

# 国立医薬品食品衛生研究所報告

平成 28 年

---

Bulletin of  
National Institute of  
Health Sciences

No.134

2016

---



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 28 年

---

## Bulletin of National Institute of Health Sciences

No.134

2016

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134号第一部

## 特論

細胞加工物のウイルス安全性について	遊佐敬介, 苑宇哲	1
マルチアプローチによる転写制御分子の創製	栗原正明	5
ヒトiPS細胞由来心筋細胞の活動電位イメージングの測定装置と実験プロトコルの開発	井出吉紀, 山崎大樹, 諫田泰成, 関野祐子	9
臭素酸カリウムの発がん病理研究	梅村隆志	17

## 総説

OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの改訂	本間正充, 森田健	22
----------------------	-----------	----

## 研究論文

シリカ、銀及び酸化亜鉛のナノ分散液の <i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> 毒性学的評価	松岡厚子, 児玉幸夫, 吉田緑, 伊佐間和郎, 中嶋富士雄, 井上薫, 河上強志, 松田良枝, 五十嵐良明	33
ダニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査	清水久美子, 秋山卓美, 伊佐間和郎, 河上強志, 五十嵐良明	42

## ノート

畜水産食品中のプロゲステロン含有量調査	坂井隆敏, 根本了, 松田りえ子, 穂山浩	50
加工食品中のアクリルアミド分析法の確立と含有実態調査	鍋師裕美, 高附巧, 堤智昭, 手島玲子, 穂山浩	55
高速液体クロマトグラフィーを用いたフェロシアン化物中のフェリシアン化塩試験法の検討	建部千絵, 久保田浩樹, 大概崇, 多田敦子, 河村葉子, 穂山浩, 佐藤恭子	63
$\beta$ -アポ-8'-カロテナールの純度試験(副成色素)に関する検討	古庄紀子, 建部千絵, 久保田浩樹, 多田敦子, 穂山浩, 佐藤恭子	68

## 資料

国立衛研 違法ドラッグデータ閲覧システムについて	田中理恵, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 瀬川勝智, 中野達也, 斎藤嘉朗, 緒方潤, 最所和宏, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志	73
Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (II)	Mika Takahashi, Mariko Matsumoto, Takashi Yamada, Atsushi Ono, Akihiko Hirose	79

## 国立医薬品食品衛生研究所報告第134号第一部

業務報告	85
平成27年度所外研究員等の受け入れ名簿	156
誌上発表(原著論文)	161
誌上発表(総説・解説)	250
単行本	277
行政報告	278
学会発表	289
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	356
各審議会, 委員会等について	364
専門分野を生かした職務関連の社会貢献等について	370
特別講演会	382
平成27年度に行った主な研究課題	383
平成27年度行政試験等の処理状況	400
公的認定試験検査機関の活動報告	401
国立医薬品食品衛生研究所報告第134号人名索引	402
国立医薬品食品衛生研究所報告第134号キーワード索引	410

## CONTENTS

**Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.134, Part 1****Special Reports**

Viral safety for cell-based therapeutic products .....	Keisuke Yusa, Yuzhe Yuan .....	1
Multi-approach to development of transcriptional regulators .....	Masaaki Kurihara .....	5
Development of imaging apparatus and experimental protocol for evaluating action potential of human iPSC-derived cardiomyocytes .....	Yoshinori Ide, Daiju Yamazaki, Yasunari Kanda, Yuko Sekino .....	9
Cancer research for potassium bromate .....	Takashi Umemura .....	17

**Review**

Revision of OECD genotoxicity test guidelines .....	Masamitsu Honma, Takeshi Morita .....	22
---	---------------------------------------	----

**Originals**

<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> toxicological studies of silica, silver, and zinc oxide nano-suspensions .....	Atsuko Matsuoka, Yukio Kodama, Midori Yoshida, Kazuo Isama, Fujio Nakajima, Kaoru Inoue, Tsuyoshi Kawakami, Yoshie Matsuda, Yoshiaki Ikarashi .....	33
Evaluation of skin sensitization potential of guanidine rubber accelerators and their analysis in household rubber products .....	Kumiko Shimizu, Takumi Akiyama, Tsuyoshi Kawakami, Kazuo Isama, Yoshiaki Ikarashi .....	42

**Notes**

Survey of progesterone levels in livestock and fishery products .....	Takatashi Sakai, Satoru Nemoto, Rieko Matsuda, Hiroshi Akiyama .....	50
Development of an analysis method for acrylamide in processed foods and a survey on the level of acrylamide in processed foods .....	Hiroshi Akiyama, Satoshi Takatsuki, Tomoaki Tsutsumi, Reiko Teshima, Hiroshi Akiyama .....	55
Study on the determination of ferricyanide in ferrocyanide using high performance liquid chromatography .....	Chiye Tatebe, Hiroki Kubota, Takashi Ohtsuki, Atsuko Tada, Yoko Kawamura, Hiroshi Akiyama, Kyoko Sato .....	63
Study on the test method of subsidiary colors in the $\beta$ -apo-8'-carotenal food additive .....	Noriko Furusho, Chiye Tatebe, Hiroki Kubota, Atsuko Tada, Hiroshi Akiyama, Kyoko Sato .....	68

**Technical Data**

Data search system for new psychoactive substances provided by the National Institute of Health Sciences in Japan .....	Rie Tanaka, Maiko Kawamura, Nahoko Uchiyama, Katsunori Segawa, Tatsuya Nakano, Yoshiro Saito, Jun Ogata, Kazuhiro Saisho, Ruri Kikura-Hanajiri, Takashi Hakamatsuka .....	73
Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (II) .....	Mika Takahashi, Mariko Matsumoto, Takashi Yamada, Atsushi Ono, Akihiko Hirose .....	79

**Bulletin of National Institute of Health Sciences, No.134, Part 2**

Annual Reports of Divisions .....	85
Researchers List in Fiscal Year 2015 .....	156
Summaries of Papers Published in Other Journals (Original Papers) .....	161
Summaries of Papers Published in Other Journals (Reviews and Articles) .....	250
Title of Scientific Books .....	277
Scientific Reports to Governmental Agencies .....	278
Titles of Speeches at Scientific Meetings etc. ....	289
Meeting Reports Related to Regulatory Science .....	356
Committee Members List in Fiscal Year 2015 .....	364
Other Relative Activities .....	370
Special Seminars .....	382
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2015 .....	383
Inspection Activities Requested by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Fiscal Year 2015 .....	400
Annual Report of Official Medicines Control Laboratory .....	401
Author Index .....	402
Subject Index .....	410

## 細胞加工物のウイルス安全性について

遊佐敬介<sup>#</sup>, 苑宇哲

### Viral safety for cell-based therapeutic products

Keisuke Yusa<sup>#</sup>, Yuzhe Yuan

Viral safety is a critical issue for cell-based therapeutic products. Here, we categorized adventitious viruses into the following three groups according to their route of contamination: (i) viruses derived from human cells or tissues, (ii) contaminating viruses introduced during manipulation of human cells or tissues, and (iii) viruses derived from raw materials such as fetal bovine serum (FBS). For the third group of viruses, we confirmed that commercially available FBS frequently contains bovine viral diarrhea virus (BVDV) and bovine polyomavirus (BPymV) nucleotides; however, the contaminating viruses in FBS are usually inactivated by gamma irradiation. Novel virus detection tests are required because of the specific properties of cell-based therapeutic products. Deep sequencing, as a virus detection assay, will be an alternative and useful technology to ensure product safety.

Keywords: viral safety, cell-based therapeutic product, raw materials

#### 1. はじめに

2014年11月に改正薬事法と再生医療安全性確保法が施行となり、医薬品・医療機器とは別に再生医療製品と遺伝子治療製品からなる「再生医療等製品」という新しい枠組みが出来た。細胞加工物は、難治性疾患治療への期待と同時にiPS細胞等の我が国の基礎研究の優位性を生かした成長産業としての期待も大きい。細胞加工物のさらなる開発と実用化を支える上で製品の安全性の確保は重要な課題である。特に製品へのウイルス混入をどのように防ぐかについては注意深い対応が必要である。細胞加工物は生物由来原料を使って製造される他の製品と比べて際立った特徴もっている。それは有効成分が細胞そのものであるため、他の製品には適用可能であるウイルスの不活化・除去といった化学的物理的処理に馴染まないということである。実際ウイルス除去や不活化

の工程を製造工程に組み入れるのは困難である場合が多い。ウイルスの製品への混入は過去の血液製剤のウイルス汚染事例を引くまでもなく重大な事態を引き起こす可能性があり、製品の安全性に対する信頼の失墜に繋がる。ここではバイオ医薬品と細胞加工物のウイルス安全性確保に関する製造工程における違いを概観しながら、主に他家細胞を用いた場合に細胞加工物のウイルス安全性をどのように担保していくべきかについて、また次世代シーケンス法 (NGS) を用いた新規ウイルス試験法の実用化への見通しについて述べる。

#### 2. 細胞加工物への混入ルートによって想定される混入ウイルス

細胞加工物の安全性を考える上で、生物由来原料を使って製造されるバイオ医薬品のウイルス安全性がどのように確保されてきたかを振り返ることも意味をもつだろう。国内ではICH Q5Aガイドライン<sup>1)</sup>に準拠してバイオ医薬品のウイルス安全性が確保されて来た (図1)。この間、15年以上最終製品のウイルス汚染は報告されていない。現行のウイルス試験等のデータや経験はこの間に蓄積され、製品の安全性は十分担保されてきたといえる。しかしバイオ医薬品製造では細胞培養時バイオリア

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:  
Keisuke Yusa; Division of Cell-Based Therapeutic Products, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext. 313; Fax: +81-3-5787-3831

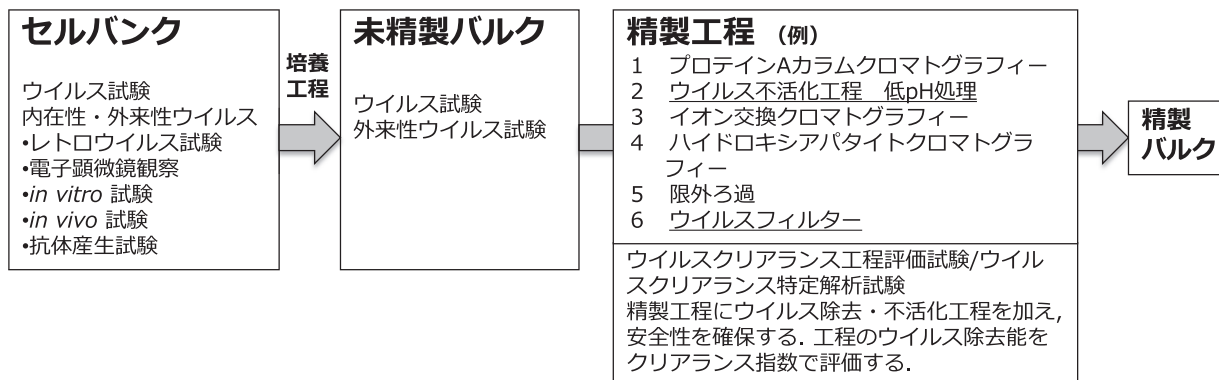


図1 バイオ医薬品製造におけるウイルス試験

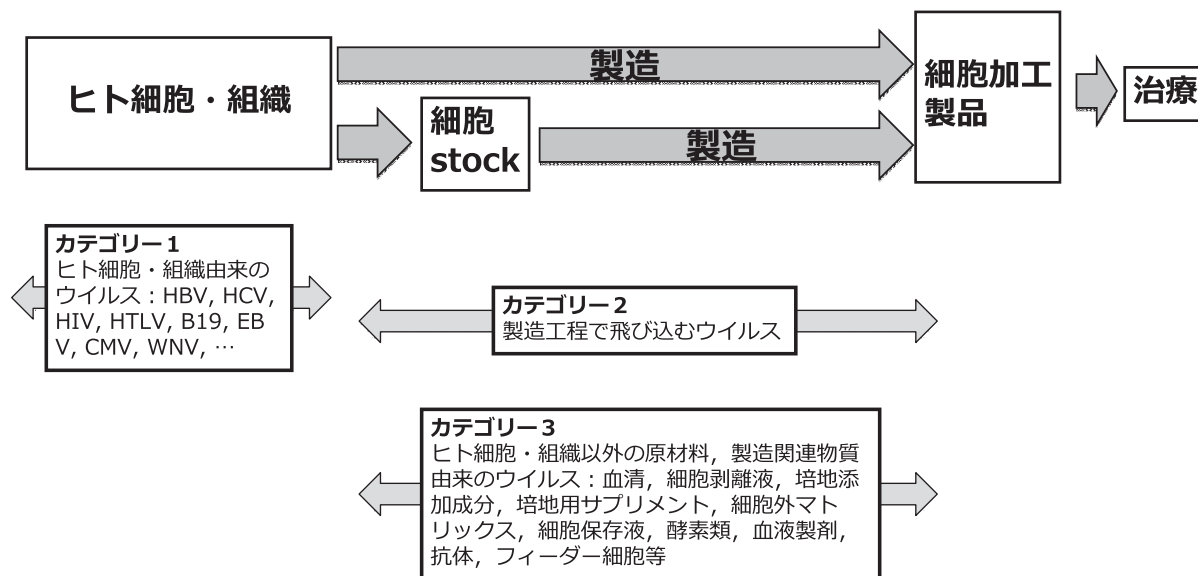


図2 細胞加工物へのウイルス混入ルート

クター内へのウイルスの混入事例があることから細胞加工物に関しても最終製品への混入リスクがあることを念頭に置く必要がある<sup>1,2)</sup>。バイオ医薬品製造において注目すべきは、万が一バルクにウイルスが混入してもその下流の精製工程にはウイルス不活化や除去といった工程が含まれており、いわば安全性のためのセーフティーネットとして機能しているという点である。バルクから最終製品までの精製工程は承認時にモデルウイルス等を用いてウイルスクリアランス評価が行われている。これに対し細胞加工物ではこのようなウイルスクリアランス効果をもつ工程が存在しない。これが両者で大きく異なる点である。

細胞加工物の特徴として次の点が挙げられる。①出発原料は多くの場合ヒト細胞・組織である（ドナーからのウイルス持ち込みの可能性がある）。②バイオ医薬品等他の製品と比較してその製造規模が小さい（ウイルス試験に使う検体量に制限がある）、③原料、中間製品、最

終製品ともに細胞を含んでいる（フィルターを使ったウイルス除去、加熱処理、低pH処理等によるウイルスの不活化が困難である）④最終製品の多くは、長期保存に不適である（ウイルス試験の迅速性が要求される）⑤バイオ医薬品等他の製品と比較して製品の多様性が高い（多様な原材料を使う場合ウイルス混入リスクを評価しにくい）。

以上製品の特徴をふまえて、細胞加工物へのウイルス混入ルートを考えてみたのが図2である。混入の可能性があるウイルスとしてまず挙げられるのは、原料であるヒト細胞にウイルスが感染している場合である。ヒトは生まれてから死ぬまでウイルスに常に暴露されている。多くの場合感染は成立せず、成立したとしてもその多くは免疫系によって排除される。しかし免疫系によって完全に排除されずに、特定の組織や細胞に潜伏するウイルスがいる。代表的なウイルスとしてレトロウイルス、肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス等が挙げられる。HTLV

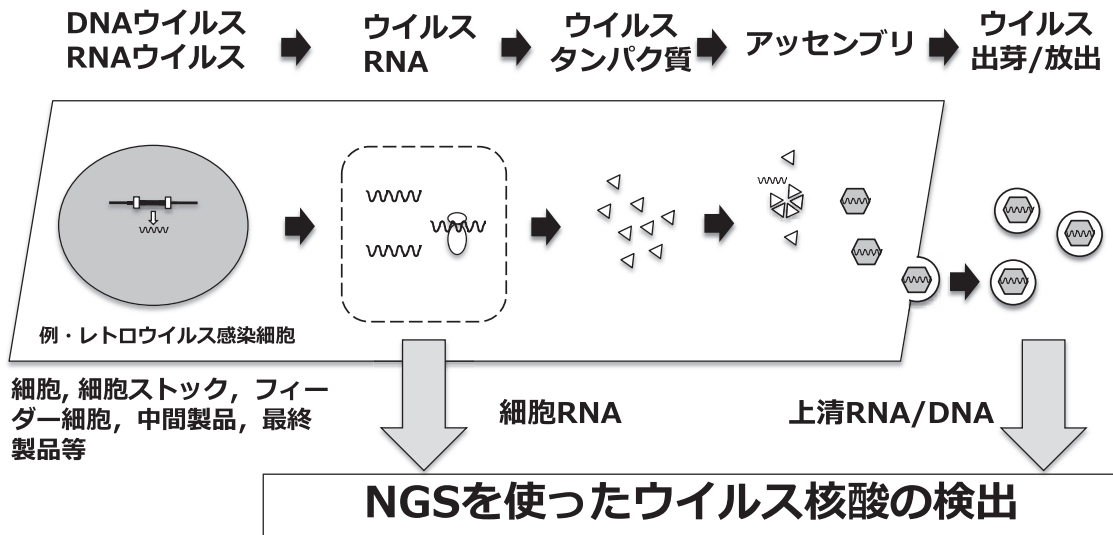


図3 次世代シーケンサー（NGS）を使ったウイルス試験法

（ヒトTリンパ好性ウイルス）やHIVはいずれもレトロウイルスであり、感染するとウイルスゲノムはヒトゲノムに挿入され、宿主のゲノムと一体化するため感染が成立すると排除することは困難になる。またこれらのレトロウイルスとB型肝炎ウイルス（HBV）、C型肝炎ウイルス（HCV）は致死性疾患を引き起こすことから感染の有無を調べる必要がある。この他ヒトパルボウイルスB19も注意を要する。またEBウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、ウエストナイルウイルス（WNV）等には必要に応じて検査すべきウイルスである。ウインドウピリオドにより検出できない場合もあるが、ヒトウイルスは核酸増幅法（NAT法）によって簡便に感染の有無を判定し、原料としての適格性を判断することができる。

2つめのウイルス混入ルートとして、ヒト細胞を採取する際や製造中に外界や作業員からウイルスが混入するケースがある。ヒト細胞・組織の採取に携わる医療従事者、製造技術者の手技や無菌操作、製造設備もウイルス安全性の重要要件である。しかし、もっとも注意を払うべきは次に述べる生物由来原料を介したウイルスの混入である。

バイオ医薬品製造におけるバイオリクターへのウイルス混入事例のうち最も多いのが、ここでは3つめに分類した原材料・製造関連物質、特に生物由来原料を介したウイルスの混入である。既に述べたように細胞加工物ではウイルスクリアランスの工程がないため、感染性のウイルスが混入し、ヒト細胞に感染が成立すると最終製品までウイルスが持ち込まれてしまう可能性が高い。そのため原材料として使われる生物由来原料の安全性は極めて重要になる。

### 3. 生物由来原料のウイルス安全性

細胞加工物の原材料でウイルス混入に関して高いリスクを持ち、かつ汎用される生物由来原料として注意すべき原材料のひとつにウシ胎児血清（FBS）がある。現在国内で承認されている細胞加工物は4品目あるが、そのいずれでも製造工程でFBSが使われている。国内で使われているFBSは米国連邦規則（9CFR113）ないしEMAのガイドライン<sup>3)</sup>に基づくウイルス試験済みのものが使われている。この試験法ではウシウイルスに感染感受性をもつ細胞を使ってウイルスを増殖させ、蛍光抗体法を用いて7種類のウイルスの有無を調べる。また赤血球凝集反応や細胞変性によってその他のウイルスを検出する。しかしこれらの試験法でFBSに含まれるウイルスのすべてを検出できるわけではないことも指摘されている<sup>1)</sup>。EMAのガイドラインでは、 $\gamma$ 線照射等によってウイルスを不活化することでFBSの安全性を確保するように記載されている。しかしパルボウイルスのようにウイルス粒子径が小さく、エンベロープをもたないDNAウイルスは $\gamma$ 線抵抗性であることが知られている<sup>4)</sup>。特に近年ウシから見つかったパルボウイルスに関しては不明な点も多く注意を要する<sup>5)</sup>。実際に国内で市販されているFBSに含まれるウイルス核酸をNAT法で調べてみると、産地やブランドの異なるバッチでウシウイルス性下痢ウイルス（BVDV）やウシポリオーマウイルス（BPymV）が高頻度で検出される<sup>6)</sup>。FBSは数百頭から千頭単位のウシ胎児の血清をプールして製造されるため、現在使われているFBSバッチは産地を問わずこうしたウイルス核酸で汚染されている可能性が高い。さらに未知のウイルスによる汚染の可能性なども考慮すると、ここでは $\gamma$ 線照射によるウイルスの不活化処理の重要性を改めて指摘しておきたい。

#### 4. 世代シーケンサー (NGS) 法によるウイルス試験法の開発

細胞加工物のウイルス安全性は、原料であるヒト細胞・組織やストックされたiPS細胞等（必要に応じて中間製品、最終製品）を迅速性と検出感度に優れたウイルス試験法で調べることによって担保される。現実にはICH Q5A<sup>1)</sup>やフィーダー細胞のウイルス安全性のための指針<sup>7)</sup>等に示された既知のウイルス試験に基づく試験法の運用が行われている。しかし細胞加工物の特徴に照らしてこれらのウイルス試験法では対応が難しいケースが予想される。ガイドラインに明示されているウイルス試験法は、ウイルスの感染性の有無を判定することに重点が置かれており、*in vitro*、*in vivo*試験法ともに結果が出るまでに時間を要する場合が多い。またウイルス試験の多くはウイルスを取り扱う熟練した技術者やバイオセーフティーレベル2 (BSL2) の施設が必要であり、ウイルス試験委託会社に試験を委託する必要がある。これらの試験法はフィーダー細胞や細胞ストック等のウイルス試験法として適用可能だが、迅速性を要求される場合には核酸増幅法 (NAT) や次世代シーケンサー法 (NGS法) が有用である。NAT法は検出感度は優れており、短時間に特定のウイルス核酸を検出することは可能だが、未知のウイルスに対応できず、検出するウイルス種の数にも限界がある。

NGS法は感染細胞内で転写されるウイルスの遺伝子転写産物や細胞上清中からウイルスシーケンスを網羅的に検出する方法である。我々は、NGS法によるウイルス試験法の実用化を目指して細胞RNAからウイルス関連配列を検出する試験法について検討してきた (図3)。その結果ウイルス感染細胞のRNAに含まれているウイルスシーケンスを高感度で検出するパイプライン

を構築し、効率よくウイルスを検出できることを明らかにした<sup>6)</sup>。この解析を通じて明らかになったことは、①条件や検出する標的ウイルスによって検出感度は多少上下するが今回用いたモデルウイルスではNAT法とほぼ同等の検出感度を示した、②既知のウイルスゲノムデータとの類似性から近縁の未知のウイルスや多様性に富むRNAウイルスを広い範囲で検出することが可能である、③感染性ウイルスを取り扱う設備やウイルス取り扱い技術者を必要としない、④検出に必要なのは数 $\mu$ gの細胞RNAである、⑤同時に複数のウイルスを検出可能である、⑥既存のウイルス試験法に比較して低コストで実施可能等である。実用可能な試験法とするためには試験結果までの時間をいかに短縮するか、バリデーション等を含めて改善・整備すべき点もあるが、NGSの今後の技術的な進歩を考慮すると比較的簡便で、高感度、低コストで結果が得られるウイルス試験法として実施可能だと考えられる。

#### 引用文献

- 1) <http://www.nihs.go.jp/dbcb/guidelines.html>
- 2) Bethencourt, V: *Nature Biotech.* 2009;27:681.
- 3) [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2013/06/WC500143930.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/06/WC500143930.pdf)
- 4) Nims RW, Gauvin G, Plavsic M: *Biologicals.* 2011;39:370-7.
- 5) Lau SK, Woo PC, Tse H, Fu CT, Au WK, Chen, XC, *et al.*: *J Gen Virol.* 2008;89:1840-8.
- 6) Yuan *et al.* unpublished data.
- 7) <http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/isyoku2/sisin.html>



## マルチアプローチによる転写制御分子の創製

栗原正明

### Multi-approach to development of transcriptional regulators

Masaaki Kurihara

We demonstrated design, synthesis and evaluation of ligands of nuclear receptors, stapled short helical peptides as vitamin D receptor (VDR)-coactivator interaction inhibitors, estrogen receptor degradation inducer based on a protein knockdown strategy and selective estrogen receptor down-regulators.

Keywords: transcriptional regulator, nuclear receptor, stapled short helical peptide, protein knockdown strategy, selective estrogen receptor down-regulator

#### はじめに

核内受容体は転写因子として様々な生理作用を転写レベルで制御している。それゆえ、創薬の重要なターゲットタンパクと考えられている。ここでは、幾つかの方法論による核内受容体の転写制御分子の創製について報告する。核内受容体のオン・オフを制御するには一般的にはリガンドであるアゴニストとアンタゴニストがある。ここでは、リガンドの創製とそれ以外の方法による核内受容体の転写制御法についても述べる。

#### (1) 核内受容体の新規リガンドの創製

レチノイド受容体 (RAR) のアゴニストの開発を行った<sup>1)</sup>。RARのリガンドであるAM80のN置換基によるアミドボンドのコンフォメーション変化を回避するために分子内に環構造を導入したサイクリックウレア構造を基本骨格とし、RAR $\alpha$ とのドッキングスタディによりリガンドをデザインした。HL-60細胞を用いた分化誘導活性を評価したところ、もっとも活性の強かったものがYR105 (ED<sub>50</sub>: 8.3nM)であった(図1)。転写活性化能はAM80に及ばなかったが、内在性リガンドである活性型ビタミンA (all-trans retinoic acid; ATRA) と同等の

細胞分化誘導活性を有していた。図2にYR105とRAR $\alpha$ の結合モデルを示した。

次に、ビタミンD受容体 (VDR) 新規リガンドの創製を行った<sup>2,3)</sup>。VDRは骨代謝、細胞分化、免疫調節等に関与しており、骨粗しょう症、皮膚病、ガン等の治療薬として期待されている。ビタミンD受容体の内在性リガンドは活性型ビタミンD<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)である。2000年にVDRと1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>が結合したX線構造解析が報告された。これにより、VDRとリガンドの結合様式が明らかとなり、ドッキングスタディによりVDRの新規リガンドの設計が可能となった。我々のグループでも、新規リガンドの設計、合成、活性評価を行いYR301, YR305を創製した(図3)。

YR301及びYR335を設計・合成した。HOS細胞を用いた転写活性の評価を行った結果、内在性リガンドである活性型ビタミンD<sub>3</sub>に匹敵する転写活性 (YR301: 0.04nM, YR335: 0.06nM)を示した<sup>2,3)</sup>。YR301, YR335ともVDRのligand binding domain (LBD)と結合したX線構造解析を行った。(YR301: 2ZFX, YR335: 3AUN) YR335とVDRのLBDのX線構造解析の結果を図4に示した。6つの残基と水素結合を形成していることが明らかとなった。これは、設計の段階で行ったモデリングの構造と完全に一致した。

#### (2) 核内受容体とコアクチベータとの結合を阻害する分子

核内受容体にアゴニストが結合すると、ヘリックス12 (H12)が折りたたみ(コンフォメーション変化)を起こし、コアクチベータタンパクと結合し転写活性が

# To whom correspondence should be addressed:

Masaaki Kurihara; Division of Organic Chemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.222; Fax: +81-3-5787-3831; E-mail: masaaki@nihs.go.jp

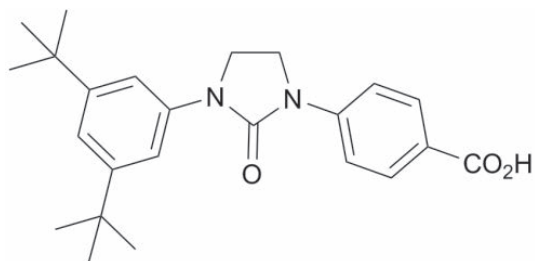


図1 YR105の構造

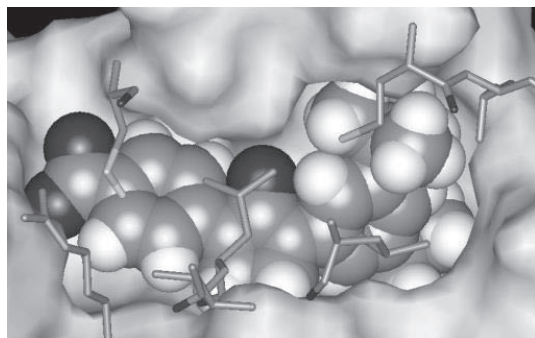


図2 YR105とRARαの結合モデル

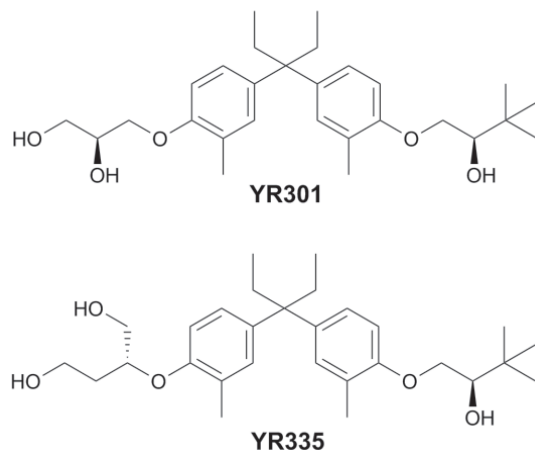


図3 YR301 (上), YR335 (下) の構造

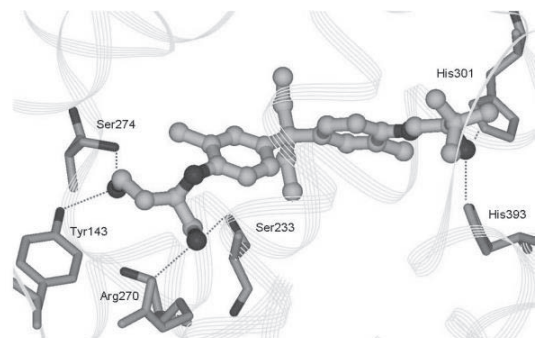


図4 YR335, 活性型ビタミン D3 と VDR の結合 X 線構造

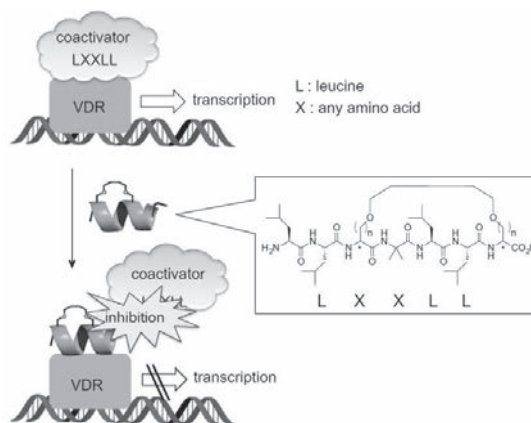


図5 安定化ヘリカルペプチドによる核内受容体とコアクチベータとの結合阻害

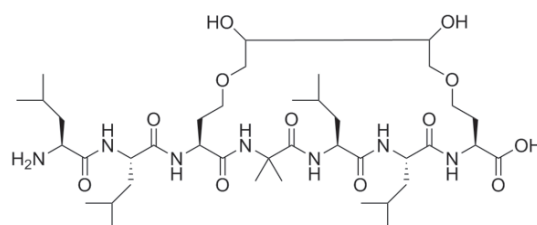


図6 DPI-07の構造

促進される。アンタゴニスト分子はこのヘリックス12の折りたたみを阻害すると考えられている。核内受容体のアゴニストが結合し、H12が正しく折りたたまれても、コアクチベータの結合を阻害することができれば転写を阻害することができる。そこで、コアクチベータがVDRと結合する部分であるLXXLLモチーフを含むヘリックス構造を模倣した短鎖ペプチドがコアクチベータとVDRの結合を阻害すると考えた(図5)。この短鎖ペプチドは、 $\alpha$ ヘリックス構造をとる必要があるため、ペプチドにヘリックス性を増加する $\alpha$ 、 $\alpha$ -ジ置換アミノ酸、架橋構造を導入した。VDRとコアクチベータの結合阻害を評価した結果、DPI-07が最も強い活性を示した(図6)。モデリングの結果、DPI-07とVDRの結合は図7のようであると考えられる。架橋構造上の2つの水酸基はタンパク質接触面とは反対側に向いており、水との水和エネルギーを低下させていると考えられる。水酸基のないペプチドの阻害活性は2ケタ低かった。水酸基の位置を別の場所にデザインしたDPI-10も高い阻害活性を示した(図8, 図9)<sup>6,7)</sup>。この安定化ヘリカルペプチド阻害分子に関しては、さらに細胞膜透過ペプチドを付与することにより細胞レベルで活性を持たせることにも成功している<sup>8)</sup>。

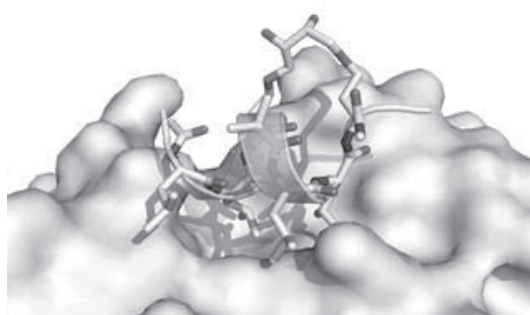


図7 DPI-07とVDRのドッキングモデル

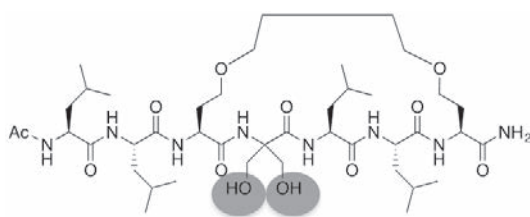


図8 DPI-10の構造

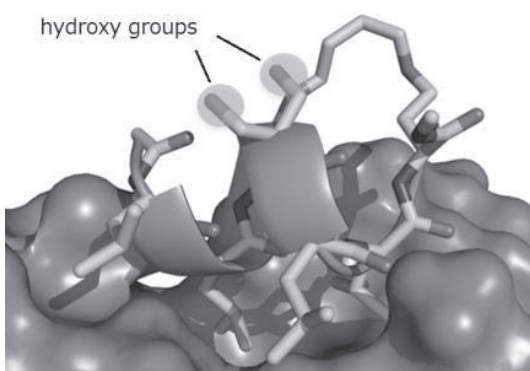


図9 DPI-10とVDRのドッキングモデル

(3) 核内受容体をターゲットにしたプロテインノックダウン分子

プロテインノックダウン分子とは、標的タンパク質に結合するリガンド分子とユビキチンリガーゼ (cIAP1) と結合する分子とをリンカーで結合させることで、標的タンパク質をユビキチン化し、プロテアソーム系での分解を誘導する分子である (図10)。エストロゲン受容体 (ER) は乳がん細胞で過剰発現しており、がん細胞の増殖に関わっている。ERを分解誘導する分子は乳がんの治療薬となり得る。そこで、ERのリガンドである4-ヒドロキシタモキシフェンとcIAP1のリガンドであるベスタチンをリンカーで結合した分子をデザインした (図11)。MCF-7細胞を用いてER $\alpha$ の分解誘導を評価した (図12)。化合物7が最も強い分解誘導活性を示した。こ

