
 医薬基盤研究所基礎的研究等外部評価委員会：西島正弘
 医薬基盤研究所成果管理委員会：西島正弘
 医薬基盤研究所共同利用施設運営委員会：菅野 純
 医薬基盤研究所実用化研究評価委員会：井上 達，山口
 照英，内田恵理子，佐藤陽治，奥田晴宏
 医薬基盤研究所基盤研運営評議会委員：西島正弘
 中央労働災害防止協会がん原性試験の評価に係わる専門
 家会議：西川秋佳
 中央労働災害防止協会健康影響評価のためのタスク
 フォース委員：能美健彦

中央労働災害防止協会問題となる化学物質調査委員会：
西川秋佳，能美健彦

中央労働災害防止協会有害性評価書原案作成グループ委員：
梅村隆志

中央労働災害防止協会有害性調査を行う化学物質の検討委員会：
能美健彦

科学技術振興機構化学物質リンクセンタープロトタイプ委員会：
鎌田栄一

科学技術振興機構科学技術連携施策群化学物質の安全管理・活用タスクフォース委員：
菅野 純

科学技術振興機構科学技術連携施策群タスクフォース委員会：
大野泰雄

科学技術振興機構科学技術振興調整費審査作業部会委員：
土屋利江

科学技術振興機構良いシーズをつなぐ知の連帯システム外部専門家：
西川秋佳

国立健康・栄養研究所栄養情報担当者（NR）制度のあり方検討委員会：
森川 馨

海洋研究開発機構「地球シュミレータ産業戦略利用プログラム」に関するアドバイザー：
中野達也

製品評価技術基盤機構構造活性相関手法による有害性評価手法開発研究開発推進委員会：
西川秋佳

製品評価技術基盤機構視力補正を目的としないカラーコンタクトレンズに関する調査委員会：
土屋利江

製品評価技術基盤機構「化審法における監視化学物質リスク評価スキームに関する調査」のレビュー協力：
鎌田栄一

産業技術総合研究所整形インプラントの力学的評価法に関するJIS原案作成委員会：
土屋利江

産業技術総合研究所金属系生体材料の疲労試験等に関するJIS原案作成委員会：
土屋利江

日本学術振興協会科学研究費委員会：
内山奈穂子，手島玲子，能美健彦

農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所運営委員会：
山本茂貴

産業技術総合研究所：金属系生体材料の疲労試験等に関するJIS原案作成委員会：
土屋利江

国民生活センター商品テスト分析・評価委員会臨時委員：
合田幸広

日本原子力研究開発機構任期付研究員採用試験研究業績評価委員：
能美健彦

○国際機関

FAO/WHO合同食品規格計画（コーデックス委員会）分析サンプリング部会：
渡邊敬浩

FAO/WHO合同食品規格計画（コーデックス委員会）食品衛生部会（CCFH）作業部会：
野田 衛

FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会（JECFA）：
河村葉子，梅村隆志，今井俊夫

FAO/WHO合同農薬専門家委員会臨時委員：
吉田 緑

OECD詳細レビュー文書案31番「セントランスフォーメーションアッセイについて」改定のための専門家会合：
OECD：Expert group on toxic gas mixtures：
森田 健

OECD：Expert group on toxicokinetics：
斎藤嘉朗

OECD高生産量化学物質初期評価会議：
広瀬明彦

OECD高生産量化学物質初期評価会議国内レビュー委員会：
広瀬明彦

OECD - EDTA（内分泌かく乱物質タスクフォース）バリデーションマネージメント委員会：
小島 肇

WHO飲料水水質ガイドライン改定専門家会合：
広瀬明彦

WHO医薬品国際一般名称委員会臨時委員：
川崎ナナ，奥田晴宏

WHO International Pharmacopoeia, Pharmaceutical preparation パネルメンバー：
川西 徹，奥田晴宏

WHO International Programme for Chemical Safety Programme Advisory Committee：
森川 馨

ICH 遺伝子治療専門家委員会：
山口照英

ICH Q8「製剤開発ガイドライン」専門作業部会：
奥田晴宏

ICH Q11「原薬の開発と製造ガイドライン」専門作業部会：
奥田晴宏

ICH M3「非臨床試験のタイミングに関するガイドライン」専門作業部会：
大野泰雄，中澤憲一

ICH S2動物実験代替法バリデーション委員会：
小島 肇

ICH S2 (R1)「遺伝毒性試験ガイドライン」専門作業部会：
本間正充

国際食品微生物規格委員会（ICMSF）メンバー：
春日文子

国際酪農連盟国内委員会微生物・衛生専門部会：
五十君静信

ISO / TC34 / SC9国内対策委員：
五十君静信

Peer review board of International Chemical Safety Cards (ICSCs)：
森田 健

ISO / TC150国内対策委員：
佐藤道夫

WHO食品由来疾病被害疫学レファレンスグループ：
春日文子

ISO TC194 医療機器の生物学的評価 国内委員会：
菊池 裕

ISO TC198 ヘルスケア製品の滅菌 国内委員会：
菊池 裕

ICCR（化粧品の国際規制会議）動物実験代替法バリデーション委員会：
小島 肇

ISO TC150 SC7 再生医療用具 国際幹事：
中岡竜介

OIE BSEステータス評価アドホックグループ委員：
山本茂貴

○都道府県

東京都薬物情報評価委員会：合田幸広

東京都食品安全情報評価専門委員会：河村葉子，春日
文子

東京都健康安全センターノロウイルス対策緊急タスク
フォース委員：野田 衛

東京都健康安全センターノロウイルス対策緊急タスク
フォース迅速検査システム検討部会：野田 衛

神奈川県科学技術会議研究推進委員会：鹿庭正昭

富山県薬事研究所外部評価委員会：合田幸広

滋賀県食の安全委員会：小西良子

神奈川県衛生研究所評価委員会：西島正弘

東京都健康安全研究センター研究評価会議委員：西島
正弘

横浜市調査研究・試験機関のあり方検討会：合田幸広

東京都脱法ドラッグ専門調査委員会：川原信夫

○ヒューマンサイエンス振興財団

理事：大野泰雄

政策創薬総合研究事業評価専門家委員：澤田純一

政策創薬総合研究事業共同研究委員会：西島正弘

政策創薬総合研究事業先端技術情報委員会委員：大野
泰雄

専門分野を生かした職務関連の社会貢献等について

Other Relative Activities

1. 講義

- 川西 徹, 「国立医薬品食品衛生研究所の使命, 組織, 業務内容」, 平成20年度必須医薬品製造品質管理研修 (GMPコース) (2008.11)
- 川西 徹, 「薬品部の業務について」, 平成20年度薬事行政官研修 (2008.11)
- 川西 徹, 「ジェネリック医薬品の品質確保に関する最近の話題 - ジェネリック医薬品品質情報検討会の活動を中心にして -」 平成20年度日本薬剤師会試験検査センター技術講習会 (2008.12)
- 四方田千佳子, 「固形製剤の品質再評価」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程衛生管理コース (2008.6)
- 香取典子, 「統計学的手法」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程衛生管理コース (2008.6)
- 阿曾幸男, 「医薬品の安定性試験」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程薬事衛生管理コース (2008.6)
- 阿曾幸男, 「医薬品の品質確保—安定性試験—」, 第18回必須医薬品製造管理研修 (2008.12)
- 檜山行雄, 「医薬品の品質保証とGMP」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程薬事衛生管理コース (2008.5)
- 檜山行雄, 「医薬品の規格設定」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程薬事衛生管理コース (2008.5)
- 檜山行雄, 「医薬品の品質・製造工程 (2)」, 東京大学大学院薬学系研究科 医薬品評価科学レギュラーコース (2008.6)
- 檜山行雄, 「Quality Assurance of Drugs」, 国際厚生事業団必須医薬品製造品質管理研修(2008.12)
- 坂本知昭, 「品質試験検査概論」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程薬事衛生管理コース (2008.5)
- 坂本知昭, 「分析法バリデーション」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程薬事衛生管理コース (2008.6)
- 小出達夫, 「理化学試験機器概論」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程薬事衛生管理コース (2008.6)
- 山口照英, 「バイオ医薬品の品質保証」, 東京大学セミナー (2008. 5)
- 新見伸吾, 「有効性, 品質, 安全性の観点からバイオ医薬品の承認申請に必要な事柄」, 徳島大学薬学部 (2009. 1)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「指定薬物の現状と違法ドラッグの分析法について」, 指定薬物の分析・鑑定に関する研修 (2009.1)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「指定薬物及び新規麻薬指定化合物について」, 全国麻薬取締部鑑定官研修 (2009.2)
- 内山奈穂子, 「違法ドラッグ成分のNMR等を用いた同定法について」, 指定薬物分析・鑑定に関する研修 (2009.1)
- 緒方 潤, 「植物系違法ドラッグの遺伝子分析について」, 指定薬物の分析・鑑定に関する研修 (2009.1)
- 緒方 潤, 「大麻種子発芽能力試験法について」, 全国麻薬取締部鑑定官研修 (2009.2)
- 佐藤陽治, 「遺伝子治療・再生医療に関する最近の動向と安全性評価」, 東邦大学大学院 (2008.6)
- 佐藤陽治, 「循環器領域の遺伝子治療・再生医療に関する最近の動向と安全性評価」, 早稲田大学理工学術院 (2008.7)
- 佐藤陽治, 「細胞組織加工医薬品の品質・安全性確保」, 日本トキシコロジー学会トキシコロジーリカレント講座 (2008.9)
- 土屋利江, 「医療用具の安全性について」, 東京女子医科大学第39期バイオメディカルカリキュラム (2008.4)
- 土屋利江, 「医療機器・細胞組織医療機器の安全性・有効性・品質確保について」, 九州大学システム生命学府大学院集中講義 (2008.)
- 西村哲治, 「水質の検査と評価」, 国立保健医療科学院 (2008.9)
- 西村哲治, 「水環境中の医薬品の存在実態とリスク評価」, 摂南大学薬学部大学院(2008.12)

- 松田りえ子, 「食品に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」, 厚生労働省医薬食品局食品安全部 平成20年度食品安全行政講習会 (2008.5)
- 松田りえ子, 「試験法の妥当性評価について」, 食品衛生登録検査機関協会 平成20年度残留農薬・動物用医薬品研修会 (2009.3)
- 根本 了, 「食品中の残留農薬試験法について」, 厚生労働省医薬食品局食品安全部 平成20年度食品安全行政講習会 (2008.5)
- 根本 了, 「食品中の残留農薬, 動物用医薬品等の動向」, 国立保健医療科学院 平成20年度短期研修食肉衛生検査研修 (2008.7)
- 根本 了, 「食品中の残留農薬試験法について」, 厚生労働省医薬食品局食品安全部 平成20年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会 (2008.8)
- 根本 了, 「加工食品中の農薬試験法について」, 地方衛生研究所東海北陸ブロック理化学部門研修会(2008.12)
- 根本 了, 「残留農薬等に関する最近の話題について」, 食品衛生登録検査機関協会 平成20年度残留農薬・動物用医薬品研修会 (2009.3)
- 坂井隆敏, 「残留農薬等試験法の開発について」, 食品衛生登録検査協会 平成20年度残留農薬・動物用医薬品研修会 (2009.3)
- 宮原 誠, 「照射食品の検知法」, 平成20年度食品安全行政講習会 (2008.5)
- 渡邊敬浩, 「生化学的試験法の信頼性確保について」, 食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者研修会 (2008.8)
- 渡邊敬浩, 「食品分析の信頼性保証と分析の妥当性評価について」, 食品衛生登録検査機関協会・業務管理研修会, (2009.2)
- 渡邊敬浩, 「食品中の汚染物モニタリング検査と摂取量調査について」, 国立保健医療科学院平成20年度特別過程食品衛生管理コース, (2009.2)
- 河村葉子, 「玩具, 金属製器具, 陶磁器等の規格基準改正とその試験法について」, 食品衛生登録検査機関協会 平成20年度特殊技術研修会 (2008.4)
- 河村葉子, 「器具・容器包装における最近の話題」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース (2009.1)
- 佐藤恭子, 「食品添加物における最近の話題」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース (2009.1)
- 伊藤裕才, 「大学院特論・天然物科学II」, 大阪薬科大学 (2008.12)
- 山本茂貴, 「食品の衛生管理とHACCPシステム」, 日本獣医生命科学大学 (2008.5)
- 山本茂貴, 「食品の微生物学的リスクアナリシス」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食肉衛生検査コース (2008.6)
- 山本茂貴, 「危害分析について」, HACCP連絡協議会 (2008.7)
- 山本茂貴, 「食品のリスク分析手法」, JICA (2008.9)
- 山本茂貴, 「食品は安全か」, 広島大学 (2008.10)
- 山本茂貴, 「危害分析について」, HACCP連絡協議会 (2009.2)
- 山本茂貴, 「食品の微生物学的リスクアナリシス」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース (2009.2)
- 山本茂貴, 「現行の公定食品細菌検査法の検証と今後の課題」, (独) 国際協力機構 (2009.3)
- 五十君静信, 「遺伝子組換え技術による新たな乳酸菌機能性剤の開発」, 岩手大学大学院学際領域特別講義 (2008.6)
- 五十君静信, 「食肉の細菌制御」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食肉衛生検査コース (2008.6)
- 五十君静信, 「食中毒菌の検査法」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食肉衛生検査コース (2008.7)

五十君静信,「乳肉製品の細菌防御」,国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース(2009.2)

町井研士,「食品衛生検査の精度管理」,国立保健医療科学院平成20年度短期研修,食肉衛生検査研修(2008.6)

町井研士,「天然毒」,国立保健医療科学院専門課程,選択科目「毒性学(基礎)」(2009.1)

町井研士,「マリンバイオトキシン」,国立保健医療科学院平成20年度短期研修,食品衛生管理研修(2009.2)

春日文子,「学校給食における衛生管理について」,千葉市平成20年度学校給食従事者衛生管理研修会(2008.4)

春日文子,「微生物学的リスクアセスメントの実際」,国立保健医療科学院食肉衛生検査コース(2008.6)

春日文子,「食品衛生におけるリスクアセスメント」,国立感染症研究所FETP初期導入コース(2008.7)

春日文子,「学校給食施設衛生管理について」,墨田区教育委員会(2008.8)

春日文子,「レギュラトリーサイエンス-食品汚染微生物のリスクアセスメント」,東京農工大学講義(2008.11)

春日文子,「食品汚染微生物のリスクマネジメントとリスクアセスメント」,山梨大学リスクマネジメント講演会講義(2008.12)

春日文子,「細菌性食中毒・リスク評価-食品汚染微生物のリスクマネジメントとリスクアセスメント」,日本獣医生命科学大学獣医保健看護学科講義(2008.12)

春日文子,「リスクアナリシスと地方食品衛生行政」,国立保健医療科学院平成20年度短期研修食品衛生管理研修(2009.1)

春日文子,「鶏肉のカンピロバクターとリスク評価」,厚生労働省平成20年度食肉衛生技術研修会(2009.1)

春日文子,「微生物学リスクアナリシス概要」,農林水産省食品安全に関するリスクアナリシス専門家養成研修会(2009.2)

春日文子,「カンピロバクターとリスク評価」,長野県食

品衛生監視員研修会(2009.3)

野田 衛,「ノロウイルス遺伝子検査実習」,国立保健医療科学院平成20年度特別課程ウイルスコース(2008.10)

野田 衛,「ノロウイルスによる食中毒」,国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース(2009.1)

野田 衛,「ノロウイルスのカキからのアミラーゼ抽出について」平成20年度地域保健総合推進事業「科学的根拠に基づく政策決定を支援するための地方衛生研究所の試験研究機能の強化及び情報ネットワークの構築」における「中国四国地域ブロック専門家会議(微生物)」(2008.11)

小西良子,「衣食住におけるカビの問題」,(社)日本食品衛生協会平成20年度食品衛生管理士フォローアップ研修会(2009.3)

工藤由起子,「食肉と微生物」,国立保健医療科学院平成20年度短期研修食肉衛生検査研修(2008.6)

鎌田洋一,「食肉または肉料理から分離される細菌と毒素と食中毒」,平成20年度食肉衛生技術研修会(2009.1)

鎌田洋一,「細菌・細菌毒素による食中毒」,国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース:(2009.1)

斎藤嘉朗,「医学医療情報学」,福島県立医科大学大学院(2008.7)

手島玲子,「遺伝子組換え食品の安全性評価」,日本国際協力センター JICA食品保健行政コース研修(2008.2)

穂山 浩,「遺伝子組換え食品について」,国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース(2009.1)

穂山 浩,「遺伝子組換え食品について」,日本国際協力センター JICA特別研修コース(2009.2)

穂山 浩,「食品中アレルギーのリスク評価」,東京農工大学大学院(2008.12)

安達 玲子,「アレルギー物質を含む食品の表示と検査方法」,国立保健医療科学院平成20年度短期研修食品衛生管理研修(2009.1)

- 森川 馨, 「医薬品情報」, 国立保健医療科学院 (2008.5)
- 畝山智香子, 「毒性学 (基礎) 毒性情報」, 国立保健医療科学院 (2009.1)
- 畝山智香子, 「食品中汚染物質の概要と情報について」, 国立保健医療科学院平成20年度特別課程食品衛生管理コース (2009.1)
- 畝山智香子, 「薬理学特別講義」, 東北大学歯学部 (2009.1)
- Takeshi Morita, 「Evaluation of Health Effects for GHS Classification」, The Training Program on Industry and Environmental Protection for ASEAN, GHSInstructors, (ENEP-1) (2008.10)
- 鹿庭なほ子, 「医薬品の安全性: 重症薬疹発症に関連したバイオマーカーに関する最近の研究」, 千葉大学 (2008.7)
- 鹿庭なほ子, 「医薬品の規格と有効性・安全性」, 千葉大学 (2008.7)
- 北嶋 聡, 「リスクアセスメント・マネジメント 環境毒性 (環境汚染物質) 放射性物質, 紫外線」第11回日本トキシコロジー学会基礎教育講習会 (2008.7)
- 宮島敦子, 「最適な投与設計のためにII・薬理遺伝学」, 城西大学大学院 (2008.11)
- 梅村隆志, 「毒性学」, 東京農工大学農学部獣医学科集中講義(2008.11 ~ 12)
- 吉田 緑, 「毒性学」, 岩手大学農学部獣医学科集中講義 (2008.6)
- 吉田 緑, Chemically induced toxicities of the ovary, uterus, cervix and vagina. National Toxicology Program Workshop on Pathology of the Reproductive Tract(2008.10)
- 吉田 緑, 「性周期から見たげっ歯類卵巣の形態学的特徴とPCNAの有用性 (HEとPCNA)」第9回日本毒性病理学会教育セミナー (2008.11)
- 能美健彦, 「遺伝毒性, 発がん性」, 日本トキシコロジー学会 (2008. 7)
- 山田雅巳, 「Ames試験の原理」, 日本環境変異原学会微生物変異原性試験研究会 第一回Ames試験講習会 (2008. 7)
- 広瀬明彦, 「ダイオキシンのリスク評価」, お茶の水女子大学ライフワールド・ウォッチセンター「化学・生物総合管理の再教育講座」 (2008.5)
- 広瀬明彦, 「リスクアセスメント」, 千葉大学大学院医学薬学府教育改革プログラム「世界規模の治験・臨床研究を担う医療人育成」医薬品安全性評価学特論 (2008.5)
- 広瀬明彦, 「リスクマネジメント」, 千葉大学大学院医学薬学府教育改革プログラム「世界規模の治験・臨床研究を担う医療人育成」医薬品安全性評価学特論 (2008.5)
- ## 2. 講演
- 四方田千佳子, 「貼付剤の放出試験における膜利用技術の提案」, 医薬品品質フォーラムワークショップ2008「局所皮膚適用製剤の生物学的同等性のあり方」 (2008.11)
- 四方田千佳子, 「後発医薬品の品質確保を巡る動きについて」, 神奈川県後発医薬品推進協議会 (2009.2)
- 奥田晴宏, 檜山行雄, 「原薬品質保証に関する国際的視点から見た問題点の提起」, 第8回医薬品品質フォーラムシンポジウム: 原薬を考える (2009.1)
- 檜山行雄, 「ICH品質ガイドラインQ8, Q9, Q10の実践に関する課題」, 第8回医薬品添加剤セミナー (2009.3)
- Yukio Hiyama, “Implementation of ICH guideline and Japanese regulations”
Name of meeting: ICH GCG training seminar (2008.12)
- 檜山行雄, 「ICH-Q8と承認申請の関係」, 平成20年度東西薬事法規 (研究) 委員会 (2008.6)
- 檜山行雄, 「治験薬GMPの改訂について」, 製薬協品質委員会(2008.4)
- 檜山行雄, 「高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発及び製造工程管理手法の展望」, 平成20年度政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業 (2008.12)
- 坂本知昭, 檜山行雄, 「UHPLCによる合成工程のリアル

タイム解析について」,平成20年度政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2008.12)

小出達夫,「NIRイメージングシステムを用いた固形製剤の造粒状態の分析及び溶出予測」,平成20年度政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2008.12)

Nana Kawasaki,「Low Molecular Mass Heparins in the Japanese Pharmacopoeia」,2nd Workshop on the characterization of Heparin products(2008.6)

川崎ナナ「バイオ医薬品の本質及びアミノ酸配列等記載方法の変更について」第18回薬事委員会バイオ諸問題検討グループ定例会合 日本製薬工業協会(2009.1)

川崎ナナ「抗体医薬品の承認状況と開発動向」バイオロジクスフォーラム 第6回学術集会(2009.2)

合田幸広,「食薬区分と違法(脱法)ドラッグ」,漢方薬・生薬認定薬剤師研修会(2008.8)

Yukihiro Goda,「Recent Pharmacopoeial Topics on Herbal Medicine and Related Products in Japan」,The 4th International Advisory Broad Meeting on Hong Kong Chinese Materia Medica Standards, Hong Kong, China(2008.10)

Yukihiro Goda,「Pharmacopoeial Topics on Herbal Medicine in Japan from 2007 to 2008」,The 6th Standing Committee Meeting of the Western Pacific Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, Seoul, Republic of Korea(2008.11)

Yukihiro Goda,「Compiled Activity Reports of Past Years of Sub-Committee 1」,The 6th Standing Committee Meeting of the Western Pacific Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, Seoul, Republic of Korea(2008.11)

合田幸広,「ED治療薬関連物質の検出事例と無承認無許可医薬品対策」,第45回全国衛生化学技術協議会年会自由集会(2008.11)

合田幸広,「漢方医学の国際化,正しい用語使用と英語表記統一(漢方製剤・生薬製剤・生薬用語の英語表記)」,第104回漢方医学フォーラム(2009.3)

川原信夫,「最近の生薬行政の動き-第十五改正日本薬局方第一追補及び第二追補を中心に-」,奈良県製薬薬剤師

会・製薬技術研修会(2008.6)

川原信夫,「今後の日局生薬のあり方について」,日本OTC医薬品協会生薬製品委員会(2008.7)

Nobuo Kawahara,「Comparative Studies on the Developing Solvent for TLC in Pharmacopoeia, Considering Clean Analysis among FHH Member Countries in 2008」,The 6th Standing Committee Meeting of the Western Pacific Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, Seoul, Republic of Korea(2008.11)

丸山卓郎,内山奈穂子,「薬用植物と食薬区分,違法ドラッグ」,第一回生薬若手懇話会(2008.12)

鹿庭正昭,「化学製品による消費者の健康被害事故防止のために」,日本中毒学会東日本地方会(2009.1)

鹿庭正昭,「繊維製品に使用される化学物質に関する安全対策」,日本繊維機械学会・春季セミナー(2009.3)

鹿庭正昭,「家庭用品による健康被害:ゴム製品などによるアレルギー性接触皮膚炎の原因究明」,大阪府立産業技術総合研究所セミナー(2009.3)

伊佐間和郎,「家庭用品に含有する有害物質の試験法について」,平成20年度全国家庭用品安全対策担当係長会議(2008.7)

中岡竜介,「バイオマテリアルの安全性評価とその国際調和」,第7回次世代バイオマテリアル若手研究会(2009.3)

西村哲治,「水道水質管理に関する最近の動向について」,平成20年度全国給水衛生検査協会関東地区支部総会(2008.6)

西村哲治,「平成19年度環境測定分析検討会統一精度管理調査結果:水試料(有機スズ化合物及び有機塩素化合物の分析)」,平成19年度環境測定分析検討会統一精度管理調査結果説明会(2008.7)

西村哲治,「水環境中の医薬品について」,平成20年度試験検査センター技術講習会(環境・医薬品試験合同)(2008.12)

松田りえ子,「食品に関わる分析値の不確かさについて」,

- 東京コンファレンス Plenary シンポジウム 第2部 ー 食の安全・安心を求めてー(2008.9)
- 松田りえ子, 「食品と有害物質」, 食品の安心・安全確保推進研究推進事業 シンポジウム (2009.2)
- 根本 了, 「加工食品検査を巡る新しい動き」, 日本食品衛生学会 第11回特別シンポジウム (2009.2)
- 宮原 誠, 「照射食品の現状と検知法」, 日本分析センターセミナー (2009.2)
- 河村葉子, 「器具・容器包装及び玩具の規格基準改正の背景ー鉛及びカドミウム」, 厚生労働省食品に関するリスクコミュニケーション〜器具・容器包装, おもちゃの規格改正に関する意見交換会 (2008.12)
- 山崎 壮, 「特定保健用食品の最近の審査状況について」, 平成20年度第1回特定保健用食品講習会 (2008.7)
- 山崎 壮, 「「特定保健用食品」の最近の審査状況について」, 食品制度のトレンド研究セミナー (2008.12)
- 山本茂貴, 「食品微生物検査法の標準化」, 全国食肉衛生検査所協議会微生物部会総会・研修会, (2008.7)
- 山本茂貴, 「食品の微生物学的リスクアナリシス (食中毒防御のために)」, 平成20年度食肉食鳥肉衛生技術研究会及びBSEに関する技術研究会(北海道), (2008.9)
- 山本茂貴, 「BSE対策のリスク評価」, 内閣府食品安全委員会, (2008.10)
- 山本茂貴, 「輸入食品と健康影響」, 平成20年度食品の安心・安全確保推進研究推進事業 (2009.2)
- 五十君静信, 「微生物を利用して製造された遺伝子組換え食品の安全性評価」, バイオインダストリー協会 (2009.9)
- 五十君静信, 「食品の細菌学的試験法の現状と問題点ー食品からの微生物検査標準法検討委員会の検討事項を中心に」, 特別区平成20年度専門研修「検査技術」. 千代田区. (2008.9)
- 五十君静信, 「わが国の食品微生物試験の現状と今後の国際規格への対応」, 食品開発2008記念セミナー (2008.10)
- 五十君静信, 「遺伝子組換え食品の安全性を考える」, 千葉県食品の安全・安心に関するリスクコミュニケーション〜遺伝子組換え食品の安全性に関する学習会〜 (2008.11)
- 五十君静信, 「わが国の食品微生物試験法の現状解析から, 今後の方向性を考える」, 全国農協乳業協会セミナー (2008.11)
- 町井研士, 「食品の安全性確保についてー食品衛生検査の精度管理ー」, 平成20年度山梨県公衆衛生獣医師協議会研修会(2009.2)
- 町井研士, 「マリントキシンについて」, 社団法人広島県獣医師会公衆衛生部会講演会(2009.2)
- 春日文子, 「子どもの健康づくりと食事 - 子どもの食と衛生」, 第46回日本小児歯科学会シンポジウム (2008.6)
- 春日文子, 「食品の微生物学的リスクアセスメント - 必要とされるデータと結果の利用」, 衛生微生物技術協議会第29回研究会 (2008.6)
- Fumiko Kasuga: Foodborne disease surveillance systems and the estimation of burden of those diseases in Japan / Seminar at Department of Health and Ageing, Canberra, Australia (2008.6)
- Fumiko Kasuga: Japanese burden of illness study /5th Annual International Collaboration of Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies Meeting (2008.8)
- Fumiko Kasuga: Estimating the global burden of foodborne diseases – report on work in progress /Seminar at the Royal Veterinary College, London (2008.9)
- 春日文子, 「食品安全委員会における取り組みの紹介」, 食品安全委員会意見交換会 (2008.10)
- Fumiko Kasuga: Risk Assessment & Risk Management Activities in Japan /Conference on Current and Innovative Approaches in Microbiological Food Safety Management (2008.10)
- 春日文子, 「ICMSFによる微生物規格基準設定の考え

方), 第29回日本食品微生物学会学術総会シンポジウム(2008.11)

春日文字, 「カンピロバクター食中毒防止とリスク評価」, 第1回日本カンピロバクター研究会シンポジウム(2008.12)

野田 衛, 「ウイルスによる食中毒」, 平成20年度第一回食品衛生監視員等研修会(2008.9)

野田 衛, 「食品のウイルス検査」, 西日本地区食品衛生検査機関研究協議会平成20年度講演会(2008.11)

野田 衛, 「食品中のノロウイルス検査におけるシークエンスの取り扱いについて」, 平成20年度第二回岡山県食品衛生監視員研修会(2009.2)

小西良子, 「マイコトキシンのリスクプロファイル」, 食の安心科学フォーラム第7回セミナー「微生物産生微量物質による食品の汚染と対策〜カビ, マイコトキシン, 酵母〜」, 日本食品衛生学会/日本食品微生物学会/日本食品化学学会/IFIA Japan2008(2008.5)

小西良子: 「消費者のリスクを減らすために〜カビ毒を対象として〜」, 厚生労働省横浜検疫所/神奈川県/横浜市 輸入食品の安全性確保に関するシンポジウム(2008.7)

小西良子, 「あなたならどうするアフラトキシンの基準値」, 第35回カビ毒研究連絡会(2008.8)

小西良子, 「食品を汚染するカビ毒の健康被害ってなんだろう」, 神奈川県衛生研究所平成20年度第2回公衆衛生専門技術研修(2008.8)

小西良子, 「輸入食品とMycotoxins」, 日本防菌防黴学会第35回年次大会シンポジウム(2008.9)

小西良子, 「ニバレノールの毒性と評価」, 赤カビ病研究会シンポジウム(2008.9)

小西良子, 「我が国のアフラトキシンおよびオクラトキシン汚染」, 内閣府食品安全委員会 食品に関するリスクコミュニケーション〜北米におけるカビ毒のリスク評価〜(2008.12)

小西良子, 「食品とカビ毒」, 食品品質保持技術研究会第

12回食品品質保持技術研究会(2008.12)

小西良子, 「カビを巡る新しい動き」, (社)日本食品衛生学会第11回特別シンポジウム(2009.2)

杉山圭一, 小西良子, 「食品成分を用いたマイコトキシン毒性制御のアプローチ」, 東京大学大学院農学生命科学研究科 食の安全研究センター シンポジウム「食品による生体防御系の調節: 食の安全性向上にむけた新しいアプローチ」(2009.3)

Sugiyama, K.: Effect of deoxynivalenol on Toll-like receptor signaling

The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology (2009.5)

宮原美知子, 「コラボレイティブ・スタディから見えてきたこと 1 サルモネラについて」, 食の安全を確保するための微生物検査協議会 平成20年度講演会(2008.11)

工藤由起子, 「飲料水と汚染物質」, 平成20年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業シンポジウム。(2009.2)

上寺祐之, 川村邦夫, 佐々木次雄, 菊池裕, 神崎武敏, 「ISO/TC 198 WG10: 医療用具の滅菌-動物由来の材料を用いた一回使用医療用具の液体化学殺菌剤による滅菌バリデーションと日常管理(ISO 14160)」, (ISO/TC198 国際会議報告会及びJIS化の必要性)(2009.3)

澤田純一, 「遺伝子組換え食品(微生物)の安全性評価基準案作成の経緯」, 食品安全委員会, 食品に関するリスクコミュニケーション(東京) 遺伝子組換え微生物を利用した食品の安全性評価基準案に関する意見交換会(2008.5)

澤田純一, 「遺伝子組換え食品等の安全性評価と最近の動き」, (財)バイオインダストリー協会 安全・環境部会講演会(2008.9)

澤田純一, 千葉県, 食品の安全・安心に関するリスクコミュニケーション〜遺伝子組換え食品の安全性に関する意見交換会〜, (2009.1)

澤田純一, 食品安全委員会, 食品に関するリスクコミュニケーション(東京) 体細胞クローン家畜由来食品のリスク評価について, 意見交換会(2009.3)

- 澤田純一, 食品安全委員会, 食品に関するリスクコミュニケーション(大阪) 体細胞クローン家畜由来食品のリスク評価について, 意見交換会(2009.3)
- 手島玲子, 「遺伝子組換え食品の安全性評価にかかわる最新情報の提供と提言」ビール酒造組合講演会(2008.7)
- 穂山 浩, 「遺伝子組換え食品について」, 東京学芸大学附属高等学校特別講演(2009.2)
- 穂山 浩, 「遺伝子組換え食品について」, 国立沖縄工業高等専門学校特別講演(2009.3)
- 安達玲子, 「アレルギーの表示制度と検出方法の最新情報」, 第12回国際食品素材/添加物展・会議(2008.5)
- 佐藤里絵, 「食品中のアレルギー性物質」, 東京理科大学総合研究機構界面科学研究部門・理窓博士会 産学官連携講演会“食の安全・安心, そして健康”(2007.12)
- 森川 馨, 牧内隆司, 長嶺敬彦, 「大規模副作用症例データベース(AERS)を用いた医薬品情報の解析-抗精神病薬における安全情報の解析-」, 厚労科研費政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2009.1)
- 天沼喜美子, 森川 馨, 「2008年の海外からの医薬品安全情報」, 厚労科研費政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2009.1)
- 芦澤一英, 森川 馨, 「糖尿病治療における海外の医薬品安全情報」, 厚労科研費政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2009.1)
- 牧内隆司, 森川 馨, 「麦角系ドパミン作動薬に関する副作用症例データの解析」, 厚労科研費政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2009.1)
- 佐賀野修一, 森川 馨, 「HAART療法としての抗糖尿病HIV治療薬併用の解析」, 厚労科研費政策創薬総合研究推進事業研究成果等普及啓発事業(2009.1)
- 森川 馨, 「医薬品安全性情報と大規模副作用症例データの解析」, 財団法人日本医薬情報センター医薬情報講座(2009.3)
- 畝山智香子, 「食品中汚染物質の概要と情報について」, 神奈川県保健福祉部平成19年度食品衛生監視員研修(専門監視コース)(2009.1)
- 井上 達, 基調講演「健康と化学物質」, シンポジウム健康と化学物質-化学物質と幼児行動-(社)日本食品衛生協会(2009.2/2009.3)
- 菅野 純, 「多層カーボンナノチューブのp53ヘテロ欠失マウス腹腔内投与による中皮腫の誘発」, ナノ社会受容研究会講演会(2008.5)
- 菅野 純, 「MWCNTに含まれるアスベスト様粒子が生体へ及ぼす影響」, 化学生物総合管理学会特別講演会(2008.9)
- 菅野 純, 「ナノ材料の有害性評価」, 第2回統合研究院環境プロジェクト・ワークショップ(2008.10)
- 菅野 純, 「カーボンナノチューブの生体影響」, 中央労働災害防止協会企画セミナー(2008.10)
- 菅野 純, 広瀬明彦, ”MHLW study projects on nano-material safety and some thoughts on the toxicity of nano-materials including mesotheliomagenesis of MWCNT”, Recent Progress on Environmental, Health and Safety Research on Manufactured Nanomaterials 名古屋大学国際シンポジウム(2008.12)
- 菅野 純, 「ナノマテリアルの毒性予測-発癌性を中心に」, 学術会議シンポジウム(2008.12)
- 菅野 純, 「ナノ材料粒子の有害性について」, 色材セミナー“ナノ粒子の安全性と応用”(2009.3)
- 菅野 純, ”RISK MANAGEMENT FOR FOOD SAFETY AND INTRODUCTION TO THE SCIENCE AND TECHNOLOGY”, Risk Management Seminar 2009(2009.3)
- 平林容子, 「アリアルハイドロカーボン受容体の生物学」, 京都大学ウイルス研究所セミナー(2009.3)
- 北嶋 聡, 「情動・認知に係る化学物質」, (社)日本食品衛生協会平成20年度・シンポジウム“健康と化学物質”(2009.2, 2009.3)
- 小島 肇, 「REACH対応と動物実験代替」, 第128回フレグランスジャーナルセミナー(2008.5)

増村 健一, 「*gpt delta* Transgenic rodents mutation assays: molecular analysis of intrachromosomal deletions and base substitutions induced by environmental mutagens」, マサチューセッツ工科大学生物工学科セミナー (2008. 9)

広瀬明彦, 「器具・容器包装に用いられる合成樹脂のリスク評価法に関する研究」 食品安全委員会とともに考える～食のグローバル化 みんなで守ろう食の安全～, 食品安全委員会5周年記念研究成果合同発表会, 食品安全委員会 (2008.9)

広瀬明彦, 「器具・容器包装に用いられる合成樹脂のリスク評価法に関する研究」, ポリオレフィン等衛生協議会 (2008.9)

広瀬明彦, 「カーボンナノチューブ等ナノファイバーと中皮腫」, 第44回公開講演会 ナノ粒子の健康影響評価の視点と対策, ナノ粒子研究会 (2008.9)

広瀬明彦, 「産業用ナノ物質の健康影響評価について」, 第15回免疫毒性学会シンポジウム1「ナノ粒子の生体影響」 (2008.9)

広瀬明彦, 「化学物質のリスク」, 保健物理学会シンポジウム 低線量放射線による生物影響の最前線, 保健物理学会 (2008.10)