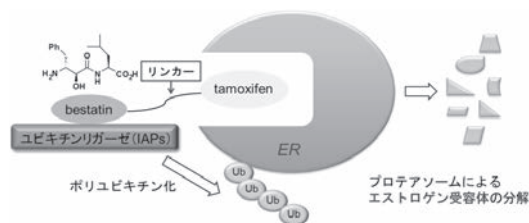
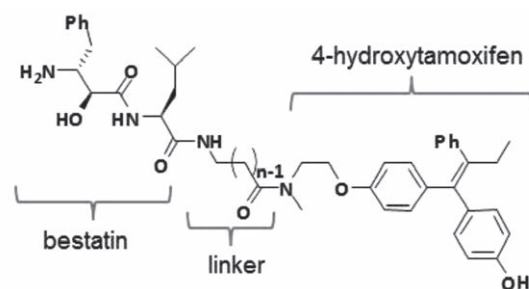


図10 ERを分解誘導するメカニズム



5: n=1, 6: n=3, 7: n=5

図11 プロテインノックダウン分子の構造

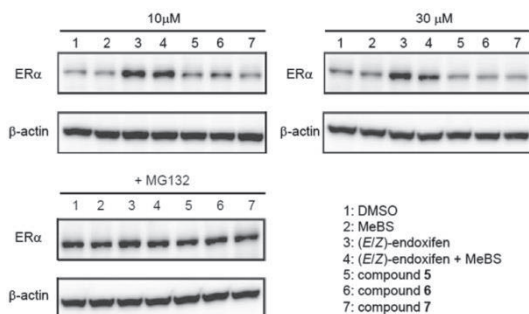


図12 ER $\alpha$ の分解誘導評価

の作用はプロテアソーム阻害剤であるMG132で抑制されることからこの分解誘導作用にはプロテアソーム系が関与していることが明らかとなった<sup>9-11)</sup>。

(4) 核内レセプターのダウンレギュレーター

標的タンパク質に結合することで、タンパク質を不安定化し、細胞内のユビキチン-プロテアソーム系での分解を誘導する分子がダウンレギュレーターである。エストロゲン受容体 (ER $\alpha$ ) において核内受容体に結合することで核内受容体タンパクを不安定化し、ダウンレギュレーションを起こす分子を設計・合成した<sup>12-14)</sup>。代表的なものを図13に示した。MCF-7細胞を用いてER $\alpha$ のタンパク量を評価したところ、C10, C10F, C10OHでダウンレギュレーションが見られた。疎水性の高いC10Fが最も活性が高く、親水性基が付いたC10OHでは活性が低いことが明らかとなった。この作用はプロテア

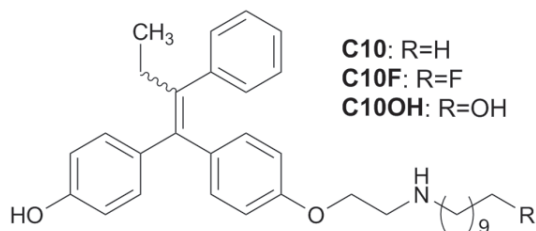


図 13 設計したダウンレギュレーターの構造

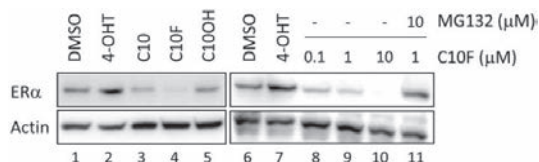


図 14 ER α の分解誘導評価

ソーム阻害剤である MG132 で抑制されることからこの分解誘導作用にはプロテアソーム系が関与していることが明らかとなった (図 14)。ダウンレギュレーターの作用メカニズムは、ダウンレギュレーターの長いアルキル鎖がタンパク質の外側に出て疎水環境にある特定のタンパク質表面に結合することで、ヘリックス 12 がタンパク質表面に密着できず、ヘリックス構造を取れず不安定な構造になることによって起きると考えている (図 15)。

#### 引用文献

- 1) Kurihara M, Rouf ASS, Kansui H, Kagechika H, Okuda H, Miyata N: *Bioorg Med Chem Lett*. 2004;14:4131-4.
- 2) Hakamata W, Sato Y, Okuda H, Honzawa S, Saito N, Kishimoto S, Yamamoto A, Sugiura T, Kittaka A, Kurihara M: *Bioorg Med Chem Lett*. 2008;18:120-3.
- 3) Kakuda S, Okada K, Eguchi H, Takenouchi K, Hakamata W, Kurihara M, Takimoto-Kamimura M: *Acta Crystallogr F*. 2008;64:970-3.
- 4) Demizu Y, Nakatsu A, Sato Y, Honzawa S, Yamashita A, Sugiura T, Kittaka A, Kato S, Okuda H, Kurihara M: *Lett Org Chem*. 2011;8:43-7.
- 5) Demizu Y, Takahashi T, Kaneko F, Sato Y, Okuda H,

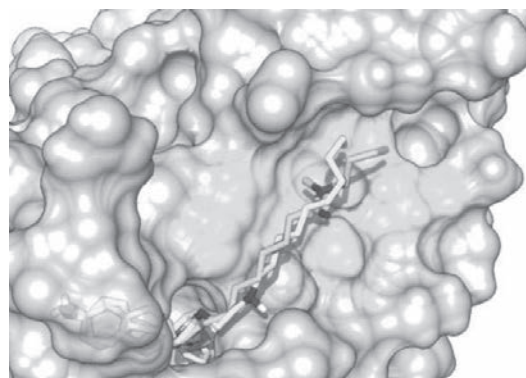


図 15 C10 と ER α とのドッキングモデル

Ochiai E, Horie K, Takagi K, Kakuda S, Takimoto-Kamimura M, Kurihara M: *Bioorg Med Chem Lett*. 2011;21:6104-7.

- 6) Demizu Y, Nagoya S, Shirakawa M, Kawamura M, Yamagata N, Sato Y, Doi M, Kurihara M: *Bioorg Med Chem Lett*. 2013;23:4292-6.
- 7) Misawa T, Demizu Y, Kawamura M, Yamagata N, Kurihara M: *Bioorg Med Chem*. 2015;23:1055-61.
- 8) Nagakubo T, Demizu Y, Kanda Y, Misawa T, Shoda T, Okuhira K, Sekino Y, Naito M, Kurihara M: *Bioconjugate Chem*. 2014;25:1921-4.
- 9) Demizu Y, Okuhira K, Motoi H, Ohno A, Shoda T, Fukuhara K, Okuda H, Naito M, Kurihara M: *Bioorg Med Chem Lett*. 2012;22:1793-6.
- 10) Okuhira K, Demizu Y, Hattori T, Ohoka N, Shibata N, Nishimaki-Mogami T, Okuda H, Kurihara M, Naito M: *Cancer Science*. 2013;104:1492-8.
- 11) Okuhira K, Demizu Y, Hattori T, Ohoka N, Shibata N, Kurihara M, Naito M: *Methods Mol Biol*. 2016;1366:549-60.
- 12) Shoda T, Okuhira K, Kato M, Demizu Y, Inoue H, Naito M, Kurihara M: *Bioorg Med Chem Lett*. 2014;24:87-9.
- 13) Shoda T, Kato M, Harada R, Fujisato T, Okuhira K, Demizu Y, Inoue H, Naito M, Kurihara M: *Bioorg Med Chem*. 2015;23:3091-6.
- 14) Shoda T, Kato M, Fujisato T, Misawa T, Demizu Y, Inoue H, Naito M, Kurihara M: *Bioorg Med Chem*. 2016;24:2914-9.

## ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の活動電位イメージングの測定装置と 実験プロトコルの開発

井出吉紀\*, 山崎大樹, 諫田泰成, 関野祐子#

### Development of imaging apparatus and experimental protocol for evaluating action potential of human iPSC-derived cardiomyocytes

Yoshinori Ide\*, Daiju Yamazaki, Yasunari Kanda, Yuko Sekino#

Human-iPS derived cardiomyocytes (hiPS-CMs) are widely expected to be used in nonclinical studies. We have standardized a testing method using hiPS-CMs and field potential (FP) recording with a multi-electrode array (MEA) system. We have successfully demonstrated its reproducibility and robustness by applying a multi-site prevalidation study using E-4031 which specifically blocks the human ether-a-go-go-related gene (hERG) channel. We organized a multi-disciplinary consortium, Japan iPS Cardiac Safety Assessment (JiCSA), to evaluate the usage of hiPS-CMs for predicting the proarrhythmic risks using 60 compounds. JiCSA has achieved significant scientific progress for using hiPS-CMs in safety pharmacology. In the US, a Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) paradigm has been proposed to improve cardiac safety for regulatory approval. It aims to replace the preclinical hERG assay and the clinical tQT study required in the ICH S7B and E14 guidelines with more translationally relevant assessments of proarrhythmic risk. JiCSA is now collaborating with the CiPA myocyte team for an international validation study, and collecting MEA data using blinded compounds.

An additional approach using voltage sensitive dye (VSD)-imaging of membrane potential changes has been chosen for the international validation. Hence, we have customized a VSD-imaging protocol for the cumulative application of drugs in which stable responses over 90min should be observed. First, we developed equipment for a simultaneously recording FP and VSD-imaging. We then selected a fluorescent VSD, Di-8-ANEPPS, to stain hiPC-CMs sheets because it is the least toxic among the dyes that we tested. When we started VSD-imaging experiments, we observed slight changes in FPD and the inter-spike interval of the MEA recordings. We found that the changes came from an increase in the temperature of the culture medium. To avoid the temperature increase, we determined the intensity and duration of the illumination (530nm) needed to excite the VSD and inserted a copper plate with a 5-mm diameter hole between a recording probe and a heating plate. In addition, we made a cap for the recording probe with a ribbon heater to prevent evaporation of the culture medium in the MEA probe during the assay. Our recording condition for the VSD-imaging and the improvement of the equipment itself would be very useful in performing long-term VSD-imaging for cumulative applications of drugs. We will evaluate the drug effects using the simultaneous recording system of VSD-imaging and FP recordings.

Keywords: voltage-sensitive dye imaging, human iPS cells, cardiac safety assessment, proarrhythmia, multi-electrode array system

# To whom correspondence should be addressed:

Yuko Sekino; Division of Pharmacology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.340; Fax: +81-3-3700-1452; E-mail: yukos@nihs.go.jp

\* Pharmacological Evaluation Institute of Japan

#### 1. はじめに

ヒト iPS 技術開発により、今まで入手が困難だったヒト心筋細胞を用いた in vitro 試験法の開発が期待されており、特に医薬品候補物質の安全性薬理試験への応用に対する関心が急速に高まっている。我々はこれまで、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (ヒト iPS 心筋細胞) を使って医薬品の催不整脈性リスク評価に関する新たな安全性薬

理試験法を開発してきた。さらに、多施設間バリデーション試験により実験データの再現性と実験方法の頑健性を検証している。2014年には産官学の専門家を集めてコンソーシアムJiCSA (Japan iPS Cardiac Safety Assessment) を結成して、多点電極アレイ (Multi-Electrode Array: MEA) システムを用いてヒトiPS心筋細胞シートの細胞外電位 (Field potential: FP) に関する実験プロトコルを整備した。心筋シートはMEAプローブに細胞を高密度に播種することにより形成させ、薬剤は国内における他の検証試験と同様に累積的に投与し、エンドポイントとしてFP持続時間 (FP duration: FPD) およびEAD発生率を設定した<sup>1-5)</sup>。この共通プロトコルを基に、催不整脈性リスクの異なる60化合物を用いた大規模バリデーション実験を実施し、現在、致死性不整脈Torsade de Pointesの予測性などを解析中である (論文投稿中)。

米国ではFDAを中心とする国際コンソーシアムCiPA (Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay) が結成され、JiCSAと同様に再分極遅延のみに着目した現行の安全性薬理試験法を改良し、新たな催不整脈性リスク評価を目指すパラダイムを提案した<sup>6)</sup>。CiPAのMyocyteサブチームではMEAに加えて、膜電位感受性色素 (Voltage-sensitive dye: VSD) を用いたイメージング技術を採用し、MEA、VSDイメージングともに単回投与のプロトコルで評価している<sup>7)</sup>。VSDイメージングは、活動電位 (Action potential: AP) 波形が直接得られることから<sup>8-12)</sup>、催不整脈性リスク評価法として期待される。

我々はMEAを用いた新規試験法の構築を目指して、CiPAのMyocyteサブチームと国際共同研究を開始し、実験プロトコルならびに複数の化合物による予備データを共有した<sup>3)</sup>。一方で、VSDイメージングについては、陽性対照化合物であるhERG阻害剤E-4301を用いたVSDイメージングによる評価を報告したが<sup>2)</sup>、CiPAと同じ単回投与での評価であり、MEAの際にJiCSAで採用した累積投与ではない。したがって、JiCSAで取得したMEAデータと厳密に比較することができないため、多施設間バリデーション試験を行うためにはMEAと同様にVSDの累積投与の実験プロトコルを整備し、複数の薬剤を評価する必要がある。しかしながら、長時間記録可能なVSDプロトコルはいまだ確立されておらず、MEAデータと比較検討するために早急にシステムを構築する必要がある。

そこで今回我々は、ヒトiPS心筋細胞を用いてMEAとVSDイメージングでの長時間安定な累積投与プロトコルを整備するために、その検証方法としてFP波形とVSDイメージングの完全なる同時記録が可能なシス

テムを構築した。今後、今回構築した同時記録システムを用いて多くの薬剤を評価する予定である。

## 2. 研究方法

### ヒトiPS心筋細胞

ヒトiPS心筋細胞は、Cellular Dynamics International (CDI) 社のiCell cardiomyocyte (iCell, ロット番号: #1094831) を用いた。CDI社プロトコルおよび過去の報告に基づいて解凍・播種作業を行った<sup>1,2,4)</sup>。凍結バイアルを液体窒素容器から取り出した直後に37°Cの温浴で4分間解凍し、クリーンベンチ内で解凍用培地 (CDI社) をゆっくりと加えて6mlとした。血球計算盤を用いて生細胞数をカウントし、0.1%ゼラチンを37°Cで1時間以上コートした6wellプレート合計2wellに3mlずつ加えて、培養を開始した (実験0日とする)。1日おきに維持培地 (CDI社) にて半量交換し培養した。約1週間後、0.25%トリプシン/EDTAを用いて細胞を剥離し、細胞数をカウントした後に $3.0 \times 10^4$ 細胞/2  $\mu$ lとなるように調製した。MEAプローブ (アルファメッドサイエンティフィック社; P515A) の電極部分を2  $\mu$ lのフィブロネクチン (50  $\mu$ g/ml) にて37°Cで1時間以上コートした後、細胞懸濁液2  $\mu$ lを播種し、4時間後に1mlの維持培地を添加した。以後1日おきに維持培地を半量交換し、プローブへの播種5日後から実験に用いた。

### 多点電極システム

MEAシステムとしてMED64 (アルファメッドサイエンティフィック社) を用いてFPを記録した。High pass filterは0.1Hz, Low pass filterは1kHzを用い、細胞を播種したMEAプローブは温度を36.5-37°Cに維持し、5% CO<sub>2</sub>, 95% O<sub>2</sub>ガスを通気した。FP波形を記録して、主に拍動間隔を示すInter-spike interval (ISI, 1st peak to 1st peak) および心電図のQT間隔に相当するFP持続時間 (FP duration: FPD, 1st peak to 2nd peak) を解析した。FP波形を20分以上記録し安定を確認した後、MEAシステムの64電極の中からJiCSAが定めた波形基準 (1st positive or negative peak amplitude:  $\geq \pm 200$   $\mu$ V, 2nd peak amplitude:  $\geq 20$   $\mu$ V, ISI: 750-1715 ms, FPD: 340-450ms)<sup>2)</sup>を満たす2電極をイメージング装置へ取り込み、VSDイメージングデータと共に同時記録した。

### VSDイメージング

VSDイメージングシステムとして、倒立型マクロ蛍光顕微鏡 (プレインビジョン社, 特注品), 光学測定系として対物/集光レンズLEICA PLAN APO 2X, 500-540nmバンドパスフィルタ (520 x 36nm; Edmund optics), 560nmダイクロイックミラー (FF560-Di01; Semrock), 580nm蛍光用ロングパスフィルタ (O-58;

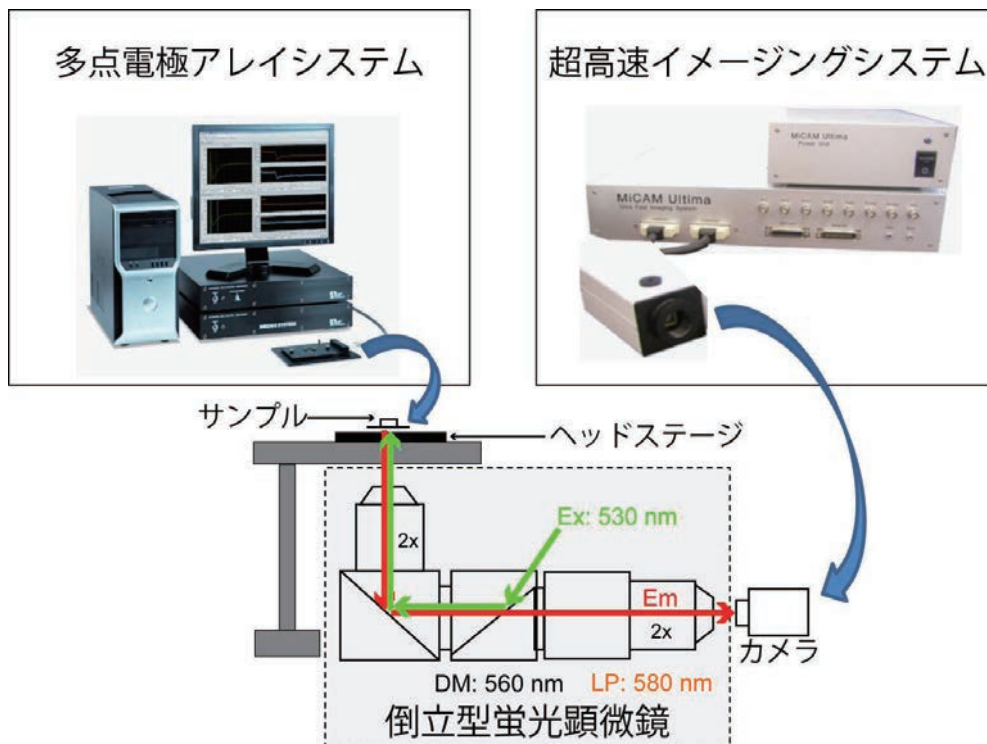


図1 多点電極による細胞外電位記録と膜電位イメージングの同時記録システムの概略図

多点電極アレイプローブ上の心筋細胞シートを多点電極アレイシステム (MED64 システム, 左上図) および超高速イメージングシステム (ULTIMA システム, 右上図) による同時記録を可能にするための倒立型蛍光顕微鏡を中心としたシステム (下図) の概略図を示す。励起波長: 530 nm, 蛍光波長: >580 nm.

Edmund optics) を用いた。画像の取得には超高速 CMOS イメージングシステム MiCAM ULTIMA (プレインビジョン社) を用いた。励起光源としてプレインビジョン社製緑色 LED 光源 LEX2-G (中心波長 530 nm, 100% 出力時輝度  $150 \text{ mW/cm}^2$ ) を用いた。ヒト iPS 心筋細胞シートはフェノールレッドを含まない DMEM 培地にて希釈した  $10 \mu\text{M}$  Di-8-ANEPPS (サーモフィッシャーサイエンティフィック社) を用いて、30 分間染色した。染色中はプローブを  $37^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{ CO}_2$  に静置した。その後、色素を維持培地にて洗浄して、60 分間  $37^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{ CO}_2$  に静置した後に測定を行った。カメラの撮像条件を  $1 \text{ ms/frame}$ ,  $8,192 \text{ frames}$  に設定した。また、同期信号を同時記録に用いた FP 波形の 1st peak に設定し、その 410 frames 前より記録が開始されるよう設定した。取得した画像データは BV\_Analyzer (プレインビジョン社, Version 15.08.20) を用いて解析した。各時間の蛍光強度を  $F$  とし、記録開始時の拍動収縮前における蛍光強度  $F_0$  を基準にして、ピクセル毎に  $(F-F_0)/F_0$  の値が計算された。色素の蛍光強度は細胞の膜電位変化に比例して変化するため、 $\Delta F/F_0 = (F-F_0)/F_0$  を蛍光変化量と定義すると、結果的に活動電位と同じ形をした波形が得られ

る。得られた画像データは、 $3 \times 3 \text{ pixels}$  の空間フィルタおよび移動平均により処理を行った。画像データの観測領域 (Region of interest: ROI) は 64 電極の位置・サイズと等しい  $35 \times 35 \text{ pixels}$  の範囲を選択し、ROI 内の全 pixel における AP 波形の平均値を表示した。

### 3. 研究結果・考察

本研究において、我々はヒト iPS 心筋細胞の電位変化を記録する MEA と VSD イメージングの 2 つの方法について完全なる同時記録が可能なシステムの構築を行った。図 1 は、倒立型マクロ蛍光顕微鏡を中心に FP 記録装置 (MED64) による MEA システムと光学測定装置 (ULTIMA) による VSD イメージングシステムを組み合わせた FP と AP の同時記録システムである。

図 2A に、MEA プローブ上のヒト iPS 心筋細胞シートと典型的な FP 波形を示した。FP 波形において、ISI と FPD は、ヒト iPS 心筋細胞の電気生理学的性質を評価する上で極めて重要なパラメーターである。一方 VSD イメージングによる膜電位測定は、パッチクランプなどの熟練した技術が必要な電気生理学的実験を行わずに AP を記録することができ、また画像解析によって AP の発

生部位を可視化して興奮伝播も解析できるため、非常に多くの情報が得られる利点がある。MEAシステムを用いた多施設間バリデーション試験では累積投与のプロトコールを使用しているため、我々は累積投与が可能なFPとAPの同時記録を試みた。まず予備検討により、VSDイメージング中に拍動数の変化が観察された(図示せず)。イメージング技術を用いて測定する際、細

胞に取り込まれた蛍光プローブからの微弱な蛍光量変化を観測するために測定中に励起光を照射する必要がある。そこで、ISI及びFPDに対する照射する励起光の影響を調べた結果、励起光パワー強度を25%から100%まで変化させるとISIおよびFPDの変動が増大し、励起光によりISIおよびFPDが短縮することが分かった(図2B)。またMEAプローブ内の温度に対する励起光パワー強度の影響を検討した。その結果、励起光照射直後わずか1-2秒でMEAプローブ内温度が急激に上昇し、その温度変化はパワー強度に依存すること、照射時間にもよるが出力が100%時にはプローブ内温度が最大で1.0°Cも上昇することが明らかとなった(図2C)。過去の知見および我々のMEAシステムによる記録の経験から、ヒトiPS心筋細胞は温度変化に対して非常に敏感であり、わずか0.1°Cの温度変化でISIやFPD等のFPパラメーターに大きな影響を及ぼすことが知られている。このことから励起光照射によってプローブ内温度が上昇したことにより、

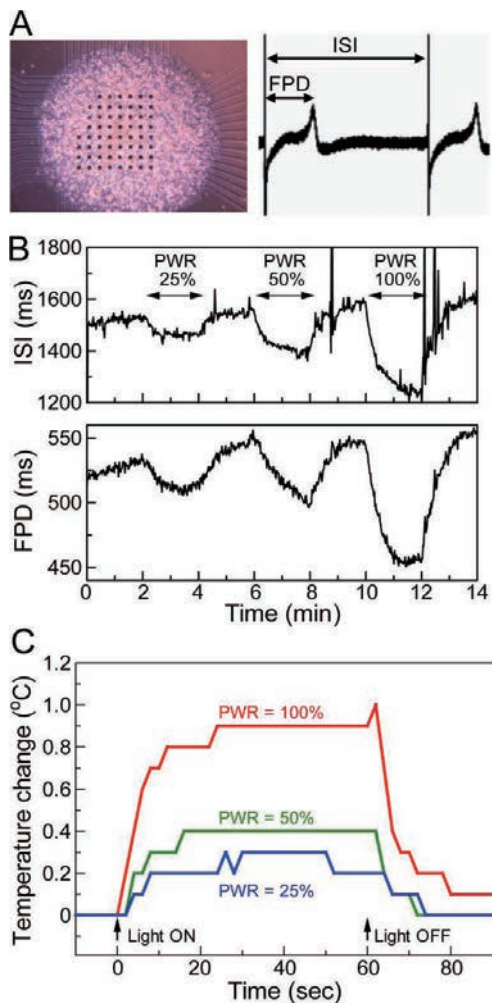


図2 励起光照射によるFPパラメーターの変化とプローブ内温度上昇

(A) 64電極のMEAプローブ上に播種した典型的な心筋細胞シート(左パネル)と1電極で記録された典型的なFP波形(右パネル)を示す。パラメーター：ISIはFP波形の1st peakと1st peakの時間間隔であり、FPDはFP波形の1st peakと2nd peakの時間間隔である。  
(B) 励起光パワーを25%-100%まで段階的に変化させた時のISIおよびFPDの経時的変化を示す。励起光強度に依存した変化が観察された。  
(C) 励起光パワーに依存したプローブ内温度の経時的変化を示す。励起光の強度に依存した温度の変化が観察された。

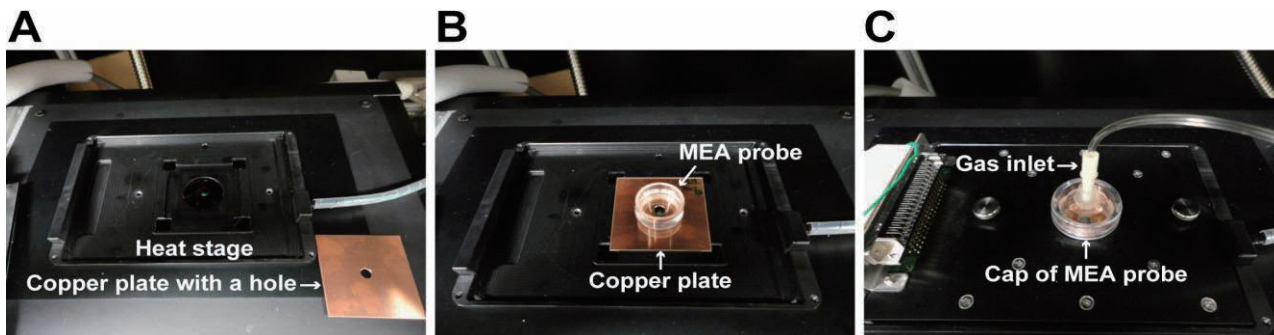


図3 励起光照射による温度変化を低減させるための放熱用銅板の導入

(A) ヒートステージと作製した直径5mmの穴を持つ放熱用銅板を示す。  
(B) プローブとヒートステージの間に銅板を設置した。  
(C) プローブに混合ガス導入口を持つ蓋を設置した。



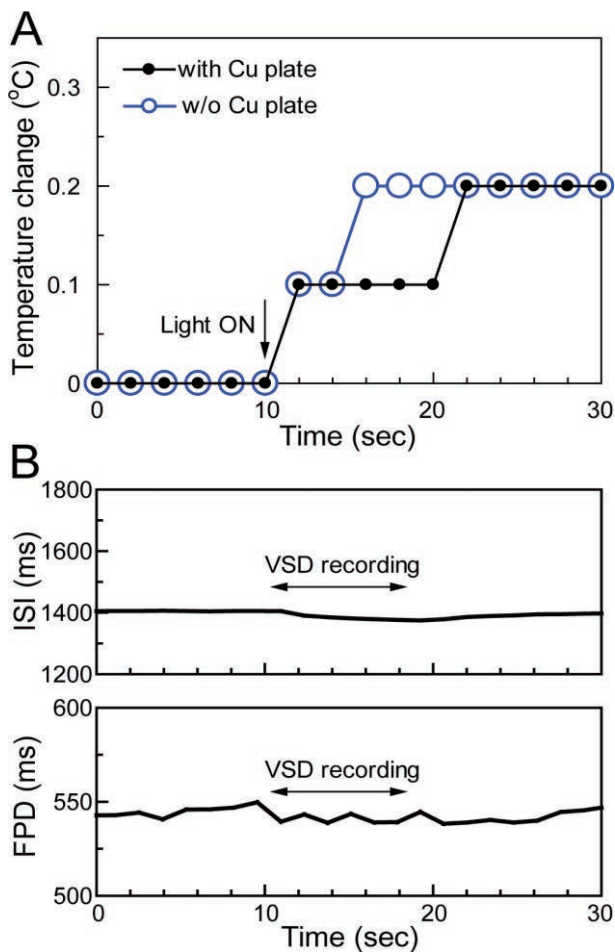


図4 銅板による放熱効果と励起光照射時における拍動安定性

(A) 5mm 径の穴を持つ銅板によりプローブ内温度上昇が抑制された。銅板を使用しない場合には、6秒後にプローブ内温度は0.2°C上昇した。銅板を入れた場合、励起光照射後10秒間の温度上昇は0.1°Cに抑えられた(励起光パワー25%時)。

(B) 銅板を使用し、励起光パワー20%で約8秒間光学測定した場合のISIとFPDの変動を示す。ISI、FPDとも励起光照射中に大きな変動は見られなかった。

ヒトiPS心筋細胞におけるISIおよびFPDが短縮したと考えられた。図2Bおよび2Cの結果を考慮すると、VSDイメージングによる安定な記録のためには励起光強度を下げるのが有効と考えられるが、励起光出力を下げすぎるとノイズが多くなり、正確に測定できない可能性がある。実際、出力を25%まで低下させても、依然としてISIで約100ms、FPDで約30msの短縮が生じたことから、熱の影響を除去する必要があると考えられた。

次に、励起光照射による温度上昇をさらに抑えるため、放熱用の銅板に励起光透過用の穴を設けて、ヒートステージとMEAプローブの間に設置した(図3)。穴の径

を4mmから10mmまで変えてプローブ内の温度を測定した結果、5mm径の放熱効果が最も高かったことから(図示せず)、以後穴の径が5mmの銅板を用いた。MEAシステムのヒートステージ上に放熱銅版を置き(図3A)、その上にMEA用プローブを設置した(図3B)。さらに、薬剤投与時に蓋の開閉操作がしやすいよう、混合ガス導入口も兼ね備えた蓋を作製した(図3C)。これを用いて励起光によるプローブ内の温度上昇に対する放熱板の効果を検討したところ、励起光パワー25%照射直後のプローブ内の温度上昇は10秒間で0.1°Cに抑えることが可能となった(図4A)。実際にMEAプローブ上に細胞を播種し、FP波形測定中に励起光を照射したところ、パワー出力を20%に抑えると、約8秒間の光学測定においてISIおよびFPDの変動をほぼ無視できることが示唆された(図4B)。一方で、今回作製した銅板は、MEAプローブ内の温度を均一化する効果が副次的に得られた。ヒートステージ底面には直径約3cmの穴が開いており、プローブの周辺部が加熱される構造となっている。そのため細胞および電極が位置するプローブの中心部分へは熱が伝わりにくく、細胞の内周部(中心から1mm)と外周部(中心から2mm)の温度差は0.1°C程度あった。今回、穴の径が5mmの銅板により、プローブ周辺部と中心部の温度差を解消した(図示せず)。以上の結果より、同時記録システムの標準プロトコルとして励起光パワー強度20%、VSDイメージング計測時間約8秒の測定条件を確定した。

#### 薬剤の累積投与実験のための同時記録プロトコル

MEAシステムの累積投与プロトコルでは測定開始から投与終了まで約90分間かかるため、ISIとFPDの2パラメーターを長時間安定して記録する必要がある。図5B(黒線)に示すように、通常のMEAシステムではISIおよびFPDが徐々に延長して安定化はほとんど認められなかった(図5B, 黒線)。その際、測定終了後に蓋およびプローブ内壁に水滴が付着していたことから、培地中の水分蒸発がISIおよびFPD延長の原因であることが予想された。そこで、MEAプローブ用に作製した蓋(図3C)にリボンヒーターを装着し約45°Cに加温した(図5A)。その結果、リボンヒーターにより、プローブおよび蓋の内壁に水滴が付着しなくなり、培地の蒸発も低減され、ISIおよびFPDが長時間に渡り安定化することが明らかになった(図5B, 赤線)。リボンヒーターを装着して加温してもISIおよびFPDには特に影響を与えなかったことから、プローブ内の培地温度は一定であると推定された。

#### MEAとVSDイメージングの同時記録システム

図6Aに同時記録システムによるヒトiPS心筋細胞のAP波形の1例を示した。波形は、MEA用プローブ内の

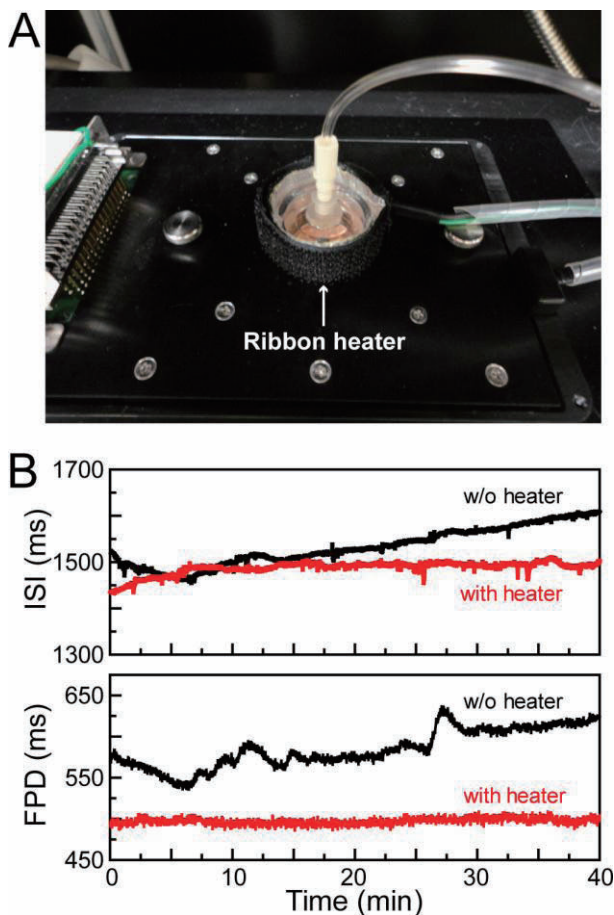


図5 長時間安定したFP記録を実現するためのプローブ蓋用リボンヒーター

(A) プローブ用の蓋の周囲にリボンヒーターを装着し、設定温度を45°Cとした。蓋とプローブ側壁に付着する水蒸気が減少した。

(B) リボンヒーターがない場合にはISIおよびFPDが徐々に延長した(w/o heater: 黒線)。リボンヒーターを装着するとISIおよびFPDが安定したことを示す(with heater: 赤線)