平成20年度特別講演会演題

講師名	所属	講演名	講演日	担当部	備考
刀禰 正英	Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Pennsylvania	制御性T細胞の機能ならびに分化に関する転写因子	平成20年5月22日	医薬安全科学部	
松村 文夫	Department of Environmental Toxicology, University of California Davis	Ah受容体とヒトの健康：不可解なダイオキシン受容体は健康に影響をおよぼすのであろうか	平成20年9月3日	環境衛生化学部	
Dr. Sun Hee Park (パクソンヒ科長)	韓国食品医薬品安全庁 (KFDA) 危害基準科	韓国における食品の安全管理－組換え食品の安全性評価と表示を中心に－	平成20年11月5日	代謝生化学部	
伊藤 美千穂	京都大学大学院薬学研究科 薬品資源学分野	フィールドワークを軸とする精油に関する四方山話－基原・薬理・生合成－	平成20年12月16日	生薬部	
寺井 崇二	山口大学大学院医学系研究科消化器病態内科分野	肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法について	平成20年12月25日	療品部	
宮島 篤	東京大学分子細胞生物学研究所	肝臓の再生について	平成20年12月25日	療品部	
土屋 利江	療品部長	国立衛生試験所から国立医薬品食品衛生研究所へ変化する研究と生きている環境	平成21年3月2日	総務部	
棚元 憲一	食品添加物部長	食品添加物行政研究に携わって－安全性確保に向けての取り組み－	〃	〃	
澤田 純一	機能生化学部長	免疫から、遺伝子組換え、ゲノム薬理へ	〃	〃	

平成20年度に行った主な研究課題

Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2008

特別研究 (厚生労働省)

1. 発生・分化・成育を規定する因子と医薬品等の影響評価に関する研究 (生物, 遺細, 療品, 環境, 食品, 有機, 機能, 代謝, 医安, 毒性, 薬理, 病理)
Evaluation of functional interactions of pharmaceuticals and chemicals with factors determining growth, development or differentiation

国立機関原子力試験研究費 (文部科学省)

1. γ 線照射を利用した高分子分解速度制御型タンパク質放出制御剤の調製法の開発とその評価に関する研究 (薬品)
Preparation of controlled release formulations for proteins by γ -irradiation and evaluation of their functional stability
2. 化学物質の作用を勘案した放射線生物影響評価法の開発に関する研究 (変異)
Development of methods to evaluate the biological effects of radiation in the presence of chemical exposure
3. ラジオイムノセラピーに適した放射線増感剤-抗体コンジュゲートに関する研究 (生物, 有機)
Studies on radiosensitizer-antibody conjugates optimized for radioimmunotherapy
4. 神経変性疾患の放射標識抗体を用いた非侵襲性診断に関する研究 (代謝, 衛微)
Study of non-invasive diagnosis for neurodegenerative disease with RI-labeled antibody
5. 放射線と化学物質の酸化的障害発現マーカープロファイリングの比較探索 (センター長, 毒性)
Study on comparative expression profiling for specific biomarkers between oxidative stresses from ionizing radiation and chemical compounds
6. PET薬剤の固相合成システムの確立と実用化 (有機)
Solid-phase Synthesis of PET Drugs

科学技術振興調整費 (文部科学省)

(生活・社会基盤研究のうち生活者ニーズ対応研究)

1. 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

地球環境保全等試験研究費 (環境省)

1. 非病原性細菌の感染症発症を誘導する要因としての内分泌かく乱物質の作用に関する研究 (衛微)
Influence of endocrine disrupting chemicals on non-

pathogenic bacteria-induced infectious diseases

2. 環境リスク対策の基盤整備としての化学物質トキシコゲノミクス研究 (毒性)
Chemical toxicogenomics study as the basic research to support for the environmental risk assessment
3. 環境中微量汚染物質による神経系発達への影響評価に関する研究 (環境)
Study of effect on developing nervous system by micropollutant in the environment.
4. 環境化学物質の生殖細胞に対する遺伝毒性リスク評価法の開発に関する研究 (変異)
Development of a method to evaluate genotoxic risk of environmental chemicals on germ cells
5. 水道水源への人用医薬品等に由来する微量化学物質の排出状況および存在状況と制御方法に関する研究 (環境)
Researches on existence of physiologically active substances in the drinking water sources and control by drinking water treatments

厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働省)

1. 国際的動向を踏まえた食品添加物の規格, 基準の向上に関する調査研究 (環境, 食添)
Studies on the improvement of the specifications and standards of food additives based on international standards
2. 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
3. 食品用器具・容器包装, 乳幼児用玩具及び洗浄剤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, baby toys and detergents
4. 新しい無菌医薬品製造技術の無菌性評価に関する研究 (食添)
Studies on the aseptic evaluation of new technology for the production of sterilized drugs
5. 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
6. 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
7. 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, 衛微, 変異)
Studies on safety assessment of antimicrobial-treated

- products and their product information delivery system
8. 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究 (副所長, 薬理)
Studies on development and utilization for alternatives to animal testing and experimentation
 9. 化学物質リスク評価法の国際的バリデーションに関する研究 (副所長・薬理, 評価)
Studies on international validation study on risk evaluation for chemicals
 10. 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
 11. タンパク質及び核酸含有製剤の高感度安定性評価法の確立に関する研究 (薬品)
Study on high sensitive method for stability evaluation of protein and nucleic acid formulations
 12. 医薬品を巡る環境の変化に対応した日本薬局方の改正のための研究 (薬品, 生物)
Studies for Revision of Japanese Pharmacopoeia Corresponding to Changes in the Environments Relating to Pharmaceuticals
 13. 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究 (環境, 医安, 評価)
Integrated research on water quality risk management of the drinking water
 14. 形態形成期・思春期などの高感受性期にある集団での核内受容体作動性化学物質等の有害性発現メカニズムの解明及びその評価手法にかかる総合研究 (センター長, 毒性)
Project research on the mechanism of adverse effect of chemicals transmitted through nuclear receptors in sensitive subgroups or groups in sensitive developing stages and pubertal stages with respect to their toxicological evaluation methods
 15. 食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究 (衛微)
Evaluation study of toxicity and exposure of mycotoxin in food
 16. 動物用医薬品の発がん過程における酸化ストレスの関与 (病理)
Participation of oxidative stress in carcinogenesis induced by animal medicine
 17. 食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究 (食管, 情報)
Research on the effective use of information on food safety
 18. 放射線照射食品の検知技術に関する研究 (食品)
Study on detection methods for irradiated foods
 19. 食品中の有害物質等の摂取量の調査及び評価に関する研究 (食品)
Studies on evaluation of toxic compounds in foods
 20. 化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発, 高度化に関する研究 (毒性)
Studies on the development and improvement of inhalation toxicity methods
 21. 環境化学物質の発がん性遺伝毒性に関する検索法の確立と閾値の検討 (病理, 変異)
Establishment of methods for predicting carcinogenicity and/or mutagenicity of environmental chemicals and investigation of their thresholds
 22. 遺伝子組換え医薬品等のプリオン安全性確保のための検出手法の標準化及びプリオン除去工程評価への適応に関する研究 (生物, 衛微)
Standardization of detection methods for prion^{scr} in recombinant protein products
 23. HIV感染を阻害するシュードプロテオグリカン型薬剤の作用メカニズム (生物, 食添)
Studies on the mechanism of the inhibitory activity of HIV infection by pseudoproteoglycan
 24. 生薬及び漢方処方方の有用性評価手法・安全性確保と国際調和に関する研究 (生薬)
Studies on evaluating the effectiveness, ensuring the safety and international harmonization of crude drugs and Kampo formulation
 25. 「専ら医薬品としての規制の範囲に関する研究」(生薬)
Studies on the borderline to the raw materials which are exclusively used as pharmaceuticals
 26. 違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究 (生薬, 有機)
Studies on abuse of non-controlled psychotropic substances based on drug dependency
 27. 医薬品等の品質・安全性に係る国際的動向を踏まえた評価に関する研究 (薬品, 生物, 遺細)
Evaluation of quality and safety in pharmaceuticals for international harmonization
 28. 化学物質, 特に家庭内の化学物質の暴露評価手法に関する研究 (環境)
Studies for exposure assessment of chemical substances in domestic place of residence
 29. 食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究 (食品)

- Studies on pesticide residue levels in foods and the assessment of acute exposure to pesticides
30. 食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の精密化に関する研究 (食品)
Studies on finezation of risk management technique for residual pesticide in foods
31. ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究 (食品)
Studies on dioxin and other toxic chemical compound levels in food
32. アレルギー性疾患の発症・進展・重症化の予防に関する研究 (代謝)
Study on development, advance and prevention for allergy
33. 食品における微生物迅速検査法の開発及びその評価システムに関する研究 (食管)
Development of rapid detection methods for food-borne pathogens in food, and studies on a validation system for rapid method
34. 薬剤耐性食中毒菌サーベイランスに関する研究 (食管)
Studies on surveillance of antimicrobial resistance of food-borne bacteria
35. 食品によるバイオテロの危険性に関する研究 (食管)
Study for the risk of bio-terrorism in food
36. 医薬品製造開発・承認審査の確実かつ効率的なプロセス構築に関する研究 (薬品, 有機)
Studies on construction of reliable and effective process for developing, manufacturing, reviewing pharmaceuticals
37. モダンバイオテクノロジー応用食品の安全性確保に関する研究 (所長, 代謝)
Studies on the safety assessment of food derived from modern-biotechnology
38. 化学物質安全性情報の収集と発信に関する研究 (情報)
Research on the collection and transmission of information on chemical safety
39. 重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究 (機能, 医安)
Exploratory studies on biomarkers related to severe cutaneous adverse drug reactions
40. 化学物質暴露によるマウス神経行動毒性に関する研究 (毒性)
Neurobehavioral toxicity induced by chemical exposure in male mice
41. 脳形成・発達過程における神経伝達物質シグナルの外因性かく乱による脳障害に関する研究 (毒性)
Impairment of brain development induced by disturbance of neurotransmitter systems in mice
42. 化学物質リスク評価の基盤整備におけるトキシコゲノミクスの利用に関する研究－反復暴露影響及び多臓器連関性 (発達過程を含む) に重点を置いた解析研究 (センター長, 毒性, 変異)
Basic studies for the application of toxicogenomics to the risk assessment of chemicals – Analysis focused on the effects of repetitive dosing and associated responses of multiple tissues including developmental stage –
43. 食品中の遺伝毒性を有する有害物質のリスク管理に資する総合研究 (薬理, 変異, 病理)
Multidisciplinary research for risk management of genotoxic substances in foods
44. 食品中化学物質の複合毒性に関する実験的研究 (病理)
Experimental studies on combined toxicity of chemicals in foods
45. 食品添加物等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)
Studies for strategy construction to evaluate genotoxicity of food additives
46. 化学物質リスク評価における (定量的) 構造活性相関((Q)SAR)に関する研究 (変異, 評価)
Studies for (quantitative) structure-activity relationship, QSAR, on chemical risk evaluation
47. ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害評価および体内動態評価に関する基盤研究 (環境, 機能, 毒性, 薬理, 変異, 評価)
Research on hazard characterization and toxico-kinetic analysis of the manufactured nanomaterials for the establishment of health risk assessment methodology
48. 高感受性集団に於ける化学物質の有害発現メカニズムの解明及び評価手法開発にかかる総合研究 (センター長, 毒性, 評価)
Studies on mechanism and evaluation method for adverse effects of chemicals in highly susceptible population
49. 癌遺伝子の増幅メカニズムに関する研究 (遺細)
Research for amplification mechanism of oncogenes
50. 医療機器・医用材料のリスクアセスメント手法開発に関する研究 (療品)
Research for improving risk assessment applicable to medical devices and biomaterials
51. 細菌性食中毒の防止対策に関する研究 (食管, 衛微)
Studies on prevention measures of bacterial food borne diseases
52. カビ毒を含む食品の安全性に関する研究 (衛微)
Studies on the safety of foods containing mycotoxins

53. 公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究 (環境)
Studies on the disinfection of Legionella in public bath facilities
54. ナノマテリアルの経皮毒性に関する評価手法の開発に関する研究 (環境)
Studies on the development of the evaluation method for dermal toxicity of nanomaterials
55. 水道水異臭被害を及ぼす原因物質の同定・評価および低減技術に関する研究 (環境)
Identification and evaluation of the original compounds of the tap water off-flavor damage and research on the reduction technique
56. 飲料水に係る健康危機の適性管理手法の開発に関する研究 (環境)
Research on the development of the proper management technique of the healthy crisis which concerns drinking water
57. 冷凍食品の安全性確保に関する研究 (食管)
Study on the safety of frozen foods
58. 食品製造における食中毒菌汚染防止のための高度衛生管理に関する研究 (食管)
Study on prevention of bacterial food-borne infections
59. 食品中のウイルスの制御に関する研究 (食管)
Study on food-borne viral disease control
60. 乱用薬物の分析・同定に関する研究 (生薬, 有機)
Development of analytical methods for illegal drugs
61. 国際的整合性を目指す医薬品等の品質, 有効性及び安全性に関する研究 (副所長, センター長, 有機, 毒性, 薬理, 変異, 病理)
Study on the technical requirements of pharmaceutical quality, efficacy, and safety in the international harmonization of the mutual registration
62. 非食用バイオテクノロジー応用生物の食品への混入危害防止に関する安全性確保のための研究 (食管, 代謝)
63. 国際連携ネットワークを活用した健康危機管理体制構築に関する研究 (情報)
Research on the development of the system for Health Crisis Management and the International cooperation network
64. 再生医療実用化に向けた細胞組織加工医薬品の安全性・品質等の確保に関する基盤技術開発研究 (生物, 遺細)
Fundamental studies on safety and quality of cellular and tissue-based products
65. 血液製剤の安全性確保のための技術開発と標準化及び血液製剤の精度管理法の開発に関する研究 (生物)
Development and standarsation of new technology for safety of blood products
66. フィブリノゲン製剤等の納入先医療機関における製剤の使用実態及び当該製剤を使用した患者における肝炎ウイルス感染等の実態に関する研究 (生物)
Research for Administration data of Fibrinogen products in medicinal institutions and for infection of Hepatitis viruses in patients
67. ナノ物質等を配合した化粧品及び医薬品部外品の安全性及び品質確保に係わる試験法に関する研究 (環境)
Studies on the evaluation methods related to safety and quality of cosmetics and quasi drugs added nanomaterials
68. 食品の規格基準に係わる測定値に伴う不確かさに関する研究 (食品, 衛微)
Studies on the uncertainty of analytical measurement concerning standards of foods
69. 検査におけるサンプリング計画並びに手順のハーモナイゼーションに関する研究 (食品)
Study on the harmonization of sampling plans and procedures in inspection.
70. 既存添加物の有効性と品質を確保するための規格試験法の開発 (食添, 環境)
Development of evaluation methods for efficacy and quality of natural food additives in Japan
71. 既存添加物・褐色系フラボノイド色素群の化学構造の解明 (食添)
Studies on chemical structures of flavonoid brown pigments in food additives
72. 食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究 (食管, 衛微)
Studies on control methods and these precision management for foodborne pathogens
73. 食品中の毒素産生食中毒細菌および毒素の直接試験法の研究 (食管, 衛微)
Study on detection methods for toxin-producing food borne pathogens or toxin in food
74. 食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究 (食管)
Study for improving foodborne disease investigation methods
75. 清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究 (衛微)
Study on microbial contamination in soft drinks
76. 科学的知見に基づく食品表示に関する研究(代謝)
Study on food labeling based on the scientific information
77. 食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあ

- り方に関する研究 (代謝)
Study on the method for detecting GM food according to Food Sanitary law
78. 自然毒のリスクプロファイル作成を目指した調査研究 (代謝)
Studies on risk profile of natural toxins
79. 化学物質管理における世界戦略へ対応するための法規制等基盤整備に関する調査研究 (情報)
Research on infrastructure development in regulations for international strategy on chemical management
80. 医薬品による有害事象の発生における個人差の要因に関する研究 (医安)
Research on inter-individual differences in adverse drug reactions
81. ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法に関する総合研究 (毒性, 病理, 評価)
Comprehensive research on human health risk assessment methodology of nanomaterials
82. 生体内埋設型医療機器の素材に係わる生物学的な安全性評価に関する研究- 発がん性を主体とした再評価と国際調和- (毒性)
Studies on risk assessment for biomaterials of surgical implants - Reevaluation of tumorigenicity and international harmonization-
83. 微生物産生毒素のハイリスクグループへの慢性的な健康影響に関する研究 (病理)
Studies on chronic effects of microorganism-producing toxins on high risk groups using animal models
- 社会保障国際協力推進研究事業 (厚生労働省)**
1. 環境中の疾病要因の検索とその作用機構の解明に関する研究 (遺細)
Identification of environmental risk factors for diseases and elucidation of its mechanism of action
- 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 metamer pattern formation in somitogenesis
- (若手研究A)**
1. 加齢に伴うマウス脳構造変化と脳機能の相関 (毒性)
Successful brain development and aging in male mice
- (若手研究B)**
1. 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
2. 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
3. 糖鎖プロセッシング酵素を分子標的とする創薬探索 (有機)
Oligosaccharide Processing Enzymes as Molecular Targets for Drug Discovery
4. 生体試料中フラーレン類の高感度測定法の開発と健康影響評価 (環境)
Development of sensitive analytical method of fullerenes in the biological sample and assessment of health effects
5. ネガティブシグナルを誘導する抗アレルギー性IgEの開発 (代謝)
Development of anti-allergic IgE depending on a negative signaling
6. 多次元HPLCシステムを利用した食物アレルギー原因物質の抗原性解析 (代謝)
Antigenic analysis of the food allergen using multidimensional HPLC system
7. ヒトリンパ球細胞TK6のゲノム内に導入させたDNA付加体の突然変異誘発機構 (変異)
Mutation mechanism of a single DNA adduct embedded in human genome of TK6 cells.
8. 腸管免疫系の発生・発達と腸内細菌の相互作用 (食管)
Intestinal immune system: its development and interaction with intestinal bacteria
9. ヒト間葉系幹細胞の糖鎖を指標とした神経分化能評価技術の開発に関する研究 (生物)
Study on neural differentiation of human mesenchymal stem cells based on glycans
10. 信頼性の高い手術支援システム構築に向けた外科医の技量評価に関する人間工学的研究 (療品)
Development of a surgical navigation system utilizing ergonomic evaluation
11. Spred/Sproutyの血管およびリンパ管新生における機能 (療品)
Studies on the function of Spred/Sprouty involved in angiogenesis and lymphangiogenesis
12. TLR4シグナル阻害ペプチドを用いた感染認識機構の解析および敗血症治療薬への応用 (衛微)
Analysis of mechanism for the detection of infection and the clinical application of therapeutic reagent for sepsis using a peptide that inhibits TLR4 signaling

13. リムルス試験を用いたミネラルウォーター類水源における細菌汚染評価法の確立 (衛微)
Evaluation of bacterial contamination in mineral water utilizing limulus test
14. 神経軸索におけるABCA1の役割と活性制御機構の解明 (機能)
The function and regulation of ABCA1 in neurite
(若手スタートアップ)
- 糸状菌III型ポリケタイド合成酵素の機能および構造解析 (生薬)
Functional and structural analyses of type III polyketide synthases from filamentous fungi
- (一般C)**
- 食品を汚染する複数のカビ毒による健康被害と防御法に関する研究 (衛微)
Study of mycotoxin on adverse health effect and prevention strategies
- 科学研究費補助金 (日本学術振興会)**
- (基盤A)**
- 遺伝毒性物質の閾値形成におけるトランスレージョンDNA合成の役割に関する研究 (変異)
Studies on the role of translesion DNA synthesis in threshold generated by genotoxic compounds
 - 科学を基礎とした食品安全行政/リスクアナリシスの課題とそれを支える専門職業、職業倫理の確立 (食管)
Study on the current challenges in science-based food safety management/risk analysis and on the supporting system in profession education and ethics
- (基盤B)**
- 環境中アレルゲンの一次構造並びに高次構造を認識する高感度エピトープ解析手法の開発 (代謝)
Development of high sensitive analyzing methods for linear- and conformational-epitope of environmental allergens
 - エキソソームの形成機構と機能に関する研究 (所長)
Study on the formation and function of exosomes
 - フェノール性抗酸化剤をテンプレートとした生活習慣病の予防および治療薬の開発 (有機)
Studies on natural antioxidant derivatives with enhanced radical-scavenging and reduced prooxidant activities
- (基盤C)**
- 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
 - ズノー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
- 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
 - デノボ設計によるノンセコ型ビタミンDレセプターリガンドの創成 (有機)
Design and synthesis of new ligands accessible to vitamin D receptor
 - 体節形成における分子時計の進行波と定常波の関係の分子遺伝学的解析 (毒性)
Molecular genetic analysis of traveling wave and constant wave of segmentation clock
 - グライコミクス及びプロテオミクスの手法を用いたバイオマーカーの探索に関する研究 (生物)
Glycomic and proteomic approaches to the search of biomarker of cancer
 - カロテノイド摂取による食物アレルギー感作成立の抑制に関する研究 (代謝)
Study on the inhibition of food allergy sensitization by carotenoid intake
 - 特異な脂肪酸による神経細胞のプログラム細胞死に関する研究 (代謝)
Studies on programmed cell death induced by conjugated fatty acids in neuronal cells
 - アリールハイドロカーボン受容体の造血前駆細胞における生物作用と毒性発現機構 (センター長)
Biological function of aryl hydrocarbon receptors in the hematopoietic progenitor cells with respect to a possible toxicologic mechanism
 - 生活関連化学物質の皮膚感作性等のインビトロ評価法に関する研究 (環境)
Studies for in vitro evaluation of skin sensitization of chemical substances in the living environment
 - 遺伝子コピー数多型に基づく薬物動態関連遺伝子の日本人における個人差解析法の開発 (薬理)
Development of assay systems to measure copy number variations of drug metabolism enzyme relation genes in Japanese population
 - ヒト間葉系幹細胞を用いたサリドマイド誘発奇形の分子基盤の解明 (毒性)
Studies on molecular mechanisms of thalidomide-induced teratogenesis using human mesenchymal stem cells
 - イヌアレルゲンの性状分析を通じてのイヌアレルギーのリスク評価とその制御法開発 (衛微)
Risk assessment of dog allergy through analysis of prop-

- erties of dog allergens, and regulation of dog allergy
14. 調理・加工による食品中有害物質のデトックス法と新しい安全性評価法の構築 (衛微)
New approach for detoxication of mycotoxins in foods and the evaluation of the methods
15. Fc受容体との相互作用に着目したTNF阻害抗体医薬の生物学的特性に関する研究 (生物)
Fc receptor-related biological properties of anti-TNF antibody pharmaceuticals
16. 室内環境中のカルボニル化合物によるTRPイオンチャネルの活性化に関する研究 (環境)
Study on the activation of TRP ion channels by carbonyl compounds in residential environment
17. マイクロRNAによる薬物トランスポーターの発現制御と遺伝子多型影響の解明 (機能)
Influence of genetic polymorphisms on transcriptional regulation of drug transporters by microRNA.
- (二国間交流事業)
1. プロテオーム解析を用いたインド産植物ギムネマの抗糖尿病作用メカニズムの解析 (遺細)
Screening and characterization of active constituents from an antidiabetic plant *Gymnema montanum* and its pharmacological evaluation using genomic and proteomic approach
2. 生体異物相互作用の場としてのいわゆる造血幹細胞ニッチを介した活性酸素障害発現機構 (毒性)
Mechanism of functional impairment of the hematopoietic stem cell niches by oxidative stress in the site of xenobiotic interrelationship
3. 樹立ヒト肝前駆細胞株HepaRGを用いたヒト肝幹細胞の機能維持・分化の機構解明 (薬理)
Molecular mechanism of human hepatic progenitor cell proliferation and differentiation HepaRG cell line
- がん研究助成金 (厚生労働省)
1. 個体レベルでの発がん予知と予防に関する基盤的研究 (変異)
Basic research on prediction and prevention of cancer with whole animals
2. 細胞を用いたがん治療感受性予測法に関するゲノム解析研究 (遺細)
Genomic analysis for prediction of sensitivity towards cancer therapy
- 食品等試験検査費 (厚生労働省)
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. 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)
3. 食品等の規格基準の設定等に係る試験検査 (衛微)
Studies for establishment of standards and specifications on foods
4. 食品中の食品添加物分析法の設定 (食添)
Establishment of analytical methods for food additives in foods
5. 食品添加物一日摂取量調査 (食添)
Estimation of daily intake of food additives
6. 既存添加物の成分規格の設定 (食添)
Research on specifications and standards of natural food additives
7. 器具・容器包装等の規格基準に関する検討 (食添)
Studies on specifications and standards for utensils, packages, etc
8. 遺伝子組換え食品の検査法の外部精度管理について (代謝)
Proficiency test for the detection methods of genetically modified foods
9. 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)
10. 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
11. 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)
Standardization of analytical methods for drinking water
12. 食品中の汚染物質の一日摂取量調査 (食品)
Estimation of daily intake of contaminants in foods
13. 食品中の汚染物質に係る試験法の開発及び実態調査 (食品)
Development of test methods for contaminants in foods and actual survey of the food contaminants
14. 食品中の汚染物質に関する試験法の見直し検討 (食品)
Studies on the revision of test methods for contaminants in foods
15. 国際的に汎用されている添加物の指定に向けた調査

研究等 (食添)

Research on specifications and standards of the food additives used internationally toward the designation

16. 水道水質検査の精度管理に関する研究 (環境)

Research on the quality control in drinking water examination

17. 食品添加物の規格基準の設定及び改良並びに製造基準の改良等 (食添)

Establishment and improvement of specifications and standards of food additives

18. 食品中のかび毒に係る試験検査 (衛微)

Development of analytical method for determination of mycotoxins in food

19. かび毒リスクプロファイル作成 (衛微)

Creation of risk profile for mycotoxins

20. 平成17年度かび毒同時試験法開発及び分布調査 (衛微)

Development of simultaneous determination of mycotoxins and surveillance

21. 食品中の汚染物質等の一日摂取量調査 (衛微)

Estimation of daily intake of mycotoxin

22. 網で無分別に捕獲した魚介類に含まれるエビ・カニに関する調査 (代謝)

Survey of shrimps and crabs in fish and shellfish caught by net without distinction

23. 未指定添加物等対策 (食添)

Research on unspecified additives

24. 健康食品のトランスジェニックラットを用いた遺伝子突然変異原性試験 (毒性)

Transgenic rat mutation assays of an ingredient in a health food

25. 食品添加物安全性再評価費・90日間投与試験 (ラット) (没食子酸, ツヤブリシン) (病理)

Ninety-days toxicity studies of natural food additives in rat (Gallic acid, Thujaplicin)

26. 第9版食品添加物公定書策定に向けた一般試験法等の検討 (食添)

Studies on general tests for Japan's Specifications and Standards for Food Additives, 9th edition

27. 残留農薬等に関するポジティブリスト制度導入に係る分析法開発 (食品)

Development of official analytical methods for the introduction of the positive list system for agricultural chemical residues in foods

28. 加工食品中の残留農薬等に関する分析法開発 (食品)

Development of analytical methods for agricultural chemical residues in processed food

29. ノロウイルス不活化条件に関する調査 (食管)

Study on inactivation of norovirus

30. クローン動物由来食品の安全性等に関する文献収集調査 (情報)

Studies on information for risk assessment for animal cloning

31. 放射線照射された食品を対象とした検知法に関する検証 (食品)

Verification of the detection methods for irradiated foods

32. 輸入食品への化学物質等の混入を踏まえた緊急調査 (食品)

Surveillance of chemical contaminants in imported foods

33. 構造活性相関に基づく食品香料化合物の安全性予測調査 (食添, 変異, 評価)

Study on safety prediction of food flavoring agents on the basis of structure activity relationship

34. 平成20年度 食中毒菌汚染実態調査の検査法に係る調査 (衛微)

H2O Studies on detection method for pathogenic bacteria in food in Japan

35. 安全性未承認GM食品監視対策 (代謝)

Study of unauthorized genetically modified foods for monitoring

36. 輸出国における農薬等の使用状況等調査 (情報)

Studies on the use of pesticides and veterinary drugs in exporting countries

37. 既存添加物の安全性に関する試験 (毒性)

Toxicity studies of designated food additives

38. トキシコゲノミクス手法を用いた食品添加物の安全性確認に資する研究 (毒性)

Studies on safety evaluation for food additives by using toxicogenomics technology and related basic research

家庭用品等試験検査費 (厚生労働省)

1. 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

2. 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

3. 既存化学物質の安全性試験 (二世代繁殖毒性試験) (評価)

Two-generation reproductive toxicity study of 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane in rats

4. 有害物質含有家庭用品の規制基準に関する試験検査 (療品)

Studies for the control of household products containing harmful substances

5. 家庭用品による健康被害防止に関する試験検査(療品)
Studies on the prevention of health hazards due to household products
6. 家庭用品からの揮発性有機化合物(VOC)放散に関する研究(環境)
Studies on the emission of volatile organic compounds from household products
- 厚生労働本省医薬品等審査業務庁費(厚生労働省医薬食品局)**
1. 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
2. 麻薬・向精神薬・指定薬物等の標準品製造に関する研究(生薬)
Preparation of the reference standards of narcotics, psychotropic drugs and designated substances for the identification
3. 医療用後発医薬品再評価品質規格設定等(溶出試験規格の設定等)(薬品)
Reevaluation of generic prescription drugs by dissolution tests and application of dissolution specifications
4. 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
5. 毒物劇物指定調査のための毒性情報の収集に関する研究(情報)
Studies on the toxicological information of poisonous and deleterious substances
6. 医薬品使用実態調査(医安)
Drug utilization study
7. 安心安全次世代医療機器開発の迅速化評価技術開発(療品)
Development of novel evaluation techniques for the accelerated development of next-generation medical devices
8. 日中韓の臨床データにおける民族的要因に関する研究(医安)
Evaluation study on ethnic diversity involving in clinical data of East Asian
9. ヘパリン製剤純度試験に関する研究(生物)
Study on purity test of heparin products
10. 化粧品成分の分析法に関する研究(環境)
Studies on the analytical methods for cosmetic ingredients
11. 医療用後発医薬品品質確保対策に係る調査(環境)
Survey for quality ascertainment of generic drugs, Chinese herbal drug, quasi drugs and cosmetics
12. タール色素等毒性試験法に関する調査研究(毒性)
Studies on safety evaluation for artificial colours by using toxicogenomics technology and related basic research
- 環境省環境保全調査費**
1. 国設自動車交通環境測定所における大気汚染測定調査(環境)
Survey of air pollutants at National Auto-exhaust Monitoring Station in Tokyo
- ヒューマンサイエンス振興財団官民共同プロジェクト(ヒューマンサイエンス基礎科学研究事業)**
1. 医薬品開発の効率化を指向したヒトCYP分子種発現細胞系を用いる新規ヒト肝薬物代謝評価系の確立(薬理)
Development of the efficient analytical methods for the drug metabolism using human CYP molecule expression system
- 政策創薬総合研究事業(旧創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業)**
1. 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
2. 食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究(衛微)
Development of new rapid detection method for food-borne pathogen and the evaluation
3. 代替毒性試験法の評価と開発に関する研究(病理, 変異)
Development and validation of alternative assays for toxicology
4. 医薬品の安全性監視と安全性監視計画立案のための医薬品安全性情報の解析, 評価に関する研究(情報)
Study on drugs safety information for pharmacovigilance by using adverse event reporting database
5. ファーマコゲノミクス情報に基づいた医薬品の有効性及び安全性評価系の開発と医薬品開発への応用(機能, 医安)
Development of pharmacogenomics-based evaluation methods for drug efficacy and safety and its application to drug development
- 保健医療分野における基礎研究推進事業(医薬基盤研究所)**
1. 抗がん剤の薬物応答予測法の開発と創薬への応用(薬

品, 環境, 機能, 医安, 薬理)

Development of the estimation methods for responsiveness to anti-cancer drugs and its application to diagnosis and novel drug development

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

社団法人日本化学工業協会・長期自主研究 (LRI)

1. v-Ha-ras遺伝子導入Bhas 42細胞を用いる発がん物質の短期アッセイ系の確立とその国際協力による評価研究 (衛微)

Establishment of a short-term detection system for carcinogenic chemicals using Bhas42 cells incorporated v-Ha-ras-gene and its international validation study

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

食品健康影響評価技術研究委託 (内閣府食品安全委員会)

1. 生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究 (食管)

Study on risk assessment of norovirus caused by consumption of oysters for raw-eating

2. vCJDリスク評価のための効果的BSEサーベイランス手法に関する研究 (食管)

Study for effective surveillance for BSE to assess the vCJD risk in Japan

3. いわゆる新開発食品等の安全性評価法の開発に資する生体反応メカニズム研究 (毒性)

Research on mechanism of biological response induced by so-called novel functional food including dietary supplement, which contributes to development of safety-evaluation methods

4. 毒性データの不確実性とヒトへの外挿法に関する研究 (医安, 病理, 変異, 評価)

Study on uncertainty of toxicity data and the extrapolation to humans

5. 腸管出血性大腸菌の牛肉を介したリスクに及ぼす要因についての解析 (衛微)

Analysis of factors related to risk of enterohemorrhagic Escherichia coli infection via beef

6. 遺伝子組換え食品等のアレルギー性・腸管免疫影響のインビトロ評価系の開発 (代謝)

Study on the development for the evaluation method of allergenicity and intestinal mucosal immunity of genetically modified foods

7. 化学物質による肝肥大誘導機序の解析を基盤とした肝発がんリスク評価系の構築 (病理)

Construction of a mechanism-based analysis to evaluate hepatocellular hypertrophy leading to liver tumors by chemicals with enzyme induction potential

8. 定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究 (食管)

Study on developing mathematical analysis methods for effective conduct and application of quantitative risk assessment

財団法人日本公定書協会研究補助金

1. 近赤外分光法を用いた医薬品の規格・基準の設定に関する研究 (薬品)

Studies on standardization for pharmaceutical quality analysis by using near-infrared spectroscopy

政策創薬総合研究事業

1. チオレドキシニンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発 (センター長, 環境, 食品, 毒性,)

Development of health supplementary drug to promote ROS scavenging anti-oxidative species, thioredoxin

2. バイオ医薬品の特性解析及び品質・安全性評価法の開発 (生物, 遺細)

Development of characterization and evaluation methods to ensure the quality and safety of biotechnology products

3. 先端技術を応用した製剤の品質確保と評価に関する研究 (薬品)

Studies on ensuring and evaluating quality of pharmaceuticals produced using state of the art technology

4. 転写制御因子ネットワークによる次世代の動脈硬化予防治療薬開発に関する基礎的研究 (遺細, 機能)

Studies on the transcriptional regulation of atherosclerosis and metabolic diseases for development of new drugs

5. 西洋ハーブ及び新一般用漢方処方構成生薬の品質確保と評価に関する研究 (生薬)

Studies on quality assurance and evaluation of western herbs and crude drugs used in OTC Kampo formulae

国立循環器病センター循環器病研究委託費

1. 細胞組織利用製品の品質・安全性評価に関する研究

(遺細)

Quality and safety evaluation of cellular and tissue-based products

国立成育医療センター成育医療研究委託費

1. 胚性幹細胞を用いた in vitro 試験法に関わる文献や国際動向の調査研究 (毒性)

Studies on the international information and standards for toxicological in vitro test using embryonic stem (ES) cells.