電極位置・サイズと等しい35 x 35 pixelsの領域(図6B赤枠)内におけるAP波形を平均化したものである。図6Bは、ヒトiPS心筋細胞シート内において、APが立ち上がり(時間領域①: 0-10ms)とプラトー/立ち下がり(時間領域②: 100-630ms)時に伝播する様子を擬似カラーで示した。ヒトiPS心筋細胞シート内のペースメーカー細胞から活動電位が生じ、10ms程度で直径約2mmのヒトiPS心筋細胞シートに伝播し、数百ミリ秒程持続することが分かった。図6Cには構築した同時記録システムによるAP波形(上段)とFP波形(下段)を示した。各拍動においてAP波形の立ち上がりと立ち下がり、それぞれFP波形の1st peakおよび2nd peakと同

期していることが示唆された。また今回のVSDイメージングデータからヒトiPS心筋細胞の興奮伝播速度は約20cm/sであった。ヒト心室筋細胞の伝播速度は50cm/sと報告されており、ヒトiPS心筋細胞はヒト心室筋細胞よりも伝播速度が少し遅いと考えられるが<sup>13)</sup>、今後、その違いが薬剤応答にどのように影響するのか検討する必要がある。

VSDは今回用いたDi-8-ANEPPS以外にもFluoVoltやRH237、Di-4-ANEPPSなど様々な色素が知られており、神経細胞や心筋細胞、単離心臓など様々な組織・細胞の膜電位測定に広く使われている<sup>2,10,14-18)</sup>。我々は国内外で一般的に使用される複数のVSDについて染色条件を検討し、毒性が最も弱かったDi-8-ANEPPS<sup>19,20)</sup>を選択した。今後、実験プロトコルのさらなる整備に向けて、蛍光色素の細胞毒性や色素と薬剤の相互作用についても検討しなければならない<sup>21,22)</sup>。特にOxonol系色素であるDiBAC4(3)は化合物と相互作用することが報告されており<sup>23,24)</sup>、ANEPPS系色素についても検証する必要があると考えられる。

#### 4. 結論

本研究において、我々は、ヒトiPS心筋細胞を用いてVSDイメージングでの長時間安定な累積投与プロトコルを整備するために、その検証方法としてFP波形とVSDイメージングの完全なる同時記録が可能なシステムを倒立型マクロ蛍光顕微鏡を中心に構築した。システムを構築する上で、励起光照射によるプローブ内温度の急激な上昇に伴い、VSD測定時に心拍数が上昇し、ISIおよびFPDが大幅に短縮することが明らかとなった。また、5mm径の穴を持つ銅板を作製し、プローブとヒートステージ間に設置することで、励起光照射時のプローブ内温度の上昇を銅板の放熱効果によって低減させた。最終的には励起光パワー20%、計測時間約8秒をVSDイメージングの標準プロトコルとした。さらに、MEAプローブ用の蓋を独自に作製し、リボンヒーターを装着し約45°Cに加温することで、培地蒸発を低減した。その結果、長時間測定で見られていたISIおよびFPDの変動を抑えることができ、2時間以上の長時間にわたるVSDイメージングが可能となった。

今後、本システムを医薬品による催不整脈リスクの予測評価等に活用するためには、FPとAPの各種パラメーター間の相関性や薬剤応答性のデータを蓄積し、多施設間バリデーション用にプロトコルを整備する必要がある。

#### 謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金「ヒトiPS分化

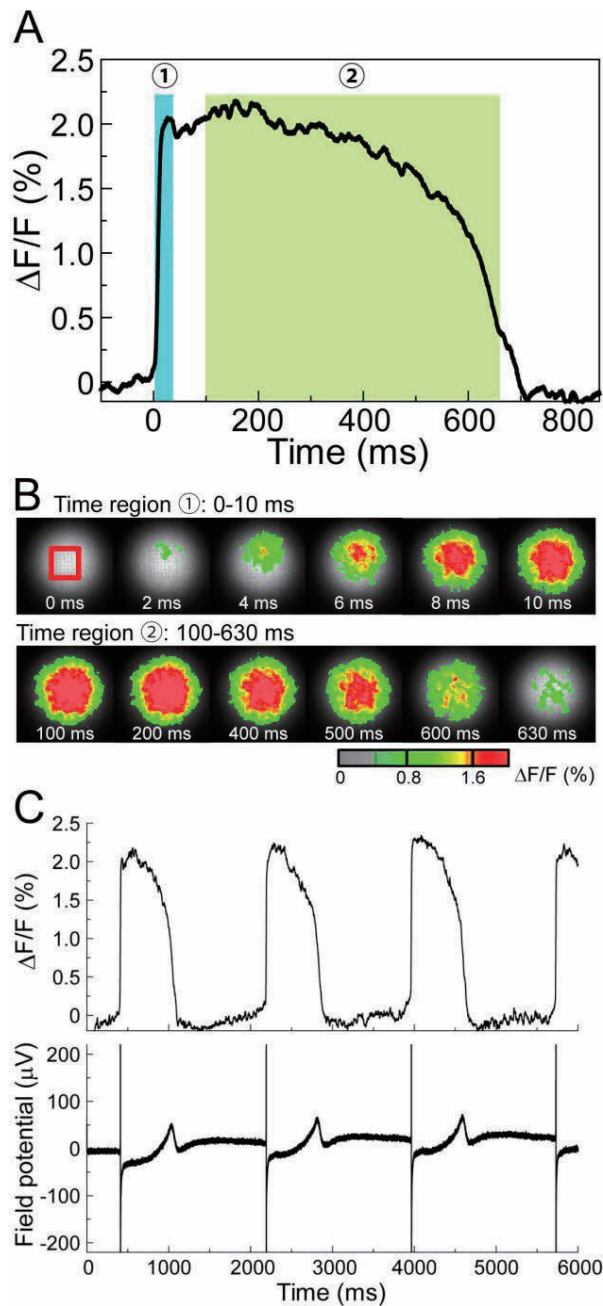


図6 VSD イメージングによる膜電位波形とその伝播の空間パターンおよび MEA との同時記録

(A) VSD イメージングにより記録された 1 拍分の活動電位 (Action potential: AP) 波形を示す。図 B (0ms のイメージ上) の赤枠内の領域における波形の平均である。

(B) 心筋細胞シート内における活動電位伝播の様子を示す。図 A の時間領域① (0ms-10ms) における活動電位伝播 (上) と時間領域② (100ms-630ms) における活動電位伝播 (下)。脱分極部位は緑～赤の擬似カラーで示す。

(C) プローブ内に播種した心筋シートの VSD による AP 波形 (上) と MEA による FP 波形 (下) の同時記録を示す。64 Ch の中から選択した 2Ch の FP 波形と VSD による AP 波形を同時記録した。

細胞を利用した医薬品のヒト特異的有害反応評価系の開発・標準化」(H24-医薬-指定-030 to YS) および国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 医薬品等規制調和・評価研究事業「ヒト iPS 分化細胞技術を活用

した医薬品の次世代・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究」(#15mk0104053h0101 to YS) のサポートにより行った。

## 引用文献

- 1) Nakamura Y, Matsuo J, Miyamoto N, Ojima A, Ando K, Kanda Y, Sawada K, Sugiyama A, Sekino Y: *J Pharmacol Sci.* 2014;124:494-501.
- 2) Asakura K, Hayashi S, Ojima A, Taniguchi T, Miyamoto N, Nakamori C, Nagasawa C, Kitamura T, Osada T, Honda Y, Kasai C, Ando H, Kanda Y, Sekino Y, Sawada K: *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2015;75:17-26.
- 3) Kanda Y, Yamazaki D, Kurokawa J, Inutsuka T, Sekino Y: *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2016;81:196-200.
- 4) Kitaguchi T, Moriyama Y, Taniguchi T, Ojima A, Ando H, Uda T, Otabe K, Oguchi M, Shimizu S, Saito H, Morita M, Toratani A, Asayama M, Yamamoto W, Matsumoto E, Saji D, Ohnaka H, Tanaka K, Washio I, Miyamoto N: *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2016;78:93-102.
- 5) Nozaki Y, Honda Y, Watanabe H, Saiki S, Koyabu K, Itoh T, Nagasawa C, Nakamori C, Nogawa H, Nakayama C, Iwasaki H, Suzuki S, Washio I, Takahashi E, Miyamoto K, Yamanishi A, Endo H, Shinozaki J, Kunimatsu T: *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;77:75-86.
- 6) Sager PT, Gintant G, Turner JR, Pettit S, Stockbridge N: *Am Heart J.* 2014;167:292-300.
- 7) Colatsky T, Fermini B, Gintant G, Pierson JB, Sager P, Sekino Y, Strauss DG, Stockbridge N: *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2016;81:15-20.
- 8) Lopez-Izquierdo A, Warren M, Riedel M, Cho S, Lai S, Lux RL, Spitzer KW, Benjamin IJ, Tristani-Firouzi M, Jou CJ: *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;307:H1370-7.
- 9) Tian Q, Oberhofer M, Ruppenthal S, Scholz A, Buschmann V, Tsutsui H, Miyawaki A, Zeug A, Lipp P, Kaestner L: *Cell Physiol Biochem.* 2011;27(3-4):281-90.
- 10) Bedut S, Seminatore-Nole C, Lamamy V, Caignard S, Boutin JA, Nosjean O, Stephan JP, Coge F: *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016;311:H44-53.
- 11) Dempsey GT, Chaudhary KW, Atwater N, Nguyen C, Brown BS, McNeish JD, Cohen AE, Kralj JM: *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2016;81:240-50.
- 12) Lee P, Klos M, Bollensdorff C, Hou L, Ewart P, Kamp TJ, Zhang J, Bizy A, Guerrero-Serna G, Kohl P, Jalife J, Herron TJ: *Circ Res.* 2012;110(12):1556-63.
- 13) Noujaim SF, Pandit SV, Berenfeld O, Vikstrom K, Cerrone M, Mironov S, Zugermayr M, Lopatin AN, Jalife J: *J Physiol.* 2007;578:315-26.
- 14) Aseyev N, Roshchin M, Ierusalimsky VN, Balaban PM, Nikitin ES: *J Neurosci Methods.* 2013;212(1):17-27.
- 15) Sidorov VY, Holcomb MR, Woods MC, Gray RA, Wikswo JP: *Basic Res Cardiol.* 2008;103(6):537-51.
- 16) Savtchenko LP, Gogan P, Korogod SM, Tyc-Dumont S: *Neurosci Res.* 2001;39(4):431-46.
- 17) Fujieda T, Koganezawa N, Ide Y, Shirao T, Sekino Y: *Neurosci Lett.* 2015;590:126-31.
- 18) Kelly A, Ghouri IA, Kemi OJ, Bishop MJ, Bernus O, Fenton FH, Myles RC, Burton FL, Smith GL: *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2013;6(4):809-17.
- 19) Rohr S, Salzberg BM: *Biophys J.* 1994;67(3):1301-15.
- 20) The Molecular Probes® Handbook: A GUIDE TO FLUORESCENT PROBES AND LABELING TECHNOLOGIES 11th Edition (2010).
- 21) Schaffer P, Ahammer H, Muller W, Koidl B, Windisch H: *Pflugers Arch.* 1994;426(6):548-51.
- 22) Preuss S, Stein W: *PLoS One.* 2013;8(10):e75678.
- 23) Tang W, Kang J, Wu X, Rampe D, Wang L, Shen H, Li Z, Dunnington D, Garyantes T: *J Biomol Screen.* 2001;6(5):325-31.
- 24) Wolff C, Fuks B, Chatelain P: *J Biomol Screen.* 2003;8(5):533-43.

## 臭素酸カリウムの発がん病理研究

梅村隆志

### Cancer research for potassium bromate

Takashi Umemura

Safety assessment of potassium bromate has already been evaluated as a food additive and contaminant. In this paper, based on our review article entitled “Etiology of bromate-induced cancer and possible modes of action-studies in Japan”, potassium bromate-related data including carcinogenicity tests, tumor initiation/promotion studies, *in vivo* mutagenicity tests and modes of action studies were outlined. In particular, the contents focused on formation of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), one of oxidized DNA damages, following exposure to potassium bromate and its inducing mutation spectra. In addition, on-going studies leading to clarification of the relationship between oxidative stress and cancer, and new experimental animal models of human colorectal cancer using potassium bromate were introduced.

Keywords: potassium bromate, carcinogenic modes of action, 8-hydroxydeoxyguanosine, experimental model of human colorectal cancer

#### 1. はじめに

臭素酸カリウムは1953年より食品添加物（小麦粉処理剤及び魚肉ねり製品への使用）に指定されていたが、1976年に当所変異遺伝部で実施されたデータに基づき厚生省がその変異原性試験の陽性結果を公表した。引き続き当所病理部にてラットを用いた2年間の長期間反復試験が実施され、その発がん性が明らかとなり<sup>1)</sup>、1982年、厚生省よりその内容が公表された。その結果、使用基準が改正され、パン以外への使用と最終製品に残存することが禁止され、以降、残留性を監視する観点から、食品中の臭素酸分析法の改正が行われてきている。このように食品添加物としての安全性評価に一定の区切りがついた中、新たな経路からの暴露の可能性が報じられた。それは、塩素に代わる新たな水道水消毒に使用されたオゾンにより、あるいは消毒剤としての次亜塩素酸生成時に不純物の臭素が酸化され、何れも臭素酸が生成されると

言うもので、汚染物質として評価の必要性が求められた。2008年には食品安全委員会から清涼飲料水中に含まれる汚染物質としての臭素酸について、2015年には殺菌料としての添加物次亜臭素酸より生じる臭素酸について、安全性評価が行われている。このように臭素酸は古くて新しい環境化学物質と言えるが、時代を通じて行われてきた安全性評価は、1978年に当所病理部で開始された発がん性試験とそれに続く二段階発がん性試験等の試験成績を基に行われてきた。当時これらの試験を担当された元当所病理部室長（のちに安全性生物試験研究センター長）の黒川雄二先生が度々、臭素酸に関して述懐されておられるように<sup>2)</sup>、当所病理部にとって臭素酸は非常に縁の深い化学物質であると共に、病理学的に多くの興味深い特徴を有している化学物質である。本稿では、著者が黒川先生と共に2006年に発表した総説<sup>3)</sup>をもとに近年のデータなどを加えながら、臭素酸の病理学的特徴を概説し、未だ解明されていない点、さらには新たな発がん研究のモデル化合物としての役割について言及する。

# To whom correspondence should be addressed:

Takashi Umemura; Division of Pathology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-9819; Fax: +81-3-3700-1425

#### 2. 発がん性試験

##### 2.1. ラット発がん性試験

雌雄F344ラット（各群53匹）に臭素酸カリウムを500（60週目より雄は400）ppmあるいは250ppmの濃

度で110週間飲水投与した。その結果、腎細胞腺腫並びに腎細胞癌の発生頻度、さらに二つの腫瘍を併せた発生頻度が雌雄の投与群で対照群に比して有意な高値を示した。また、雄の投与群で腹膜中皮腫の発生頻度が対照群に比して有意に高かった<sup>1)</sup>。臭素酸カリウムの腎発がん機序に関しては後述のように多くの研究が行われ、酸化ストレスの関与が考えられている。一方、腹膜中皮腫の発生機序についての研究はほとんどない。しかし、臭素酸カリウムと同様に腎発がん性が報告され、その発がん機序に酸化ストレスの関与が考えられている鉄ニトリロ三酢酸も同様に腹膜中皮腫を併発している事実は興味深いところである。

## 2.2 用量反応試験

雄のF344ラット（各群20～24匹）に臭素酸カリウムを15, 30, 60, 125, 250ならびに500ppmの濃度で104週間、飲水投与した。その結果、腎細胞がんが500ppm群で20匹中3匹に認められ、腎細胞腺腫を含む腎細胞腫瘍の発生率は125ppm以上の群で有意に高値を示した。また、甲状腺濾胞腺腫と腺癌を合わせた発生率並びに腹膜中皮腫の発生率が500ppm投与群で有意に高かった<sup>4)</sup>。その後発表されたDeAngeloらのグループによる試験<sup>5)</sup>がより低用量からの試験で1群当たりの匹数も多いことから、WHOやEPAをはじめ、食品安全委員会の清涼飲料水中の臭素酸の安全性評価にはこちらの試験結果が用いられている。

## 2.3 マウス発がん性試験

各27匹の雄のB6C3F<sub>1</sub>, BDF<sub>1</sub>, CDF<sub>1</sub>系マウスに臭素酸カリウムを750ppmの濃度で88週間、飲水投与した。その結果、腎細胞腫瘍の発生率に対照群との間に有意な発生率を示す系統はなかったが、腎細胞癌がB6C3F<sub>1</sub>系統のマウス投与群で1例と腎細胞腺腫が3つの系統のマウスで計4例認められた。また、CDF<sub>1</sub>マウスの小腸の腺腫並びにB6C3F<sub>1</sub>の肝細胞腺腫の発生率が有意に高かった<sup>6)</sup>。マウスではこのように明らかな腎発がん性が認められなかったが、このCDF<sub>1</sub>マウスで認められた小腸腫瘍の誘発は後述の遺伝子改変動物による試験が実施されるに至り、大きな意味を持つものとなった。

## 3. 発がんイニシエーション、プロモーション試験

### 3.1. 発がんイニシエーション試験

各15匹のF344ラットに臭素酸カリウムを60, 125, 250ならびに500ppmの濃度で13週間、飲水投与した。2週間の休薬後、腎発がんプロモーター物質のニトリロ三酢酸 (NTA) を1%の濃度で混じた飼料を37週間自由に摂取させた。その結果、臭素酸カリウム500ppmを投

与した群の異型腺管の1匹あたりの個数と異型過形成の発生頻度と1匹あたりの個数が蒸留水を投与後、NTAを投与した群に比して有意な高値となった<sup>7)</sup>。従って、臭素酸カリウムは発がんイニシエーション活性を有していることが明らかとなったが、生じた病変は前がん病変にとどまり、腫瘍形成は認められなかったことから、その活性は非常に低いものと考えられた。

### 3.2. 発がんプロモーション試験

雄のF344ラット、120匹に*N*-ethyl-*N*-hydroxymethyl-nitrosamine (EHEN) を500ppmの濃度で2週間、飲水投与し、その後、臭素酸カリウムを15, 30, 60, 125, 250, 500ppmの濃度で24週間投与した。その結果、単位面積当たりの異型腺管の数が30ppm以上の群で用量相関性に増加し、有意な高値となった<sup>8)</sup>。また、雌を用いた試験においても、EHEN誘発の腎腫瘍を500ppmの臭素酸カリウムを30週間投与したところ、発がん促進作用が認められた<sup>9)</sup>。

## 4. 腎発がん機序

### 4.1. 発がんイニシエーション作用

#### 4.1.1. 酸化的DNA損傷

酸化的DNA損傷の一つ、8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) を国立がんセンターの葛西先生が発見され、世界で最初に*in vivo*での8-OHdGレベルの上昇を報告したのが臭素酸カリウムをラットに投与した実験であった<sup>10)</sup>。その後、各群5匹の雌雄F344ラットに臭素酸カリウムを500ppmの濃度で1, 2, 3, 4, 13週間、飲水投与する実験が行われ、その結果、雄ラットでは腎臓DNA中の8-OHdGレベルが1週目より、雌ラットでは3週目より有意な上昇が確認された<sup>11)</sup>。

#### 4.1.2. *In vivo*変異原性試験

元当所変異遺伝部長能美健彦先生が開発された*gpt*をレポーター遺伝子とする*gpt delta*動物を用いた*in vivo*変異原性試験が行われている。*gpt delta*ラットに臭素酸カリウムを60, 125, 250ならびに500ppmの濃度で13週間飲水投与した。また、500ppm投与群では投与1, 5, 9週目にも検査を実施した。その結果、腎臓DNA中の主に点突然変異を検出する*gpt*の変異頻度は250ppm以上の投与群で上昇傾向は認められたが有意な変化とならなかった。一方、主に欠失変異を検出する*red/gam* (Spi)の変異頻度は500ppm投与群で投与開始9週目より有意な高値を示した<sup>7)</sup>。

#### 4.1.3. 現在の研究

臭素酸カリウムは発がん実験条件下で8-OHdGレベ

ルの上昇が認められ、その発がん過程初期への酸化DNA損傷の関与が想定されている。特に、*gpt delta*動物を用いた実験では、*in vivo*変異原性試験に加え、8-OHdGの測定も同一動物で同時に行えることから、8-OHdG形成と遺伝子突然変異との関連に関する研究が現在も病理部では行われている。8-OHdGはアデニンと誤対合することから、最終的にG:C:T:Aのトランスバージョン変異を引き起こすと考えられているが、上述のように、主に点突然変異を検出する*gpt* assayでは有意な遺伝子突然変異頻度の上昇は認められていなかった。そこで、臭素酸カリウムの発がん標的部位が腎皮質部であることに着目し、腎臓全体からDNAを抽出していたそれまでの方法に代え、腎皮質部のみからDNAを抽出する方法を用いたところ、欠失変異と共にG:C:T:Aのトランスバージョン変異を含む*gpt* 遺伝子突然変異頻度の有意な上昇を観察している（未発表データ）。そこで現在では、8-OHdGを上昇させるものの遺伝子突然変異を誘発しないアリザリンを臭素酸カリウムと併用投与する試験、抗酸化酵素群の転写因子である*Nrf2*をホモに欠損させた*gpt delta*マウスなどを用いた試験により、8-OHdG形成を実験的に上昇させると臭素酸カリウムにより生じる欠失変異は頻度が上昇すると共に欠失サイズも大きくなることが突き止められており（未発表データ）、これらの研究を進展させて、8-OHdGが直接的に関与する遺伝子突然変異スペクトラムの同定を目指している。また、8-OHdGによるイニシエーション活性は非常に弱いものであるとの仮説を立て、実際の8-OHdGが有する発がんポテンシャルを明らかにする研究を進めている。

## 4.2. 発がんプロモーション作用

### 4.2.1. 細胞増殖活性

雌雄のF344ラットに500ppmの濃度の臭素酸カリウムを飲水投与して、投与開始後、1, 2, 3, 4ならびに13週間の腎尿細管のbromodeoxyuridine (BrdU)の取り込み率(BrdU-LI)を検索した。その結果、発がん標的部位の近位曲部尿細管のBrdU-LIが雄ラットでは投与開始後1週目より、雌ラットでは13週目に有意な高値を示した<sup>10)</sup>。また、雌雄のF344ラットに臭素酸カリウムを15, 30, 60, 125, 250ならびに500ppmの濃度で4週間、飲水投与して、近位曲部尿細管のBrdU-LIを検索したところ、雄ラットでは30ppm以上から、雌ラットでは250ppm以上から有意な高値となった<sup>12)</sup>。

### 4.2.2. $\alpha_{2u}$ -globulinの蓄積

雄のF344ラットに臭素酸カリウムを15, 30, 60, 125, 250ならびに500ppmの濃度で4週間、飲水投与し

て、腎臓中の $\alpha_{2u}$ -globulin蛋白質量をELISA法により測定した結果、30ppm以上から用量相関性に増加が認められ、125ppm以上で有意の高値となった<sup>12)</sup>。 $\alpha_{2u}$ -globulinは雄ラット特有の尿中蛋白で、その蓄積により細胞障害さらには細胞増殖を誘発する。臭素酸カリウムによる腎尿細管の細胞増殖活性は上述のように雄ラットで非常に顕著に認められ、また、発がんプロモーション作用も雄は雌に比して高い。雄で観察されるこれらの作用に $\alpha_{2u}$ -globulinの蓄積が大きく寄与していると考えられる。しかし、臭素酸カリウムは、雌においても発がんプロモーション活性を有しており、その発生機序に $\alpha_{2u}$ -globulinの蓄積以外のメカニズムが関与していることは明らかである。一つの有力な機序として、酸化ストレスを引き金とした細胞周期シグナル伝達の活性化が考えられるが、この分野の研究は進んでいない。また、 $\alpha_{2u}$ -globulinの蓄積は、 $\alpha_{2u}$ -globulinポケットと呼ばれる化学構造部位と外来化学物質の共有結合により、細胞質内のライソゾームによる分解に抵抗性を持つことがその発生機序であると考えられている。しかし、臭素酸カリウムの化学構造から判断して、 $\alpha_{2u}$ -globulinとの共有結合の可能性は低く、ライソゾームの分解酵素が酸化によって失活することが原因である可能性も示唆されているが詳細は不明のままである。

## 5. 発がん研究への新たな役割

### 5.1. 8-OHdG修復酵素欠損マウス

*MUTYH*は8-OHdGの修復酵素として知られているが、その変異が遺伝性大腸腺腫症患者に見つかり、*MUTYH*-associated polyposis (MAP)と呼ばれている。また、8-OHdGの修復酵素の可能性が高いと考えられている*Msh2*の変異が遺伝性非大腸腺腫症(HNPCC)患者から見つかった。これら遺伝性大腸がんの病態研究のために、それぞれの遺伝子欠損マウスに臭素酸カリウムを投与して、小腸腫瘍を検索する実験モデルが提唱されている<sup>13,14)</sup>。生じた腫瘍は小腸腫瘍ではあるものの、それぞれの欠損マウスで高率に腫瘍が認められ、腫瘍組織から抽出した*APC*や*Cttnb1*遺伝子には変異が観察され、MAP患者の腫瘍に*APC*の変異が認められていることと一致していた。さらに、*Cttnb1*のGSK-3 $\beta$ によるリン酸化部位における点突然変異のスペクトラムは、*Msh2*欠損マウスに臭素酸カリウムで誘発した腫瘍とHNPCC患者の腫瘍とで一致していた。これらの事実から、*MUTYH*あるいは*Msh2*欠損マウスに臭素酸カリウムを投与して誘発した小腸腫瘍は当該遺伝子変異に起因した遺伝性大腸がんの研究に大いに役立つものと考えられている。

Table 1 Incidences and multiplicities of neoplastic proliferative lesions of the small intestine in *Nrf2*<sup>+/+</sup> and *Nrf2*<sup>-/-</sup> mice treated with KBrO<sub>3</sub> for 52 weeks

Genotype	KBrO <sub>3</sub> (ppm)	Effective no. of mice	Preneoplastic lesion		Neoplastic lesions				Combined incidence of preneoplastic and neoplastic lesions
			Atypical hyperplasia		Adenoma		Adenocarcinoma		
			Incidence	Multiplicity (no. of lesions/mouse)	Incidence	Multiplicity (no. of lesions/mouse)	Incidence	Multiplicity (no. of lesions/mouse)	
<i>Nrf2</i> <sup>+/+</sup>	0	20	0	0	0	0	0	0	0
	750	18	0	0	0	0	0	0	0
	1500	16	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nrf2</i> <sup>-/-</sup>	0	21	1 (5%)	0.05 ± 0.22	0	0	0	0	1 (5%)
	750	21	2 (10%)	0.19 ± 0.68	0	0	0	0	2 (10%)
	1500	22	4 (18%)	0.18 ± 0.39	1 (5%)	0.05 ± 0.21	1 (5%)	0.05 ± 0.21	6 (27%) <sup>*,†</sup>

\*:  $p < 0.05$  vs. the relevant control, †:  $p < 0.05$  vs. KBrO<sub>3</sub> (1500 ppm) in *Nrf2*<sup>+/+</sup>

## 5.2. *Nrf2*欠損マウス

我々は上述の実験モデルにヒントを得て、ある種の遺伝子欠損マウスに臭素酸カリウムを投与して、小腸腫瘍の発生を解析することで、当該遺伝子の発現異常を遺伝的に有しているヒト集団の酸化ストレスに起因した大腸発がんリスクを評価することが可能であると考えた。抗酸化酵素群の転写因子 *Nrf2* には遺伝子多型が存在することが知られており、その発現プロモーター領域に多型があることから、おそらくこの集団では *Nrf2* が不活化している可能性が考えられている。そこで、*Nrf2* 欠損マウスに臭素酸カリウムを投与する実験モデルを用いて、その集団の酸化ストレスに起因した大腸発がんリスクを検証した。*Nrf2* ホモ欠損マウス (*Nrf2*<sup>-/-</sup>) とその野生型 (*Nrf2*<sup>+/+</sup>) マウスに臭素酸カリウムを750あるいは1500 ppmの濃度で52週間、飲水投与して、小腸の腫瘍性増殖性病変について病理組織学的に検索した。生じた腫瘍性増殖性病変に  $\beta$ -catenin ならびに cyclin D1 の蓄積が認められ、遺伝性大腸がんの動物実験モデルで認められた腫瘍とその組織学的特徴が一致した。その発生頻度は Table 1. に示す。*Nrf2*<sup>+/+</sup> マウスでは腫瘍性増殖性病変は観察されなかったが、*Nrf2*<sup>-/-</sup> マウスでは、臭素酸カリウムの高用量投与群で小腸の前腫瘍性病変と腫瘍性病変を併せた発生頻度が対照群に比して有意な高値となり、*Nrf2* の遺伝子多型を有するヒト集団では、酸化ストレスに起因した大腸がんリスクが高い可能性が示された<sup>15)</sup>。

## 6. まとめ

食品添加物としての安全性評価に続き、汚染物質としての安全性が議論されてきた臭素酸カリウムは本稿で紹介してきたようにその腎発がん機序の解明を中心に研究が進んできた。国内外の評価機関における評価値の算出には腹膜中皮腫の発生頻度が用いられていることは少々皮肉な面もあるが、この腎発がん機序の研究により、酸

化的DNA損傷の一つである8-OHdGの生物学的意義を深めることになった。近年の研究からは、8-OHdGのアデニンとの誤対合反応により生じるG:C:T:Aトランバージョン変異は生体内では比較的起きにくく、おそらくグリコシラーゼによる塩基除去修復過程に起因すると考えられる欠失変異が主な変異であるらしいことが分かってきた。また、このDNA修飾自体の発がんポテンシャルはそれほど高くないであろうとの仮説から、現在も研究が進行中である。これらの研究は、添加物であり汚染物質である臭素酸カリウム自身の研究の枠を超え、酸化ストレスと発がんという大きなテーマにつながっている。そのような中で近年、遺伝子改変マウスに臭素酸カリウムを投与して小腸腫瘍を検索するヒト大腸がんモデルが発表され、新たな臭素酸カリウムの活躍の場が現れた。マウスの小腸腫瘍は1990年に黒川先生が行われた数種類の系統のマウスを用いた発がん性試験の中で1つの系統にのみ認められた腫瘍であり、四半世紀の時を超えてあらためて注目されるに至ったのである。黒川先生のほくそえむ表情を想像しながら、先生の跡を継いで臭素酸カリウムの実験を継続してきた著者の特論をここで終わりとしていたい。

## 引用文献

- 1) Kurokawa Y, Hayashi Y, Maekawa A, Takahashi M, Kokubo T: *Gann*. 1982;73:335-8.
- 2) Kurokawa Y: *Jpn J Food Chem* 2004;11:43-7.
- 3) Umemura T, Kurokawa Y: *Toxicology*. 2006;221:154-7.
- 4) Kurokawa Y, Aoki S, Matsushima Y, Takamura N, Imazawa T, Hayashi Y: *J Natl Cancer Inst*. 1986;77:977-82.
- 5) DeAngelo AB, Geroge MH, Kilburn SR, Moore TM, Wolf DC: *Toxicol Pathol*. 1998;26:587-94.
- 6) Kurokawa Y, Maekawa A, Takahashi M, Hayashi Y:



- Environ Health Perspect.* 1990;87:309-35.
- 7) Umemura T, Kanki K, Kuroiwa Y, Ishii Y, Okano K, Nohmi T, Nishikawa A, Hirose M: *Cancer Sci.* 2006;97:829-35.
- 8) Kurokawa Y, Aoki S, Imazawa T, Hayashi Y, Matsushima Y, Takamura N: *Jpn J Cancer Res.* 1985;76:583-9.
- 9) Umemura T, Sai K, Takagi A, Hasegawa R, Kurokawa Y: *Carcinogenesis.* 1995;16:593-7.
- 10) Kasai H, Nishimura S, Kurokawa Y, Hayashi Y: *Carcinogenesis.* 1987;8:1959-61.
- 11) Umemura T, Takagi A, Sai K, Hasegawa R, Kurokawa Y: *Arch Toxicol.* 1998;72:264-9.
- 12) Umemura T, Kitamura Y, Kanki K, Maruyama S, Okazaki K, Imazawa T, Nishimura T, Hasegawa R, Nishikawa A, Hirose M: *Cancer Sci.* 2004;95:393-8.
- 13) Sakamoto K, Tominaga Y, Yamauchi K, Nakatsu Y, Sakumi K, Yoshiyama K: *Cancer Res.* 2007;67:6599-604.
- 14) Isoda T, Nakatsu Y, Yamauchi K, Piao J, Yao T, Honda H: *Int J Biol Sci.* 2014;10:940-7.
- 15) Yokoo Y, Kijima A, Ishii Y, Takasu S, Tsuchiya T, Umemura T: *Cancer Med.* 2016;5:1228-38.

## OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの改訂

本間正充<sup>#</sup>, 森田健

### Revision of OECD genotoxicity test guidelines

Masamitsu Honma<sup>#</sup>, Takeshi Morita

Four OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) genotoxicity testing guidelines (TGs) were first published in 1983. Thereafter, totally twenty genotoxicity TGs have been developed, which are major OECD guidelines concerning human health effects. During recent two decades, the role of the genotoxicity tests and their TGs have changed. Simultaneously, the knowledge of the mechanisms of genotoxicity as well as the experiences with the use of the tests have been accumulated. The interpretation of test results has evolved, as has the identification of the critical steps in the different tests. According to the significant economic changes, the number of newly developed chemicals to be tested has increased. The genotoxicity tests must be more efficient, faster and cheaper, whereas the performance (i.e. sensitivity and specificity) should be maintained at the same time. In addition, most regulatory authorities have increased their commitment to a reduction in the use of animals in toxicology testing. To globally update the genotoxicity TGs in this circumstance, the Genotoxicity Expert Workgroup undertook an extensive revision of the OECD genotoxicity TGs including a comprehensive harmonization of recommendations across the TGs. This review provides important issues should be considered for test conduct and data interpretation, and also an overview of the new recommendations in the revised guidelines.