一般試験研究費 (基盤的研究費等試験研究費)

1. 高機能性製剤の品質確保と評価に関する研究 (薬品)
Studies on ensuring and evaluating quality of highly-functional pharmaceuticals

2. 健康食品による健康被害防止のための研究 (生薬, 代謝)
Studies on evaluation of the quality of the food supplements

3. 生体試料中における乱用薬物及び代謝物の分析法に関する研究 (生薬)
Development of analytical methods for components of non-controlled drugs and their metabolites in biological samples

4. ヒト尿を用いたプロテオーム解析によるバイオマーカーの検出 (遺細)
Biomarker discovery in human urine by proteome analysis

5. 動物モデルを用いた卵巣毒性評価法の確立と毒性発現機序に関する研究 (病理)
Studies on mechanisms and evaluation methods for ovarian toxicity using animal models

6. 酸化ストレスの発がん過程に及ぼす影響に関する研究 (病理)
Studies on involvement of oxidative stress in carcinogenesis process

7. 胎児期・新生児期化学物質曝露による新たな毒性評価手法の確立とその高度化に関する研究 (病理)
Studies on establishment of new methodology for detection of chemical induced adverse effects on offspring exposed during perinatal period

財団法人化学物質評価研究機構 (CERI) 提案型共同研究助成金

1. 医薬品生体影響評価法の確立 (環境)
Establishment of pharmaceutical ecological effects assessment methods

財団法人コスメトロジー研究振興財団補助金

1. 再構築培養皮膚および角膜を用いた遺伝毒性の評価 (薬理)
Evaluation of genotoxicity using human skin and corneal equivalent models

財団法人薬学研究奨励財団研究助成金

1. 再生心筋細胞を用いた安全性薬理評価系の開発 (薬理)
Development of safety evaluation system using cardiomyocytes derived from stem cells

注: アンダーラインは研究代表者・主任研究者が所属する部を示す

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
安全センター長	センター長
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

平成20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20年度処理件数		対前年度 増減数	対前年度 増減率
	()	件		
特 別 審 査 試 験	(0)	0	0	00.00
一 斉 取 締 試 験	(162)	135	△ 27	83.33
輸 入 食 品 検 査	(0)	0	0	00.00
合 計	(162)	135		

() 内数字は平成19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20年度特別審査試験月別件数実績表 420頁

○平成20年度一斉取締試験判定別件数実績表 420頁

平成20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	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
生物薬品部	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
衛生微生物部	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

平成20年度一斉取締試験判定別件数実績表

合 格	不 合 格	無 判 定	合 計
134	1	0	135

国立医薬品食品衛生研究所報告第 127 号人名索引 (アルファベット順)

A

Abe, Yutaka (阿部 裕) 196, 306, 319, 342
 Adachi, Reiko (安達 玲子) 98, 291, 292, 307,
 358, 359, 400, 405
 Aisaki, Kenichi (相崎 健一) 256, 294, 302, 364,
 365, 366
 Akiyama, Hiroshi (穉山 浩) 218, 244, 245, 246,
 247, 291, 292, 302,
 307, 321, 345, 356,
 357, 358, 359, 394,
 400, 405
 Akiyama, Takumi (秋山 卓美) 221, 306, 341
 Amakura, Yoshiaki (天倉 吉章) 217, 339
 Amanuma, Hiroshi (天沼 宏) 360
 Amanuma, Kimiko (天沼 喜美子) 359, 377, 405
 Asakura, Hiroshi (朝倉 宏) 224, 225, 284, 285
 Ashizawa, Kazuhide (芦澤 一英) 359, 405
 Aso, Yukio (阿曾 幸男) 182, 312, 392, 395,
 398

C

Cho, Young-Man (曹 永晩) 269, 270, 370, 371,
 372, 373
 Chung, Mi Hwa (鄭 美和) 200, 322, 323

D

Demizu, Yosuke (出水 庸介) 237, 238, 239, 352,
 353, 354

F

Fukuhara, Kiyoshi (福原 潔) 190, 214, 236, 324,
 350, 351, 352, 371,
 372, 395
 Fukushima-Uesaka, Hiromi (福島 (上坂) 浩実) 242, 354
 Furukawa, Yoko (古川 容子) 332, 333
 Furusho, Noriko (古庄 紀子) 220, 305, 306
 Furuta, Birei (古田 美玲) 315, 316, 317, 326

G

Goda, Yukihiro (合田 幸広) 117, 190, 192, 193,

194, 195, 196, 197,
 200, 201, 202, 203,
 236, 278, 279, 280,
 300, 303, 318, 319,
 320, 321, 323, 324,
 325, 352, 368, 380,
 392, 393, 394, 395,
 396, 397, 402

Gruz, Petr (ピーター グルーズ) 270, 374, 376

H

Hachisuka, Akiko (蜂須賀 暁子) 26, 187, 244, 291
 Haishima, Yuji (齧島 由二) 190, 193, 194, 202,
 213, 224, 303, 319,
 320, 327, 328, 329,
 331, 392, 393, 394,
 395

Hakamatsuka, Takashi (袴塚 高志) 197, 198, 280, 319,
 320, 321, 392

Harakawa, Noriko (原川 則子) 355
 Harashima, Mizuho (原島 瑞) 279
 Harazono, Akira (原園 景) 188, 189, 191, 318
 Hasegawa, Ryuichi (長谷川 隆一) 1, 94, 148, 243,
 249, 250, 293, 301,
 307, 354, 355, 360,
 361, 362, 393, 394,
 395

Hasegawa, Chie (長谷川 千恵) 213, 327, 328
 Hashii, Noritaka (橋井 則貴) 187, 188, 189, 190,
 191, 279, 300, 303,
 316, 317, 318

Hayashi, Yuzuru (林 譲) 251, 293, 360, 362,
 394, 395

Hirabayashi, Yoko (平林 容子) 253, 254, 255, 295,
 302, 364, 366, 367,
 392, 405

Hirata-Koizumi, Mutsuko (平田 睦子) 272, 273, 274, 308,
 335, 360, 377

Hirose, Akihiko (広瀬 明彦) 15, 65, 168, 243,
 256, 272, 273, 274,
 297, 298, 299, 306,
 308, 335, 336, 337,
 360, 364, 372, 377,
 387, 388, 389, 390,

392, 393, 394, 396,
401, 405, 406
Hiyama, Yukio (檜山 行雄) 181, 183, 184, 278,
312, 313, 314, 379,
392, 395, 398, 401
Honma, Masamitsu (本間 正充) 270, 296, 297, 306,
327, 369, 373, 374,
375, 376, 392, 393,
394, 395, 396
Hori, Tamaki (堀 環) 173, 367
Hosoe, Junko (細江 潤子) 195, 319, 320
Hotate, Hitomi (保立 仁美) 180, 310
Hyuga, Masashi (日向 昌司) 190, 191, 279, 315,
316, 318, 395

I

Igarashi, Katsuhide (五十嵐 勝秀) 253, 256, 268, 294,
302, 364, 365, 366
Igimi, Shizunobu (五十君 静信) 223, 224, 225, 284,
285, 286, 301, 306,
342, 343, 381, 392,
394, 396, 399, 400,
403
Ikarashi, Yoshiaki (五十嵐 良明) 50, 54, 62, 214,
260, 304, 333, 334,
368, 369, 393, 394,
395
Ikeda, Megumi (池田 恵) 374
Imai, Toshio (今井 俊夫) 100, 262, 269, 270,
273, 368, 370, 371,
372, 375, 376, 377,
387, 392, 393, 394,
396
Inoue, Kaoru (井上 薫) 239, 267, 268, 308,
370, 371, 372, 373
Inoue, Tohru (井上 達) 152, 253, 254, 255,
293, 294, 295, 302,
308, 364, 366, 367,
392, 393, 394, 395
Inoue, Tomoki (井上 知紀) 261, 263, 264, 265,
370, 371, 372, 374,
376
Isama, Kazuo (伊佐間 和郎) 69, 206, 300, 304,
327, 328, 331, 395,
402
Ishida, Seiichi (石田 誠一) 259, 261, 367, 392
Ishii, Yuji (石井 雄二) 261, 263, 264, 265,

266, 308, 370, 371,
372
Ishii-Watabe, Akiko (石井 明子) 97, 189, 279, 300,
310, 315, 316, 317,
318, 392, 395
Ishii, Junko (石井 絢子) 335
Ishikawa, Itaru (石川 格) 213, 304, 330, 393
Ishikawa, Tsuyoshi (石川 烈) 208, 329, 330, 363
Ishiwata, Kazuya (石渡 和也) 361
Ishizuka, Nahoko (石塚 菜穂子) 339
Ishizuki, Kyoko (石附 京子) 341
Ito, Yusai (伊藤 裕才) 306, 341, 399
Itoh, Satsuki (伊藤 さつき) 187, 188, 189, 190,
191, 279, 300, 316,
317, 318
Itoh, Yoshinori (伊藤 嘉典) 226, 230, 344, 346
Iwashita, Keiko (岩下 恵子) 198, 199, 280, 321
Izutsu, Ken-ichi (伊豆津 健一) 180, 181, 277, 310,
311, 395

J

Jinno, Hideto (神野 透人) 304, 331, 332, 333,
392, 395
Jung, Yeon-Suk (鄭 連淑) 39, 329

K

Kajikawa, Akinobu (梶川 揚申) 224, 343
Kamakura, Hiroyuki (鎌倉 浩之) 196, 197, 201, 202,
279, 303, 319, 321
Kamata, Eiichi (鎌田 栄一) 272, 273, 274, 299,
306, 308, 377, 392,
393, 396
Kamata, Yoichi (鎌田 洋一) 235, 284, 288, 307,
346, 347, 349, 382,
400
Kanayasu-Toyoda, Toshie (豊田 淑江) 97, 315, 316, 317,
318, 326
Kanda, Yasunari (諫田 泰成) 259, 367
Kaneko, Toyozo (金子 豊蔵) 254, 366, 369
Kaniwa, Nahoko (鹿庭 なほ子) 1, 241, 242, 250,
251, 293, 310, 354,
355, 361, 362, 392,
401
Kaniwa, Masaaki (鹿庭 正昭) 206, 328, 392, 397,
402
Kanno, Jun (菅野 純) 15, 99, 154, 243,

	253, 254, 255, 256, 257, 258, 268, 294, 302, 307, 308, 336, 364, 365, 366, 367, 392, 393, 394, 395, 396, 405		
Kasuga, Fumiko (春日 文子)	226, 248, 287, 343, 344, 360, 382, 392, 394, 395, 396, 397, 400, 403, 404		
Katafuchi, Atsushi (片渕 淳)	270, 374, 375		
Kato, Kumiko (加藤 くみ子)	184, 185, 314, 315		
Kato, Reiko (加藤 玲子)	210, 213, 304, 329, 393, 394		
Katori, Noriko (香取 典子)	242, 310, 311, 392, 395, 398		
Kawahara, Nobuo (川原 信夫)	190, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 201, 202, 280, 319, 320, 321, 324, 325, 380, 395, 397, 402		
Kawakami, Tsuyoshi (河上 強志)	206, 207, 208, 304, 328, 329		
Kawamura, Maiko (河村 麻衣子)	201, 202, 323, 324		
Kawamura, Yoko (河村 葉子)	133, 219, 220, 221, 284, 301, 306, 340, 341, 342, 381, 392, 394, 396, 397, 399, 403		
Kawanishi, Toru (川西 徹)	111, 180, 181, 182, 183, 187, 188, 189, 277, 300, 310, 311, 312, 313, 314, 316, 318, 392, 393, 395, 396, 398		
Kawasaki, Hiromi (河崎 (内田) 裕美)	220, 305, 306, 340		
Kawasaki, Nana (川崎 ナナ)	186, 187, 188, 189, 190, 191, 279, 281, 291, 300, 303, 315, 316, 317, 318, 380, 383, 395, 396, 402		
Kijima, Aki (木島 綾希)	263, 308, 370, 372		
Kikuchi, Hiroyuki (菊地 博之)	203, 204, 281, 325		
Kikuchi, Yutaka (菊池 裕)	26, 234, 315, 349, 394, 396, 404		
Kikura-Hanajiri, Ruri (花尻 (木倉) 瑠理)	200, 201, 202, 203, 281, 303, 320,		
			323, 324, 325, 368, 392, 395, 398
Kim, Ik-Hwi (金 益輝)	195, 319		
Kim, Su-Ryang (金 秀良)	241, 250, 355, 362		
Kitagawa, Hiroko (北川 博子)	115		
Kitajima, Satoshi (北嶋 聡)	99, 258, 294, 302, 308, 364, 365, 366, 401, 405		
Kobayashi, Tetsu (小林 哲)	189, 191, 315, 316, 318		
Kodama, Yukio (児玉 幸夫)	214, 253, 263, 293, 294, 345, 364, 365, 366, 371, 372, 392		
Koide, Tatsuo (小出 達夫)	278, 314, 398, 402		
Koizumi, Tomoko (小泉 朋子)	327, 373		
Kojima, Hajime (小島 肇)	260, 295, 296, 308, 368, 369, 370, 385, 386, 387, 392, 396, 405		
Kojima, Yasushi (小嶋 靖)	359		
Kondo, Kazunari (近藤 一成)	247, 307, 356, 357, 358		
Konishi, Yoshikio (小西 良子)	137, 226, 228, 229, 230, 231, 232, 235, 267, 284, 287, 288, 289, 301, 306, 307, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 357, 372, 382, 392, 393, 394, 397, 400, 404		
Konuma, Hirotaka (小沼 博隆)	301		
Koyama, Youko (小山 陽子)	340		
Kubota, Hiroki (久保田 浩樹)	220, 305, 306, 340		
Kubota, Kunihiro (窪田 邦宏)	248, 292, 360, 382		
Kubota, Reiji (久保田 領志)	65, 215, 282, 283, 304, 334, 335, 336, 337, 393		
Kudou, Yukiko (工藤 由起子)	223, 232, 233, 234, 288, 289, 301, 307, 348, 349, 392, 394, 400, 404		
Kumita, Wakako (汲田 和歌子)	375, 376		
Kurebayashi, Hideo (紅林 秀雄)	309, 368, 395		
Kurihara, Masaaki (栗原 正明)	101, 194, 237, 238, 239, 352, 353, 354, 395		
Kurose, Kouichi (黒瀬 光一)	94, 242, 249, 250, 354, 360, 361, 362		

M

- Machii, Kenji (町井 研士) 344, 346, 400, 403
 Maeda, Hatsuyo (前田 初代) 359
 Maeda, Machiko (前田 真智子) 263, 264, 265, 370, 373
 Maekawa, Keiko (前川 京子) 240, 241, 242, 290, 354, 355, 362
 Maitani, Tamio (米谷 民雄) 215, 216, 217, 218, 219, 244, 283, 337, 339
 Makiuchi, takashi (牧内 隆司) 359, 360, 405
 Maruyama, Takuro (丸山 卓郎) 197, 320, 321, 402
 Masumura, Ken-ichi (増村 健一) 261, 264, 271, 296, 297, 374, 375, 376, 377, 392, 393, 406
 Matsuda, Rieko (松田 りえ子) 129, 216, 218, 219, 244, 248, 284, 300, 304, 305, 337, 339, 340, 392, 393, 394, 399, 402, 403
 Matsuda, Yoshie (松田 良枝) 208, 213, 327, 328, 331
 Matsui, Keiko (松井 恵子) 264, 374, 375
 Matsumoto, Mariko (松本 真理子) 272, 273, 298, 299, 377
 Matsuoka, Atsuko (松岡 厚子) 39, 123, 208, 212, 213, 214, 304, 327, 328, 329, 330, 331, 381, 394, 395
 Matsuoka, Hideki (松岡 英樹) 356, 358
 Matsushima, Yuko (松島 裕子) 307, 308, 365
 Matsutani, Satchiko (松谷 佐知子) 288, 348
 Mikawa, Tsuyoshi (箕川 剛) 340
 Miwa, Makiko (三輪 麻紀子) 333
 Miyahara, Makoto (宮原 誠) 216, 217, 300, 337, 338, 339, 348, 392, 399, 403
 Miyahara, Michiko (宮原 美知子) 231, 232, 288, 306, 307, 348, 404
 Miyajima, Atsuko (宮島 (田畑) 敦子) 259, 261, 324, 367, 368, 392, 393, 401
 Miyazaki, Tamaki (宮崎 玉樹) 182, 183, 312, 395
 Miyoshi, Noriko (三好 紀子) 217
 Morikawa, Kaoru (森川 馨) 31, 84, 146, 248, 292, 301, 307, 359, 360, 393, 395, 396,

401, 405

- Morikawa, Tomomi (森川 朋美) 308
 Morita, Takeshi (森田 健) 301, 307, 360, 383, 384, 385, 393, 394, 395, 396, 401
 Murayama, Mitsunori (村山 三徳) 300, 337, 392, 393
 Muroi, Masashi (室井 正志) 231, 235, 347, 348, 349, 395
 Mutsuga, Motoh (六鹿 元雄) 219, 221, 306, 340, 341, 342

N

- Nagao, Taku (長尾 拓) 204, 206, 275
 Nagaoka-Hamano, Megumi (長岡 (浜野) 恵) 96, 216, 283, 300, 328, 329, 337
 Naito Mikihiko (内藤 幹彦) 142
 Naito, Rieko (内藤 理恵子) 348
 Nakajima, Osamu (中島 治) 26, 307, 315, 349, 357
 Nakajima-Matsuishi, Yukari (中島 紫) 187, 188, 315, 316, 317
 Nakamura, Fumi (中村 文美) 357
 Nakamura, Rika (中村 里香) 44, 243, 244, 355, 356, 358
 Nakamura, Ryosuke (中村 亮介) 44, 96, 244, 355, 356, 358, 383
 Nakamura, Takatoshi (中村 高敏) 319
 Nakano, Tatsuya (中野 達也) 238, 251, 252, 362, 363, 364, 395, 396
 Nakaoka, Ryusuke (中岡 竜介) 211, 212, 282, 304, 329, 331, 380, 393, 394, 396, 402
 Nakatsu, Noriyuki (中津 則之) 294
 Nakazawa, Kenichi (中澤 憲一) 259, 295, 309, 367, 368, 385, 392, 393, 394, 395, 396
 Nemoto, Satoru (根本 了) 215, 300, 304, 305, 337, 393, 399, 403
 Niimi, Naoko (新見 直子) 374, 375, 376
 Niimi, Shingo (新見 伸吾) 189, 190, 191, 279, 316, 317, 318, 392, 395, 398
 Nishijima Masahiro (西島 正弘) 107, 176, 177, 291, 392, 393, 394, 395, 397
 Nishikawa, Akiyoshi (西川 秋佳) 100, 163, 261, 262, 263, 264, 265, 266,

267, 268, 269, 296,
308, 370, 371, 372,
373, 374, 376, 392,
393, 394, 395, 396
Nishimaki-Mogami, Tomoko (最上 (西巻) 知子) 98, 189,
239, 240, 326, 354,
355
Nishimura, Tetsuji (西村 哲治) 15, 54, 62, 65, 94,
125, 215, 272, 282,
283, 304, 332, 333,
334, 335, 336, 337,
340, 341, 364, 389,
392, 393, 394, 398,
402
Noda, Mamoru (野田 衛) 226, 227, 287, 306,
344, 345, 382, 392,
396, 397, 400, 404
Noguchi, Youichiro (野口 陽一郎) 348
Nohmi, Takehiko (能美 健彦) 165, 261, 264, 270,
271, 296, 297, 369,
370, 371, 372, 374,
375, 376, 377, 392,
394, 395, 396, 401

O

Obama, Tomoko (小濱 とも子) 332, 333
Ogata, Jun (緒方 潤) 201, 203, 303, 320,
323, 398
Ogawa, Yukio (小川 幸男) 294, 302, 307, 308,
364, 365
Ogihara, Emiko (荻原 恵美子) 360
Ohkubo, Satoko (大久保 聡子) 100
Ohnishi, Takahiro (大西 貴弘) 307, 347, 348
Ohno, Akiko (大野 彰子) 352
Ohno, Yasuo (大野 泰雄) 160, 177, 178, 179,
189, 259, 261, 266,
274, 277, 294, 300,
309, 310, 367, 368,
369, 373, 377, 378,
385, 392, 393, 395,
396, 397
Ohta, Tsuyoshi (太田 鋼) 312
Ohta, Yuko (太田 有子) 359
Ohtsuki, Takashi (大槻 崇) 195, 197, 203, 204,
319, 325
Okada, Yumiko (岡田 由美子) 225, 284, 285, 306,
343

Okuda, Haruhiro (奥田 晴宏) 140, 190, 236, 237,
238, 289, 290, 349,
350, 351, 352, 353,
354, 380, 382, 383,
392, 394, 395, 396,
401
Okuhira, Keiichiro (奥平 桂一郎) 239, 240, 354
Ono, Atsushi (小野 敦) 274, 275, 302, 306,
308, 370, 377, 378,
386, 388, 389, 392,
393
Ootsuka, Aya (大塚 文) 359
Oshizawa, Tadashi (押澤 正) 317, 326, 327
Oya, Nozomi (大屋 のぞみ) 319
Ozawa, Shogo (小澤 正吾) 241, 394

Q

Qin, Yan (秦 艶) 191, 279, 317, 318

S

Saeki, Mayumi (佐伯 真弓) 249, 360, 361
Saga, Yumiko (相賀 裕美子) 258, 365, 366
Sai, Kimie (佐井 君江) 214, 239, 241, 242,
243, 290, 301, 310,
354, 355
Saisho, Kazuhiro (最所 和宏) 201, 202, 303, 323,
324
Saito, Eiko (齋藤 栄子) 314
Saito, Haruna (齋藤 はる奈) 311
Saito, Mitsuo (齋藤 充生) 293, 301, 307, 360
Saito, Shizuka (齋藤 静夏) 226, 247, 305, 337,
347
Saito, Yoshiro (齋藤 嘉朗) 240, 241, 242, 250,
251, 290, 301, 310,
354, 355, 361, 362,
395, 396, 400
Saitoh, Minoru (斎藤 実) 307, 308
Sakai, Mayumi (酒井 真由美) 360
Sakai, Shinobu (酒井 信夫) 246, 247, 248, 292,
307, 356, 358, 359
Sakai, Takatoshi (坂井 隆敏) 304, 305, 337, 393,
399
Sakamoto, Hiroko (坂本 浩子) 373, 375, 376
Sakamoto, Tomoaki (坂本 知昭) 183, 184, 300, 312,
313, 392, 393, 395,
398, 401

- Sakamoto, Yasuteru (坂元 康晃) 374
- Sakata, Kozue (坂田 こずえ) 246, 321, 356, 357, 358
- Sakoda, Hideyuki (迫田 秀行) 211, 212, 304, 329, 330, 393, 394
- Sakuma, Hisako (佐久間 久子) 346
- Sakuraba, Mayumi (櫻庭 真弓) 373, 375, 376
- Sasaki, Shiho (佐々木 史歩) 360
- Sassa, Akira (佐々 彰) 374, 375, 376
- Sato, Kaoru (佐藤 薫) 259, 367
- Sato, Kyoko (佐藤 恭子) 220, 221, 284, 301, 305, 306, 336, 340, 341, 381, 392, 395, 399
- Sato, Yoji (佐藤 陽治) 93, 189, 204, 206, 238, 325, 326, 395, 398
- Sato, Yuji (佐藤 雄嗣) 238, 239, 244, 356, 358
- Sato, Yukiko (佐藤 由紀子) 238, 353, 354
- Sato, Michio (佐藤 道夫) 211, 212, 329, 330, 394, 395, 396
- Satoh, Rie (佐藤 里絵) 243, 355, 405
- Sawada, Rumi (澤田 留美) 208, 209, 213, 300, 304, 329, 393
- Sawada, Jun-ichi (澤田 純一) 26, 142, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 250, 251, 259, 290, 301, 310, 354, 355, 361, 362, 367, 392, 393, 394, 395, 397, 404, 405, 407
- Sekita, Kiyoshi (関田 清司) 294, 302, 307, 308, 364, 365, 395
- Seshime, Yasuyo (勢 康代) 199, 200, 321, 322
- Shibata, Hiroko (柴田 寛子) 181, 310, 311
- Shibutani, Makoto (渋谷 淳) 229
- Shigemoto-Mogami, Yukari (重本 (最上) 由香里) 367
- Shimizu, Kumiko (清水 久美子) 65, 94, 215, 334, 335, 336
- Shimomura, Hiroko (下村 裕子) 195
- Shinohara, Satoru (篠原 聡) 316, 317, 318
- Shioiri, Toshikazu (塩入 利一) 347, 348
- Shiramasu, Yuko (白政 優子) 219, 339
- Shoda, Takuji (正田 卓司) 190, 236, 350, 352
- Suenaga, Emi (末永 恵美) 320, 321
- Sugimoto, Naoki (杉本 直樹) 65, 190, 191, 215, 220, 221, 304, 306, 335, 336, 340, 341
- Sugita, Takiko (杉田 たき子) 84
- Sugiyama, Emiko (杉山 永見子) 241, 250, 251, 355, 362
- Sugiyama, Kei-ichi (杉山 圭一) 235, 289, 307, 345, 346, 347, 349, 404
- Sunouchi, Momoko (簾内 桃子) 261, 302, 324, 367, 368, 392, 393
- Suzuki, Hodaka (鈴木 穂高) 74, 225, 286, 343, 344
- Suzuki, Kazuhiro (鈴木 和博) 93, 98, 121, 204, 206, 325, 326, 327, 359, 392, 393, 394, 395
- Suzuki, Takayoshi (鈴木 孝昌) 204, 205, 326, 327, 395
- Suzuki, Takuo (鈴木 琢雄) 189, 310, 315, 316, 318

T

- Tada, Atsuko (多田 敦子) 221, 306, 340, 341
- Tada, Minoru (多田 稔) 316, 318
- Tahara, Maiko (田原 麻衣子) 65, 215, 282, 334, 335, 336
- Takagi, Atsuya (高木 篤也) 24, 253, 294, 364, 365, 392, 393, 394, 395
- Takahashi, Mika (高橋 美加) 274, 299, 377
- Takahashi, Miwa (高橋 美和) 229, 267, 268, 308, 370, 371, 372, 373, 375, 376
- Takahashi, Yu (高橋 雄) 258, 365, 366
- Takakura, Daisuke (高倉 大輔) 189, 190, 191, 279
- Takami, Shigeaki (高見 成昭) 269, 270, 370, 371, 372, 373, 375, 376
- Takamune, Makiko (高宗 万希子) 375
- Takatori, Kousuke (高鳥 浩介) 229, 233, 234, 393
- Takatsuki, Satoshi (高附 巧) 215, 305, 340
- Tamehiro, Norimasa (為広 紀正) 189, 239
- Tanabe, Shihori (田邊 思帆里) 204, 205, 325, 326, 327
- Tanaka, Keiko (田中 敬子) 84
- Tanaka-Kagawa, Toshiko (香川 (田中) 聡子) 304, 331, 332, 333
- Tanaka, Miho (田中 美穂) 334
- Tanamoto, Kenichi (棚元 憲一) 133, 190, 219, 220, 221, 231, 235, 301,

305, 306, 315, 336,
340, 341, 347, 348,
349, 392, 393, 395,
407

Tanemura, kentaro (種村 健太郎) 294, 364, 365

Tarumi, Kazue (樽見 和枝) 340

Tasaki, Masako (田崎 雅子) 261, 263, 264, 265,
266, 370, 371, 372

Tatebe-Sasaki, Chiye (建部 (佐々木) 千絵) 220, 305,
306, 340

Tatewaki, Naoko (立脇 直子) 242, 310

Teshima, Reiko (手島 玲子) 26, 44, 96, 98, 143,
187, 218, 243, 244,
245, 246, 247, 290,
291, 292, 307, 315,
349, 355, 356, 357,
358, 359, 383, 392,
394, 395, 396, 400,
405

Thiruppathi, Suresh (スレッシュ ティルパッティ) 326, 327

Toda, Miou (登田 美桜) 31, 84, 292, 301,
307, 360

Tohkin, Masahiro (頭金 正博) 14, 94, 248, 249,
250, 307, 354, 360,
361, 362, 394

Tokumoto, Hiroko (徳本 廣子) 195

Tokunaga, Hiroshi (徳永 裕司) 256, 282, 332, 333

Toyoda, Naomi (豊田 尚美) 296, 372, 374, 376

Tsuchiya, Toshie (土屋 利江) 39, 101, 123, 206,
208, 209, 211, 212,
213, 214, 282, 300,
303, 304, 327, 328,
329, 330, 331, 380,
381, 392, 393, 394,
395, 396, 398, 407

Tsutsumi, Tomoaki (堤 智昭) 129, 217, 218, 283,
305, 339

Tuboi, Isao (壺井 功) 253, 364, 366

U

Uchida, Eri (内田 江里) 315

Uchida, Eriko (内田 恵理子) 281, 291, 315, 316,
317, 325, 326, 327,
392, 395

Uchino, Tadashi (内野 正) 54, 62, 214, 304,
333, 334, 336

Uchiyama, Nahoko (内山 奈穂子) 201, 202, 281, 303,

320, 323, 324, 325,
396, 398, 402

Uematsu, Miyuki (植松 美幸) 213, 282, 303, 330,
331, 393

Umemura, Takashi (梅村 隆志) 261, 263, 264, 265,
266, 308, 370, 371,
372, 374, 376, 381,
392, 393, 394, 395,
396, 401

Uneyama, Chikako (畝山 智香子) 31, 84, 267, 292,
301, 307, 360, 401,
405

Usami, Makoto (宇佐見 誠) 259, 295, 368

W

Wakana, Daigo (若菜 大悟) 197, 198, 280, 321

Watanabe, Maiko (渡辺 麻衣子) 232

Watanabe, Takahiro (渡邊 敬浩) 218, 219, 245, 283,
284, 301, 305, 339,
340, 356, 357, 381,
394, 396, 399

Y

Yamada, Masami (山田 雅巳) 264, 296, 306, 374,
375, 392, 393, 401

Yamada, Takashi (山田 貴史) 39, 209, 213, 329,
330

Yamaguchi, Miku (山口 未来) 221, 306, 340, 341,
342

Yamaguchi, Teruhide (山口 照英) 93, 97, 114, 186,
187, 188, 189, 190,
191, 204, 279, 300,
303, 310, 315, 316,
317, 318, 325, 326,
327, 349, 379, 380,
392, 393, 394, 395,
396, 398

Yamamoto, Ayumi (山本 歩) 374, 375

Yamamoto, Miyako (山本 都) 31, 84, 227, 292,
301, 307, 360, 392,
394

Yamamoto, Shigeki (山本 茂貴) 74, 135, 222, 224,
225, 226, 284, 286,
306, 342, 343, 344,
381, 382, 392, 393,
394, 396, 399, 403

- Yamazaki, Takeshi (山崎 壮) 221, 301, 306, 315,
336, 340, 341, 349,
392, 393, 394, 395,
403
- Yanagino, Sachiko (柳野 紗智子) 326
- Yasuhiko, Yukuto (安彦 行人) 258, 365, 366
- Yasui, Manabu (安井 学) 373, 375, 376
- Yomota, Chikako (四方田 千佳子) 180, 181, 277,
310, 311, 392, 395,
398, 401
- Yoshida, Hiroyuki (吉田 寛幸) 182, 311, 312
- Yoshida, Midori (吉田 緑) 100, 179, 266, 268,
308, 370, 371, 372,
373, 387, 394, 395,
396, 401

Z

- Zhou, Li (周 利) 313

国立医薬品食品衛生研究所報告第127号キーワード索引（アルファベット順）

A

ABCA1 239, 240
 ABCB1 249
 abietic acid 220
 acid reflux model 266
 Acrylamide 268
 action potential 180
 adenosine 198
 Adipose tissue 199
 aerobic bacteria count 234
 aflatoxin 226, 289
 Aflatoxin B₁ 235
 aflatoxin G(1) 231
 Aflatoxin M₁ 235
 agar 216
 aging-related disease 184
 agonist 240
 Ah receptor 218
 akuammidine-*N*-oxide 194
 alkaloid 194
 allergen 44, 246
 allergenicity prediction 44
 aloe 228
Alstonia scholaris 194
 alternative biological samples 281
 aluminium 283
 Alzheimer's disease 185
 amorphous 181
 amyloid β protein 185
 anaerobic bacteria 285
 analytical method 65
 Analytical Methods 284, 285, 286
 anatomy 195
 angiogenesis 210
 annexin A3 190
 antagonism 221
 anthocyanin 196
 antibody 26, 277
 Anticancer drugs 294
 antichagasic activity 281
 antifungal activity 198
 anti-HBc 186
 antimicrobial resistance 285
 antioxidant activity 221

antithrombogenic drug 290
 AOAC 995.10 method 228
 aortic vascular surgery 213, 282
 apoptosis 260
 apple 196
 apple juice 228
 Approval application 294
Arabidopsis 271
 arachidonic acid 209
 arctiin 262
 arsenic compound 281
 Aryl hydrocarbon receptor 218, 219, 254, 255, 295
 ascidian sperm 188
 ascorbic acid 264, 266
 Aspergillus 289
Aspergillus flavus 199
Aspergillus fumigatus 200
Aspergillus oryzae 200
 Aster tataricus 230
 astin B 230
 Astrocyte 209
 astrocyte differentiation 256
 astrocytes 204, 259
 atopic dermatitis 54
 autoimmunity 253
 automaticity 180
 azodicarbonamide 221

B

B lymphocytes 205
 baby toy 220
 bacteria 285, 286
 bacteriological quality 233
 benzene-induced hematopoietic impairment 254, 255
 Bergey's Manual 285
 Betalain 196
 Betalamic acid 196
 beta-naphthoflavone 266
 Bhas 42 cell transformation 220
 Biacore 217
 Binding affinity 252
 binding site 288
 biological Sample 65
 biopharmaceutical 279, 294

biosynthesis 199, 200
 biosynthetic precursor 228
 biotechnology 291
 bioterrorism 293
 bisphenol A 257
 bittering agent 221
 blind trial 216
 bloody clams 226
 boric acid 216
 bread 227, 229, 236
 breast milk 231
 broilers 230
 brominated flame retardant 244
 Bruce N. Ames 293
 buckwheat 246
 buckwheat allergen 244
 buffalo 223
 buffaloes 222
 Burden 248

C

cadmium 206, 220
 calcium phosphate 183
 calibration curve 219
Campylobacter 222, 225, 248, 285, 286, 287
 cancer 290
 cannabinoid analog 202
Cannabis sativa L 203
 capillary electrophoresis 62
 carbon nanotube 39
 carbon tetrachloride 190
 carcinogenesis 256
 carcinogenicity 272, 297
 cardiac fibrosis 206
 cardiac hypertrophy 206
 cardiac muscles 180
 cardiac remodeling 205
 carnation 196
 carrot 196
 CCMAS 284
 CD26 187
 cell growth inhibitory activity 196
 cell number 213
 cell proliferation 213, 281
 cellular therapy 204
 ceramide 176
 cereal 229

Chemical imaging 279
 chemicals in food 292, 293
 chicken 26, 232
 chiral catalyst 239
 chlorination 207
 chlorphenesin 50
 cholesterol 176
 chondroitin sulfate 247
 chronic effects 15
 chronic exposure 264
 Chronic toxicity 268
 chronic toxicity and carcinogenicity studies 264
 circular dichroism 186
 clam 227
 Claude Bernard 293
 clean analysis 194
 clobetasol propionate 54
 c-myc gene expression 209
 coactivator 251
 Codex 284, 287
 Coix fruit 193
Coix lacryma-jobi Linné var. *mayuen* Stapf 193
 Colitis 245
 Collaborating study 179
 collagen vitrigel membrane 214
 Colony assay 211
 color test 203
 colorectal cancer 269
 combustion condition 207
 concentration of HBsAg 186
 concentration of HBV DNA 186
 conformational search 238
 consumer product safety law 69
 contamination 233, 285
 cooperative strand invasion 238
 copy number of the c-myc locus 209
 corneal model 261
 correct origin 280
 cosmetics 50, 54, 62
 Coumarins 275
 counterfeit drugs 183
 Cows 234
 CpG motif 182
 Cross-reactivity 235
 crude drugs 195
 Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* 270
 crystal 184
 crystal structure 176, 237

crystallization 182
 culture 179
Curcuma aromatica 195
Curcuma longa 195
 cyclic amino acids 239
 cyclic α -amino acid oligomer 237
 cyclin D1 262
 cyclopentynafil 194
 cyclopiazonic acid 199, 200
 CYP2C9 241
CYP3A4 242, 243
 cytidine deaminase 250
 Cytokines 255, 256
 cytotoxicity 39

D

daikon 262
 daily intake 219
 D-amino acids 184
 database 44
DCK 241
 DCNB 178, 179
 decabromodiphenylether (DBDE) 244
 dehydration 183
 demeton-S-methyl 216
 demeton-S-methylsulfone 216
 deoxynivalenol 228, 229, 236
 deoxyribonucleic acid (DNA) 247
 dermatan sulfate 247
 design 239
 Design space 278
 Designated hallucinogenic phenethylamines 201
 Designated Substances 201, 203, 281
 designer drug 202
 detection 233, 234, 288
 Detection Method 292
 detection methods 292
 determination 50
 developing immune system 244
 Development 274
 dextran sodium sulfate 269
 diacylglycerol 263
 diarrhea 248
 diastereoisomer 280
 dibutyltin 231
 diesel exhaust 271
 dietary supplement 193

diffusion reflectance 183
 dimer 196
dinB 271
 Dinitrophenolic compounds 298
 dioxin 218, 249
 dioxin-like PCBs 217
 dioxins 218, 283
 DNA extraction method 247
 DNA microarray 249
 DNA repair 297
 DNA sequence 235
 docosahexaenoic acid 209
 docosapentaenoic acid 209
 dodine 215
 DOPA dioxygenase 196
 dopamine 210
 dose metric 298
 Double strand break (DSB) 270
 DR5 203, 204
 Draize eye test 261
 drug 251, 293
 drug induced liver injuries 1
 drug metabolism and disposition-related genes 259
 drug metabolism related gene expression 261
 drug response 290
 drugs of abuse 281
 ducks 230
 dynamics 183

E

E. coli mutagenicity assay 263
 earth simulator 252
Eleutherococcus senticosus 197
 ELISA 218, 292
 Ellagic acid 265
 embryo culture 260
 embryotoxicity 295
 enantiomer 183
 endocrine disrupter 258
 endocrine disruptors 257
 endotoxin 177
 Endotoxin shock 235
 endsomal-lysosomal degradation pathway 177
 enhancer 258
 Enteritidis 289
Enterobacter sakazakii 285, 286
 enterohemorrhagic *Escherichia coli* 225

environmental health 234
 environmental nanoparticle 298
 enzyme-assisted synthesis 236
 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 235, 246, 247
 enzymological information 238
 Ephedra herb 280
 epidemiological methods 287
 epidemiology 285
 epidermal growth factor 191
 epitope 44
 erectile dysfunction 202
 ERK activation 210
 Escherichia coli K-12 228
 essential oil of German chamomile 231
 estrogen 192
 eutectic crystallization 278
 evaluation 277
 excitation-contraction 180
 experimental design 258
 extraction 65

F

F344 rats 265, 270
Fagopyrum esculentum 246
 farnesoid X receptor 189
 fatigue 212
 Fatigue Crack growth 211
 fatty liver 199
 female reproductive system 230
 fenbendazole 268
 fenofibrate 265
 ferric nitrilotriacetate 263
 fever 228
 FHH 194
 fibrin peptide 177
 fibronectin 189
 FILM 253
 First in human clinical trial 294
 fisetin 185
 fish 31, 217
 flagella 223
 flavonoid 204
 flavonoid composition 193
 flow cytometry 244
 Fluorescence labeling 201
 FMO 251, 252, 253
 FMO-MD 252

food 218, 234
 food additive 221, 264, 265, 284
 Food Allergen 292
 food allergy 247, 292
 food chain 285
 Food contact use 298
 food handler 227
 food hygiene 289
 Food irradiation 216, 217
 food labeling 290
 food microbiology 284, 292
 food safety 280, 284, 292, 293
 Food Safety Commission 287
 foodborne outbreak 227
 forestomach 264
 FoxO3 211
 freeze-drying 181, 277, 278
Fuligo septica f. *flava* 197
 fullerene 15, 39, 65, 271
 FUMI theory 251, 293
 function 241, 242
 fungicide 215
 fusarenon-X 230
Fusarium 235