Keywords: OECD guideline for the testing of chemicals, human health effect, genetic toxicology, animal welfare

#### 1. はじめに

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) 試験ガイドラインは、化学物質や、その混合物の物理化学的性質、生態系への影響、生物分解及び生物濃縮、ならびにヒト健康影響などに関する知見を得るための国際的に合意された試験方法であり、国を超えた試験機関でも同じように試験が実施できるようにデザインされている。その試験結果はMAD (Mutual Acceptance of Data: データの相互受理) が原則であり、これにより、他国にて規制目的で作成された試験データ

であれば、OECD加盟国にデータの受け入れを求めることができる。MADにより、不要な試験の重複が避けられ、貿易の円滑化を促進することができる。世界経済の発展に伴い、新規開発化学物質の数が大幅に増加している今日、OECD試験ガイドラインの役割はますます重要となっている。

欧州の「化学物質の登録・評価・認可・制限に関する規則 (REACH)」においては、既に商業化されているが、ヒトへの安全性が確認されていない数多くの化学物質について試験を実施するよう求められている。その結果、試験結果の信頼性を損なわない上で、迅速、且つ効率的な試験法が求められている。また、規制当局の多くは、毒性試験における動物利用を削減することを要求している。人道的な動物実験の基本原則 (Reduce [使用動物数の削減], Refine [苦痛の軽減], Replace [代替法の活用] の3R) に則り、実験動物個体を用いる *in vivo* 試験は、可能な限り少なくすることが推奨されている。動物利用の大幅な削減を推進するためには、新たな

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

Masamitsu Honma; Division of Genetics and Mutagenesis, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-9872; Fax: +81-3-3700-2348; E-mail: honma@nihs.go.jp

*in vitro*, *in silico* 試験法の開発や改良, 3Rを目指した*in vivo* 試験の改良, 効率的な試験デザインの開発, 新たな試験結果の評価法の開発などが重要である。OECDにおいても, これら現状の問題に対応した新たな試験法の開発のためのプログラムや, 評価スキームを構築している。AOP (Adverse Outcome Pathway) をベースとした毒性に関する情報の構築と, この情報を基にした試験法の組み合わせ (IATA: Integrated Approaches to Testing and Assessment) は, その一つである<sup>1)</sup>。

遺伝毒性に関与するOECD試験ガイドラインに関しては, 1983年に「細菌復帰突然変異試験 (TG471/472)」, 「哺乳類の*in vitro* 染色体異常試験 (TG473)」, 「哺乳類赤血球小核試験 (TG474)」が初めてガイドライン化されて以降, 今日までに20の試験ガイドラインが開発されてきた。ヒト健康影響に関するOECD試験ガイドラインは約80存在することから, 他の毒性エンドポイントと比較してその数は多い。遺伝毒性試験が多く存在する理由は, 試験に用いる生物種が, 細菌, 酵母, 昆虫, 哺乳類細胞, 動物個体と多岐にわたること, ゲノム研究や, 遺伝毒性に関与するDNA損傷や修復機構の研究の進歩により, それら研究成果に基づく新たな試験系の開発が常に報告されていることにある。最近では2011年に, 「トランスジェニックげっ歯類の体細胞および生殖細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (TG488)」, 2014年に「*In vivo* 哺乳類アルカリコメットアッセイ (TG489)」が開発された。一方, 開発された試験法が汎用され, 経験が蓄積するとともに, その試験法の特徴, 長所, 短所も明らかになり, 問題点が露呈してきている。たとえば, 「哺乳類の*in vitro* 染色体異常試験 (TG473)」は発がん物質を陽性と判定する能力 (感度) は高いが, 非発がん物質を陰性と判定する能力 (特異性) は低く, 偽陽性を引き起こしやすい<sup>2)</sup>。そのため, この*in vitro* 試験陽性のフォローアップとして*in vivo* 試験がしばしば要求される。このことは先のOECDが目指す試験法のあり方と相反するものである。偽陽性の問題は, 他の*in vitro* 試験でも多く見られる。非生理的な条件下 (高濃度, 強い細胞毒性, 低pH等) は偽陽性を引き起こし易く, 試験条件の変更が必要である<sup>3)</sup>。また, 2000年代後半から遺伝毒性試験の役割も変化し, これまでのハザードの同定から, リスク評価への利用が求められてきた。このため, 試験結果の解釈も複雑化, 高度化している。

このような状況から, 2010年3月に開催されたOECD試験ガイドラインに関するナショナルコーディネーター会合 (WNT) において, 存在するすべてのOECD遺伝毒性試験ガイドラインを検証し, 各試験ガイドラインの廃止または改訂, もしくは新規試験ガイドラインを作成することが決定された。これを受け2011年よりOECD

加盟国の遺伝毒性専門家による作業部会が組織され, 上記の問題に取り組んだ。最終的には2013-2015年にほとんどの遺伝毒性試験ガイドラインが改訂された。本稿ではこれらOECD遺伝毒性試験ガイドラインの改訂の中で化学物質の規制目的として本邦で汎用されている以下の5つの試験を中心に, その改訂点について詳細を述べる。

- 哺乳類細胞を用いた*in vitro* 染色体異常試験 (TG473)<sup>4)</sup>
- 哺乳類赤血球小核試験 (TG474)<sup>5)</sup>
- 哺乳類骨髄染色体異常試験 (TG475)<sup>6)</sup>
- 哺乳類細胞を用いた*in vitro* 小核試験 (TG487)<sup>7)</sup>
- チミジンキナーゼ遺伝子を用いる哺乳類細胞の*in vitro* 遺伝子突然変異試験 (TG490)<sup>8)</sup>

尚, 本総説は日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) で議論された「遺伝毒性試験評価書のあり方」の資料を基に, JaCVAM運営委員会の勧めにより作成した。

## 2. OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの状況

各種試験ガイドラインの現在の状況を表1に要約した。1997年の試験ガイドラインの改訂以降, 新たな試験ガイドラインとして2010年に「哺乳類細胞を用いた*in vitro* 小核試験 (TG487)」, 2011年に「トランスジェニックげっ歯類の体細胞および生殖細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (TG488)」, 2014年に「*in vivo* 哺乳類アルカリコメットアッセイ (TG489)」, そして2015年に「TK遺伝子を用いた*in vitro* 遺伝子突然変異試験 (TG490)」が承認された。TG490が承認されたことにより, TG476は改訂され, 「*Hprt* 遺伝子および*xprt* 遺伝子を用いた*in vitro* 遺伝子突然変異試験」のみがその対象となった。

OECD加盟国の化学物質の規制に関連する試験としては稀にしか用いられないこと, また同様のエンドポイントを持ち, 簡便で良好な試験成績を示す新規試験が代替可能であることから, 削除することが決まった試験ガイドラインもある。削除された試験ガイドラインは, 「ショウジョウバエを用いる性染色体致死試験 (TG477)」, 「出芽酵母を用いる遺伝子突然変異試験 (TG480)」, 「出芽酵母を用いる体細胞組み換え試験 (TG481)」, 「DNA傷害および修復/哺乳動物細胞を用いる*in vitro* 不定期DNA合成試験 (TG482)」, 「マウススポットテスト (TG484)」, および「哺乳動物細胞を用いる*in vitro* 姉妹染色体交換試験 (TG479)」である。これら試験に関しては精通する専門家が少なくなっているため, 現実的にはガイドラインの改訂が困難であった。削除された試験ガイドラインの試験は, 通常新規に実施する試験に用いられるべきではない。ただし, これらの削除され

表1 OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの現状

No.	表題	採択年	改訂年	削除年
最近改訂された試験ガイドライン				
473	哺乳類の <i>in vitro</i> 染色体異常試験	1983	1997/2014	
474	哺乳類赤血球小核試験	1983	1997/2014	
475	哺乳類骨髄染色体異常試験	1984	1997/2014	
476	<i>Hprt</i> 遺伝子と <i>xprt</i> 遺伝子を用いる哺乳類細胞の <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験	1984	1997/2015	
478	げっ歯類を用いる優性致死試験	1984	2015	
483	哺乳類の精原細胞を用いる染色体異常試験	1986	1997/2015	
最近追加された試験ガイドライン				
487	哺乳類細胞を用いた <i>in vitro</i> 小核試験	2010	2014	
488	トランスジェニックげっ歯類の体細胞および生殖細胞を用いた遺伝子突然変異試験	2011	2013	
489	<i>In vivo</i> 哺乳類アルカリコメットアッセイ	2014		
490	<i>TK</i> 遺伝子を用いた哺乳類細胞の <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験	2015		
保管 (Archived)・削除された試験ガイドライン				
472	大腸菌復帰変異試験	1983		1997
477	ショウジョウバエを用いる伴性劣性致死試験	1984		2014
479	哺乳動物細胞を用いる <i>in vitro</i> 姉妹染色分体交換試験	1986		2014
480	出芽酵母を用いる遺伝子突然変異試験	1986		2014
481	出芽酵母を用いる体細胞組み換え試験	1986		2014
482	DNA 傷害及び修復／哺乳動物細胞を用いる <i>in vitro</i> 不定期 DNA 合成試験	1986		2014
484	マウススポットテスト	1986		2014
削除・更新が見送られたガイドライン				
471	細菌復帰突然変異試験	1983	1997	
485	マウス転座試験	1986		
486	哺乳類肝細胞を用いる <i>in vitro</i> 不定期 DNA 合成試験	1997		

た試験ガイドラインによって行われたこれまでの試験成績は、今でも規制上の判断に用いることが可能である。

さらに、最近では利用範囲が限定されているため、一部の規制当局から好まれなくなった試験として「マウス転座試験 (TG485)」、*in vivo* 不定期 DNA 合成試験 (TG486) がある。これらの試験はいずれも削除基準のほとんどを満たすものの、規制上の有用性が引き続き認められると考えられることから、当該試験ガイドラインにおいては削除も更新もなされないことが決まった。さらにこの一連の改訂では、「細菌復帰突然変異試験 (TG471)」については更新しないことも決まった。

現在の OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの日本語翻訳版は、他のヒト健康影響に関するガイドラインも含めて国立医薬品食品衛生研究所のホームページ (<http://www.nihs.go.jp/hse/chem-info/occdindex.html>) で入手することができる。

### 3. 遺伝毒性試験ガイドライン共通の変更点 (TG473, TG474, TG475, TG487, TG490)

「試験施設の習熟度」、「陰性対照の背景データベース」および「試験の許容基準」に関する項目が新たに追加され、「結果の評価および解釈」および「分析 (計数細胞数)」の項目が大きく変更された。

#### 3.1. 試験施設の習熟度

OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの改訂版には、試験施設の習熟度の実証に関する要件が含まれている。動物の使用が制約されている 3R を考慮すると、試験施設の習熟度の証明に関する推奨事項は、*in vitro* 試験、体細胞を用いた *in vivo* 試験、および生殖細胞を用いた *in vivo* 試験で異なる。陽性対照および陰性対照の両方の背景データベースを構築することによって既に十分な習熟度をもつ経験の豊富な試験施設には、推奨されている方

法は適用する必要がない。また、新しい試験ガイドラインでは、最初および経時的な習熟度証明の一環として、背景データベースの評価に品質管理図を利用することが推奨されている。

### 3.2. 陰性対照の背景データベース

作業部会では、陰性対照背景データの範囲を統一的な数値で管理することは適切では無いとしたが、試験施設は、陽性対照および陰性（無処理、溶媒）対照について、その背景データの範囲および分布を確立しておく必要があるとされた。最初に陰性対照の背景分布データを得る場合は、公表されている陰性対照データと同一試験内陰性対照のデータが一致している必要があり、陰性対照の分布に追加する同一試験内陰性対照は、理想的には、ポアソン分布に基づく95%管理限界内にあることが望ましい。陰性対照の背景データベースは、最低10回の実験によって、可能であれば少なくとも20試験によって構築する。試験施設は、管理図などの品質管理の方法を用いて、陽性・陰性の両対照データが「管理下にある」ことを示す必要があり、また、実験プロトコルに変更による既存の対照背景データベースのデータとの重大な不一致があった場合には、新たに対照の背景データベースを構築する。

なお、95%管理限界については、不必要に試験が適応できなくなることや、背景データベースの範囲が狭くなることを避けるため、ある程度の柔軟性が認められている。陰性対照背景データベースを構築する際は、既報の文献と矛盾しない限り、試験の結果を却下すべきではない。背景データベースの構築に当たり、*in vivo* 試験ガイドライン、特に生殖細胞を用いる試験については、必ずしも20試験の実施を適用しないこととした。陰性対照背景データベースの再確立にあたって、何を試験条件の重大な変化とみなすかという判定は、試験実施機関の判断に任せることとした。

### 3.3. 試験の許容基準

試験が許容できるかどうか、すなわち試験が成立し、データを評価することができるためには、以下の基準を満たす必要があるとした。

- 同一試験内陰性対照が、試験施設の陰性対照の背景データベースに追加してもよいと考えられるか、文献上の最頻値（試験によって異なる）と一致している。
- 同一試験内陽性対照が、試験施設の陽性対照の背景データベースで得られる反応に一致し、同一試験内陰性対照と比較して統計学的に有意に増加している。

- *In vitro* 試験の場合、いずれか1つの実験条件で明らかな陽性結果が得られていない限り、実験条件すべてで（推奨する処理時間で、代謝活性化の存在下および非存在下において）試験を実施している。
- 処理した個体数・細胞数が適切であり、実験期間中を通じて生存していた、または計数した（各試験に応じる）。
- 適切な用量・濃度域が含まれた適切な用量・濃度で分析可能である。
- 最高用量・濃度の設定基準が、各試験ガイドラインの記載と一致している。

上記の基準とは別に、マウスリンフォーマ試験（MLA; TG490）の許容基準については、MLA 専門家がいくつかの陰性対照データのパラメータについて評価を行い、その結果に基づいて個別に定義している<sup>9,10</sup>。

### 3.4. 結果の評価および解釈

試験許容基準がすべて満たされ、以下に該当する要件を全て満たした（*in vitro* 試験では、検討した実験条件のいずれかで以下の結果を示す）場合、被験物質は明確に陽性であると結論できる。

- 少なくとも1つの投与群（試験濃度）で、同一試験内陰性対照と比較して統計学的に有意な増加が認められる。
- 適切な傾向検定で、用量依存性の増加が認められる。
- 当該結果は陰性対照の背景データの分布範囲外である。

また、試験許容基準がすべて満たされ、以下に該当する（*in vitro* 試験では、検討したすべての実験条件で以下の結果を示す）場合、被験物質は明確に陰性であると結論できる。

- いずれの投与群（試験濃度）においても、同一試験内陰性対照と比較して統計学的に有意な増加が認められない。
- 適切な傾向検定で、濃度依存性の増加が認められない。
- すべての結果が陰性対照の背景データの分布範囲内である。
- 標的組織（骨髄）が被験物質に曝露されている（*in vivo* 試験の場合）

結果の評価における優先考慮事項は、これまでの生物学的妥当性から統計学的評価に変更され、陰性対照の背景データとの比較も必須となった。

### 3.5. 分析（計数細胞数）

改訂の前に作業部会では適切な計測細胞数の設定のためには、*in vivo* と *in vitro* 試験では試験デザインが異なる

ることを考慮したアプローチが必要であることを確認した。すなわち*in vivo*での動物間のデータの変動（たとえば1群5匹）に係わる要因は、*in vitro*試験の変動要因（たとえば2回の反復測定）とは異なる。*in vivo*、*in vitro*試験で共通の判定評価を保証するため、以下の2つの主な選択肢について計数細胞数を検討した。

- i. 陰性対照背景データに基づいて、80%の検出力で陰性対照の2倍の発現頻度を観察するために必要な計測細胞数を決定する。
- ii. 試験ガイドラインにおいて必要な細胞計測数を決定する。計数細胞数はあらゆる場合において同一とする。

しかしながら、第1の条件を満足させるためには、計数細胞の数が試験実施機関ごとに異なることが予想された。また、第2の条件は、背景値となる陰性データが細胞系や試験実施機関によってさまざまであることを考えると、両条件を満足させることは容易ではないと考えられた。たとえば、TG473の場合、背景値が4～5%とすると、これまで推奨されている細胞数200個としても、明らかな陽性/陰性と結論づけることは比較的簡単であるが、背景値が1～2%である場合（たとえば、ヒトリンパ球ではしばしば1.5%を下回る）、判定精度の向上のためには細胞400個を計数する必要がある。最終的に作業部会では、第2の条件を満たし、計数細胞数を最小化するとともに、(1) ゼロの数を減らし、(2) 80%の検出力で2倍の発現頻度を観察する条件の達成を目指す、という2つの目標を達成するために協議を継続した。

TG473 (*in vitro* 染色体異常試験) 原案における細胞400個を計数するという提案について、WNTから提起された主な問題点は、計数は自動化することができないため、試験実施者の負担が増加するというものであった。計測細胞数の増加は陽性の結論を下す上で必要ないという点では合意した。作業部会での最終提案は、細胞300個を計数するが、異常が多数認められた場合にはこの数を減らすことができるとした。その場合、結果については明らかに陽性との結論が下される。しかしながら、被験物質が明らかに陰性であると結論づけるためには、細胞300個を計数しなければならない。細胞300個で平均染色体異常発生率1%の場合に、カウントがゼロになる確率は、約5%と推定できる。従って、1つの濃度につき細胞200個というこれまでの試験ガイドラインと、細胞400個という改訂原案の妥協点として、1つの濃度につき細胞300個という数に決定した。

その他の試験ガイドラインについても同様に議論され、以下のように決定された。

- i. TG487 (*in vitro* 小核試験) : 変更無し。すなわち、1つの濃度につき細胞2000個を計測する。

- ii. TG475 (*in vivo* 染色体異常試験) : *In vitro* 染色体異常試験と比較し「ゼロ」の頻度が低いことが予想されるため（また、動物5～6匹を解析対象とするため、また、データを併合できるため）、細胞200個を計数する（これまでは100個）。
- iii. TG474 (*in vivo* 小核試験) : 細胞2000個（これまでの試験ガイドライン）と細胞5000個（改訂原案）の妥協点として、細胞4000個を計数することが提案された。この数は、原案と比較すると減少にあたるが、依然として必要なだけの感度が確保される十分な数である。*In vivo* 小核の計測は自動化される可能性があることから、将来的に、試験機関の余分な負担が軽減されるものと考えられる。

#### 4. *In vitro* 遺伝毒性試験ガイドラインの変更点(TG473, TG487, TG490)

「ナノ材料への適用」、「使用細胞」、「培養系列」、「実験条件（処理条件）」および「沈殿を生ずる場合の最高用量」「試験デザイン」の記述が変更/追記され、また、特に「最高試験濃度」および「細胞毒性の評価」の項目が大きく変更された。

##### 4.1. ナノ材料への適用

本試験ガイドラインがナノ材料について適用される場合もあるかもしれないが、当該試験ガイドラインは、ナノ材料への適用については言及しなかった。

##### 4.2. 使用細胞

従来からのチャイニーズハムスター由来細胞を含め種々の細胞株が使用可能であるが、選択基準として、p53遺伝子の状態、遺伝的（核型）安定性、DNA修復能および由来（げっ歯類、ヒト）を考慮する必要性が指摘された。これに伴い、ヒトリンパ球細胞株TK6が新たに標準細胞として推奨された。

##### 4.3. 培養系列

従来は、2系列の培養間での変動が最小であれば1系列培養が認められたが、今回の改訂では、計数細胞の合計数が同じであるという条件で、1系列培養も複数系列培養もいずれも使用できる。

##### 4.4. 実験条件（処理条件）

結果を厳密に陰性と判定するのに必要となる実験条件（処理条件）が明記された。例えば、*in vitro* 染色体異常試験では、代謝活性化の存在下および非存在下での短時間処理、ならびに代謝活性化の非存在下での長時間処理による3つの実験条件（細胞の処理・回収時期を含む）

表2 *In vitro* 遺伝毒性試験の最高濃度に関するオプション

OP	オプション名	最高濃度案	説明
1	OECD	10mM, 5mg/mL のいずれか低い方	現行
2	ICH	1mM 0.5mg/mL のいずれか低い方	ICH S2(R1) 遺伝毒性試験で医薬品に適用
3	DK	1mM, 0.5mg/mL のいずれか高い方	NTP データベースを再調査した結果, この濃度を最高用量としても偽陰性をもたらす可能性は低い
4	BG	10mM, 1mg/mL のいずれか低い方	<i>In vivo</i> 毒性試験の最高用量 1000mg/kg からの外挿, ただし, 低分子化合物については更に高い用量が必要とする
5	BG-GD	10mM, 2mg/mL のいずれか低い方	<i>In vivo</i> 短期毒性試験の最高用量 2000mg/kg からの外挿, ただし, 低分子化合物については更に高い用量が必要とする
6	VT-EL	4mM (分子量の未知の場合), 2mg/mL (分子量既知の場合)	既存データベースを再調査した結果, モルベースで 2.5 倍の低減下でも十分な安全マージンが保証できる
7	A-VT-EL	4mM, 2mg/mL のいずれか低い方	上記の案に高分子化合物での高濃度を避けるため 2mg/mL の上限を追加した

である。

#### 4.5. 沈殿を生ずる場合の最高用量

沈殿が生じる場合は、それによる人為的影響を避けるため、目視による沈殿が生じる最低用量（1用量）を最高用量とする。従来は、細胞毒性がみられればそちらを優先させ、また、沈殿用量は2用量以上必要であった。

#### 4.6. 試験デザイン

改訂 *in vitro* 試験ガイドラインでは、許容基準（細胞毒性が適切であること、細胞数、背景頻度が妥当であることなど）に見合った対照群の設定と最小試験群数に関する推奨事項が更新された。また最小濃度群数を超えて実施することが望ましいと考えられる状況を明確化した指針も追加された。評価可能な試験濃度として、細胞遺伝学的試験で少なくとも3濃度、*in vitro* 遺伝子突然変異試験で4濃度が引き続き推奨されている。全試験で最低限必要な被験物質濃度に加え、溶媒対照および陽性対照培養を実施する。

推奨事項としては、2系列培養の利用が望ましいものの、試験する各濃度において複数系列または1系列の培養のいずれの使用でもよい。細胞遺伝学的試験については、各濃度において計測を行う総細胞数は、十分な統計的検出力がある数とすることが最も重要である。したがって、所定の濃度において複数系列で培養した細胞から得られた結果については、それぞれ分けて報告すべきであるが、データ解析の際にはプールデータとして扱わなければならない。細胞毒性をほとんどまたはまったく示さない被験物質については、通常、公比約2～3で設定した濃度段階の使用が適している。細胞毒性がある場合は、個別の試験において推奨されている、最大レベルの細胞毒性を示す、細胞毒性範囲をカバーする試験濃度

を選ぶ必要があり、その中には中等度の細胞毒性を示す濃度、および細胞毒性をほとんどまたは全く示さない濃度を含めなければならない。被験物質によっては急勾配の濃度反応曲線を示すものがある。したがって、細胞毒性の全範囲をカバーし、濃度反応について詳細な検討を行うためには、より密な濃度間隔の設定や、3用量段階の濃度の設定が必要である。

#### 4.7. 最高試験濃度

*In vitro* 遺伝毒性試験において、偽陽性が多く出現する理由として、従来の最高試験濃度（10mM, 5mg/mL または 5μL/mL のいずれか低い方）が高いことが報告されている<sup>11,12</sup>。同様の問題は ICH（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）でも議論されており、2011年に改訂された遺伝毒性試験ガイドライン（ICH-S2(R1)）では、最高濃度が従来の10分の1に低減化された（1mM, 0.5mg/mL または 0.5μL/mL のいずれか低い方）<sup>13</sup>。従って、医薬品に関してはこの最高濃度が適用される。OECD 作業部会においても ICH の決定にない、他の化学物質に関しても 1/10 に引き下げる案が検討されたが、1) 医薬品と異なり、一般化学物質は比較的分子量が低い化合物が多く、分子量を平均 500 と想定した ICH のガイドラインは適用が困難であること、2) 最高濃度の低減により偽陰性が増えることが懸念されること、3) 医薬品では組み合わせ試験によりこの偽陰性を排除できるが、OECD 試験ガイドラインは単独の試験での評価が基本であるため、偽陰性のフォローアップが困難であること、から ICH 案は否決された。その後、多くの案が示された（表 2）。最終的にはオプション 5 の「BG-GD 案」が採用された。これは、モルベースの最高濃度（10mM）は堅持するが、mg/mL ベースでは、*in vivo* の短期毒性試験の最高用量が 2000mg/kg を *in vitro* に外挿すると（動物の体が液体

のバッグであると仮定する), 2mg/mLと計算できることに基づく。この値は一般化学物質の平均分子量を200とした場合, 10mMは2mg/mLに相当することからも正当化される。

従って, OECD試験ガイドラインでは, 沈殿も細胞毒性も認められない場合, 最高試験濃度は10mM, 2mg/mLまたは2 $\mu$ L/mLのうち最も低い濃度とされ, 従来の「10mM, 5mg/mLまたは5 $\mu$ L/mL」に比べ重量濃度が4割に低減された。組成が不明な被験物質や複雑な反応生成物などは, 各成分の濃度を高めるために5mg/mLにする必要がある。これらの要件は, 医薬品では異なるので, 今後, 多くの問題が引き起こされることが予想される。

#### 4.8. 細胞毒性の評価1 (TG473, TG487)

染色体異常試験, 小核試験の細胞毒性の指標として, 従来の生細胞数や単層細胞密度に代わり, 細胞株については相対的細胞数増加 (RICC; Relative Increase of Cell Counts) または相対的細胞集団倍加 (RPD; Relative Population Doubling) が, 初代培養リンパ球については分裂指数 (MI; Mitotic Index) を用いる<sup>14)</sup>。また, 細胞毒性に基づく場合の最高濃度は, 55  $\pm$  5%の細胞毒性をもたらすように (すなわち, 細胞株についてはRICCおよびRPDが, 初代培養リンパ球についてはMIが, 同一試験内陰性対照の45  $\pm$  5%にまで低下するように) 設定することが求められ, 従来の「50%以上の有意な減少」よりも細かく規定された<sup>15)</sup>。

#### 4.9. 細胞毒性の評価2 (TG490)

MLAの場合: 細胞毒性は, 従来どおり相対総増殖率 (RTG; Relative Total Growth) で評価する。この測定は, 細胞処理中の相対浮遊細胞増殖率 (RSG; Relative Suspension Growth), 発現期間, および変異体選択時の相対コロニー形成率 (RCE; Relative Cloning Efficiency)を含む。RSGには処理中の試験培養に生ずる, いかなる細胞消失も含むことに注意する<sup>9,10)</sup>。

TK6試験の場合: 細胞毒性は, 相対生存率 (RS; Relative Survival) で評価する。すなわち, 細胞数に基づいて処理期間中の細胞消失を補正した処理直後のコロニー形成率を, 同様に補正した陰性対照のそれ (生存率を100%とする) と比較する。

細胞毒性に基づく場合の最高濃度は, MLAの場合にはRTGが20 ~ 10%, TK6試験の場合にはRSが20 ~ 10%になるように設定する<sup>16)</sup>。

### 5. *In vivo* 試験ガイドラインの変更点 (TG474, TG475)

「動物の週齢」, 「投与経路と投与量」, 「最大耐量 (MTD);

Maximum Tolerant Dose)」, 「用量段階」, 「限度試験」および「性差の確認」について変更が認められた。また, 「症状観察」, 「標的組織の曝露」, 「反復投与毒性試験への組み込み」が新たに追加された。

#### 5.1. 動物の週齢

従来は, 「若齢成熟動物」としていたが, 「投与開始時に6 ~ 10週齢が望ましい」ことが追記された。

#### 5.2. 投与経路と投与量

通常は, ヒトの予想曝露経路を用いることとするが, 妥当性が示されるならば, その他の曝露経路 (飲水, 皮下, 静脈内, 局所, 吸入, 気管内, 混餌, 埋植投与など) を選択することも可能である。腹腔内投与は, ヒトの曝露経路に生理的に関連しているとは言えないため, 改訂された試験ガイドラインでは推奨されない経路として具体的に提示されていることに留意しなければならない。強制経口投与, または注射により1回に投与できる最大液量は供試動物の大きさによって異なる。体重100gあたり2mLを超えてはならない。稀に, これより大きい用量の使用が可能な場合もあるが, 正当な理由が必要である。通常, 高濃度ほど影響が顕著になる刺激性または腐食性物質の場合を除き, 被験物質溶液の濃度を調節して量のばらつきを最小限にし, 全用量で投与容量が一定になるようにする。

#### 5.3. 最大耐量 (MTD)

最大耐量の定義が, 従来「最高用量は毒性の徴候を呈す用量で, 同じ投与計画で更に高用量の投与を続けられれば致死を引き起こすと予想される用量」から, 「試験の実施を制限する毒性を示すことなく忍容性が認められる (例: 体重減少や造血系の細胞毒性は認められるが, 死亡や安楽死を必要とする疼痛, 苦痛, 疲弊は認められない) 最高用量」に変更され, より動物福祉に配慮したものとなった。

#### 5.4. 用量段階

通常公比2 (ただし4を超えない) による最低3用量段階を用い, それにより最大量 (あるいはMTD) から毒性をほとんどあるいは全く生じない用量までの範囲を含めるのが望ましいとされた。以前の試験ガイドラインには公比の記載はなかった。

#### 5.5. 限度試験

1) 明確な毒性作用が認められず (骨髄毒性や標的組織の細胞毒性を含む), 2) 他の知見に基づき遺伝毒性が予測されず, 3) 被験物質の標的組織 (骨髄) への到達



が証明されていれば、3用量段階を用いた完全な試験は必要なく、限界用量のみの単一用量で十分であるとした。なお、限界用量は、14日間以上の投与の場合1000mg/kg体重/日、14日間未満の場合2000mg/kg体重/日である。従来の試験ガイドラインに3)項の条件が追記された。

#### 5.6. 性差の確認

多くの化学物質において小核試験では、性差は認められないことが示されているが、米国国家毒性プログラム(NTP)試験による最近の報告では異なる結果が示された。これらの試験では、小核試験と28日間反復投与試験を併用しており、よって、雌雄両方についてデータが得られている。

作業部会では少なくとも一方の性別で結果が陽性であった47種の化学物質を解析し、以下の結果が示された。

- i. 化学物質の70%は雌雄いずれにおいても陽性であり、雄のみまたは雌のみにおいて陽性であった化学物質の数は同数であった。したがって、いずれか一方の性別で試験を行った場合、試験の感度は約15%低下する。
- ii. 雌雄の両性が陽性反応を示した場合の反応の強さは、雌に比べて雄の方が若干強かった。
- iii. 急性および亜慢性毒性データの検討は、小核の誘発における性差を予測するうえで有用ではなかった。したがって、ある化学物質についてより感受性の高い性別を選択するためにこれらのデータを使用することは不可能である。曝露データについては利用不可能であるとされた。

これらの結果を基に、一部の専門家から、*in vivo*小核試験については、標準的には雌雄の両性の試験を行うべきであり、また、一方の性別のみを用いて試験を執行しようとする場合には、一方の性別のみが妥当であることを証明する必要があると主張された。しかしながら、多くの専門家は本問題についてはすでに議論済みであり、性特異的な作用が認められない場合には、現行通り片性で1群5匹を用いて試験すること問題無いことが示された<sup>17)</sup>。従って、動物数および性についての変更はなく、「1群当たり雌雄いずれかの分析可能な動物を5匹以上、あるいは雌雄両性を用いる場合は、雌雄それぞれが5匹以上」とされた。雌雄をともに用いる場合には、要因設計を用いたデータ分析が推奨され、その方法が補遺に示された。

#### 5.7. 症状観察

投与後の動物の症状観察の実施、さらに、長期投与の場合は、体重、摂餌量(飲水量)の記録が求められた。

#### 5.8. 標的組織の曝露

*In vivo* 遺伝毒性試験において比較的複雑な問題のひとつは、特に限界用量で毒性を示さない物質で、陰性結果が得られた場合において、標的組織が十分な曝露を受けていたことについての判断である。これに関する情報は、組織に対する曝露量が十分であったか(すなわちバイオアベイラビリティ)を示すデータが重要である。曝露に関するデータがない場合には、骨髄が被験物質に曝露されていることを確認する目的で、被験物質の血漿中濃度を測定することが求められる。

#### 5.9. 反復投与毒性試験への組み込み

項目立てでの記載ではないが、反復投与毒性試験に組み入れる場合の考慮点等が追記された。特に作業部会では、動物福祉の観点から小核試験と28日間反復投与毒性試験の併用の推奨に合意した。ただし、これはさらに多数の項目についての調査が必要である。

### 6. 各試験ガイドラインの変更点

各試験ガイドラインにおける特有の変更点を以下に示す。

#### 6.1. 哺乳類細胞を用いた*In vitro*染色体異常試験(TG473)

- 気体/揮発性物質の処理: TG487と同様に、「密封容器内で処理するなど、標準的なプロトコールに適切な修正を加えて試験を実施する」ことが追記された。
- 陽性対照: 推奨物質としてメタンスルホン酸エチルとエチルニトロソ尿素が削除され、一方、シトシンアラビノシドが新たに追加された。
- 観察細胞数: 染色体異常の出現頻度算出には、1用量あたり200個から300個へ変更された。ただし、明らかに陽性の場合にはこれより少ない数でもよい。

#### 6.2. 哺乳類赤血球小核試験(TG474)

- 小核の自動計数装置による評価: フローサイトメーター、画像解析装置およびレーザーキャニグサイトメーターなど自動計数装置による評価が推奨され、目視計数と比べて、試験施設間および試験施設内の再現性および感度が改善されることが示されているとしている。
- 小核形成の由来: 通常、試験の一部として実施されることはないものの、小核形成の由来が染色体断片なのかあるいは染色体全体なのかを識別する方法についての記載が追加された。
- 使用動物種: 従来は、末梢血を用いる場合、マウスが推奨されていたが、改訂版ではマウス、ラットと

もに推奨された。

- 投与回数：単回投与，2回投与に加え，新たに3回以上の投与プロトコルが追加された。この場合，投与は約24時間間隔とし，骨髓の場合は最終投与後24時間以内，末梢血の場合は40時間以内にサンプリングする。このオプションは，コメット試験との組合せや反復毒性試験への組入れを考慮して追加された。
- 観察細胞数：幼若赤血球の比率算出のためには，個体あたり骨髓では200細胞から500細胞に，末梢血では1000細胞から2000細胞に増加された。また，小核出現頻度算出には，個体あたり2000個から4000個に増加された。また，試験施設の小核の背景出現頻度が0.1%以下の場合には，計数細胞の増加を考慮することとされた。
- 症状観察：偽陽性を避けるため，必要に応じ，動物体温のモニターを考慮することが記載された。

### 6.3. 哺乳類骨髄染色体異常試験 (TG475)

- 動物種：通常使用される動物としてラットとマウスが推奨され，チャイニーズハムスターが削除された。
- 陽性対照：新たな陽性対照として，メタンスルホン酸メチルが追加された。
- 観察細胞数：染色体構造異常の出現頻度算出には，個体あたり200個以上の分裂中期細胞を分析することとして，従来の100細胞から増やされた。なお，細胞毒性の指標としての分裂指数は，一個体あたり1000個から求め，変更されていない。

### 6.4. 哺乳類細胞を用いた*In vitro*小核試験 (TG487)

- 陽性対照：推奨される陽性対照物質の表が追加され，代謝活性化不要の染色体異常誘発物質としてメタンスルホン酸メチル，マイトマイシンC，4-ニトロキノリン-N-オキシドおよびシトシンアラビノシドが，代謝活性化を必要とする染色体異常誘発物質としてベンゾ(a)ピレンおよびシクロフォスファミドが，異数性誘発物質としてコルヒチンおよびビンブラスチンが挙げられた。
- 代謝活性化：代謝活性化酵素を発現する遺伝子改変細胞の使用に関する記述が削除された。
- 処理時間延長の必要性：被験物質が細胞周期に影響を及ぼす場合（特にp53正常細胞），試料採取時間／回復時間を正常細胞周期の1.5～2.0倍の時間（すなわち，処理開始から正常細胞周期の3.0～4.0倍の時間）まで延長することを考慮する。

### 6.5. チミジンキナーゼ遺伝子を用いる哺乳類細胞の*In vitro* 遺伝子突然変異試験 (TG490)

新たに策定されたこのTG490には，チミジンキナーゼ (TK) レポーター遺伝子座に遺伝子変異を生ずる物質を特定するための特異的な試験法が2つ取り上げられている。L5178Y細胞を用いるマウスリンフォーマ試験 (MLA) と，TK6細胞を用いるTK試験である。両細胞ともTK遺伝子がヘテロ (+/-) の細胞株である<sup>18,19</sup>。この2種類の細胞株では，TK+/-からTK-/-への突然変異によってチミジンキナーゼ酵素を欠損した細胞の検出が可能となる。TK遺伝子座を用いて検出される遺伝的事象には，遺伝子変異（点突然変異，フレームシフト突然変異，小さな欠失）および染色体事象（大きな欠失，染色体の再構成および有糸分裂組み換え）の両方が含まれる。染色体事象はヘテロ接合性の消失 (LOH) として発現する。LOHはヒトの腫瘍形成において一般的に認められる腫瘍抑制遺伝子の重要な遺伝子変異である。

TK変異体には，正常な増殖を示す変異体と緩やかな増殖を示す変異体がある。これらの変異体は，MLAでは「大きなコロニー」および「小さなコロニー」の変異体として，またTK6試験では，「早期に現れるコロニー」および「後期に現れるコロニー」の変異体として検出される。正常な増殖を示す変異体および緩やかな増殖を示す変異体は，それぞれ変異頻度を分けて計数しなければならない。正常な増殖および緩やかな増殖を示す各変異体の計数は，TK変異体が点突然変異，もしくは染色体突然変異，またはその両方によって生ずるか否かの指標となる。正常な増殖を示すコロニーからは，点突然変異およびその他の小規模な突然変異を誘発する化学物質が示唆されると考えられ（ただし，予測にすぎない），緩やかな増殖を示すコロニーからは染色体損傷を誘発する化学物質が予測される。

本試験では，被験物質で細胞を処理した後，新しく誘発された変異体が機能しているTK酵素を失うのに十分な発現時間を設ける。その後，変異頻度を測定するため，選択薬剤トリフルオロチミジン存在下および非存在下で細胞集団にコロニーを形成させ，それぞれ突然変異細胞の計数およびコロニー形成率の測定を行う。この突然変異体の選択には，シャーレに入ったコロニー形成用の軟寒天培地，または培養用のマイクロウェルプレートに入った液体培地を用いることができる。

## 7. まとめ

今回の改訂における変更の要点は，これまでに得られた科学的知見をもとに各試験による遺伝毒性物質の検出感度を上げること，哺乳類細胞試験における偽陽性を削減すること，ならびに動物福祉を向上させることにある。

検出感度の向上は、試験施設の習熟度の検証、対照の背景データベースの構築、試験の許容基準（成立条件）および試験結果の陽性／陰性の基準の明確化、適切な細胞毒性指標の選択、統計学的検出力に基づく最適な観察細胞数ならびに標的組織の曝露証明に基づいている。偽陽性の削減は、*in vitro* 哺乳類細胞試験の試験最高濃度の低減に基づいている。一方、動物福祉の向上は、最大耐量の定義の明確化、限度用量の設定ならびに他の試験との組込みに基づいている。検出感度関連事項は、いずれも適切な参考文献が示されており、妥当な変更といえる。

OECD 試験ガイドラインは、すべての化学物質を対象としたものであり、医薬品や農薬と異なり特別な試験ガイドラインを有しない一般工業化学物質の安全性試験では、適用することが求められている。また、医薬品など独自の規制要件を有する化学物質についても、当該品目独特の基準を除き、OECD 試験ガイドラインに準じて実施することが適当とされている。さらに、OECD 試験ガイドラインはすでに本邦において受け入れられており、今回の改訂は、最新の科学的知見に基づき試験を適切に実施・評価するための、また、動物福祉に配慮するためのものであり、その適用は必然である。従って、これら改訂試験ガイドラインの社会的受け入れ性は高いものと考えられる。

#### 引用文献

- 1) OECD, GUIDANCE DOCUMENT ON DEVELOPING AND ASSESSING ADVERSE OUTCOME PATHWAYS, Series on Testing and Assessment No. 184, ENV/JM/MONO(2013)6, 17 April, 2013.
- 2) Kirkland D, Aardema M, Henderson L, Müller L, Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity. *Mutat Res.* 2005;584:1-256.
- 3) Scott D, Roberts SA, Extrapolation from *in vitro* tests to human risk: experience with sodium fluoride clastogenicity. *Mutat Res.* 1987;189:47-58.
- 4) OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, *in vitro* mammalian chromosomal aberration test, TG 473, Adopted: 26 September 2014.
- 5) OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Mammalian erythrocyte micronucleus test, TG 474, Adopted: 26 September 2014.
- 6) OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Mammalian bone marrow chromosomal aberration test, TG 475, Adopted: 26 September 2014.
- 7) OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, *in vitro* mammalian cell micronucleus test, TG 487, Adopted: 26 September 2014.
- 8) OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, *in vitro* mammalian cell gene mutation tests using the thymidine kinase gene, TG 490, Adopted: 28 July 2015.
- 9) Moore MM, Honma M, Clements J, Awogi T, Bolcsfoldi G, Cole J, Gollapudi B, Harrington-Brock K, Mitchell A, Muster W, Myhr B, O'Donovan M, Ouldelhkim MC, San R, Shimada H, Stankowski LF Jr. Mouse lymphoma thymidine kinase locus gene mutation assay: International Workshop on Genotoxicity Test Procedures Workgroup Report. *Environ Mol Mutagen.* 2000;35:185-90.
- 10) Moore MM, Honma M, Clements J, Awogi T, Douglas GR, van Goethem F, Gollapudi B, Kimura A, Muster W, O'Donovan M, Schoeny R, Wakuri S, Suitable top concentration for tests with mammalian cells: mouse lymphoma assay workgroup. *Mutat Res.* 2011;723:84-6.
- 11) Morita T, Honma M, Morikawa K, Effect of reducing the top concentration used in the *in vitro* chromosomal aberration test in CHL cells on the evaluation of industrial chemical genotoxicity. *Mutat Res.* 2012;741:32-56.
- 12) Morita T, Miyajima A, Hatano A, Honma M. Effects of lowering the proposed top-concentration limit in an *in vitro* chromosomal aberration test on assay sensitivity and on the reduction of the number of false positives. *Mutat Res.* 2014;769:34-49.
- 13) ICH Harmonized Tripartite Guideline, GUIDANCE ON GENOTOXICITY TESTING AND DATA INTERPRETATION FOR PHARMACEUTICALS INTENDED FOR HUMAN USE S2 (R1), Step 4 version, 9 November 2011.
- 14) Greenwood SK, Hill RB, Sun JT, Armstrong MJ, Johnson TE, Gara JP, Galloway SM, Population doubling: a simple and more accurate estimation of cell growth suppression in the *in vitro* assay for chromosomal aberrations that reduces irrelevant positive results. *Environ Mol Mutagen.* 2004;43:36-44.
- 15) Honma M, Cytotoxicity measurement in *in vitro* chromosome aberration test and micronucleus test. *Mutat Res.* 2011;724:86-7.

- 
- 16) Honma M, Hayashi M, Comparison of *in vitro* micronucleus and gene mutation assay results for p53-competent versus p53-deficient human lymphoblastoid cells. *Environ Mol Mutagen.* 2011;52:373-84.
- 17) Pfuhler S, Kirkland D, Kasper P, Hayashi M, Vanparys P, Carmichael P, Dertinger S, Eastmond D, Elhajouji A, Krul C, Rothfuss A, Schoening G, Smith A, Speit G, Thomas C, van Benthem J, Corvi R, Reduction of use of animals in regulatory genotoxicity testing: Identification and implementation opportunities-Report from an ECVAM workshop. *Mutat Res.* 2009;680:31-42.
- 18) Moore MM, Doerr CL, Comparison of chromosome aberration frequency and small-colony TK-deficient mutant frequency in L5178Y/TK(+/-)-3.7.2C mouse lymphoma cells. *Mutagenesis.* 1990;5:609-14.
- 19) Honma M, Generation of loss of heterozygosity and its dependency on p53 status in human lymphoblastoid cells. *Environ Mol Mutagen.* 2005;45:162-76.

シリカ、銀及び酸化亜鉛のナノ分散液の *in vitro* 及び *in vivo* 毒性学的評価

松岡厚子<sup>#</sup>, 児玉幸夫, 吉田緑, 伊佐間和郎<sup>\*1</sup>, 中嶋富士雄,  
井上薫, 河上強志, 松田良枝<sup>\*2</sup>, 五十嵐良明

***In vitro* and *in vivo* toxicological studies of silica, silver,  
and zinc oxide nano-suspensions**

Atsuko Matsuoka<sup>#</sup>, Yukio Kodama, Midori Yoshida, Kazuo Isama<sup>\*1</sup>, Fujio Nakajima,  
Kaoru Inoue, Tsuyoshi Kawakami, Yoshie Matsuda<sup>\*2</sup>, Yoshiaki Ikarashi

Nanomaterials (NMs) have useful industrial and medical applications; however, NMs are associated with several toxicological concerns. The causes of NM toxicity are not clearly understood. We have therefore been investigating a screening test battery for the safety evaluation of NMs.

In the present study, we investigated the possibility of using the following: an *in vitro* cytotoxicity test, *in vitro* chromosome aberration test, and *in vivo* 13-week repeated dose test (intratracheal spraying administration, once a week) in rats, as a screening test battery for silica, silver, and zinc oxide nano-suspensions.

The mean diameters of the silica, silver, and zinc oxide nanoparticles were 54.2, 159.2, and 183.8 nm, respectively, and their 50% growth inhibitory concentrations were 153.5, less than 1.25, and 12.0 µg/mL, respectively, in the cytotoxicity test. Zinc oxide induced structural chromosome aberrations, while silica and silver did not. In addition, only zinc oxide inhibited the normal increase in mean body weight in the 13-week repeated dose test. In the *in vivo* study, granulomatous inflammation, with foamy cells in the alveoli or surrounding the bronchioles, as well as perivascular cell infiltration were the common lesions detected in rats treated with any of the three test suspensions. The nano-suspensions caused a dose-dependent increase in the incidence of the lesions, which were distributed throughout the lobes. Microgranulomas and aggregations of foamy cells were found in the mediastinal lymph nodes at higher doses of silica and silver. This indicated that macrophages that had phagocytosed NMs moved to the lymph node through the lymphatic vessels. At two high doses of zinc oxide, proliferation and fibrosis of both the alveolar/bronchial epithelium and the mucinous cells in the bronchi were markedly induced. NOAEL of the silica, silver, and zinc oxide nano-suspensions were less than 0.06, 0.004, and less than 0.0312 mg/kg, respectively.

The results obtained from the study suggest that the three proposed tests could form a suitable battery of primary screening tests, which can be used for the safety evaluation of NMs. Further confirmation studies are warranted.

Keywords: nano-suspension, silica, silver, zinc oxide, pulmonary examination

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

Atsuko Matsuoka: Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; (Present E-mail: matsuoka-atsuko@pmda.go.jp)

<sup>\*1</sup> Presently, Faculty of Pharmaceutical Science, Teikyo Heisei University

<sup>\*2</sup> Formerly, Division of Medical Devices

## 1. 緒言

近年、ナノテクノロジーの発展により様々なナノ材料が製造され、多方面に応用されている。家庭用品も例外ではなく、例えば、銀ナノ粒子を配合した抗菌・消臭剤あるいはシリカナノ粒子を配合した衣料用手入れ剤や花粉附着防止剤などのスプレー製品が市販されている。また、酸化亜鉛ナノ粒子は透明性、紫外線遮蔽性及び抗菌性を有するため、化粧品、制汗剤、防臭剤等に応用され

ている。しかし、これらの製品に配合されている材料は超微粒子であるため、大きな比表面積を有するなどバルク材料とは異なる物理化学的特性を有し、ヒトへの有害性も未知の部分が多いことから、その安全性が懸念されている。家庭用品に使われているナノ材料は総量としては微量であるが、我々の生活環境で繁用されヒトへの暴露の割合が高いことから、その安全性を確認する必要がある。

家庭用品からヒトへのナノ材料の暴露経路は、吸入暴露と経皮暴露が考えられる。本研究では、家庭用スプレー製品からのナノ材料の吸入暴露を想定し、*in vitro* 及び *in vivo* 毒性学的試験を実施し、その安全性評価を行った。まず、*in vitro* 試験では吸入に伴う粘膜系への刺激性などを評価する目的で細胞毒性試験を実施した。また、*in vivo* 試験では、ナノ材料の肺への影響を直接評価する方法としてラット気管内噴霧投与<sup>1-6)</sup>を実施した。ナノ材料の生体影響は急性影響と慢性影響とが考えられるが、今回は投与後短期間に観察される肺の炎症性反応を中心に観察し、これらの試験法がナノ材料の安全性評価法となりうるかを検討した。

## 2. 材料及び方法

### 2.1 シリカ

日産化学工業株式会社よりスノーテックスAK (Lot No. 200811) を入手した。添付されていた製品安全データシートの内容は、化学名 (コロイダルシリカ：表面電荷がカチオンの中粒子径シリカゾル)、組成 (水 78-80%、アモルファスシリカ 17-19%、アルミニウム水溶性塩 4%以下)、粒子径 (10-20 nm) であった。入手ロットの検査報告書の測定値は、比重 (1.144: 20°C)、pH (4.3: 20°C)、粘度 (3.9 mPa·s: 25°C)、SiO<sub>2</sub> (17.8%)、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (2.1%) であった。

本研究では、シリカの濃度はSiO<sub>2</sub>としての濃度で示す。*In vitro* 試験では、原液を培地で希釈後添加した。*In vivo* 試験では、原液を蒸留水で希釈後、ラット1匹あたり0.2 mLの希釈液を気管内に直接噴霧投与した。陰性対照として蒸留水を、溶媒対照として0.05 mM塩酸 (pH 4.3) を用いた。粒子径分布はレーザ回折/散乱式粒子径分布測定装置 (HORIBA LA-950) で測定した。

### 2.2 銀

銀粉末は、Sigma-Aldrich (カタログ番号576832) より購入した。添付データの主な内容は、純度 (99.5% metals basis)、形状 (nanopowder)、抵抗率 (1.59 μΩ·cm, 20°C)、粒子径 (<100 nm)、表面積 (5.0 m<sup>2</sup>/g) であった。

銀分散液は以下の手順で調製した。銀 (粉末) を秤量し2 mg/mLの蒸留水懸濁液を調製し、200 W投入型

超音波発生装置 (トミー精工 UR-200P) で氷冷下5分間分散し、ろ紙 (Advantec TOYO, 5A) でろ過後、そのろ液をさらに0.45 μmポアサイズのフィルター (Millipore, MILLEX<sup>®</sup>-HV, PVDF) でろ過した。ろ液をSpeed Vac<sup>®</sup> Plus SC110A (Savant) で真空低速室温遠心濃縮後、その液を試験分散液として使用した。試験分散液の正確な濃度はキャピラリー電気泳動装置 (大塚電子 CAPI-3300) で定量した。粒子径分布はHORIBA LA-950で測定した。調製した銀分散液を*in vitro* 試験では培地で、*in vivo* 試験では蒸留水でそれぞれ希釈して投与した。

### 2.3 酸化亜鉛

酸化亜鉛はAlfa Aesar社 (ドイツ) より市販されている酸化亜鉛40%水懸濁液 (NanoTek<sup>®</sup> ZH1121W, Lot No. B14T027) を入手した。粒子径分布は動的光散乱光度計 (大塚電子DLS-7000) で測定した。

*In vitro* 試験では、原液を培地で希釈後添加した。*In vivo* 試験では、原液を日本薬局方注射用水 (大塚化学) で希釈後、ラット1匹あたり0.2 mLの希釈液を気管内に直接噴霧投与した。陰性対照として無処置群及び溶媒対照群 (蒸留水) を設定した。

### 2.4 細胞

当研究室で維持している、チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞株 (CHL) を用いた<sup>7,8)</sup>。細胞は10%牛胎児血清 (Intergen Company, N.Y. USA) 添加MEM培地 (GIBCO 11095-080) で、5%炭酸ガス、飽湿37°C条件下で培養した。CHL細胞の倍加時間は約13時間、染色体モード数は25本である。

### 2.5 細胞毒性試験 (コロニー法)

24-wellプレートに50細胞/wellのCHL細胞を播種し、翌日ナノ分散液を最終濃度がシリカは100, 250, 500, 750及び1000 μg/mL、銀は1.25, 2.5, 5, 10及び20 μg/mL、酸化亜鉛は5, 7.5, 10, 12.5及び15 μg/mLとなるように添加した。そのままさらに6日間培養を続け、形成されたコロニーをメタノールで固定、ギムザ染色を行なった後カウントした。コントロール群のコロニー数を100%とした時の、処理群の相対コロニー数 (Survival %, 平均値±SD, n=4) で細胞毒性を表示した。50%細胞増殖抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) はプロビット法で算定した。

### 2.6 染色体異常試験

直径60 mmのプラスチックシャーレに1 x 10<sup>5</sup>/plateの細胞を播種し、翌日ナノ分散液を最終濃度がシリカは500, 1000及び1500 μg/mL、銀は12.5, 25, 50及び

75 µg/mL, 酸化亜鉛は2.5, 5, 10及び20 µg/mLとなるように添加した。24時間又は48時間処理後に染色体標本を作製した<sup>9)</sup>。ギムザ染色後、広がりの良い分裂中期細胞100個を観察し、染色体構造異常と数的異常(倍数体及び核内倍加)を記録した。背景データに基づき、構造異常を有する細胞又は数的異常を有する細胞の頻度が5%未満を陰性、5%以上10%未満を疑陽性、10%以上を陽性と判定した<sup>9)</sup>。陰性対照として溶媒処理群を設定した。実験は少なくとも2回実施し、代表的なデータを示した。

## 2. 7 ラット13週間反復投与毒性試験

8週齢(酸化亜鉛)又は10週齢(シリカ及び銀)のWistar Hannover IGS系ラット(SPF)雄を日本チャールス・リバー社(神奈川)より購入し、基礎飼料(CRF1固形飼料, オリエンタル酵母工業)と塩素・塩酸添加水(残留塩素濃度10 ppm, 塩酸によりpH 3.0に調整)で1週間馴化飼育後、無作為に群分けし、試験に供した。シリカ及び銀投与試験では対照群を含め各群7匹の動物を割り付け、酸化亜鉛投与試験では無処置対照群5匹、溶媒対照群及び被験物質投与群には各群6匹を割り付けた。

動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて、室温24 ± 1°C, 湿度55 ± 5%, 換気回数18回/時(オールフレッシュ), 12時間蛍光灯照明, 12時間消灯の条件下で行った。動物は透明なポリカーボネート製ケージ(幅26 cm, 長さ42 cm, 高さ17 cm)に3匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス社(東京)のソフトチップを用い、週2回ケージ交換を行った。飼料(CRF1)と飲水は試験期間中自由に摂取させた。

調製したナノ分散液を0.2 mL/ラット, 週1回13週間、専用のゾンデ(19 G DIMS型経気道ゾンデ, 株式会社コクゴ)を用いて、イソフルラン(大日本住友製薬)吸入麻酔下、気管内噴霧投与を行った。用量は予備試験の結果を参考に、公比5又は4で設定した。シリカは0.06, 0.3及び1.5 mg/kg, 銀は0.004, 0.02, 0.1及び0.5 mg/kg, 酸化亜鉛は0.0312, 0.125, 0.5及び2 mg/kg投与した。

一般状態及び死亡の有無は毎日観察し、体重は毎週1回測定した。生存全例は最終投与1週後に、イソフルラン吸入による深麻酔下後大静脈より採血後安楽死させた。剖検後、脳, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓及び精巣を摘出した。臓器重量を測定後、気管, 縦隔リンパ節及び肺並びに他の臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。常法により、パラフィン包埋, 薄切, ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し、病理組織学的検査を行った。血液は白血球百分比を測定し、血液学的検査は血液細胞自動分析装置(シスメックス, MICROX HEG-50S)を用いて行った。

肺は、病変の分布を比較するために、左葉, 右前・中葉, 右後葉及び副葉に分けて検索した。また肺の一部についてはオスミック酸で後固定後エポン包埋した。1 µmの準超薄切片をトルイジンブルー染色し、細胞集簇等病変のある部位を選んで超薄した。超薄切片に酢酸ウランと鉛で二重染色を施した後、透過型電子顕微鏡(日本電子JEOL1400)で観察した。さらに電子線で物体を走査した際に発生する特性X線を検出し、X線から得られるエネルギーの分布から物体の構成元素を分析するエネルギー分散型X線分析装置(Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS), 日本電子)を用いて、肺内の銀及び亜鉛の局在を検索した。

当該動物実験は当研究所動物実験委員会の審査, 承認を得て実施した(シリカ及び銀:承認番号179, 酸化亜鉛:承認番号231)。

## 2. 8 統計学的解析

ラット13週間反復投与毒性試験における体重, 相対臓器重量及び血液学的検査データは一元配置分散分析により群間比較を行い、有意水準5%で有意な項目については、さらに溶媒対照群との比較をDunnnettの検定を用いて有意水準5%及び1%で実施した。観察された病理組織学的所見の頻度及び程度についての統計学的解析は実施しなかった。

## 3. 研究結果

### 3. 1 ナノ分散液の粒子径分布

ナノ分散液の外観をFig. 1に、その粒子径分布をFig.

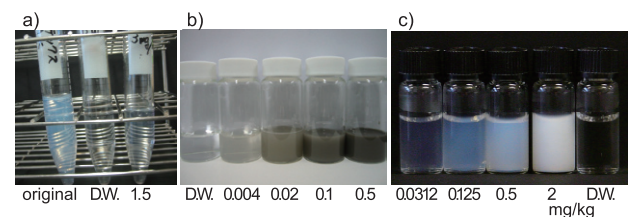


Fig. 1. Appearance of nano-suspensions tested

A silica sol (amorphous SiO<sub>2</sub> 17.8%, particle size 10-20 nm, pH4.3, viscosity 3.9 mPa·s (25 °C)) was diluted with water. Silver powder (Sigma-Aldrich 576832, particle size <100 nm, surface area 5.0 m<sup>2</sup>/g) was suspended in water by ultrasonics, filtered through a 0.45-µm PVDF filter, and then the concentration of silver in the filtrate was determined by capillary electrophoresis. 40% Zinc oxide suspension in water (NanoTek<sup>®</sup> ZH1121W, Lot No. B14T027, colloidal dispersion, Alfa Aesar, Germany) was diluted with water. The appearance of nano-suspensions of silica, silver and zinc oxide is shown in a), b) and c), respectively. D.W. indicates distilled water. The numbers in mg/kg indicate doses for the 13-week repeated dose test. 0.2 mL of the suspension was intratracheally administered to a rat to give the corresponding dose.

2に示す。Fig. 1a) 左端は、シリカの市販原液である。他は、表示の用量のラット気管内投与用分散液を示している。シリカ、銀及び酸化亜鉛の分散液は単分散の粒子径分布を示し、平均粒子径は、それぞれ54.2 nm, 159.2 nm及び183.8 nmであった。

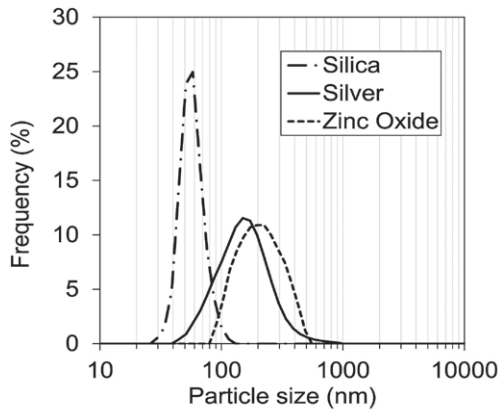


Fig. 2. Distribution of particle size in nano-suspensions

Size distribution analysis was performed by the laser diffraction/scattering method with a Horiba LA-950 for silica and silver and by the dynamic light scattering method with a model Otsuka DLS-7000 for zinc oxide. Mean diameter of particles in each suspension of silica, silver and zinc oxide was 54.2, 159.2 and 183.8 nm, respectively.

3. 2 *In vitro* 毒性試験結果

細胞毒性試験の結果をFig. 3に示す。IC<sub>50</sub>は、シリカが153.5 µg/mL、銀が1.25 µg/mL未満及び酸化亜鉛が12.0 µg/mLであった。染色体異常試験では、シリカは1500 µg/mLまで、銀は75 µg/mLまで試験を実施したが、染色体の構造異常も数的異常も誘発しなかった (Table 1)。

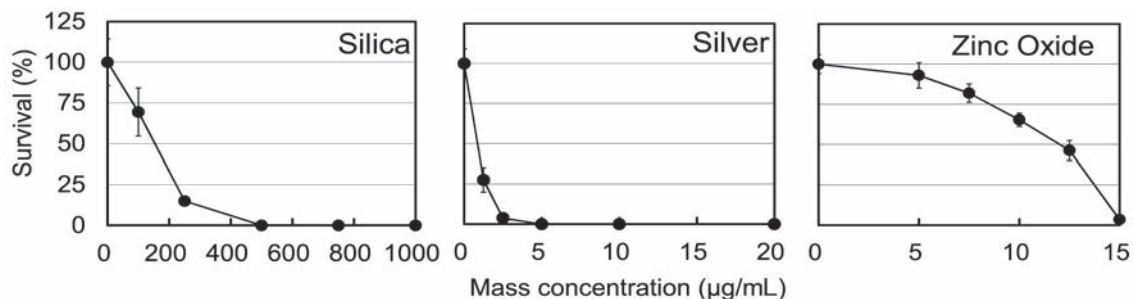


Fig. 3. Cytotoxicity of nano-suspensions in CHL cells

The colony formation assay was performed. Cells were seeded at 50/well in 24-well plates. After 24-h incubation, a suspension was added to the culture and incubated for further six days. The colonies formed were fixed with methanol and stained with Giemsa solution. The number of colonies on each well was counted, and the survival (%) was calculated as the ratio of the number of colonies in the test group to that in control (n=4). The cytotoxic potential was expressed as the concentration at which the survival was 50% of control (IC<sub>50</sub>). The IC<sub>50</sub> value was calculated by the probit method. IC<sub>50</sub> of silica, silver and zinc oxide was 153.5, less than 1.25 and 12.0 µg/mL, respectively.

シリカは1500 µg/mLでは、染色体標本にゼリー状に残存しているほどであったが、48時間までの処理では明らかな細胞毒性は観察されなかった。酸化亜鉛は、30 µg/mLまで試験を実施したが、最高濃度では間期細胞のみが観察され、分裂中期の細胞はほとんどなく染色

Table 1. Chromosome aberrations induced by silica, silver, and zinc oxide nano-suspensions in CHL cells

Treatment Time (h)	Mass conc. (µg/mL)	Poly-ploidy (%)	Frequency of cells with structural ab. (%)*					total		
			ctg	ctb	cte	csb	cse			
Silica	24	0	1	2	0	1	0	4		
		500	0	0	0	0	0	1		
		1000	0	2	0	0	1	3		
		1500	0	1	0	0	0	1		
	48	0	0	1	0	0	0	1		
		500	0	0	0	0	0	0		
		1000	0	1	0	0	0	1		
		1500	0	2	0	0	0	2		
		Silver	24	0	1	2	0	1	0	4
				12.5	0	0	0	0	0	1
25	2			0	0	0	0	0		
50								Tox		
75								Tox		
48	0		0	1	0	0	0	1		
	12.5		2	1	0	0	0	1		
	25		4	0	0	0	0	0		
	50							Tox		
	75							Tox		
Zinc Oxide	24	0	1	0	1	0	0	1		
		2.5	2	0	1	0	0	1		
		5	1	1	0	0	0	1		
		10	1	2	1	5	0	7		
		20	1	3	14**	32**	0	38**		
	48	0	0	0	0	0	0	0		
		2.5	1	0	0	0	1	1		
		5	3	0	0	0	0	0		
		10	2	0	0	0	1	1		
		20	5	4	9	7	0	17**		

Cells were seeded on day 0, treated with the suspension on day 1, and then chromosome preparations were made after 24- or 48-h treatment. Structural and numerical aberrations were observed on the Giemsa-stained preparations.

\*The structural aberrations were classified as follows; ctg, chromatid and chromosome gaps; ctb, chromatid breaks; cte, chromatid exchanges; csb, chromosome breaks; cse, chromosome exchanges.

Tox indicates where cells were killed.

\*\*The frequency indicates a positive response.



体の解析はできなかつた。染色体観察が可能であった最高濃度 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  では 24 時間及び 48 時間いずれの処理時間でも染色体の構造異常が観察された。数的異常は誘発されなかつた。

### 3. 3 *In vivo* 毒性試験結果

#### 3. 3. 1 一般状態、生存率及び体重変化など

いずれの投与群においても一般状態の変化は認められなかつた。シリカの 0.3 及び 1.5  $\text{mg}/\text{kg}$  群、銀の対照群及び 0.004  $\text{mg}/\text{kg}$  群の各 1 例が投与過誤により投与期間中に死亡した。そのほか投与に関連した死亡は認められなかつた。体重は、シリカ及び銀投与群については対照

群と同様の値で推移したが、酸化亜鉛投与群の 2  $\text{mg}/\text{kg}$  群では統計学的に有意な平均体重増加抑制が、0.125 及び 0.5  $\text{mg}/\text{kg}$  群では抑制傾向が認められた (Fig. 4)。

血液学的検査では、シリカ及び銀投与群とも対照群との間に差は認められなかつたが、酸化亜鉛投与群では 2  $\text{mg}/\text{kg}$  群で白血球及び血小板数が統計学的に有意に増加した。その程度は溶媒対照群と比較し、白血球数で約 50%、血小板数で約 30% の増加であった。

臓器相対重量では、酸化亜鉛投与群では 0.125  $\text{mg}/\text{kg}$  群以上で用量依存性に肺相対重量が増加した (Table 2)。また、解剖時の検査において酸化亜鉛投与群では 0.5  $\text{mg}/\text{kg}$  群以上で肺の表面が粗糙で淡褐色の変色域が観察された。

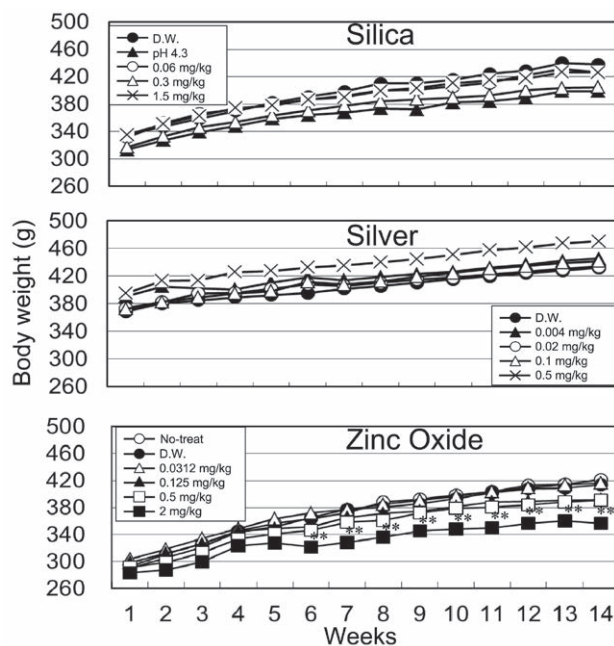


Fig. 4. The mean body weight curve of rats administered with silica, silver or zinc oxide nano-suspensions in the 13-week repeated dose test

Seven or six male rats per group were intratracheally sprayed in a 0.2 mL/rat portion of nano-suspensions once a week for 13 weeks. Body weight was measured once a week. Normal increase of the body weight was not inhibited during the experiment, except for at the highest dose of zinc oxide (\*\* $P < 0.01$ ,  $n = 6$ ).

#### 3. 3. 2 病理組織学的検査成績

観察された主な病理組織所見 (Fig. 5 及び Fig. 6) と共に、病理組織学的検査で観察された病変の分布及びその発生动物数について模式的に Fig. 7 に示す。

シリカ、銀、酸化亜鉛いずれの対照群 (溶媒群及び無処置群を含む) においても、軽度かつ低頻度ながら泡沫様細胞質を呈する肺泡マクロファージの肺胞内集簇巣や、血管周囲にリンパ球や好中球が集簇する血管周囲性炎症細胞集簇が散見された (Fig. 5A)。

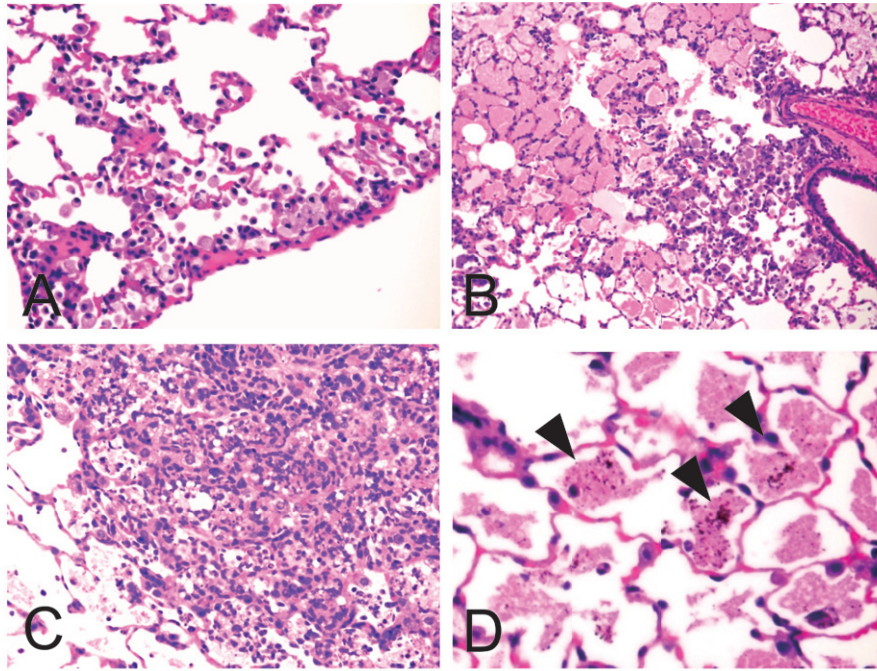
以下各投与群で観察された所見を被験物質ごとに記載する。

シリカ投与群では、泡沫状肺泡マクロファージの局所的集簇あるいは慢性の分布、血管周囲性炎症性細胞集簇が対照群より増悪化しただけでなく (Fig. 5B)、炎症の進展あるいは炎症の持続に伴い観察される肉芽腫性炎症が用量依存性に頻度及び程度ともに増強して認められた。また同変化には一部肺胞上皮/気管支上皮の過形成 (増生) を伴っていた。これらの病変は各葉にほぼ均一に分布しており、0.3  $\text{mg}/\text{kg}$  以上の群で顕著であった (Fig. 7)。また、リンパ装置の所見として、肺の気管支粘膜下のリンパ装置 (BALT) の軽度な小肉芽腫が 0.3  $\text{mg}/\text{kg}$  以上群で観察され、縦隔リンパ節の肉芽腫は全例に認められた。1 例ではあるが、軽度な BALT 内の小

Table 2. The final body weight and lung weight in rats treated with zinc oxide

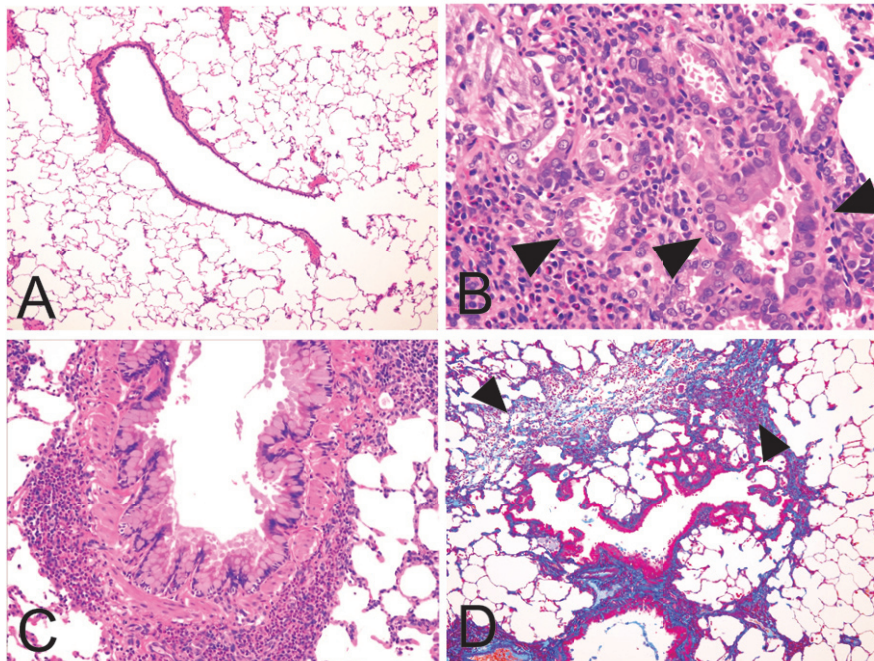
	Control		Zinc Oxide (mg/kg)			
	intact	D.W.	0.0312	0.125	0.5	2
No. of rats examined	5	6	6	6	6	6
Body weight (g)	421.1 $\pm$ 26.4	413.9 $\pm$ 28.4	416.5 $\pm$ 29.0	391.9 $\pm$ 18.0	390.6 $\pm$ 31.3	356.7 $\pm$ 13.9**
Lungs weight (g)	1.34 $\pm$ 0.117	1.45 $\pm$ 0.189	1.49 $\pm$ 0.166	2.14 $\pm$ 0.280**	2.87 $\pm$ 0.392**	3.11 $\pm$ 0.366**
% of body weight	0.32 $\pm$ 0.037	0.35 $\pm$ 0.028	0.36 $\pm$ 0.028	0.54 $\pm$ 0.064	0.73 $\pm$ 0.058*	0.87 $\pm$ 0.106**

Figures indicate the mean value  $\pm$  SD. \*, \*\*: Statistically significant difference from control (D.W.) at 5% or 1%, respectively.