G

gallates 189
 Gas chromatography 231
 gastrointestinal impairment 270
 GC/MS 283, 284
 gemcitabine 241, 250, 251
 Gender-related difference 274
 gene expression 204, 205, 255, 256
 genetic polymorphism 241, 242, 243, 250, 290
 genetically modified (GM) 245, 246, 247
 genetically modified food 290, 291
 genetically modified organism 247
 genetically modified soy 219
 genome-wide study 251
 genotoxic carcinogen 262
 genotoxic thresholds 297
 genotoxicity 205, 220, 297
 genotyping 290
 germination test 203
 GII/4 227
 ginkgolic acid 189
 GJIC 243

glass 277
 glass transition 181, 278
 global gene-chip expression profiles 254
 GLP 257, 296
 glucuronide 236
 glutathione S-transferase placental form positive foci 269
 Gly m Bd 30K 246
 glycoprotein 189, 237, 279
 glycosaminoglycans 279
 glycosylation 189
 glycosylation analysis 188, 279
 Gompertzian expression 295
 GPI-anchor 187
gpt assay 297
gpt delta transgenic mouse 271
gpt delta transgenic mouse and rat 297
 granulation process 184
 granules 184
 grape seed extract 204
 green tea catechins 270
 growth inhibition 262
GSTM1 242
GST-P 264, 265
GSTT1 242
 guanidine derivative 192
 guidelines 284
 Gβγ 205

H

HACCP 284
 haematopoietic 230
 hair analysis 281
 hallucinogenic constituent 201
 hazard analysis 224
 Hazard identification 272
 h-CLAT 178, 179
 HDL 240
 health food 280
 health food product 280
 health tea 218
 health vigilance 251
 heat resistant molds 232
 heat treatment 216
 Heat treatment method 216
 heirloom vegetables 263
 HeLaS3 208
 helical-screw handedness 239

helvolic acid 200
 hematopoietic homeostasis 211
 hematopoietic stem/progenitor cell 254, 255
 Hematopoietic stem/progenitor cells 295
 hepatitis C patients 261
 hepatitis C virus 176
 Hepatocarcinogenesis 268, 276
 hepatocyte growth factor 190
 hepatocyte proliferative lesion 264
 Heterocyclic amines 269
 heterogeneity 189
 Hexabromocyclododecane 273
 hexachlorobenzene 221
 high performance liquid chromatography 248
 high-shear granulation 184
 hippocampus 259
 histamine food poisoning 31
 histone Deacetylase Inhibitors 239
 HIV-1 protease 252
 HLA 293
 HLA-B locus 250, 293
*HLA-B*1502* 1
*HLA-B*5801* 1
 HL-60 cell 281
 Homologous recombination (HR) 270
 household product 69
 HPLC 50, 183, 228
 HPV 299
 HPV programme 299
 HrUrafin 188
 HrVC70 188
 human astrocyte 39
 human enteric ciruses 227
 human impact 215
 human mesenchymal stem cells (hMSCs) 209
 human parechovirus type 3 228
 human serum 188
 Humans 298
 Hyaluronan 209
 hybridization 247
 hydrate 183
 hydrogen-bond 181, 277
 Hydroxyapatite 213
 hydroxycyclochlorotone 230
 hypoallergen 244

I

ICH 278
 ICH Q8 278
 ICH S6 guideline 294
 ICHQ8 278
 ICMSF 287
 identification 232, 234, 235
 Identification of surviving bacteria 217
 Identification test 191
 IgE 244
 IgLON 187
 IL-6 204
 immune systems 230
 immunotoxicity 244, 289
 implant failure 212
 imported food 84
in vitro bioassay 218, 219
 in vivo antioxidative activity 214
in vivo study 262
 indium 295
 indium trichloride 260
 indole alkaloid 194
 Indoloditerpene 198
 infant infection 228
 Inflammation 181
 information sources 292, 293
 information transmission 252
 inhibitor 252
 INN 282, 289, 290, 291
 innate immunity 289
 inspection 284
 insulin spheroids 191
 Interlaboratory validation 260
 interleukin-8 281
 Intestinal epithelial cell 245
 Intraepithelial lymphocyte 245
 IRAK 231
 irinotecan 242, 243, 290
 Irradiated food detection 216, 217
 Irradiated spice 216
 Irradiated spices 217
 ISAAA 291
 ischemia 210
 isoflavone 203, 280
 isolation 288
 isotope-tagging method 187
 isotopically labeled standard 282

ITS sequence 197

J

Jamaica quassia extract 221
 JAN 282, 289, 290, 291
 Japan 74, 286
 Japanese patient 1

K

Kampo 192
 Kampo formula 200
 kidney 230
 killing activities 228
 Knee joint 211
 koji mold 289

L

labeling 292
 lactic acid 222
 lactide 222
Lactobacillus casei 224
 lactose-silk fibroin conjugates 191
 Lao People's Democratic Republic (Laos) 222
 Lao People's Democratic Republic (PDR) 222
 layer flock 223
 LC/MS 188, 189, 215, 220, 279, 284
 LC-MS 201
 LC-MS/MS 65
 Le^a epitope 187
 lead 206, 220, 284
 lectin 237
 Leguminosae 280
 L-Glu transporter 259
 ligase chain reaction (LCR) 246
 lipid accumulation 199
 lipid transport 176
 lipopolysaccharide 177, 231
 liquid chromatography/multiple-stage mass spectrometry 187
 liquid egg 74
 liquid eggs 234
Listeria monocytogenes 224, 225, 285, 286
 listeriosis 285
 liver 230
 Liver failure 181
 liver fibrosis 261

liver initiation model 269
 Local lymph node assay 260
 local MP2 253
 long-chain fatty acid 281
 Low-dose effect 270
 LXR 239, 240
 lycoparin 194
Lycopodium alkaloid 194
Lycopodium casuarinoides 194
Lycopodium phlegmaria 194

M

Macrobrachium rosenbergii 229
 macrophages 228
 madder color 267, 268
Malbranchea filamentosa 197, 198
 Malbrancheoside 197
 MALDI-TOF 231
 malycorin 194
 malyltransferase 196
 mannan-binding lectin 187
 manufactured nanomaterials 15
 manufactured nanoparticle 298
 MAPK 243
 Marine toxin 284
 Mass spectrometry 191
 maximum contrast method 251
 meat 224
 mechanism of action 262
 mechanisms 295
 Mesenchymal stem cell 213
 Mesp2 258
 metal product 206
 metallic accessory toy 284
 method 288
 Methyl Diazonium Ion 252
 metrological traceability 215
 MIC values 190
 microarray 295
 microbial detection 216
 microbiological criteria 287
 microbiological risk assessment 287
 Microorganism method 216
 mid-term bioassay 269
 Milk 235
 molecular epidemiology 227
 molecular mobility 182

molecular phylogenetic analysis 232
 monitoring 84
 morphology 193, 267
 motif 44
 mouse 269
 Mouse liver 249
 mRNA 240
 MRSA 189, 190
 Multidrug resistance 1 250
 multiplex PCR 246
 Multi-wall carbon nanotube 272
 multi-walled carbon nanotube 15
 mutagenicity 207, 208
 mycobacteria 223
 mycotoxicosis 289
 mycotoxin 267, 284, 289
 myelogenous leukemia 254
 myocardium 180
 myrosinase activity 262
 myxomycetes 197

N

Na⁺-Ca²⁺ exchange 180
 nanomaterial 39
 nanomaterials 256
 nanoparticle 271
 natural product 281
 near-infrared spectroscopy 183
 negative feedback 211
 negative regulation 210
 Neonatal death 273
 Neonate 269
 Nepal 223
 neurogenesis 259
 neurotoxicity 268
 neutropenia 251
 NFS mouse 253
 Ni 178, 179
 Nile blue sulfate 260
 NIR 181, 279
 Nitazoxanide 183
 nitrate 219, 248
 nitric oxide 236
 nitrofurans 207
 Nivalenol 230, 236, 267
 NMR 196, 202
 NMR relaxation time 183

N-myc and Hmga2 256
 NO donor 236
N-octylnortadalafil 194
 NOD/Shi-scid IL2Rg^{null} (NOG) 208
 Non-genotoxic 276
 noodle 229
 norovirus 227, 287
 norsalsolinol 236
 nrf2 263, 265, 266
 nuclear localization signal 185
 nuclear magnetic resonance spectroscopy 215

O

occurrence 229
 ochratoxin A 226
 ocular irritation 261
 OECD 299
 oligosaccharide depolymerization 247
 open field test 210
 organic-solvent extraction 214
 organophosphorus compound 282
 organotins 231
 O-serogroups 234
 osmotolerance 225
 osteoblast 198
 outer membrane protein 225
 ovary 179, 267
 oxacillin 189
 oxidation 212
 oxidative damage 263
 oxidative DNA damage 264
 oxidative stress 265
 oxydemeton-methyl 216
 oxyethylene (EO) 220
 oxytetracycline 229

P

P2Y6 receptor 206
 paprika color 264
parahaemolyticus 288
 parallel-vector computer 252
 parenchymal hepatocytes 190
 parous ovariectomized rat 200
 partial hepatectomy 190
 partially hepatectomized rats 266
 PAT 181

patchouli alcohol 193
 Patric O. Brown 293
 patulin 228
 PBP 190
 PCDD/Fs 207
 PCNA 271
 PCR 227, 232, 234, 291
 PCR detection 232
 PEG 化 291
Penicillium janthinellum 198
 Penijanthine A 198
 peptide 237, 239
 peptide nucleic acid (PNA) 238
 Peptide sequencing, LC/MSⁿ 279
 Peptide/Protein 191
 Percellome method 256
 Percellome project 295
 Perkinson's disease 236
 PFOA 243
 PFOS 269
 P-glycoprotein (P-gp) 249, 250
 phage display 26
 phagocytic 228
 pharmaceuticals and personal care products 282
 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) 215
 pharmacist 293
 pharmacogenomics 290
 pharmacy 251, 293
 phenobarbital 268
 phloxine 221
 phosphodiesterase-5 inhibitor 194, 202
 Phospholipids 274
 PIF 285
 PKC 210
 Plantaginaceae 192
Plantago asiatica 192
 plasmid based QC-PCR (PQC-PCR) 245
 plasmid DNA 182
 plastics 298
 platelet aggregation 198
Pogostemon cablin 193
Pogostemoni herba 193
 Pol III 271
 POLH 271
 polybrominated and polychlorinated predioxin 207
 Polyclonal antibody 235
 polyene-pyrone 197
 polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase (PKS-NRPS) 200

polylactide 222
 polylactide plastic 206
 polymerase chain reaction 247
 polymerase chain reaction (PCR) 246
 polyphenol 218, 219
 polysorbate 220
 polyurethane 214
 pork 232
 positive list system 84
 poultry meat and by-products 286, 287
 poultry meats and by-products 225
 PPARalpha 240
 prawn 233
 precision 219
 Precocenes I and II 228
 preservative 50
 Preweaning rats 274
 primary method of measurement 215
 Principal Component Analysis 274
 principal component analysis (PCA) 254
 prion 26
 prion protein 177
 processed food 220
 processed foods 248
 procyanidin 196
 Progesterone receptor 252
 prohibited ingredients 62
 protein formulation 181, 277
 proteomics 184, 251
 psychotropic plant 201
 psychotropic substances 201, 202, 281
Pueraria lobata 280

Q

quality assurance 284
 Quality by design 278, 279
 quality control 280
 Quantitative analysis 183
 quantitative competitive-PCR (QC-PCR) 245
 quantitative microbiological risk assessment 226
 quantitative PCR method, PCR 219
 quantitative-NMR 280

R

racemate 183
 Raman mapping 184

Raman microspectroscopy 184
 Raman spectroscopy 184
 rapid techniques 234
 rasTg rats 263
 rat 267
 rat hepatocytes 191
 REACH 296
 reactive oxygen species 236
 real-time PCR 219, 233
 real-time PCR array 245
 recombinant 224
 regulation 286
 removal efficiency 215, 282
 replication fork 271
 reporter assay 189
 reporter gene assay 283
 Reproduction 274
 Reproductive toxicity 272, 273
 retail foods 226
 Retinoid X receptor 251, 252
 retrieved implants 212
 rhabdomyolysis 1
 risk assessment 287, 299
 risk management 287
 RNA interference 279
 rose bengal 221
 Roundup Ready³ soybean (RRS) 245
 rRNA gene 235
 RT-PCR 205
Rubia tinctorum L. 268
Rubia tinctorum L. 267
 rubratoxin B 199
 ruminant 222
 Runx2 198
 RXR 239

S

safety 280
 safety assessment 290, 291, 294
 Safety evaluation 211
Salmonella 74, 222, 223, 232, 233, 234, 248, 288
Salmonella Enteritidis 223
 salt 277
 salted walleye pollock roe 224
 SAMP1 255, 256
 sampling 284
 sampling plan 287

satellite peak 280
 scaffold 213
Schima noronhae 196
 Scombroid fish poisoning 31
Scutellaria baicalensis 193
Scutellaria lateriflora 193
 seafood 233
 sealing gasket 221
 secondary structure 238
 selective estrogen receptor modulator 192
 selective media 224
 semicarbazide 221
 serious product accident 69
 serum 178
 Serum-free medium 213
 sesquiterpene 198
 shell egg 74
 Shitei-Yakubutsu 201, 281
 shrimp 229, 233
 SIDS Initial Assessment Meeting 299
 single chain Fv 26
 skin sensitization 215, 260
 skin sensitization test 178, 179
 SLS 178, 179
 S_N2 reaction 252
 Society of Toxicology 289
 sodium nitrite 264, 266
 software 288
 solvolysis 247
 sorbent-immobilized liquid-liquid extraction 282
 speciation 283
 species differences 295
 Species Specificity 275, 299
 spectroscopic analysis 183
 Spermatozoa 273
 sphingolipid 176
 Spi- assay 297
 Spore-forming bacteria 217
 SPTLC1 240
 stabilization 181, 277
 standard 285, 286
 Standard method 288
 stannous 2-ethylhexanoate 210
Staphylococcus aureus 224, 286
 statistical screening method 251
 STEC 234
 stem 282, 289, 290
 stem cell 204

Stem cell culture 213
 steroid 54
 Stevens-Johnson syndrome 1, 250, 293
 stress 259
 stress response 225
 strontium dichloride 62
 subchronic toxicity 265, 267, 270
 sugar beet (*Beta vulgaris* L.) 247
 Sulfated groups 209
 sulfonation 247
 sulfur dioxide 195
 sunscreen agents 208
 Surgical materials 211
 surgical navigation system 213, 282
 synergism 258
 synergy 221
 synthesis 239, 240
 systemic lupus erythematosus 188

T

T cell subpopulation 244
 tadalafil analogue 193
 tail malformation 260
 tambling granulation 184
 Tamoxifen 259
 TaqMan³ assay 245
 taste-sensing system 195
 taxonomy 285
 Tbx6 258
 TCDD 253
 TDDS 184
 teratogenicity 260, 295
 testicular toxicity 268, 273, 298
 testing method 219
 testis 271
 tetrabromobisphenol A 244
 tetrazolium salt 203
 Thailand 229
 The Japanese Pharmacopoeia 280
 therapeutic effect 210
 therapeutics 277
 Therapy 181
 thioquinapiperifil 202
 three-dimensional cell culture 213
 three-dimensional culture 259
 three-dimensional human skin model 214
 three-dimensional imaging 213, 282

threshold 297
 thyroid hormone 244
 Thyroid hormone response element (TRE) 249
 Thyroxine (T4) 249
 tin 2-ethylhexanoate 206
 titanium dioxide 271
 titanium oxide 15
 TLC 203, 220
 TLC identification 194
 TLR9 182
 tocotrienol 264
Tokishakuyakusan 200
 Toll-like receptor 231, 289
 Toll-like receptor 4 177, 235
 tonic effect 193
 toothpaste 62
 total diet sample 219
 toxic epidermal necrolysis 1, 250, 293
 toxicity 179, 256, 267, 289
 Toxicogenomics 274, 275, 276
 toxicokinetics 295
 Toxicological Threshold of Concern 298
 toxicology 295
 toy painting 284
 TR 249
 TRAIL 203, 204
 transcription factor 198, 288
 transdermal tape 184
 transferrin 283
 translesion DNA synthesis 297
 Triazoles 272
 Triiodothyronine (T3) 249
 triterpene glycoside 197
 triterpenoid saponin 196
 TRPC3 channel 205
Trypanosoma cruzi 281
 tubulin satabilization 259
 tulobuterol 184
 tumor necrosis factor alpha 224
 Tumor necrosis factor- α 181
 Tumorigenicity testing 208
 Turtle vitellogenin 235
 two-photon excitation process 236

U

UGT1A1 290
UGT1A9 242

UHMWPE 212
 UJNR 288
 Ultra High Molecular Weight Polyethylene 211
 Ultraviolet absorber 272, 274
 UPLC 183
 UPLC/MS 197

V

vaccine 223
 vaccine antigen 223
 vacuum packing 232
 validation 178, 179, 216
 VDR 237
 vegetables 248
 veterinary drugs 84
 viable cell count 216
Vibrio 288
Vibrio alginolyticus 232
Vibrio parahaemolyticus 226, 232, 248
Vibrio vulnificus 233
 VIP36 237
 viral food poisoning 287
 Virtual safety dose (VSD) 297
 virulence 234
 virus examination 287
 Vitamin D receptor (VDR) 250
 Vitamin D response element (VDRE) 250
 vitronectin 189
 voltage-dependent modulation 205

W

water chlorination 207, 208
 water treatment process 282
 wet granulation 184
 Wheat flour 236
 wheat products 229
 whole-mount TUNEL 260
 world 74, 225, 287

X

X-ray diffractometry 183

Y

Yeast two-hybrid 235

Yersinia enterocolitica 232
YR301 237

Z

Zic 186
ZIC3 185
zinc finger domain 185
zinc finger motifs 186

(1*RS*,3*SR*)-3-[4-(1,1-dimethyloctyl)-2-hydroxyphenyl]cyclohexan-1-ol 202
¹⁹F-NMR 182
¹H-NMR 190
1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 250
2,4,6-Trichlorophenol 207
2,4-Dinitrophenol 274, 299
2-ethylhexanoic acid 206
2S-Albumin 247
3,4-Methylenedioxymethamphetamine 236
3₁₀-helix 238
3-acetyldeoxynivalenol 228, 231
3-methylthiopropionic acid ethyl ester 263
3Rs 295, 296
3T3-L1 cell 199
4-(*N,N*-Dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole 201
4-Aminophenol 273
4-ethylphenol 207
4-hydroxy-*trans*-stilbene 214
4-methylthio-3-butenyl glucosinolate 262
4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate 262
4-nitroquinoline 1-oxide 263
8-OHdG 265, 266