**Fig. 5. Typical histopathological findings observed in the silica (A, B) or silver (C, D) study**

A: The control (distilled water) group. Localized foamy cells in alveoli. x 20. B: 1.5 mg/kg group of silica. Granulomatous inflammation with foamy cells. x 20. C: The 0.5 mg/kg group of silver. Silver treatment also induced granulomatous inflammation with foamy cells; however, the intensity was more serious compared to that in the silica group. x 20. D: The 0.5 mg/kg group of silver. Silver particles were morphologically identified as black particles in the cytoplasm of foamy cells (arrowheads). x 80. A-D, HE staining.



**Fig. 6. Typical histopathological findings observed in the zinc oxide study**

A: The control (distilled water) group. No abnormality was detected in both alveolar and bronchiolar areas. x 10. B: The 2 mg/kg group. Severe granulomatous inflammation with hyperplasia of bronchiolar/alveolar epithelium (arrowheads). x 40. C: Increased mucus secretion in the bronchus was surrounded by inflammatory cells. x 20. D: The 2 mg/kg group. An increase in fibrous tissues in alveolar and/or bronchiolar area, which was found as thickened blue area (arrowheads). x 20. A-C, HE staining; D, Masson trichrome staining.

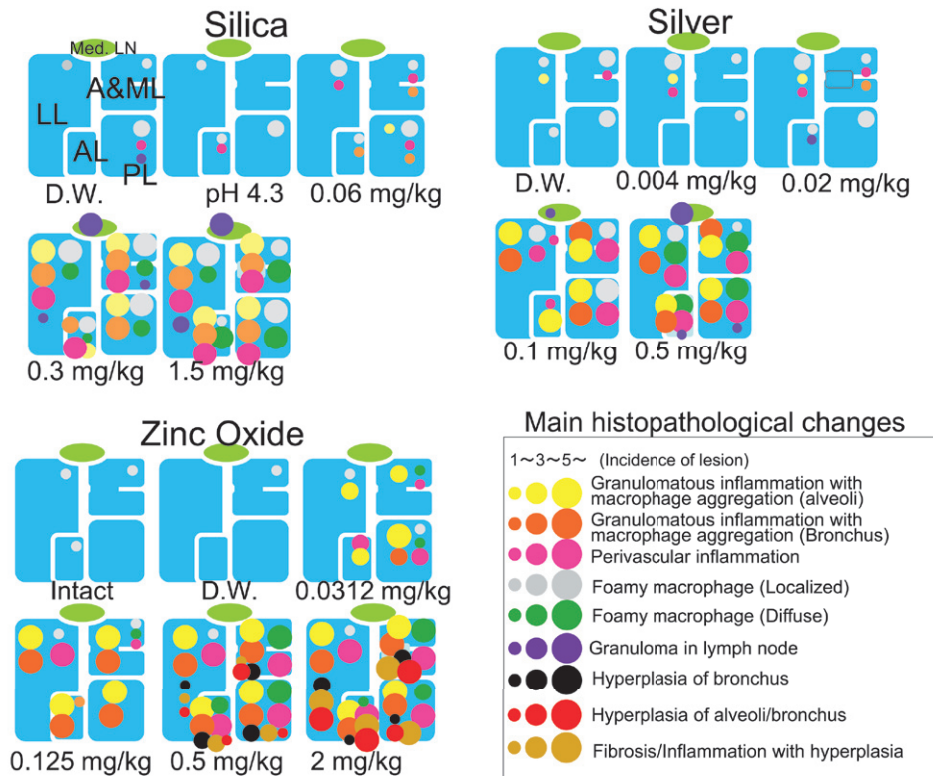


Fig. 7. Distribution of pulmonary lesions induced by silica, silver or zinc oxide nano-suspensions in each lobe

LL, left lobe; A&M RL, anterior and middle right lobes; PL, posterior right lobe; AL, accessory lobe; Med. LN, mediastinal lymph node. D.W. indicates distilled water. One week after the last administration of the 13-week repeated dose test, rats were subjected to the autopsy.

肉芽腫が蒸留水群に認められた。リンパ節ではさらにリンパ球の増加が認められた。

銀投与群では、シリカ群と同様の組織変化が認められ0.1 mg/kg群以上で顕著であった。シリカ群と異なる点として終末細気管支から続く肺胞道周囲において肺胞上皮過形成を伴う肉芽腫性炎が0.1 mg/kg群以上でほぼ全例に認められ、その程度もシリカ投与群より強かった (Fig. 5C)。また泡沫状マクロファージの細胞質内に黒褐色の粒子が0.1 mg/kg群以上で認められた (Fig. 5D)。

酸化亜鉛投与群では最低用量の0.0312 mg/kg群より投与による影響が認められ、シリカ及び銀両投与群で認められた所見が用量依存性に増悪化して観察された。0.5及び2 mg/kg群では病変の重篤化に加え、肉芽腫性炎症部の気管支過形成（気管支上皮化）及び肺胞上皮過形成が明らかで (Fig. 6B)、さらに粘液を容れる気管支上皮過形成も認められた (Fig. 6C)。特記すべき所見として0.5 mg/kgの一部及び2 mg/kg群の全例で肉芽腫性炎症部及び病変部間に線維化（マッソントリクローム染色で確認、Fig. 6D）が用量依存性に認められたことが挙げられる。

電子顕微鏡学的検査では、肺胞内マクロファージ内のライソゾームの一部で電子密度の高い部位が観察された

(Fig. 8, insert)。このマクロファージ全体についてEDS解析を実施したところ、銀Agの局在を示すピークが認められた (Fig. 8)。この値は染色で使用した元素（オスミウムOs、鉛Pb、あるいはウランU）より高い値であった。シリカについては確認できなかった。酸化亜鉛について泡沫状を示すマクロファージは認められたが、EDS解析において亜鉛Znのピークは認められなかった。

肺の病理組織学的検査より、経気道暴露による肺病変のNOAELはシリカが0.06 mg/kg未満、銀が0.004 mg/kg、酸化亜鉛が0.0312 mg/kg未満と推定された (Fig. 7)。

#### 4. 考察

*In vitro*試験では、銀が最も強い細胞毒性を示し、次いで酸化亜鉛、シリカの順となり、各被験物質間で大きな差が認められた。染色体異常試験では、シリカ及び銀は陰性であったが、酸化亜鉛は染色体構造異常を誘発し陽性であった。細胞毒性試験は被験物質の基本的な生物毒性を知るために、染色体異常試験は遺伝毒性の一つの指標として染色体の構造的及び数的異常（倍数体）の誘発を確認するためにそれぞれ実施した。アスベストが倍数体を誘発<sup>10,11)</sup>することはよく知られており、また、これまでに高率に倍数体を誘発するナノ材料としてカーボ

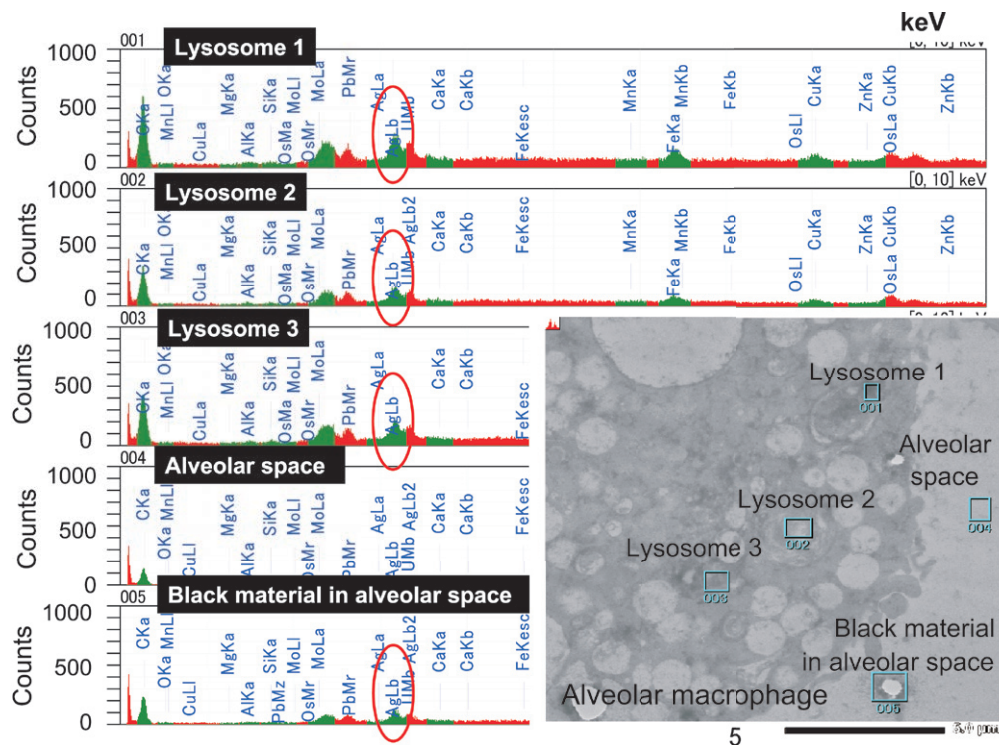


Fig. 8. EDS analysis in a foamy macrophage in the silver group at 0.5 mg/kg

Ag (red circles) was increased in captured areas in lysosomes 1, 2 and 3, and black particle (005). Insert: Electron microscopic image of the foamy macrophage. This finding suggests that phagocytosis of silver particles in lysosome of macrophage.

ンナノチューブ（ただし、長さは $\mu\text{m}$ サイズ）が報告<sup>11)</sup>されており、倍数体誘発はナノ材料の毒性指標の一つとなると考えている。

*In vivo*試験では、体重、臓器相対重量、血液学的検査等複数の指標による結果を得たが、病理組織学的検査のみが、酸化亜鉛投与群で示されているように、最低用量0.0312 mg/kg群から陰性対照群との有意差を示しており、最も感受性が高かった。肺相対重量の増加及び肺肉眼所見とも一致していた。酸化亜鉛投与により有意な体重増加抑制が観察され、用量依存性に重篤化した肺線維化が認められた。肺線維化は肺の炎症が慢性化して起きる場合もあり、呼吸ができずに個体を死に至らしめる場合も考えられ、ヒトでも肺線維化は治癒しにくい病変であり重篤な毒性と考えられる。さらに、3種の被験物質に共通に観察される炎症性反応についても、酸化亜鉛はシリカ及び銀と比較して強い反応が観察されており、気管支粘液細胞の増生が用量依存性に観察されたのは、3種の被験物質のうちでは酸化亜鉛だけであった。肺傷害は、用いた3種の被験物質のうちでは酸化亜鉛が最も強かったが、EDS解析の結果亜鉛のピークは確認されず、酸化亜鉛そのものが投与部位に残って炎症作用を引き起こしているのではない可能性が示唆された。経気道暴露した酸化亜鉛は投与部位に長期間とどまることはなく投与後1週間以内に肺から消失している可能性が考えられ

た。ナノ材料の毒性機構解明のためには、材料の体内動態に関する研究が必要であると考えられる。

気管内反復投与試験では、ナノ材料という異物を肺に直接投与しているため生体反応としてマクロファージの遊走化という急性の炎症反応が誘発されることは容易に推察される。それに加えて材料のサイズ、化学組成により、それぞれの特徴的な病変が誘発されるのではないかと推察される。シリカ及び銀で観察された縦隔リンパ節の小肉芽腫、酸化亜鉛で観察された肺線維化がそれである。しかし、酸化亜鉛投与による肺以外の臓器への影響は、光学顕微鏡レベルでは病理組織学的には認められず、全身へ移行し傷害を引き起こしている可能性は低いと考えられた。

IARC（国際がん研究機関）の発がん性分類は、発がん性のリスクではなくヒトでの発がん性のハザードを示すものであるが、アモルファスシリカはグループ3（ヒトに対する発がん性について分類できない）に分類されている<sup>12)</sup>。本研究で用いているシリカもアモルファスであるが、IARCが調査した当時の試験では、ナノサイズを想定していなかったと考えられる。14週間という短期試験であることから、本研究で発がん性の予測はできないが、ナノというサイズの被験物質が誘発した肺での炎症が将来発がんに結びつくものか否かを識別できる指標があればと考えている。

本研究では、3種の被験物質のナノ分散液の試験を実施したが、手技の安定性、また、それぞれに特徴的な結果を得ることができたことから、本研究で使用した*in vitro*及び*in vivo*毒性試験法はナノ材料の安全性評価のためのスクリーニング試験法として有用ではないかと考えている。まずは、基本的な手法、細胞を標準化した方法で各種ナノ材料の毒性スクリーニングを開始し、比較可能なデータを蓄積することがナノ材料安全性評価につながると考えている。

近年、OECD、ISO/TC 229などの国際機関及び各国規制当局がナノ材料及び試験法の標準化を始めてはいるが、試験法が定まらず、各者各様の方法で実施しているため、データの比較ができない状況が続いている。また、試験液（ナノ分散液）の分散状態を示す指標（例：粒子径分布）の提示も重要である。ナノ材料は形状について、針状、粒状、ロッド状などがあり、その他に様々な特性（結晶型、純度、サイズ）を有していることから、材料工学の専門家の参加のもとに、ナノ材料の物理化学的特性及びその分散液の粒子径分布の情報を付した標準材料の供給があれば、ナノ材料の安全性評価が飛躍的に進むことが期待される。理想的にはアスベスト供給におけるUICC（International Union Against Cancer、国際対がん連合）のような機関の存在がナノ材料についても望まれる。

また、実際の家庭用品について安全性を評価するためには、ハザード評価と暴露評価を元にしたリスク評価が必要であり、今回の試験ではハザード評価に資する情報を得ることができた。今後、実際の製品について、スプレーの対象製品への付着率や噴霧粒子径サイズなどを考慮した暴露評価が実施され、最終的に市販の家庭用品中のナノ粒子に対するリスク評価が実施されることが望ましい。

## 5. 結論

市販の家庭用品にナノサイズで使用されているシリカ、銀及び酸化亜鉛について、*in vitro*及び*in vivo*毒性学的試験を実施した。その結果、酸化亜鉛のみが*in vitro*染

色体異常試験で陽性結果を示し、ラット13週間気管内反復投与試験では、最高用量で平均体重の増加抑制、病理組織学的検査では肺の線維化が観察された。経気道暴露による肺病変のNOAELは、シリカが0.06 mg/kg未満、銀が0.004 mg/kg、酸化亜鉛が0.0312 mg/kg未満であった。本研究で使用した3種の試験法は、従来から化学物質等の安全性評価で使用されてきた安定した試験法であるが、今回の3種の被験物質のナノ分散液について、それぞれ特徴的な結果を示した。より詳細な検討が必要であるが、ナノ材料の安全性評価の第一次スクリーニング試験法候補として、有望であると考えられる。

## 引用文献

- 1) Hirano S, Higo S, Tsukamoto N, Kobayashi E, Suzuki KT: *Arch Toxicol*. 1989;63:336-42.
- 2) Chen Y, Chen J, Dong J, Jin Y: *Toxicol Ind Health*. 2004;20:21-7.
- 3) Warheit DB, Webb TR, Colvin VL, Reed KL, Sayes CM: *Toxicol Sci*. 2007;95:270-80.
- 4) Sayes CM, Reed KL, Warheit DB: *Toxicol Sci*. 2007;97:163-80.
- 5) Miyawaki J, Yudasaka M, Azami T, Kubo Y, Iijima S: *ACS Nano*. 2008;2:213-26.
- 6) Aiso S, Yamazaki K, Umeda Y, Asakura M, Kasai T, Takaya M, Toya T, Koda S, Nagano K, Arito H, Fukushima S: *Ind Health*. 2010;48:783-95.
- 7) Koyama H, Utakoji T, Ono T: *Gann*. 1970;61:161-167.
- 8) Ishidate M Jr, Odashima S: *Mutat Res*. 1977;48:337-54.
- 9) Matsuoka A, Sofuni T, Miyata N, Ishidate M Jr: *Mutat Res*. 1991;259:103-10.
- 10) Koshi K, Kohyama N, Myojo T, Fukuda K: *Ind Health*. 1991;29:37-56.
- 11) Asakura M, Sasaki T, Sugiyama T, Takaya M, Koda S, Nagano K, Arito H, Fukushima S: *J Occup Health*. 2010;52:155-66.
- 12) IARC Monographs: vol.68, 1997

## グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査

清水久美子, 秋山卓美<sup>#</sup>, 伊佐間和郎<sup>\*</sup>, 河上強志, 五十嵐良明

### Evaluation of skin sensitization potential of guanidine rubber accelerators and their analysis in household rubber products

Kumiko Shimizu, Takumi Akiyama<sup>#</sup>, Tsuyoshi Kawakami,  
Kazuo Isama, Yoshiaki Ikarashi

1,3-Diphenylguanidine (DPG) had been used as a rubber accelerator. DPG is not classified as a sensitizer by the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), because of the negative result in the past guinea pig maximization test (GPMT). However, in Europe, the patients who showed positive skin response to DPG by a patch testing have increased in the past few years. Further, the case of contact dermatitis to rubber gloves containing 1,2,3-triphenylguanidine (TPG) has recently been reported. We suspected that some guanidine rubber accelerators may have a skin sensitization potential. In this study, we investigated the skin sensitization potentials of DPG, TPG, 1,3-di-*o*-tolylguanidine (DOTG), and 1-*o*-tolylbiguanide (OTBG) using the human cell line activation test (h-CLAT). DPG and TPG were evaluated as positive, and DOTG and OTBG were negative in the h-CLAT. We tried to develop an analytical method of these guanidine rubber accelerators by liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) and to measure these amounts in 30 household rubber products. Phenyl-Hexyl column showed better performance in terms of the peak shapes of guanidine accelerators than C18 column. LOQ of MS for DPG, TPG, DOTG and OTBG were 0.794, 2.28, 0.137, and 0.207 ng/mL, respectively. Guanidine rubber accelerators were extracted using acetone/chloroform (1:1) from household rubber products and analyzed separately using Phenyl-Hexyl column and 0.05% TFA in acetonitrile-water mixture as a mobile phase. However, the recovery rates except DPG exhibited large variations, so we took the values obtained from this analysis as reference. Four guanidine rubber accelerators were detected from nine household rubber products. DPG was detected in three rubber flip-flops, two gloves, and a toy. Especially, the flip-flop straps contained larger DPG than that of all of the rubber household products that were tested. TPG was also detected in the straps of three flip-flops, and DOTG was detected in the nipple attached to a baby bottle. Trace amounts of OTBG were detected in two gloves.

Keywords: guanidine rubber accelerator, household rubber product, allergic contact dermatitis, h-CLAT, LC/MS

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

Takumi Akiyama; Division of Environmental Chemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel/Fax: +81-3-3704-9304; E-mail: akiyamat@nihs.go.jp

<sup>\*</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo Heisei University

#### 1. 緒言

加硫促進剤は、ゴム製品の製造過程で使用される添加物である。加硫促進剤として使用される化合物には、チウラム系、ジチオカーバメート系、チアゾール系、チオウレア系、及びグアニジン系等、多くの種類があり、通常は1種の化合物だけではなく、各々、反応速度や相性等から複数の化合物を組み合わせて使用されている。しかし、加硫促進剤の中には接触皮膚炎の原因物質となるものが存在することが知られている<sup>1-6)</sup>。主要な加硫促進

剤であるチウラム系加硫促進剤のテトラメチルチウラムジスルフィド、チアゾール系加硫促進剤の2-メルカプトベンゾチアゾール、及びチオウレア系加硫促進剤のエチレンチオウレアは、皮膚感作性試験において陽性を示し、化学品の分類および表示に関する世界調和システム (The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals : GHS) では皮膚感作性物質として分類され<sup>4)</sup>、これらは日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会が日本人での陽性率が高いアレルゲンとして指定している "Japanese standard allergens 2008" にも収載されている<sup>5)</sup>。一方、グアニジン系加硫促進剤として代表的な1,3-ジフェニルグアニジン (DPG) は Guinea pig maximization 試験 (GPMT) で陰性であること等から<sup>7)</sup>、GHSでは皮膚感作性について "Classification not possible" とされている<sup>4,7)</sup>。また、汎用されている他のグアニジン系加硫促進剤である1,2,3-トリフェニルグアニジン (TPG)、1,3-ジ-*o*-トリルグアニジン (DOTG) 及び1-*o*-トリルビグアニド (OTBG) の感作性については、GHSの感作性の分類はなされていない<sup>4,8)</sup>。

近年、ゴム製品に接触皮膚炎を起こした患者において DPG に対するパッチテスト陽性症例の数が増加していることから<sup>6,9-12)</sup>、DPGは欧州において新しい感作性物質として認知されつつある<sup>13,14)</sup>。また、2014年には、TPGの感作性について報告されている<sup>9)</sup>。さらに、日本においても、家庭用品等に係る健康被害病院モニター報告制度で収集された接触皮膚炎事例で DPG のパッチテスト陽性例が報告されている<sup>15)</sup>。一方、DOTG及びOTBGについては被害事例に関する報告はない。

そこで、本研究では DPG を含む4種のグアニジン系加硫促進剤の感作性について *in vitro* 皮膚感作性試験法である human cell line activation test (h-CLAT) を用いて評価した。h-CLATはヒト単球由来細胞株 THP-1細胞を用いた簡便な動物実験代替法としてガイドライン化が進められ、当部でも経験を有することから評価法として選択した。さらに、我が国における家庭用ゴム製品中のグアニジン系加硫促進剤の使用実態を知るため、分析法を検討し、本法を用いて手袋、ゴム草履等の実態調査を行った。

## 2. 試料及び方法

### 2.1 試薬

4種の被検物質である DPG、TPG、OTBG及びDOTGは東京化成工業株式会社より購入した。これら4種のグアニジン系加硫促進剤の化学構造式を Fig. 1 に示す。

h-CLATの陽性対象物質である2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB)、被検物質の溶媒として用いた生化学用ジメチルスルホキシド (DMSO)、HPLCの移動相と

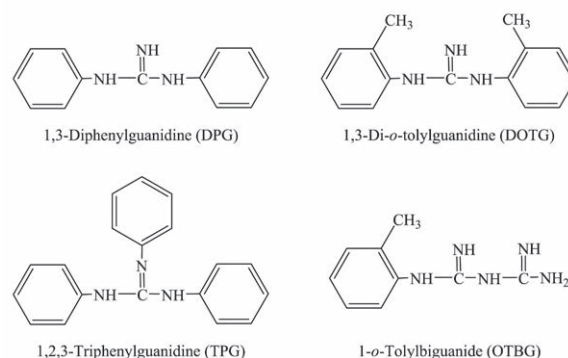


Figure 1. Chemical formulae of four kinds of guanidine rubber accelerator

して用いたトリフルオロ酢酸 (TFA) 及びHPLC用アセトニトリル、抽出溶媒として使用したアセトン、クロロホルム、及びエタノールは、和光純薬工業株式会社より購入した。

Human leukemia cell line (THP-1細胞)はAmerican type culture collection (ATCC)より購入した。RPMI 1640培地、ウシ胎児血清、2-メルカプトエタノール及び抗菌剤は Thermo Fisher Scientific社 Gibco製品より購入した。FITC標識モノクローナル抗体であるマウス抗ヒトCD54抗体及びマウスIgG抗体はDakoより購入し、FITC標識マウス抗ヒトCD86抗体はBD Biosciences社より購入した。水は超純水製造装置 Simpli Lab Elix 3 UV (Merck Millipore社)により作製した超純水を用いた。

### 2.2 試料

2015年の7月～9月に東京都内の小売店またはインターネットショップで購入したゴム製品30種を試料とした。手袋G8は、ずれ落ち防止の為のゴムバンドが挿入されており、手袋本体 (G8 glove) とゴムバンド (G8 band) を別の試料とした。また、ゴム草履 (flip-flops) も、鼻緒 (strap) 部分と台の部分 (sole) を別の試料とした。各試料のゴムの種類及び生産国を Table 1 に示した。

### 2.3 細胞毒性試験

THP-1細胞はRPMI1640培地に10%ウシ胎児血清、0.05 mM 2-メルカプトエタノール及び抗菌剤を添加した培地で培養した。試験に際して、 $1.6 \times 10^5$  cells/well となるように96穴プレートに50  $\mu$ L/wellで播種して約24時間培養した。各被検物質はDMSOで溶解し、DPG、TPG及びDOTGは500 mg/mL、OTBGは250 mg/mLの溶液を調製した。これらの溶液を培地で6～2000  $\mu$ g/mLに希釈し、被検物質溶液とした。細胞が播種されている各wellに種々の濃度の被検物質溶液50  $\mu$ L (最終暴露濃

**Table 1. List of the 30 kinds of household rubber product that were tested**

Sample	Types of rubber	Country of manufacture
Gloves	G1	Sri Lanka
	G2	Natural rubber Vietnam
	G3	Malaysia
	G4	China
	G5	Synthetic rubber Taiwan
	G6	Nitrile rubber Indonesia
	G7	Malaysia
	G8	glove band Thailand
	G9	Sri Lanka
	G10	Natural rubber China
	G11	China
	G12	China
	G13	Malaysia
	G14	Thailand
Finger coats	FC1	Natural rubber China
	FC2	China
	FC3	Silicone rubber Malaysia
Rubber bands	RB1	Natural rubber Thailand
	RB2	Synthetic rubber China
Flip-flops	FF1	sole strap Thailand
	FF2	sole strap Thailand
	FF3	sole strap Natural rubber Thailand
	FF4	sole strap Brazil
	FF5	sole strap Brazil
Toys	TOY1	Natural rubber China
	TOY2	Synthetic rubber Thailand
	TOY3	Unknown China
Others	Insole	Styrene butadiene rubber Japan
	Elastic cords	Natural rubber Japan
	Nipple	Isoprene rubber Japan

度：3～1000 µg/mL)を加え、CO<sub>2</sub>インキュベータ内でさらに約24時間培養し、細胞内ATP量をCellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay kit (Promega社)を用いて測定した。溶媒コントロール暴露細胞の生存率を100%として各被検物質暴露による相対的な細胞生存率から、細胞への毒性を評価した。

細胞毒性試験の統計解析はStudent's t-testによって行われた。各生存率とコントロールの生存率(溶媒を曝露された細胞の生存率)を比較して解析を行った。また、 $p < 0.05$ を統計的な有意差とみなした。

#### 2.4 感作性試験

h-CLATによる皮膚感作性試験は、Ashikagaら及びSakaguchiらの方法<sup>16,17)</sup>に準じて行った。各物質について細胞毒性試験で得た細胞生存率75%を示す濃度(75% cell viability: CV75)から、公比1.2で高濃度側に1点、低濃度側に6点、計8点の濃度が最終暴露濃度となるようにTHP-1細胞に添加した。被検物質暴露と同濃度(0.2%)のDMSOを曝露した細胞(溶媒処理細胞)を

ネガティブコントロールとし、最終暴露濃度3.5～4.0 µg/mLのDNCB暴露細胞をポジティブコントロールとした。すべての試験でポジティブコントロールが陽性と判定されることを確認した。24時間後細胞を回収し、抗CD86及び抗CD54抗体と反応させ、FACS (BD FACSArray, 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社製)にてMFIを測定し、下式によりCD86及びCD54の細胞表面発現率(RFI%)を求めた。CD86 RFI%  $\geq 150\%$ 又はCD54  $\geq 200\%$ をいずれかの濃度一点でも満たせば、陽性と判定した。3回の試験のうち2回以上同じ判定がなされたとき、又は、最初の2回の試験で同じ判定がなされた時には3回目の試験を行わず、判定を確定した。

$$RFI (\%) = (A - B) / (C - D) \times 100$$

A: 被検物質暴露細胞のMFI, B: 被検物質暴露細胞のisotype controlのMFI, C: 溶媒処理細胞のMFI, D: 溶媒処理細胞のisotype controlのMFI, MFI = Geometric mean fluorescence intensity

#### 2.5 ゴム製品中のゲアニジン系加硫促進剤の分析

ゴム製品0.50gを正確に量り、0.5～5mm幅に細切して、アセトン/クロロホルム混液(1:1)5mLを加えた。10分間超音波処理を行い、抽出液をナス型フラスコに移した。この抽出操作を3回繰り返した。抽出液をエバポレーターで乾固し、エタノールを加えて5mLに定容した。これを水で10倍希釈し、PTFEメンブレンフィルター(孔径:0.2 µm, Merck Millipore社)で不溶物を除去した後、液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)にて分析した。

分析装置はACQUITY UPLC H-Class/TQD system (Waters社)を用いた。カラムはACQUITY UPLC CSH Phenyl-Hexyl(内径:2.1mm, 長さ:100mm, 粒子径:1.7 µm, Waters社製)、カラム温度は40℃とした。移動相Aは0.05% TFA/水、溶媒Bは0.05% TFA/アセトニトリル溶液を用い、流量は0.12 mL/min、注入量は5 µLとした。グラジエント条件は、0-2min, 10% B液; 2-14 min, 10-90% B液; 14-19min, 90% B液; 19-19.1 min, 90-10% B液; 19.1-29 min, 10% B液とした。Photodiode array (PDA)による検出波長は210-400nmとし、定量波長は260nmを用いた。MS分析でのイオン化はESI positiveで行い、キャピラリー電圧は3kV、コーン電圧は30V、ソース温度は120℃、脱溶媒温度は350℃、脱溶媒ガス流量は650L/hr、コーンガス流量は50L/hrとし、SIRモードで $m/z$  212 (DPG), 288 (TPG), 240 (DOTG), 192 (OTBG)のイオンをモニターした。

検出下限(LOD)と定量下限(LOQ)は、低濃度の標



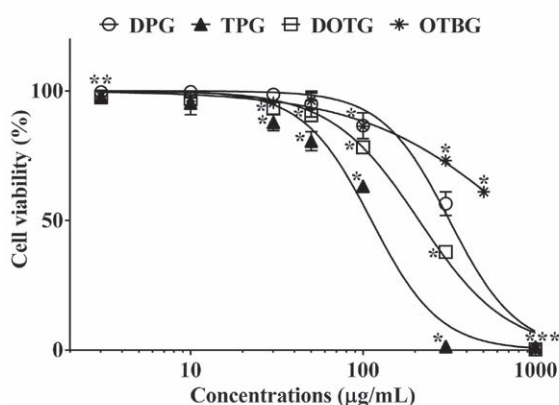


Figure 2. Cytotoxicities of THP-1 cells exposed to guanidine rubber accelerators

THP-1 was exposed to guanidine rubber accelerators at concentrations of 3-1000 µg/mL for 24 hours. Cytotoxicities were evaluated by the cell viability assay and the values are represented as % viability. Each data indicates the mean ± standard deviation of three separate experiments. \*Significantly different from the control:  $p < 0.05$ .

準物質をPDAとMSの検出器で各々20回測定して求めた。JIS K0124: 2002及びJIS K0136: 2004に従い、測定値の標準偏差 ( $\sigma$ ) の3.29倍に相当する値を求め、絶対検量線法によりその濃度を換算して、これをLODとした<sup>18)</sup>。同様に、 $\sigma$  の10倍に相当する濃度をLOQとした。

添加回収試験には、予備試験にてグアニジン系加硫促進剤を含有していないことが判明したゴム手袋2種 (G4及びG7) を用いた。これらの試料0.5gに25 µgの被検物質を添加して抽出、測定後、回収率を求めた。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 感作性試験

皮膚感作性試験h-CLATに先立ち、被検物質の細胞毒性試験を行った。その結果をFig. 2に示す。TPGが最も強い細胞毒性を示した。CV75については、DPGは177 µg/mL、TPGは74.0 µg/mL、DOTGは114 µg/mL、OTBGは263 µg/mLとなった。これらのCV75を元に、h-CLATに用いる8点の最終暴露濃度を決定した。

h-CLATの結果をTable 2に示した。CD86発現率はいずれのグアニジン系加硫促進剤でも150%以下であった。一方、CD54発現率では、DPG及びTPGは複数の濃度で200%を超過した。そのため、これらの感作性は陽性と判定した。DOTG及びOTBGはいずれの濃度においても発現率が200%以下であり陰性と判定した。

DPGと類似構造を持つ農薬や殺虫剤 (トデシルグアニジン等) を使用する農業従事者が接触性皮膚炎を起こし、DPGによるパッチテストで陽性反応となる症例が多い<sup>19,20)</sup>。また、グアニジン系加硫促進剤の原料でも

Table 2. Results from the human cell line activation tests (h-CLAT)

Name	Concentrations (µg/mL)	RFI(%)				Decisions
		CD86		CD54		
		1st test	2nd test	1st test	2nd test	
DPG	59.3	105	114	109	109	Positive
	71.1	112	113	126	112	
	85.4	116	100	180	135	
	102	101	93.2	152	128	
	123	120	110	177	154	
	148	117	110	199	190	
	177	130	115	<b>241</b>	<b>227</b>	
212	104	91.2	<b>258</b>	<b>245</b>		
TPG	24.8	96.3	95.4	168	131	Positive
	29.7	112	94.3	172	157	
	35.7	86.3	91.0	183	186	
	42.8	81.2	71.6	<b>208</b>	184	
	51.4	90.5	84.5	<b>219</b>	<b>238</b>	
	61.7	87.4	79.1	<b>246</b>	<b>275</b>	
	74.0	64.7	61.6	<b>266</b>	<b>294</b>	
	88.8	52.2	57.1	<b>282</b>	<b>312</b>	
DOTG	38.2	83.9	90.3	84.4	82.2	Negative
	45.8	74.4	89.1	84.4	79.6	
	55.0	93.4	72.1	88.4	95.4	
	66.0	69.6	80.7	90.5	88.5	
	79.2	71.3	76.0	75.9	96.0	
	95.0	74.9	73.6	122	110	
	114	78.6	86.0	152	138	
137	55.7	77.9	158	145		
OTBG	88.1	86.0	86.7	79.6	85.3	Negative
	106	94.4	82.5	78.0	85.5	
	127	75.6	85.3	80.4	95.6	
	152	65.6	85.8	75.7	81.2	
	183	73.3	89.9	85.7	86.1	
	219	70.1	87.1	84.4	87.5	
	263	62.1	79.5	85.2	83.2	
316	77.4	81.0	101	95.2		

The relative fluorescence intensity (RFI) values represent data obtained from two independent experiments. Positive criteria include the RFI values for CD86 ( $\geq 150\%$ ) and/or CD54 ( $\geq 200\%$ ), and RFI values that satisfy the positive criteria are expressed in bold text. Test substances were considered to be sensitizers when two of three independent experiments met the positive criteria.