α 237, 238
 α -disubstituted α -amino acid 237, 238
 α -glucosidase 238
 α -glucosidase inhibitor 238
 α -helical secondary structure 239
 β subunit 205
 β -lactan 190
ICHS6 ガイドライン 293
アーモンド 288
アジア 289
アフラトキシン 287
オクラトキシン A 288
カビ毒 287, 288
キャピラリー電気泳動 190

コーデックス委員会 288
コリンエステラーゼ活性 283
サルモネラ 233, 289
トータルアフラトキシン 288
バイオ医薬品 279
バイオ医薬品の安全性評価 293
バリデーション 295, 296
ピスタチオ 288
ビタミンA 292
フラボノイド 292
ヘーゼルナッツ 288
ヘパリンカルシウム 190
ヘパリンナトリウム 190, 191, 279
マイコトキシン 287
メンブランフィルター 180
リスク評価 283, 287
新しいバイオロジクス 293
安全性試験 294, 296
安定同位体標識 279
一日耐容摂取量 288
遺伝子組換え食品 291
遺伝子治療 279
遺伝子発現 293
遺伝子マーカー 293
遺伝毒性 297
医薬品 282, 283
医療機器 282
飲料水 283
疫学研究 287
塩素 282, 283
塩素酸 283
重篤副作用 293
化学物質 296
加工用海水 289
過硫酸化コンドロイチン硫酸 190, 279
開発初期 279
確率論 294
川崎病 277
癌 279
基準値設定 287
機種間差 180
規制 287
菌 231
経口免疫寛容 292
鶏卵 289
血清型 289
健康被害 288
健康被害の危険性 280

検知法 291
 抗血管新生療法 279
 香辛料 233
 抗体 277
 合成過硫酸化コンドロイチン硫酸 191
 国際的な取り組み 287
 最大許容量 288
 主要マイコトキシン 288
 小児 277
 承認申請 278
 浄水処理 282, 283
 食中毒, 289
 食中毒事例 288
 新クローン株 289
 浸透圧 180
 信頼性 296
 水道水質基準 283
 水道法 283
 性機能改善薬 280
 性機能改善薬構造類似体 280
 生残 233
 生体適合性 282
 生物学的安全性 282
 世界的大流行 289
 専門家による第三者評価 296
 総括評価手法 283
 増殖 233
 第三者認証 277
 治験薬 GMP 278
 腸炎ビブリオ規格基準 289
 調理食品 233
 低用量反応 293
 糖鎖プロファイリング 279
 動物実験 277
 動物実験代替法 295, 296
 毒性 288
 毒性評価 287
 内分泌かく乱 293
 日局標準品 191
 日本薬局方 279
 粘性 180
 発がんリスク 287
 発がん物質 287
 皮膚適用製剤 180
 品質 296
 品質・安全性確保 279
 放射性医薬品 291
 慢性毒性 288

有機リン系農薬 283
 溶出試験 180
 閾値 297

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. 投稿内容：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、誌上発表、単行本、行政報告、学会発表、レギュラトリーサイエンス関連会議報告などを収載する。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研究や調査を中心にして、特定の主題について包括的・系統的に総括したもので、投稿により受理する。
 - 研究論文：新知見を含むか、あるいは独創的な内容の研究成果をまとめたもので、投稿により受理する。
 - ノート：断片的ではあるが、新知見を含むか、あるいは独創的な内容の研究成果をまとめたもので、投稿により受理する。
 - 研究に関する資料：試験、製造又は調査などで、記録しておく必要のあるもので、投稿により受理する。
 - 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、各部長が過去1年間（前年度）の業務成績、研究業績をまとめた報告。
 - 誌上発表：国立医薬品食品衛生研究所報告以外の専門誌に発表したものの報告。
 - 単行本：単独又は共同で執筆し、刊行されたもの（国立医薬品食品衛生研究所報告以外の専門誌以外）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・シンポジウム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（10.5ポイント。日本語；26字×24行、英語；55字程度×24行。日本語は上下左右5cmの余白をとり、英語は上下3cm以上、左右2cm以上あけて印刷）を用いる。原稿の長さは表、図、写真を含め刷り上がりページ数で下記の規定に従う（日本語及び英語の本文は、刷り上り1ページはA4用紙約4枚に相当する。また、表、図、写真は、約2枚が刷り上り1ページに相当する）。
 - 特論：原稿を依頼するとき別に定める。
 - 総説：刷り上がり15ページ以内。
 - 研究論文：刷り上がり8ページ以内。
 - ノート及び資料：刷り上がり5ページ以内。
 - ステートメント：刷り上がり2ページ以内。
 - 業務報告：各部及び各薬用植物栽培試験場について刷り上がり2ページ以内。
 - 誌上発表：1題目について、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）の順に通しページ番号を付け、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、ステートメントなど）を、また右上部に総ページ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）の入った電子ファイルを添付する。
 - 原稿と電子ファイル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、現代仮名づかい、新送り仮名の、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、送り仮名、仮名で書くもの、文字の書換え並びに述語などについては、原則として文部科学省用字用語例及び文部科学省公用文送り仮名用例集に従う。〔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科学省学術用語集（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、「イソニコチン酸（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（,百万, …）の単位にコンマを付ける。また、必要に応じてローマ数字を用いることができ、慣用語などについては和数字を用いる。（例：一般, 二酸化イオウ）
6. 繰り返し符号：「々」,「ゝ」,「ゞ」は、原則として用いない。ただし、慣用語は用いても差し支えない。（例：徐々, 各々）
7. 字体指定：文字をゴシック体、イタリック体等を分かるように記す。
ゴシック体 例：見出しなど 概要
イタリック体 例：学名など *Papaver somniferum L.*
8. 特論、総説、研究論文、ノート、資料、ステートメントの記載要領：
 - 8.1. 記載順序：8.2～8.8の順に書く。
 - 8.2. 題名、著者名：次の例に従い、表紙（用紙1枚全部）をこれに当てる。なお、所外の共著者の所属は著者名の右に*印（複数のときは*¹, *², …）を記して脚注とする。
例：医薬品の確認試験法に関する研究（第2報）
鎮痛剤のクロマトグラフィー
用賀 衛[#]・世田一郎^{*1}・東京子^{*2}
Studies on the Identification of Drugs II
Chromatographic Methods for the Analgesics
Mamoru Yoga[#], Ichiro Seta^{*1} and Kyoko Azuma^{*2}
また、著者の中の1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語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, PubMed 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、記号は、半角にする。日本語記載の場合、記号は、ハイフン以外全角にする）

例：1) Ito, A., Suzuki, B., Tanaka, C. and Kato, D.: *J. Health Sci. Review*, 7, 1234-1245 (1997)

2) a) Yamada, E. and Takahashi, F.: *Health Sci. Lett.*, 8, 2345-2356 (1996); b) Saito, G., Kimura, H. and Inoue, I.: *Health Science Bull.*, 123, 3456-67 (1995); c) Ogawa, J.: *ibid.*, 124, 12-25 (1996)

3) House, J. K.: "Recent Health Science," 2nd ed., eds. by Morrison, L. and Benjamin, M., Eiken Press Inc., Tokyo, pp. 123-234 (1997)

4) Eiken, T. and Kousei, K.: *Eiken Zasshi*, 234, 456-467 (1998)

5) 斎藤博幸, 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 1 つずつを A 4 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 1 段 (幅 84mm) か 2 段 (幅 175mm) かを考慮し、刷り上がり 1 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 A 4 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 sugar 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 (1 段又は 2 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 1 つずつを A 4 用紙の上に作成する。表の作成に際しては刷り上がり 1 段 (幅 84mm) か 2 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 A 4 用紙に、原則として英語で書く (表題は大文字ではじめ最後に「.」を付けない。また、説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する)。

例：Table 1. Classical transgenic mice and carcinogenicity

表中の文章は、原則として英語で書き、表中の項目に関する注は項目の右肩に^{a)}, ^{b)}, …の様に記して示す。

表は、図と同じように活字の版組をしないで提出原稿をそのまま掲載することも可能である。その場合には、明朝タイプの書体 (70%縮小されたときにも読みやすい大きさの文字) を用い、刷り上がり 1 段の場合には原表幅 120mm, 2 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 (1 段又は 2 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。

国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き（用語例）

注：送りがなについて_アンダーラインは注意して送るもの、□印は送らないもの。

* 印は特定のもの指すときは漢字でよいもの。

分類	用語	使う字	使わない字 備考	分類	用語	使う字	使わない字 備考	
ア	あかるい	明 ^る い	明 ^い	カ	おそらく	恐 ^ら く	恐れ、畏れ	
	あきらかに	明 ^ら かに	明 ^か に		おそれ	おそれ	おだやかに	
	あげる	上 ^げ る	上 ^る		おだやかに	落 ^と し	落とし	
	あたためる	→加温する			おとし	各々	おのおの	
	あたる	当 ^た る	当 ^る		おのおの	おのずから	自ら	
	あたらしい	新 ^し い	新 ^し い		おのずから	帯 ^び る		
	あてる	当 ^て る	当 ^る		おびる	主 ^な	おもな	
	あつかう	扱 ^う	扱 ^か う		おもな	およそ	凡そ	
	あつめる	集 ^め る	集 ^る		およそ	及 ^び		
	あらかじめ	あらかじめ	予 ^め		および	終 ^わ る	終る	
	あらたに	新 ^た に	新 ^た に		終わる			
	あらためる	改 ^め る						
	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					
	あらゆる	あらゆる	全 ^る					
	ある	ある	在 ^る 、有 ^る					
	あるいは	あるいは	或 ^は					
	あわ	あわ	泡 ^あ					
	あわす	合 ^わ す	合 ^す					
イ	いう	いう	言 ^う		かえす	返 ^す	返 ^え す	
	いくぶん	いくぶん	幾 ^分		かえって	かえって	却 ^て	
	いずれ	いずれ	何 ^れ		かかわらず	かかわらず	拘 ^ら ず	
	いちじるしい	著 ^し い	著 ^し い		かける	欠 ^け る	欠 ^る	
	いっかねん	一 ^カ 年	1箇年、一 ^ケ 年		かさねる	重 ^ね る		
	いっそう	一 ^層	いっそう		かつ	かつ	且 ^つ	
	いったん	一 ^端	いったん		かつしよく	褐 ^色	かっ ^色	
	いって	いって	行 ^っ て		かならず	必 ^ず	必 ^ず	
	いる	いる	居 ^る		かねる	兼 ^ね る	兼 ^る	
	いる	入 ^る	入 ^る		～から	〇〇から作る、△△から再結晶 よりは使わない		
	いれる	入 ^れ る	入 ^る					
	いわゆる	い ^わ ゆる	所 ^請					
	ウ	うしなう	失 ^う			がらす	ガ ^ラ ス	硝 ^子
		うすい(物)	薄 ^い	薄 ^す い		かわる	代 ^わ る	代 ^る
うすい(色)		う ^す い					(代理・代人など)	
うすめる		→希釈する	薄 ^め る		かわる	変 ^わ る	変 ^る (うつりか わる、変化)	
うちに		う ^ち に	内 ^に 、中 ^に		カ月	カ ^月	箇 ^月	
うながす		促 ^す	促 ^か す		10カ所	10カ ^所	10ヶ ^所 、10箇 ^所	
うる		う ^る	得 ^る (can or may)					
			→え ^る					
うるおす		潤 ^す	潤 ^お す					
エ		えがく	描 ^く	画 ^く				
	えらぶ	選 ^ぶ						
	える	得 ^る	(get)→う ^る					
オ	おいて	お ^い て	於 ^い て					
	おおう	覆 ^う	被 ^う					
	おおきい	大 ^き い	大 ^い					
	おおむね	お ^お むね	概 ^ね					
	おこなう	行 ^う	行 ^な う					
	おこる	起 ^こ る	起 ^る					

分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考	分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考
コ	こまかい (洗い)こむ これ これら	細かい (洗い)込む これ これら	細い 之 此等, これ等	タ	たとえば ために	例えば ために	たとえば 為に
サ	さきに さける さげる さしこむ さしつかえない さまざま さら さらに	先に 避ける 下げる さし込む 差し支えない 様々 皿 更に	さきに 避る 下る 挿し込む(挿入) 差支えない さら	チ	ちいさい ちかづく ちようど ちよつと	小さい 近づく ちようど ちよつと	小さい 近づく, 近づく 丁度 一寸
シ	しかし しがたい しげき したがう したがって したのち(に) しばしば しぶい しまう しめす しめる しゃこう しやすい しゅうまつてん じゅうぶん しょうじる じょうりゆう じょじょに しらべる	しかし し難い 刺激 従う したがって(接続詞) 従って(動詞) した後(に) しばしば 渋い しまう 示す 湿る 遮光 しやすい →終点 充分, 十分 生じる 蒸溜 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 ついで 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 洗滌	ト	とおり とき ときどき とくに どこ ところ ともせん ともなう ともに とりあつかい	とおり とき 時々 特に どこ ところ 共栓 伴う 共に 取扱い(名詞) 取り扱い(動詞)	通り 時* ときどき 何処 所* 共せん 伴う
ソ	そう そうにゆう そこ その そのほか それぞれ	沿う 挿入 そこ その そのほか それぞれ	そう入 其処 其の 其の他 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	はかり 量る 初めて 初めの 始める	秤 測る, 計る→当用 漢字 初て

分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考
ハ	はやい	速い	
ヒ	ひどしい ひとつ ひとつづつ	等しい 一つ 一つずつ	
フ	ふきん ふくざつ ふたたび ふりまぜる ふれる	付近 複雑 再び 振り混ぜる 触れる	附近 振り混ぜる 触る
ホ	ほか ほど ほとんど ほぼ	ほか ほど ほとんど ほぼ	他, 外 程 殆んど 略々, 略ぼ
マ	ますます まぜあわせ まぜる また または まだ まったく まで まま	ますます 混合せ(名詞) 混ぜ合せ(動詞) 混ぜる また 又は まだ 全く まで まま	益々 混る 又, 亦, 復 未だ 迄 俚
ミ	みたす みとめる みなす	満たす 認める みなす	満す, 充たす 認る 見なす, 見做す
ム	むしろ むずかしい むすぶ	むしろ 難しい 結ぶ	寧ろ 六ヶ敷しい 結すぶ
メ	めずらしい	珍しい	珍しい
モ	もうしこみ もえる もし もしくは もちいる もちろん もって もつとも もつぱら もどす もとに もとづく もの もる	申し込み (申込み, 申込) 燃える もし 若しくは 用いる もちろん もって 最も 専ら 戻す(もどす) 下に 基づく もの 漏る	燃る 若し 用る 勿論 以て もつぱら 許に 基く 物*, 者*
ヤ	やすい やはり やむをえず やや やわらかい	やすい やはり やむを得ず やや 柔らかい	易い 矢張り 止むを得ず 稍々 柔い, 軟かい
ユ	ゆえ ゆく	ゆえ 行く	故

分類	用 語	使 う 字	使わない字 備考
ヨ	よい よいいに ようす ようだ(に) ようやく ようゆう よほど よる より	よい 容易に 様子 ようだ(に) ようやく →融解 よほど よる より	好い, 良い ようす 様だ(に) 漸く 熔融 余程 依る, 因る 比較するとき用いる. 例: ○○より△△が大きい
ラ	ら	ら	等
リ	りゆうぶん りんぱ	留分 リンパ	溜分 淋巴, りんぱ
ロ	ろう ろうと ろかする	ろう 漏斗 ろ過する	蠟(正名はロウ)
ワ	わかる わける わずかに わたって	わかる 分ける わずかに わたって	分る, 判る, 解る 分る 僅かに 互って

国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き（単位，記号，略号）

1. SI 基本単位の名称と記号

量	単位の名称	単位記号	量	単位の名称	単位記号
長さ	メートル	m	熱力学温度	ケルビン	K
質量	キログラム	kg	物質質量	モル	mol
時間	秒	s	光度	カンデラ	cd
電流	アンペア	A			

従来用いられてきた重量はほぼ質量に置き換えられるが，当面は用語を併用できる。

2. SI 接頭語

SI 単位の 10 の整数乗倍を表すために，SI 接頭語が使われる。それらの名称と記号は次のとおりである。

倍数	接頭語	記号	倍数	接頭語	記号
10	デカ (deca)	da	10^{-1}	デシ (deci)	d
10^2	ヘクト (hecto)	h	10^{-2}	センチ (centi)	c
10^3	キロ (kilo)	k	10^{-3}	ミリ (milli)	m
10^6	メガ (mega)	M	10^{-6}	マイクロ (micro)	μ
10^9	ギガ (giga)	G	10^{-9}	ナノ (nano)	n
10^{12}	テラ (tera)	T	10^{-12}	ピコ (pico)	p
10^{15}	ペタ (peta)	P	10^{-15}	フェムト (femto)	f
10^{18}	エクサ (exa)	E	10^{-18}	アト (atto)	a

例えば，長さの単位 m の 10^3 倍は km， 10^{-2} 倍は cm， 10^{-3} 倍は mm， 10^{-6} 倍は μ m， 10^{-9} 倍は nm となる。ただし，質量の単位の整数乗倍は，グラムに接頭語をつけて表示する。例えば，mg は μ kg と記さない。

3. 特別の名称と記号を持つ SI 組立単位の例

量	単位の名称	単位の記号	量	単位の名称	単位の記号
周波数	ヘルツ	Hz	電気抵抗	オーム	Ω
力	ニュートン	N	コンダクタンス	ジーメンズ	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	ベクレル	Bq
			線量当量	シーベルト	Sv

4. SI と併用される SI 以外の単位の例

量	単位の名称	単位の記号	量	単位の名称	単位の記号
時間	分	min	質量	トン	t
	時	h	圧力	バール	bar
	日	d	エネルギー	電子ボルト	eV
体積	リットル	l, L	平面角	度	$^{\circ}$

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	S. D.
分解点	mp (dec.)	R f 値	$R f$	標準誤差	S. E.
沸点	bp	保持時間	t_r	紫外吸収	UV
凝固点	fp	50%致死量	LD_{50}	赤外吸収	IR
比重	d	50%有効量	ED_{50}	核磁気共鳴	NMR
屈折率	n	経口投与	p. o.	電子スピン共鳴	ESR
施光度	α	静脈投与	i. v.	施光分散	ORD
吸光度	A	腹腔投与	i. p.	円偏光二色性	CD
水素イオン指数	pH	皮下投与	s. c.	マスペクトル	MS
pK値	pK	筋肉投与	i. m.		

平成21年度図書委員

大野泰雄	森川馨	*能美健彦	*小出達夫
*橋井則貴	緒方潤	*田邊思帆里	加藤玲子
*杉本直樹	*高附巧	六鹿元雄	*野田衛
宮原美知子	福原潔	佐井君江	*穂山浩
*山本都	中野達也	*高木篤也	簾内桃子
吉田緑	*安井学	小野敦	*二瓶幸一

(*印は編集委員)

編集協力

河本洋子 犀川真由子

国立医薬品食品衛生研究所報告 第127号

平成21年11月20日 印刷

平成21年11月27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