あるアニリンは皮膚炎を引き起こすことが知られている<sup>21,22)</sup>。以上のことから、DPG及びTPGの反応は、グアニジン骨格及び原料由来のアニリン骨格のいずれか若しくは両者の構造に起因していると考えられた。一方、Garcia-Perezらの報告<sup>19)</sup>では、農業従事者に比べて一般人のDPGへの感作率は低い、医療従事者の感作が増加している。これは、ゴム手袋やゴムを含む履物は農業従事者だけでなく、医療従事者、一般家庭での家事や園芸作業でも頻用されているためと考えられる。今後は、グアニジン系ゴム加硫促進剤としてジフェニルグアニジンフタレート及びジカテコールポレート・ジ- $\alpha$ -トリルグアニジン塩が使用されており、これらの感作性についても明らかにしていく必要がある。

近年ではパッチテストで陽性となる患者が増加傾向を示すことからDPGには感作性があると判断される状況

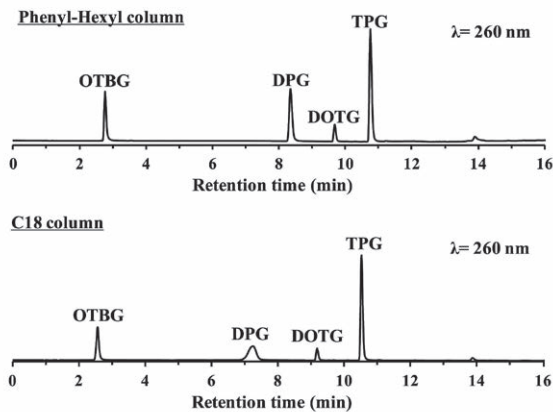


Figure 3. Chromatogram of four guanidine rubber accelerators

Each guanidine rubber accelerators were measured and detected at 260 nm using LC/MS with Phenyl-Hexyl column (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and C18 column (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Table 3. Limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) of guanidine rubber accelerators

Guanidine rubber accelerators	LOD (ng/mL)		LOQ (ng/mL)	
	PDA	MS	PDA	MS
DPG	9.52	0.261	28.9	0.794
TPG	3.05	0.751	9.27	2.28
DOTG	21.9	0.0450	66.4	0.137
OTBG	16.7	0.0681	50.6	0.207

にある<sup>13,14)</sup>。しかしDPGはGPMTでは感作性陰性と判定されており<sup>4,7)</sup>、この違いは種差による影響の可能性が考えられる。また、GPMTは試験物質の感作誘導と惹起時の適用濃度によっては判定が変化する可能性も考えられ、他の皮膚感作性試験も検討する必要があると考えられる。

### 3.2 分析条件の検討

Dahlinらの報告<sup>9)</sup>で用いられた方法を参考に、4種のグアニジン系加硫促進剤を分析するためのカラム及び移動相について検討した。DahlinらはODSカラムを用いているが、ODSカラムであるACQUITY UPLC CSH C18カラムではDPGのピーク形状が悪かった。しかし、ODS基の代わりにPhenyl-Hexyl基を結合させたACQUITY UPLC CSH Phenyl-Hexylカラムを用いるとピーク形状が改善した。そのため、分析にはPhenyl-Hexylカラムを用いた。グアニジン系加硫促進剤をPhenyl-HexylカラムとODSカラムを用いて260 nmで分析したときのクロマトグラムをFig. 3に示した。PDAとMSそれぞれの検出器での検出下限 (LOD) 及び定量下限 (LOQ) を求めてこれらの値を比較したところ、

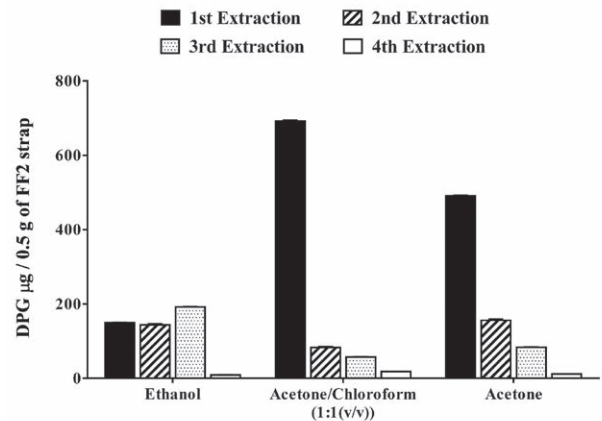


Figure 4. Effect of solvents on the extraction efficiency of guanidine rubber accelerators from household products

DPG was extracted from 0.5 g of FF2 strap using three solvents: ethanol, acetone/chloroform (1:1), and acetone. These extractions were repeated four times.

MSはPDAより検出感度が高く、LOQはPDAの約1/4～1/500であり、より低い濃度まで分析が可能であった (Table 3)。ただし、PDAでの定量は、MSと比べて検量線の直線性が優れており、その濃度範囲も広いことから、MSにおいてPDAのLOQ以上の濃度が得られた場合は、PDAにて定量した。また、グアニジン系加硫促進剤のピークにゴム製品由来の妨害ピークが認められた試料やPDAでLOQ以下の被検物質は、MSでの定量を試みた。

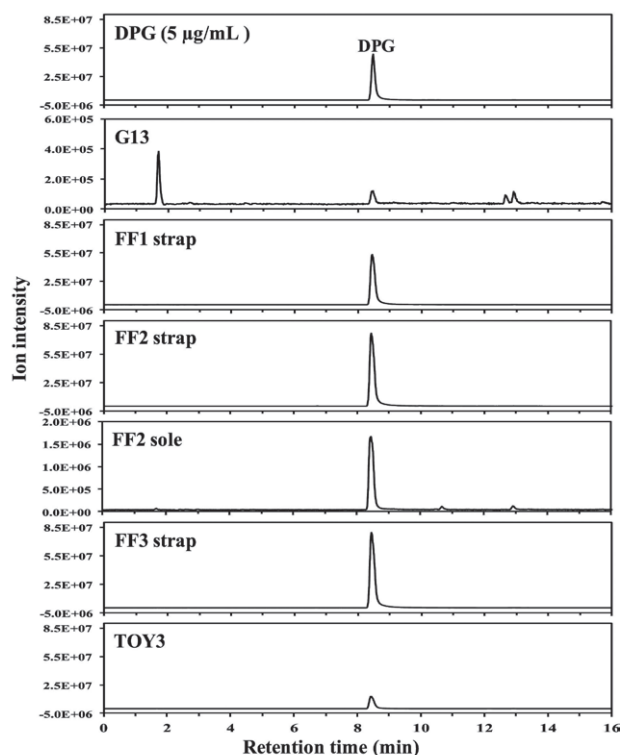
### 3.3 ゴム製品からの抽出法

予備実験でDPGが含有されていることを確認したゴム草履の鼻緒部分 (FF2 strap) を用いてゴム製品からのグアニジン系加硫促進剤の抽出法を検討した。溶媒はゴム製品への浸透力を考慮し、Dahlinら<sup>9)</sup>が用いたエタノール、鹿庭ら<sup>23,25)</sup>がゴム添加剤の分析に用いているアセトン/クロロホルム混液 (1:1)、及びアセトンを検討した。4回繰り返し抽出したときに得られる総DPG量は、エタノール495  $\mu\text{g}$ 、アセトン/クロロホルム混液851  $\mu\text{g}$ 、アセトン743  $\mu\text{g}$ であり、アセトン/クロロホルム混液による総抽出量が最も多かった (Fig. 4)。アセトン/クロロホルム混液を用いた場合、3回抽出時の抽出総量と4回抽出時の総抽出量はほぼ変わらないため、3回の繰り返し抽出で充分であると考えた。エタノール、アセトンに比べ、アセトン/クロロホルム混液はゴム製品内部への浸透力が高く、その結果、より多くのDPGを抽出することができたと考えられる。以下、アセトン/クロロホルム混液を抽出溶媒に用いてゴム製品を3回抽出したものを試料溶液として分析することとした。

**Table 4. Recovery tests of guanidine rubber accelerators from the spiked rubber gloves**

Guanidine rubber accelerators	Recovery (%)	
	G4	G7
DPG	82.9 ± 1.5	75.3 ± 5.5
TPG	85.4 ± 5.2	32.3 ± 5.8
DOTG	85.9 ± 1.5	62.1 ± 6.3
OTBG	48.3 ± 1.3	68.0 ± 1.6

25 µg of guanidine rubber accelerators were added to 0.5g of the cut pieces of G4 or G7 gloves and extracted. Values are expressed in the form of mean ± standard deviation, and were obtained from three independent sets of experiments.

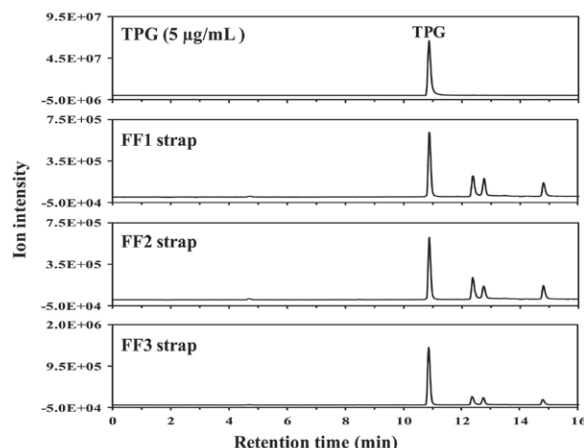


**Figure 5. Detection of 1,3-diphenylguanidine (DPG) in household rubber products**

DPG was measured at  $m/z$  212 using LC/MS. Note that separate measurements were taken for the straps and soles of flip-flops.

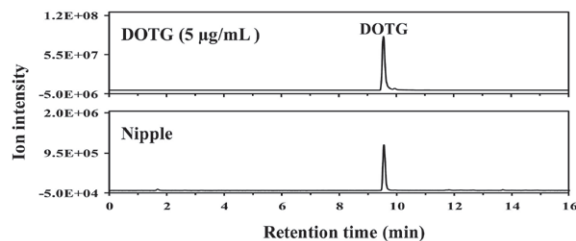
### 3.4 添加回収試験

試料G4及びG7に4種のグアニジン系加硫促進剤の標準溶液を添加し、添加回収試験を実施した。各被検物質のPDAのピーク面積を用いて定量し、回収率を求めた。DPGは両試料で75%以上の回収率が得られたが、TPG、DOTG及びOTBGの回収率は試料により大きな差が認められた (Table 4)。この原因として、抽出液を乾固した際に、グアニジン系加硫促進剤が試料由来の不溶物質に吸着されたためと考えられた。試験溶液の調製法をさらに検討・改善することで良好な回収率を得ることは



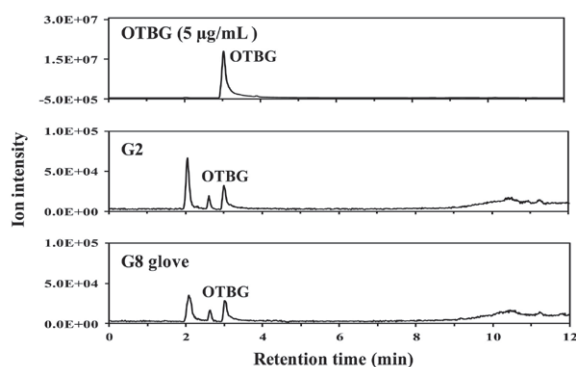
**Figure 6. Detection of 1,2,3-triphenylguanidine (TPG) from the straps of rubber flip-flops**

TPG was measured at  $m/z$  288 using LC/MS. Note that separate measurements were taken for the straps and soles of flip-flops.



**Figure 7. Detection of 1,3-di-o-tolylguanidine (DOTG) in household rubber products**

DOTG was measured at  $m/z$  240 using LC/MS.



**Figure 8. Detection of 1-o-tolylbiguanide (OTBG) in household rubber products**

DOTG was measured at  $m/z$  192 using LC/MS.

可能であると思われるが、本条件でも最低3割以上の添加回収率があることと、LOD及びLOQが低濃度であることから、被検物質の含有の有無を確認するためのスクリーニング法として有用であると考え、本法を用いて市販製品の分析を行った。また、得られた定量値は参考値として取り扱うこととした。

### 3.5 市販ゴム製品中の分析

市販ゴム製品30種(36試料)のグアニジン系加硫促進剤を分析した。4種の加硫促進剤が検出された製品のマスプロトグラムをFig. 5-8に示した。1試料について別々に3回抽出操作を行い、それぞれの抽出液をLC/MSにて分析した。参考値をまとめた結果をTable 5に示した。

手袋2製品(G1, G13), ゴム草履の鼻緒3製品(FF1 strap, FF2 strap, FF3 strap)及びゴム草履の台(FF2 sole), 玩具(TOY3)の7試料からDPGが検出された。参考値ではあるが, FF1~3のstrap部分及びTOY 3中のDPGはPDAで定量を行った。FF2 soleのDPGについてはPDAではピーク裾に妨害ピークがあったため, その他の被検物質が検出されたピークはPDAではLOQ以下であったため, MSで定量した。最も多くのDPGが含まれていた試料はFF2 strapであり, その量は $1.6 \times 10^3 \mu\text{g/g}$ であった。TPGは, DPGが比較的多く残留していると推定されるFF1 strap, FF2 strap及びFF3 strapの3試料から検出された。これらは色・サイズ違いの同じ製品であり, いずれも製造時にDPGが添加されたものと推測した。一方, TPGは極微量であったことから, DPGの不純物と考えられた。

DOTGは乳児用ニップルから検出された。OTBGは手袋2試料から検出されたが, 今回の方法ではその検出濃度が低く, LOQ未満であった。また, 今回の分析でDPGが検出された玩具は, 直径約60mmのゴムボールであり, 子どもの皮膚に長時間肌に触れ, 接触皮膚炎を生じる可能性は低いと考えられる。一方, 今回の分析では, DPGがゴム草履の鼻緒及び6歳以上の子どもを対象とする玩具に比較的多く残留した。Lazarovは, サンダル中の4-tert-ブチルフェノール(PTBP)ーホルムアルデヒド樹脂による皮膚炎について, 湿った気候による発汗や裸足でのサンダル着用が感作率増加を引き起こしている可能性を指摘している<sup>26)</sup>。日本も温暖湿潤気候であり, ゴム草履を使用する場合に同様の症状が引き起こされるかもしれない。また, ヒトの足の甲部は, 履物に残留した感作物質による皮膚炎を起こす部位としてよく知られており<sup>27)</sup>, 注意が必要である。

## 4. まとめ

本研究では, グアニジン系加硫促進剤のh-CLATによる感作性試験を行った。その結果, DPG及びTPGは感作性陽性と判定された。さらに, LC/MSによる製品中のグアニジン系加硫促進剤の分析法を検討した。本法では, 一部の回収率が不十分であったが, 検出下限値は0.0450~0.751ng/mLであり, 接触皮膚炎の症例における使用製品中レベルの検出が十分に可能であることが

**Table 5. Concentrations of guanidine rubber accelerators in household rubber products**

Sample	Guanidine rubber accelerators contained in household rubber products ( $\mu\text{g/g}$ )				
	DPG	TPG	DOTG	OTBG	
G1	Trace <sup>a)</sup>	ND	ND	ND	
G2	ND	ND	ND	Trace <sup>a)</sup>	
G3	ND	ND	ND	ND	
G4	ND	ND	ND	ND	
G5	ND	ND	ND	ND	
G6	ND	ND	ND	ND	
G7	ND	ND	ND	ND	
G8	glove	ND	ND	Trace <sup>a)</sup>	
	band	ND	ND	ND	
G9	ND	ND	ND	ND	
G10	ND	ND	ND	ND	
G11	ND	ND	ND	ND	
G12	ND	ND	ND	ND	
G13	0.14, 0.14, 0.14 <sup>a)</sup>	ND	ND	ND	
	ND	ND	ND	ND	
G14	ND	ND	ND	ND	
Finger coats	FC1	ND	ND	ND	
	FC2	ND	ND	ND	
	FC3	ND	ND	ND	
Rubber bands	RB1	ND	ND	ND	
	RB2	ND	ND	ND	
FF1	sole	ND	ND	ND	
	strap	$8.6 \times 10^2$ , $8.5 \times 10^2$ , $8.3 \times 10^2$ <sup>b)</sup>	0.28, 0.26, 0.25 <sup>a)</sup>	ND	ND
		sole	5.0, 6.5, 3.7 <sup>a)</sup>	ND	ND
FF2	sole	5.0, 6.5, 3.7 <sup>a)</sup>	ND	ND	ND
	strap	$1.7 \times 10^3$ , $1.5 \times 10^3$ , $1.5 \times 10^3$ <sup>b)</sup>	0.32, 0.40, 0.50 <sup>a)</sup>	ND	ND
		sole	ND	ND	ND
FF3	strap	$1.5 \times 10^3$ , $1.5 \times 10^3$ , $1.5 \times 10^3$ <sup>b)</sup>	0.97, 0.90, 0.91 <sup>a)</sup>	ND	ND
		sole	ND	ND	ND
FF4	strap	ND	ND	ND	ND
FF5	sole	ND	ND	ND	ND
	strap	ND	ND	ND	ND
Toys	TOY1	ND	ND	ND	ND
	TOY2	ND	ND	ND	ND
	TOY3	$1.3 \times 10^2$ , $1.2 \times 10^2$ , $1.2 \times 10^2$ <sup>b)</sup>	ND	ND	ND
Others	Insole	ND	ND	ND	ND
	Elastic cords	ND	ND	ND	ND
	Nipple	ND	ND	0.08, 0.09, 0.10 <sup>a)</sup>	ND

Values obtained from three independent extracts are presented. Each value is an average of three times analyses. Values were used as reference data in this study. ND: not detected; Trace:  $\leq$  LOQ; <sup>a)</sup> Values were determined at  $m/z$  212 (DPG), 288 (TPG), 240 (DOTG), and 192 (OTBG); <sup>b)</sup> Values were determined at 260 nm.

ら、スクリーニング法として有用であると考えられた。本法を用いて市販されている30種の家庭用ゴム製品の実態調査を行った結果、DPGは6製品から、TPGは3製品から、DOTGは1製品から、OTBGは2製品から検出され、グアニジン系加硫促進剤が残留する製品があることがわかった。今後は、これらを配合するゴム製品の安全性について検討する必要があると考えられた。

## 引用文献

- 1) 高山かおる, 横関博雄, 松永佳世子, 片山一朗, 相場節也, 伊藤正俊, 池澤善一郎, 足立厚子, 戸倉新樹, 夏秋優, 古川福実, 矢上晶子, 幸野健, 乾重樹, 池澤優子, 相原道子 (日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドライン委員会): *日皮会誌* 2009;119:1757-93.
- 2) 森田雄介, 矢上晶子, 鈴木加余子, 小菅敦子, 亀井良太, 小川太一, 榎本憲秀, Tian L L S, 杉浦伸一, 松永佳世子: *日本ラテックスアレルギー研究会会誌* 2013;17(1):71-7.
- 3) Kaniwa M: *Bull Natl Inst Health Sci.* 2006;124:1-20.
- 4) 独立行政法人製品評価技術基盤機構: 「政府によるGHS分類結果 (Excel, HTML)」: [http://www.safe.nite.go.jp/ghs/ghs\\_download.html](http://www.safe.nite.go.jp/ghs/ghs_download.html)
- 5) 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会: Japanese standard allergens 2008: <http://www.jsdacd.org/html/allergen.html>
- 6) Andersen KE, White IR, Goossens A: "Contact dermatitis fifth ed., 31. Allergen from the European baseline series", eds by Johansen JD, Frosch PJ, Lepoittevin JP, Springer-Verlag Press Inc., Berlin Heidelberg, pp. 545-576 (2011)
- 7) OECD, "SISD initial assessment profile", SIAM, 14, 26-28 (2002)
- 8) 三菱化学テクノロジー株式会社: 平成19年度経済産業省委託 化学物質国際規制対策 (化管法指定物質及び指定候補物質のGHS分類に関する調査) 報告書 (2008)
- 9) Dahlin J, Bergendorff O, Vindenes KH, Hinden M, Svedman C: *Contact Dermatitis.* 2014;71:242-6.
- 10) Piskin G, Meijs M. M, van der Ham R, Bos J. D: *Contact Dermatitis.* 2006;54:61-2.
- 11) Pontén A, Hamnerius N, Bruze M, Hansson C, Persson C, Svedman C, Thörneby-Andersson K, Bergendorff O: *Contact Dermatitis.* 2013;68:103-10.
- 12) Baeck M, Cawet B, Tennstedt D, Goossens A: *Contact Dermatitis.* 2013;68:54-5.
- 13) Mahler V, Alto-Korte K: "Quick guide to contact dermatitis, 14. Rubber, 19. Gloves", eds by Johansen JD, Lepoittevin JP, Thyssen JP, Springer-Verlag Press Inc., Berlin Heidelberg, Chapter 14: pp.159-177, Chapter 19: pp.213-21 (2016)
- 14) Goossens AE: "Patch testing tips, 7. The use of ultrasonic bath extracts in the diagnostics of contact allergy and allergic contact dermatitis", eds by Lachapelle JM, Bruze M, Elsner PU, Springer-Verlag Press Inc., Berlin Heidelberg, Chapter 7: pp.81-9 (2014)
- 15) 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室: 平成25年度家庭用品に係る健康被害病院モニター報告書 (2015)
- 16) Ashikaga T, Yoshida Y, Hirota M, Yoneyama K, Itagaki H, Sakaguchi H, Miyazawa M, Ito Y, Suzuki H, Toyoda H: *Toxicol in Vitro.* 2006;20:767-73.
- 17) Sakaguchi H, Ashikaga T, Miyazawa M, Yoshida Y, Ito Y, Yoneyama K, Hirota M, Itagaki H, Toyoda H, Suzuki H: *Toxicol in Vitro.* 2006;20:774-84.
- 18) 日本規格協会, "JISハンドブック 49化学分析2011, JIS K0124: 2002 高速液体クロマトグラフィー通則", pp 706-720, "JIS K0136: 2004 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則", pp.847-61.
- 19) Garcia-Perez A, Garcia-Bravo B, Beneit JV: *Contact Dermatitis.* 1984;10:151-3.
- 20) 環境省環境リスク評価室: "化学物質の環境リスク評価第9巻, 1,3-ジフェニルグアニジン", (2011), <http://www.env.go.jp/chemi/report/h23-01/pdf/chpt2/2-2-2-19.pdf>
- 21) Kligman A M: *J Invest Dermatol.* 1966;47:393-408
- 22) European Chemicals Bureau: "European Union Risk Assessment Report, aniline, 4.1.2.5 Sensitisation", eds by European Commission, Germany, volume 50: pp.104-5 (2004)
- 23) Kaniwa M, Kojima S, Nakamura A, Kanto H, Ito M, Ishihara M: *Eiseikagaku* 1984;30:126-37.
- 24) Kaniwa M, Ikarashi Y, Kojima S, Nakamura A, Usuda T, Shibata K: *Eiseikagaku* 1988;34:325-34.
- 25) Kaniwa M, Isama K, Kojima S, Nakamura A, Arisu K, Hayakawa R: *Eiseikagaku* 1991;37:218-28.
- 26) Lazarov A: *Contact Dermatitis.* 2006;55:73-6.
- 27) Nardelli A, Taveirne M, Drieghe J, Carbonez A, Degreef H, Goossens A: *Contact Dermatitis.* 2005;53:201-6.

## 畜水産食品中のプロゲステロン含有量調査

坂井隆敏<sup>#</sup>, 根本了, 松田りえ子, 穂山浩

### Survey of progesterone levels in livestock and fishery products

Takatoshi Sakai<sup>#</sup>, Satoru Nemoto, Rieko Matsuda,  
Hiroshi Akiyama

In order to investigate the progesterone (P4) levels present in foods, an analytical method for P4 in livestock and fish-based food products was developed. The developed method was applied to the measurement of P4 in various bovine, swine, poultry and salmon samples. The contents of P4 in bovine muscle, bovine fat, swine fat and chicken eggs, were high, ranging from <0.1 (below the limit of quantification) to 167.7 ng/g. Conversely, the contents of P4 in foods such as bovine liver, swine muscle, swine liver, poultry meat and salmon, were very low (<0.1 ng/g). The contents of P4 in cow milk were <10 ng/g, while those in cheese and butter ranged from 58.3 to 96.1 ng/g and 155.0 to 427.5 ng/g, respectively. The results suggest that P4 levels in foods such as bovine muscle, bovine fat, swine fat, chicken eggs, cheese and butter appear to exceed the uniform limits (0.01 ppm = 10 ng/g) regulated in the positive list system for agricultural chemical residues in foods in Japan.

Keywords: progesterone, livestock products, fishery products

#### 1. 緒言

プロゲステロン (P4) は、黄体ホルモンとして作用するステロイドホルモンの一種であり、生物に広く存在する天然型ホルモンである。また、牛の受精卵着床障害の治療や習慣性流産の防止などを目的として承認・使用<sup>1)</sup>されている動物用医薬品の有効成分でもある。

我が国においては、P4について食品中の残留基準は設定されていない。通常、残留基準が設定されていない農薬、飼料添加物または動物用医薬品 (農薬等) については一律基準 (0.01 ppm = 10 ng/g) が適用されるが、P4のように天然に食品に含有され、かつ動物用医薬品の成分でもある物質については、食品・添加物等の規格基準 (昭和34年厚生省告示第370号) の一般規則8により<sup>2)</sup>、「農薬等の成分である物質が自然に食品に含まれる物質と同一であるとき、当該食品において当該物質が含

まれる量は、当該食品に当該物質が通常含まれる量を超えてはならない (自然に含有される量の程度で残留する場合には、ポジティブリスト制度における一律基準を適用しない)」ことが規定されている。

このため、本規定の対象となる物質について規格基準の適合判定を行う場合、得られた分析値と「食品に通常含まれる量」を比較する必要がある。したがって、これら物質が食品に通常どの程度含有されているかを把握しておく必要があるが、P4がどのような食品にどの程度含有されているかについては詳細な情報が得られていない。また、分析法については、血漿や河川水等中のP4分析法については幾つか報告があるものの<sup>3,6)</sup>、種々の食品に適用可能な分析法については報告が無い。

そこで本研究では、自然に含有される畜水産食品中のP4の含有量を把握するために、畜水産食品中のP4分析法を開発した。また、開発した分析法を用いて種々の畜水産食品中のP4含有量を調査した。

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

Takatoshi Sakai; Division of Foods, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.334; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: tasakai@nihs.go.jp

#### 2. 実験方法

##### 2.1 調査食品および検体数

調査対象食品として、牛の筋肉・脂肪・肝臓・腎臓・乳、豚の筋肉・脂肪・肝臓、鶏の筋肉・脂肪・肝臓・皮・卵、

さげ、チーズおよびバターを選択した。各食品の検体数は、牛の筋肉・脂肪・乳、鶏卵、チーズおよびバターについては20検体、その他の食品については10検体とした。なお、これらの検体は、都内のスーパーマーケット等で購入したものをを用いた。

## 2.2 試薬および試液

P4標準品はシグマ・アルドリッチ製（純度99.6%）、P4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>標準品は林純薬工業（株）製（純度99.9%）、P4-d<sub>9</sub>標準品は関東化学（株）製（純度98.0%）のものをを用いた。

アセトニトリルは、アセトニトリル／ヘキサン分配には関東化学（株）製の残留農薬試験・PCB試験用（300倍濃縮検定品）を、標準溶液調製および液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）用移動相には関東化学（株）製のLC-MS用を用いた。アセトン、酢酸エチルおよび*n*-ヘキサンは関東化学（株）製の残留農薬試験・PCB試験用（300倍濃縮検定品）を、エタノールおよび蒸留水は関東化学（株）製のLC用を用いた。塩化ナトリウムは和光純薬工業（株）製の残留農薬・PCB試験用を用いた。

また、オクタデシルシリル化シリカゲル（ODS）ミニカラムはジーエルサイエンス（株）製InertSep C18（1g）を、エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル（PSA）ミニカラムはアジレント製Bond Elut PSA（1g）を用いた。

## 2.3 器具及び装置

ホモジナイザーはPOLYTRON 3100（KINEMATICA製）を、ロータリーエバポレーターはN-1100シリーズロータリーエバポレーター（東京理化工械（株）製）を用いた。

液体クロマトグラフはProminenceシリーズHPLC（（株）島津製作所製）を、質量分析計はAPI 4000（Sciex製）を用いた。また、分析カラムは関東化学（株）製Mightysil RP 18GP（粒子径3.0μm、内径3mm、長さ150mm）を用いた。

## 2.4 標準溶液の調製

P4標準品、P4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>標準品およびP4-d<sub>9</sub>標準品をそれぞれ正確に量り採り、アセトニトリルに溶解して1mg/mLの標準原液を調製した。

調製した各標準原液をアセトニトリルおよび水（1:1）混液で希釈・混合し、それぞれ0.0025, 0.005, 0.0075, 0.01, 0.0125および0.015mg/Lの標準溶液を調製し、検量線作成用標準溶液とした。

また、P4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>標準品およびP4-d<sub>9</sub>標準品をアセトンで希釈・混合し、0.1mg/L溶液を調製し、これを回収率確

認用安定同位体標準溶液とした。本溶液は、P4の回収率を確認することを目的として、試料に添加して分析を実施した。

## 2.5 試験溶液の調製

### a) 抽出

検体を正確に量り採り、エタノールおよび水（1:1）混液を等量（重量比）加えてホモジナイズし、調製試料とした。調製試料20.0g（脂肪の場合は10.0g）を量り採り、回収率確認用安定同位体標準溶液0.1mLを添加した。これにアセトン50mLを加えてホモジナイザーで2分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離した。上澄液を採り、残留物にアセトン30mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様の条件で遠心分離した。上澄液を採り、先の上澄液と合わせ、アセトンで正確に100mLとした。この10mL（脂肪の場合は20mL）を採り、ロータリーエバポレーターを用いて40℃で約1mLまで濃縮した後、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。残留物に10w/v%塩化ナトリウム溶液30mLを加え、酢酸エチル30mLずつで2回振とう抽出した。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターを用いて40℃で約1mLまで濃縮した後、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。得られた残留物をアセトニトリルおよび水（4:1）混液1mLに溶解した。

### b) 精製

あらかじめアセトニトリル5mL、アセトニトリルおよび水（4:1）混液5mLを順次注入して洗浄したODSミニカラムに、上記a)で得られた溶液を注入し、さらにアセトニトリルおよび水（4:1）混液10mLを注入し、全溶出液を採った。溶出液を、ロータリーエバポレーターを用いて40℃で約1mLまで濃縮した後、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。得られた残留物をアセトンおよび*n*-ヘキサン（3:1）混液1mLに溶解した。

次いで、あらかじめアセトンおよび*n*-ヘキサン（3:1）混液10mLを注入して洗浄したPSAミニカラムに、上記で得られた溶液を注入し、さらにアセトンおよび*n*-ヘキサン（3:1）混液10mLを注入し、全溶出液を採った。溶出液を、ロータリーエバポレーターを用いて40℃で約1mLまで濃縮した後、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。得られた残留物にアセトニトリルおよび水（1:1）混液1.0mLを加えて溶解したものを試験溶液とした。

## 2.6 検量線の作成

検量線作成用標準溶液それぞれ10μLをLC-MS/MSに注入し、ピーク面積法で検量線を作成した。

## 2.7 定量

試験溶液10 $\mu$ LをLC-MS/MSに注入し、上記で作成した検量線を用いてP4の含有量を求めた。

なお、試験溶液の測定で得られたP4のピーク面積値が検量線作成用標準溶液の最大濃度 (0.015mg/L) の測定で得られたピーク面積値を超過した場合には、試験溶液をアセトニトリルおよび水 (1:1) 混液で適宜希釈して再測定を行い、算出された分析値に希釈倍率を乗じて含有量を求めた。また、試験溶液のピーク面積値が検量線作成用標準溶液の最小濃度 (0.0025mg/L) のピーク面積値未満の場合には、さらに低濃度の検量線作成用標準溶液を調製し、低濃度定量用の検量線を作成した後、含有量を求めた。

## 2.8 添加回収試験

対象食品は、牛の筋肉・肝臓・脂肪・乳、鶏の筋肉・卵、さけ、うなぎ、しじみおよびはちみつを選択した。これらの食品をそれぞれ均一化し、ブランク試料を調製した。調製したブランク試料にP4を添加 (鶏卵以外の食品は10ng/g、鶏卵は100ng/g)・攪拌し、添加試料を調製した。各食品を用いて調製したブランク試料 (1つ) および添加試料 (5つ) について、上記「2.4 試験溶液の調製」に記載した方法に従い試験溶液を調製した。調製した試験溶液をLC-MS/MSで測定し、各添加試料中のP4の回収率を求め、真度および併行精度を算出した。なお、ブランク試料中にP4が検出された食品については、各添加試験溶液中のP4濃度からブランク試験溶液中のP4を差し引き、回収率を求めた。

## 2.9 測定条件

### a) 液体クロマトグラフィー条件

注入量 10 $\mu$ L, カラム温度 40 $^{\circ}$ C, 移動相 0.1vol%ギ酸 (A液) およびアセトニトリル (B液), 流速 0.4mL/min, グラジエント ( $t_{min}$ )  $t_0$ : B液35%,  $t_5$ : B液35%,  $t_{25}$ : B液95%,  $t_{25.1}$ : B液99%,  $t_{30}$ : B液99%,  $t_{30.1}$ : B液35%,  $t_{40}$ : B液35%

### b) 質量分析条件

イオン化 ESI・ポジティブモード, 測定モード 選択反応モニタリング (SRM), イオンスプレー電圧 5500 V, 脱溶媒温度 700 $^{\circ}$ C, 測定イオン  $m/z$  315 > 97 (P4),  $m/z$  318 > 112 (P4- $^{13}C_3$ ),  $m/z$  324 > 113 (P4- $d_9$ )

## 3. 結果および考察

### 3.1 LC-MS/MSによるプロゲステロンの分析

はじめに、LC-MS/MSの測定条件を最適化した。その結果、P4について良好なピーク形状および測定感度

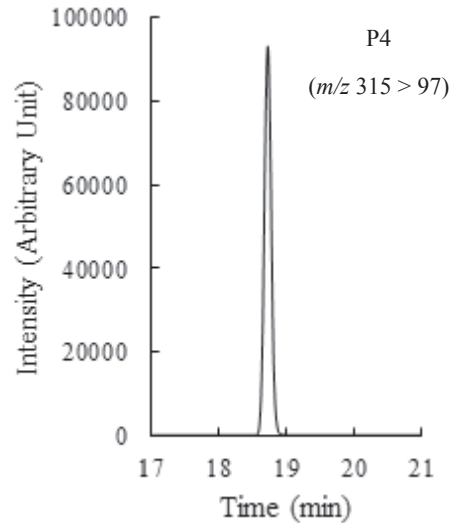


Fig. 1. SRM chromatogram of P4 standard solution (0.01 mg/L)

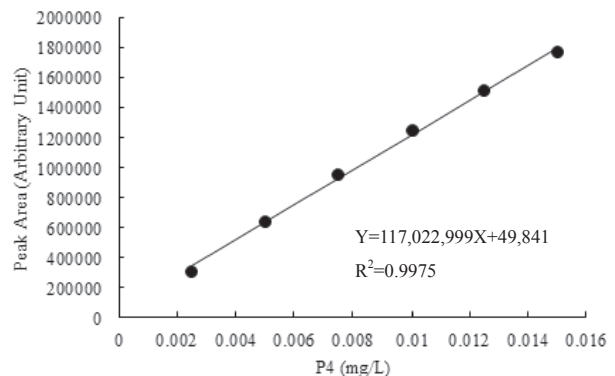


Fig. 2. Calibration curve for P4

が得られ (図1), また、0.0025mg/L ~ 0.015mg/Lの濃度範囲で検量線を作成したところ、決定係数0.99以上の良好な直線性が得られた (図2)。

種々の検討を行い確立したP4分析法の各食品への適用性を検証した。すなわち、上記「2.7 添加回収試験」に記載した方法に従い添加回収試験を実施した。その結果、添加したP4の真度は76 ~ 98%, 併行精度は1.7 ~ 27.0 RSD%であり、牛の脂肪 (真度97%・併行精度27.0 RSD%) および鶏卵 (真度98%・併行精度16.7 RSD%) を除いて良好な真度および併行精度が得られた (表1)。牛の脂肪および鶏卵における併行精度が高値となった原因としては、調製したブランク試料の均一性が十分ではなかったことが推察された。一方、P4の安定同位体標識標準品であり、P4と類似の物性等を有するが天然には存在しない物質であるP4- $^{13}C_3$ およびP4- $d_9$ については、それぞれ真度77 ~ 95%・併行精度2.4 ~ 10.2 RSD%および真度75 ~ 93%・併行精度1.8 ~ 7.4 RSD%と良好な



Table 1 Results of recovery tests for P4

Food	P4			P4- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>		P4-d <sub>9</sub>	
	Blank (ng/g)	Trueness (%)	Repeatability (RSD%)	Trueness (%)	Repeatability (RSD%)	Trueness (%)	Repeatability (RSD%)
Bovine muscle	ND	82	1.7	79	3.7	78	3.4
Bovine fat	8.5	97	27.0	95	4.2	93	3.3
Bovine liver	ND	80	4.5	81	3.5	83	3.6
Cow's milk	8.1	89	7.5	80	2.8	78	1.8
Poultry muscle	ND	82	2.2	81	3.3	75	2.5
Hen's egg	75.0	98	16.7	87	10.2	89	4.9
Eel	ND	76	3.8	77	4.2	76	4.6
Salmon	ND	84	2.7	84	2.4	84	3.2
Freshwater clam	ND	81	6.1	81	4.8	78	5.1
Honey	ND	92	6.2	91	4.6	92	7.4

ND: not detected

Table 2 P4 contents in foods

Food	n	Contents of P4 (ng/g)			Recovery of isotope-labelled P4 fortified (%)	
		median	minimum	maximum	P4- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	P4-d <sub>9</sub>
Bovine muscle	20	45.8	<0.1	53.9	79 - 92	74 - 89
Bovine fat	20	77.0	<0.1	122.3	81 - 103	82 - 98
Bovine liver	10	-	<0.1	<0.1	79 - 98	78 - 97
Bovine kidney	10	5.5	<0.1	9.3	75 - 84	72 - 82
Cow's milk	20	8.2	5.2	9.8	77 - 95	75 - 92
Swine muscle	10	-	<0.1	<0.1	80 - 96	77 - 92
Swine fat	10	25.9	<0.1	53.1	83 - 97	79 - 103
Swine liver	10	-	<0.1	<0.1	74 - 92	74 - 87
Poultry muscle	10	-	<0.1	<0.1	86 - 94	83 - 94
Poultry fat	10	-	<0.1	<0.1	84 - 98	79 - 99
Poultry liver	10	-	<0.1	<0.1	79 - 88	78 - 86
Poultry skin	10	-	<0.1	<0.1	75 - 88	77 - 86
Hen's egg	20	90.3	43.3	167.7	81 - 113	79 - 116
Salmon	10	-	<0.1	<0.1	72 - 83	71 - 80
Cheese	20	68.9	58.3	96.1	83 - 99	81 - 95
Butter	20	260.0	155.0	427.5	81 - 92	85 - 101

結果が得られた。これらの結果から、本分析法を用いることにより、種々の食品中のP4を精確に分析可能であると判断された。また、実態調査においては、P4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>およびP4-d<sub>9</sub>などの安定同位体標識標準品を添加し、これらの回収率を確認しながら分析を行うことにより、添加回収試験で適用性検証を実施していない食品も含め、広範囲な畜水産食品について精確な分析が可能と推察された。

なお、本分析法の定量下限値は、分析対象化合物であるP4が含まれていた食品もあったため、食品によっては精確な値を求めることはできなかったが、使用したP4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>およびP4-d<sub>9</sub>の標準溶液のピークのS/Nなどから0.1ng/g程度であると推定された。

### 3.2 各食品中のプロゲステロン含有量

本分析法を用いて種々の食品中のP4を分析した。先ず、どのような食品にどの程度含有されているかについてスクリーニング的に調査を実施した。結果を表2に示した。

P4の回収率確認を目的として添加したP4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>およびP4-d<sub>9</sub>の回収率は、調査した全ての試料において良好（それぞれ、回収率72～113%および71～116%）であったことから、本調査で得られた各試料中のP4含有量は概ね信頼性の高い値であると考えられた。なお、含有量は絶対検量線法で得られた値を採用し、安定同位体を用い

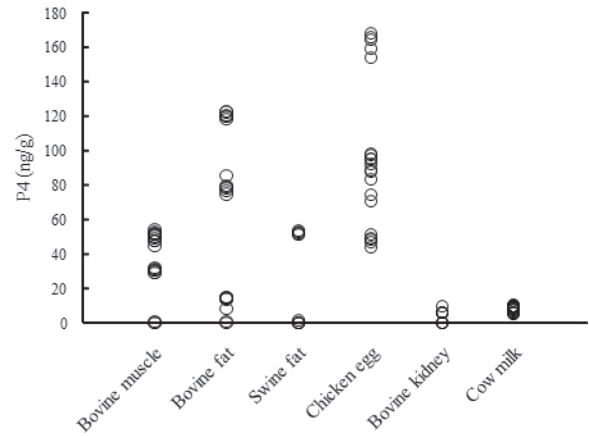


Fig. 3. P4 contents in each sample

た内標準法による補正等を行わなかった。

牛の筋肉・脂肪および豚の脂肪においては、P4が0.1ng/g未満から122.3ng/gの範囲で検出された。鶏卵では43.4～167.7ng/gの範囲で検出され、一律基準値（0.01ppm=10ng/g）の16倍のP4を含有する試料があることが確認された。また、牛の腎臓・乳については、本研究で調査した試料中のP4含有量は全て一律基準値未満であったものの、試料によっては一律基準値を超過する可能性もあることが示唆された（図3）。一方、牛の肝臓、豚の筋肉・肝臓、鶏の筋肉・脂肪・肝臓・皮、さけにおけるP4は全て0.1ng/g未満であり、これらの食品においてプロゲステロン含有量が一律基準値を超過する可能性は低いと考えられた。

牛乳において、調査した全20試料において5.2～9.8ng/gの範囲でP4が検出されたことから、乳製品であるチーズおよびバターについて追加調査したところ、全試料において検出され、チーズでは58.3～96.1ng/g、バターでは155.0～427.5ng/gの範囲で検出された。この結果より、乳製品であるチーズおよびバターでは含有量が高いことが示唆された。

本調査は、P4が含有される可能性が高い食品のスクリーニングを目的としたため、各食品の試料数（各食品10～20試料）は、統計解析により含有量の上限値を推定するに足る試料数（50試料程度）には至っていない。食品・添加物等の規格基準における規定を円滑に運用するためには、各食品におけるP4含有量の上限値を統計的に推定し、得られた値を基に「各食品に通常含まれる量」を適切に設定する必要がある。そのためには、本調査において含有量が一律基準値を超過した、もしくは試料によっては超過する可能性があると思われた食品について、追加調査を実施する必要があると考えられた。

#### 4. おわりに

本研究において、先ず畜水産食品中のP4の分析法を開発した。次に開発した方法を用いて種々の畜水産食品中のP4含有量をスクリーニング的に調査した結果、0.1 ng/g未満～427.5 ng/gの範囲で検出された。牛の筋肉・脂肪、豚の脂肪、鶏卵、チーズ及びバターでは含有量が一律基準値を超過して検出される場合があることが確認された。食品・添加物等の規格基準における規定の円滑な運用には、調査試料数を増やし、得られた結果を基に通常含まれる量の上限值を推定する必要があると考えられた。

#### 謝辞

本調査は、「厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課 食品に含有される天然ホルモンに関する調査（プロゲステロン）」事業により実施した。

#### 引用文献

- 1) 農林水産省動物医薬品検査所, 動物医薬品等データベース, [http://www.nval.go.jp/asp/asp\\_dbDR\\_idx.asp](http://www.nval.go.jp/asp/asp_dbDR_idx.asp) (平成27年5月9日確認)
- 2) 厚生省告示第370号“食品・添加物等の規格基準”(昭和34年12月28日)
- 3) Zhang S, Mada SR, Sharma S, Torch M, Mattison D, Caritis S, Venkataramanan S: *J-Pharm Biomed Anal.* 2008;48:1174-80.
- 4) Fernandes RMT, Gomes GC, Porcari AM, Pimentel JRV, Porciuncula PM, Martins-Junior HA, Miguez PHP, da Costa JL, Amaral PH, Perecin F, Meurer EC, Furtado PV, Simas RC, Eberlin MN, Ferreira CR, Madureira EH: *Theriogenology.* 2011;76:1266-74.
- 5) Abdel-Khalik J, Bjorklund E, Hansen M: *J Chromatogr B.* 2013;928:58-77.
- 6) Tolgyesi A, Verebey Z, Sharma VK, Kovacsics L, Fekete J: *Chemosphere.* 2010;78:972-9.

## 加工食品中のアクリルアミド分析法の確立と含有実態調査

鍋師裕美<sup>#</sup>, 高附巧, 堤智昭, 手島玲子, 穂山浩

## Development of an analysis method for acrylamide in processed foods and a survey on the level of acrylamide in processed foods

Hiromi Nabeshi<sup>#</sup>, Satoshi Takatsuki, Tomoaki Tsutsumi,  
Reiko Teshima, Hiroshi Akiyama

To survey acrylamide (AA) levels in processed foods, we developed a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method to directly determine AA levels in various foods without derivatization, and surveyed AA levels in 5 kinds of processed foods (potato chip, french fry, biscuit, roasted green tea, and coffee bean; total 100 samples). The processed foods were spiked with  $^{13}\text{C}_3$ -AA as an internal standard prior to water extraction. The extract was purified with a solid phase extraction cartridge comprised of hydrophilic/lipophilic copolymer sorbent and cation/anion exchange sorbent prior to LC-MS/MS determination. Accuracy (recovery) of AA in processed food fortified at 100ng/g (potato chip, french fry, and biscuit) or 300ng/g (roasted green tea and coffee bean) ranged from 96 to 102%, and the relative standard deviations ranged from 1.2 to 3.2%. The limit of quantitation of the developed method was 10ng/g for all the tested processed foods. In the survey of AA levels in the processed foods, the level of AA ranged from 52 to 3,100ng/g for potato chip, 50 to 1,000ng/g for french fry, 16 to 570ng/g for biscuit, 120 to 1,600ng/g for roasted green tea, and 110 to 300ng/g for coffee bean. These results indicated that the AA levels varied extensively among identical kinds of the processed foods. Among the AA levels detected in the 100 samples of analyzed in this study, the AA levels in 7 samples of the potato chips, 5 samples of the french fries, and 3 samples of the biscuits for infant were larger than indicative acrylamide values (1,000ng/g for potato chip, 600ng/g for french fry and 200ng/g for biscuit for infant) set by the EU.

Keywords: acrylamide, LC-MS/MS, survey, processed foods

## 1. 緒言

近年, 食品の製造, 加工及び調理の過程で副生成物として生じるアクリルアミド (AA) の健康影響が懸念されている。AAは発がん性, 遺伝毒性, 神経毒性などを有する化合物であり, 発がん性のIARCリスク評価でGroup2A (ヒトに対して恐らく発がん性を示す) に分類されている。2002年にスウェーデン政府とストックホルム大学により, AAがポテトチップス, フライドポテト,

ビスケットやシリアルのような高温で調理する加工食品中に高濃度で含まれていることが発表され<sup>1,2)</sup>, その後, 日本を含め様々な国で加工食品中にAAが含まれていることが報告された<sup>3,4)</sup>。2016年4月には, 食品安全委員会から「発がん影響のリスクについては, 疫学研究において, 職業性ばく露等の高ばく露集団も含め, アクリルアミドばく露量とがんの発生率との関連に一貫した傾向はみられていないことから, ヒトにおける健康影響は明確ではないが, 動物実験から求めたBMDL<sub>10</sub>と日本人の食品からのアクリルアミドの推定摂取量から算出したばく露マージンが十分ではないことから, 公衆衛生上の観点から懸念がないとは言えないと判断した」との評価がなされている<sup>5)</sup>。

AAは120℃以上の高温調理中に食品中のアスパラギンと還元糖 (グルコースやフルクトース等) がメイラー

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:  
Hiromi Nabeshi; Division of Foods, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.260; Fax: +81-3-3700-9348; E-mail: nabeshi@nihs.go.jp

ド反応を起こす過程で副生成物として生成されることが知られている<sup>6,9)</sup>。AAは揚げる、焼くなどの食品の製造・加工工程で非意図的に生成することから、実態調査の結果を踏まえた上でALARA (As Low As Reasonably Achievable) の原則に基づいたリスク管理の在り方を検討していくことが望ましいと考えられる。そのためにはAAの検出頻度が高い加工食品等を対象に実態調査を実施し、AA含有濃度や摂取量等を把握する必要があると考えられる。

そこで本研究では、加工食品中のAA含有実態調査を行うために、多種多検体の加工食品の微量分析が適用可能となる簡便な前処理及び夾雑物の影響を抑制したAA分析法の確立を目的に、AAを誘導体化せずに迅速な測定が可能なLC-MS/MS法の確立を行った。本法のAA検出頻度が高い加工食品5種(ポテトチップス、フライドポテト、ビスケット類、ほうじ茶葉、コーヒー)への適用性を明らかにするとともに、確立した方法を用いて加工食品5種類100試料を対象にAA含有濃度実態を調査した。

## 2. 実験方法

### 2. 1 試料及び試薬等

#### 2. 1. 1 試料

ポテトチップス、フライドポテト、ビスケット類、ほうじ茶葉、コーヒー豆は東京都内の小売店で購入した。各試料は、分析法の実試料への適用検討用として各4～5試料、AA含有実態調査用として各20試料を購入した。

#### 2. 1. 2 試薬等

AA標準品：関東化学(株)社製、食品分析用、純度99.0%

1,2,3-<sup>13</sup>C<sub>3</sub> 標識AA：Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 製、純度 ≥ 98.0%, 1,2,3-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>置換率 99%

水、メタノール：関東化学(株)社製、LC/MS用

ギ酸：関東化学(株)社製、高速液体クロマトグラフィー用

Oasis HLBカートリッジ：Waters社製、200mg/6mL

Bond Elute Accucat：Agilent Technologies社製、200mg/3mL

遠心フィルターチューブ：Grace Davison Discovery Science社製、Maxi Spin Filter, 0.45μm, PVDF

AA認証試料ラスク：European Reference Materials社製、ERM-BD274

AA認証試料クリスブレッド：European Reference Materials社製、ERM-BD272

### 2. 2 機器

ブレンダー：大阪ケミカル(株)社製、フォースミル  
ミキサー：タイトック(株)社製、インビトロシューカー Mix-VR

遠心分離機：BECKMAN社製、Avanti HP-25

久保田商事(株)製、KUBOTA 5930

LC-MS/MS：Waters社製、LC部：UPLC Acquity I class、MS/MS部：Xevo TQ-S

### 2. 3 AAの分析

#### 2. 3. 1 試験溶液の調製

試料の前処理は、適用食品範囲の広いRoachらの前処理方法<sup>10)</sup>を参考にした。各食品の試料溶液調製方法をFig. 1に示した。ブレンダーで粉碎均一化した試料1.00gを50mL遠心チューブに量り取り、これに内部標準物質(<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-AA, 100ng/mL)1mLを添加して5分間静置後、水9mLを加えた。ボルテックスミキサーで30秒間混合した後、ミキサーにより20分間振とうし、遠心分離(Avanti HP-25; 13,064 × g, 4°C, 15min)した。水層(中間層)約5mLを遠心フィルターチューブにとった後、遠心分離(KUBOTA 5930; 840 × g, 5min)してろ過液を得た。Oasis HLBカートリッジカラムをメタノール3.5mL、次いで水3.5mLでコンディショニングした後、上記のろ過液1.5mLを分取し、カラムに負荷した。水0.5mLで洗浄後、水1.5mLでAAを溶出した。Bond Elute Accucatカートリッジカラムをメタノール2.5mL、次いで水2.5mLでコンディショニングした後、上記の溶出液1.5mLをカラムに負荷した。最初の流出液0.5mLを捨て、残りを全てAA溶出液として回収し、試験溶液とした。

#### 2. 3. 2 LC-MS/MSによるAA分析

LC-MS/MS測定法については、汎用性の高いRiedikerらのLC-MS/MS測定法<sup>11)</sup>を参考にし、測定条件を検討した。下記にLC-MS/MS分析条件を示す。なお、ほうじ茶葉およびコーヒー豆のLC条件は、AAと夾雑物ピークの分離および内部標準物質の回収率の向上のため、他の試料の条件と異なる条件とした。

##### 【LC条件】

カラム：Shodex RSpak DE-413L (内径4.6 × 250mm, 粒径4μm)

移動相：0.01% (v/v) ギ酸溶液-メタノール (8:2)

0.01% (v/v) ギ酸溶液-メタノール (99.5:0.5)：ほうじ茶葉及びコーヒー豆分析時

流速：0.8mL/min (装置流入速度 0.40mL/min)

0.4mL/min (装置流入速度 0.20mL/min)：ほうじ茶葉及びコーヒー豆分析時

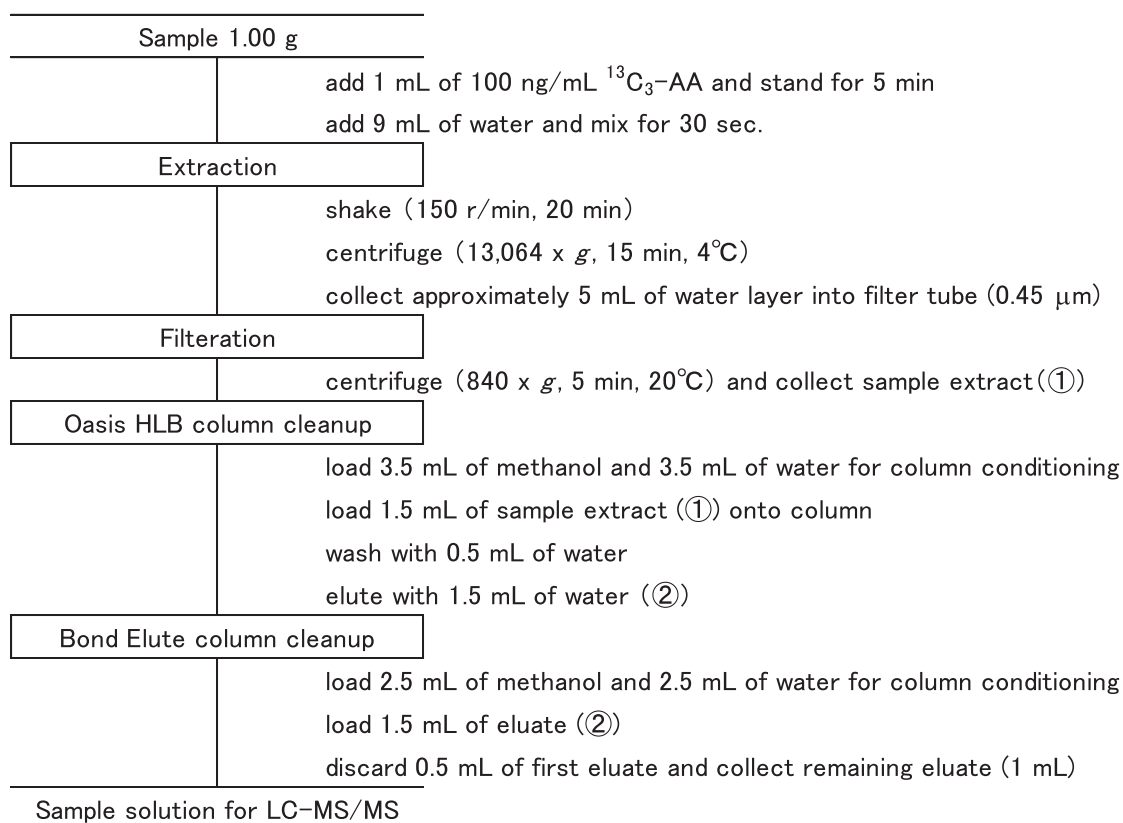


Fig. 1. Flow chart of the pretreatment procedure

注入量：50  $\mu\text{L}$

カラム温度：40°C

【MS/MS条件】

イオン化法：ESIポジティブ

キャピラリー電圧：0.6kV

イオン源温度：150°C

コーンガス流量：150L/hr

脱溶媒ガス温度：600°C

脱溶媒ガス流量：1,000L/hr

モニターイオン：AA：定量イオン72 $\rightarrow$ 55（コリジョン

エネルギー：8V），

定性イオン72 $\rightarrow$ 27（コリジョンエネルギー：12V）

$^{13}\text{C}_3$ -AA：定量イオン75 $\rightarrow$ 58（コリジョンエネルギー：9V），

定性イオン75 $\rightarrow$ 29（コリジョンエネルギー：12V）

コーン電圧：AA：22V

$^{13}\text{C}_3$ -AA：20V

### 2. 3. 3 検量線

検量線作成のために、AA標準品を1mg/mLに調製したAA標準溶液を水で希釈し、1、2、10、50、100及び

200ng/mLの6点の濃度に、内部標準物質を10ng/mL含むように調製した。各検量液の測定結果より、AAの濃度を横軸に、面積比を縦軸にプロットし、最小二乗法により一次回帰直線を作製し検量線とした。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1 LC-MS/MS条件の最適化

MS/MS条件はESIポジティブモードを選択し、移動相として0.01%（v/v）ギ酸溶液及びメタノール（8:2）混液を用いたアイソクラティック溶出により、直接導入したAAと $^{13}\text{C}_3$ -AAのイオン化条件を検討した。プロトン付加分子[M+H] $^+$ として、AAからはm/z 72、 $^{13}\text{C}_3$ -AAからはm/z 75が感度良く検出された。これらのイオンをプレカーサーイオンとして選択し、コリジョンエネルギー、キャピラリー電圧、及び脱溶媒ガス温度について検討し、観察されたプロダクトイオンの中で最も強度の大きいイオンを定量イオン、二番目に強度の大きいイオンを定性イオンとした。その結果、AAの定量イオンとしてはm/z 55、定性イオンとしてはm/z 27を、 $^{13}\text{C}_3$ -AAの定量イオンとしてはm/z 58、定性イオンとしてはm/z 29を選択した。

LC条件については、有機溶媒存在下でもAAが比較的良くカラムに保持され、テーリングも生じにくいと考

えられるポリマー系逆相HPLCカラムを使用した。高い分離能を得るため、理論段数が最も高いサイズ（内径 $4.6 \times 250$ mm, 粒径 $4 \mu\text{m}$ ）のカラムを選択した。また、Riedikerら<sup>11)</sup>は移動相におけるメタノール濃度を40%としているが、実試料の試験溶液を用いて移動相条件を検討した結果、メタノール濃度が20%の方が夾雑ピークとAAの分離が良好であったことからメタノール濃度20%の条件を選択した。さらに、良好なピーク形状を得るためカラムへの流入速度を $0.8 \text{ mL/min}$ に設定したが、ESIにおいてはやや流量が大きすぎるためイオン化が不安定になると考えられた。そこで、カラムからの流出液を分割し、MS/MS検出器に流入する流量を $0.4 \text{ mL/min}$ に調整した。

ただし、ほうじ茶葉及びコーヒー豆を試料とした場合には、 $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の定量イオンとした $m/z$  75→58に試料由来の夾雑物ピークが検出され、内部標準物質として添加した $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の面積値の算出に影響を及ぼした。LC条件について検討を行い、夾雑物ピークと $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ のピークを分離するため、移動相を0.01% (v/v) ギ酸溶液及びメタノール (99.5:0.5) 混液に変更し、カラム流速を $0.4 \text{ mL/min}$ に設定した。

### 3. 2 検量線の定量範囲の設定

検量線の定量範囲は各検量点の検量線への適合性により判断した。検量線にその作成に使用した各検量点より得られた面積比を代入して算出される濃度の理論濃度に対する比率を指標とし、この比率の100%からの乖離の程度が10%以下である濃度範囲を検量線の定量範囲とした。異なる日に得られた5本の検量線のデータよりAAの各検量点における理論濃度に対する割合を算出した結果、 $1.0 \sim 200 \text{ ng/mL}$ の範囲では乖離の程度が $\pm 10\%$ に収まっており、この範囲を定量範囲とすることが可能であった。この検量範囲の最低濃度となる $1.0 \text{ ng/mL}$ は、 $1 \text{ g}$ の試料を使用した時の試料中濃度に換算すると、 $10 \text{ ng/g}$ であり、これを本分析法における定量下限値(LOQ)とした。なお、最低濃度である $1.0 \text{ ng/mL}$ の検量液におけるAAピークのS/Nは10以上であった。

### 3. 3 試験溶液のマトリクス効果の検証

試験溶液中に含まれる試料夾雑物(マトリクス)がLC-MS/MS測定に与える影響を添加試験により検討した。AAを含まない食品試料の入手が困難であったため、AAと物理的・化学的性質がほぼ同じ $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ を添加試験に用いた。5種の加工食品各4～5試料中のAA濃度を測定し、最もAA濃度が低かった試料を用いて調製した試験溶液に $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ を添加し、得られた面積値を同じ濃度の標準溶液の面積値と比較した結果、5種の加

工食品の試験溶液における面積値は、標準溶液の面積値を100%とした時、49～119%であった(データ示さず)。ポテトチップス及びビスケット類ではイオン化促進、それ以外の食品ではイオン化抑制の影響が認められた。しかし、本分析法はAAを安定同位体で標識した $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ を内部標準物質に使用して定量するため、試料夾雑物のAA定量値への影響を内部標準物質により補正することが可能であると考えられた。但し、イオン化抑制によりAAの強度が検量液の最低濃度より著しく小さくなる場合は、補正精度が低下する可能性が考えられるため定量値の取り扱いに注意が必要となる。

### 3. 4 実態調査の対象とする加工食品への適用性の検証

本分析法によりポテトチップス、フライドポテト、ビスケット類、ほうじ茶葉、コーヒー豆(各4～5試料)分析し、近接する妨害ピークの有無や、 $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の回収率を明らかにし、これら食品への適用性を検証した。その結果、ポテトチップス及びほうじ茶葉などでAA濃度が $1,000 \text{ ng/g}$ を超える試料が認められた。各食品のクロマトグラムは、コーヒー豆を除き、AA及び $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ のピークに近接する妨害ピークは認められず(データ示さず)、本分析法の実態調査の対象とする加工食品への適用性が確認された。 $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の回収率はポテトチップスで60～115%、フライドポテトで74～101%、ビスケット類で45～81%、ほうじ茶葉で30～56%、コーヒー豆で44～52%であった。添加回収試験の結果と同様に、ほうじ茶葉及びコーヒー豆の $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の回収率が低くなる傾向が認められた。

### 3. 5 添加回収試験

本分析法の加工食品5種を対象としたAA含有濃度実態調査への適用性については、添加回収試験より得られた回収率から推定された真度及び併行精度により評価した。実態調査では低濃度の含有実態を把握する必要があるため、各試料のAAの添加濃度は、添加回収試験に用いた各試料に含まれるAAに影響されずに定量可能な濃度として、ポテトチップス、ビスケット類及びフライドポテトには $100 \text{ ng/g}$ 、ほうじ茶葉、コーヒー豆には $300 \text{ ng/g}$ を添加した。なお、添加回収試験には3. 3試験溶液のマトリクス効果の検証に用いた試料と同一の試料を用いた。

各食品の添加試料を1日5併行で分析し、得られた回収率から推定した真度と併行精度をTable 1に示した。ポテトチップス、フライドポテト、ビスケット類、ほうじ茶葉及びコーヒー豆におけるAAの真度(回収率)はそれぞれ99%、98%、99%、96%及び102%、併行精度はそれぞれ3.1、1.3、2.0、1.2%及び3.2%と推定された。添

Table 1. Accuracy (recovery) and RSD assessed by recovery test of AA in processed food

Sample	Accuracy <sup>1)</sup> (% mean)	RSD (%)
Potato chip	99	3.1
French fry	98	1.3
Biscuit	99	2.0
Roasted green tea	96	1.2
Coffee bean	102	3.2

1) Spiked level: 100 (potato chip, french fry and biscuit) or 300 (roasted green tea and coffee bean) ng/g,  $n=5$

加試料のクロマトグラムは添加したAA,  $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ について、コーヒー豆以外の試料では、対象ピークの近傍に明らかな妨害ピークは確認されなかった（データ示さず）。コーヒー豆については $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の定量イオンのクロマトグラムに妨害ピークが認められ、 $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ と完全には分離できなかったが（データ示さず）、真度と併行精度は良好であった。また、添加回収試験時の $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の回収率は、ポテトチップスで82～108%、フライドポテトで63～88%、ビスケット類で106～139%、ほうじ茶葉で51～57%、コーヒー豆で39～42%であった。3.3の検討で示したように、フライドポテト、ほうじ茶葉及びコーヒー豆では試験溶液中の夾雑物により33～51%のイオン化抑制が観察された。そのため、回収率の値が低下した要因としては、試験溶液中に含まれる夾雑物の影響が主要因であり、前処理操作における $^{13}\text{C}_3\text{-AA}$ の損失は大きくないものと考えられた。

### 3.6 認証標準試料の分析

本分析法で得られる分析値の信頼性を確認するため、AA認証標準物質の分析を実施した。ラスク及びクリスブレッドの2種の認証標準物質を本法により3併行で分析し、得られたAA濃度と認証値を比較した（Table 2）。ラスクの分析結果は全て認証値の範囲内に収まった。一方、クリスブレッドの分析結果については認証値の範囲より全体にやや低い値となったが、その程度は小さかった。その要因として、クリスブレッドから調製した試料溶液はラスクと比較して粘性が高く、本法で用いた振とう抽出のみでは完全にAAの抽出ができなかった可能性が考えられた。しかし、得られた定量値は認証値より大幅に低値を示した訳ではないため、実態調査に用いる分析法としては許容できるものと考えられた。

Table 2. Concentration of AA in two kinds of certified reference samples

Certified reference samples	trial	Concentration of AA (ng/g)	mean±SD (ng/g)	certified value <sup>1)</sup> (ng/g)
Rask	1	75	77±2	74±7
	2	79		
	3	78		
Crisp bread	1	807	829±24	980±90
	2	855		
	3	826		

1) mean ± 95% confidence range

### 3.7 5種類の加工食品における実態調査

適用性を確認した本法を用いて、ポテトチップス、フライドポテト、ビスケット類、ほうじ茶葉及びコーヒー豆の5種類の加工食品について各20試料（合計100試料）を分析した。その結果、すべての試料から定量下限値（10 ng/g）以上のAAが検出された。それぞれの加工食品中のAA含有濃度範囲は、ポテトチップスで52～3,100 ng/g、フライドポテトで50～1,000 ng/g、ビスケット類で16～570 ng/g、ほうじ茶葉で120～1,600 ng/g、コーヒー豆で110～300 ng/gであった。なお、ポテトチップス1試料で定量範囲外の値となったため、外挿により定量値を算出し、参考値とした。各食品中のAA含有濃度（中央値）を比較したところ、ポテトチップスが最もAA含有濃度が高く、次いでほうじ茶葉、フライドポテト、コーヒー豆、ビスケット類の順であった（Fig. 2）。本調査結果は、農林水産省が実施した有害物質含有実態調査（平成15～22年度）<sup>12)</sup>で報告されているAA含有濃度の範囲とよく一致していたが（Table 3）、ポテトチップスでは、平均値、中央値ともに農水省の調査より30～40%低くなっていた。これは、一部メーカーでのAA低減に向けた取り組みと関連している可能性が考えられた。試料ごとにAA含有濃度を比べると、同種の食品でも商品によってAA含有濃度に大きな差があり、特にポテトチップスやほうじ茶葉で顕著な差が認められた。一方、コーヒー豆では試料間のAA含有濃度差は小さかった。

各加工食品について試料の特徴ごとにAA含有濃度を比較した（Fig. 3）。分析数に偏りがあるため注意が必要であるが、ポテトチップスでは、生のじゃがいもをそのままスライスして作られるスライスポテトチップスの方が、成形ポテトチップスよりもAA含有濃度が高い傾向が認められた。また、スライスポテトチップスで細切りにされている試料は特にAA含有濃度が高かった。フライドポテトは、ストレートカットで試料間の濃度差が大きいものの、クリスピーカット、シューストリング、ストレートカット、ナチュラルカットの順に、すなわち細

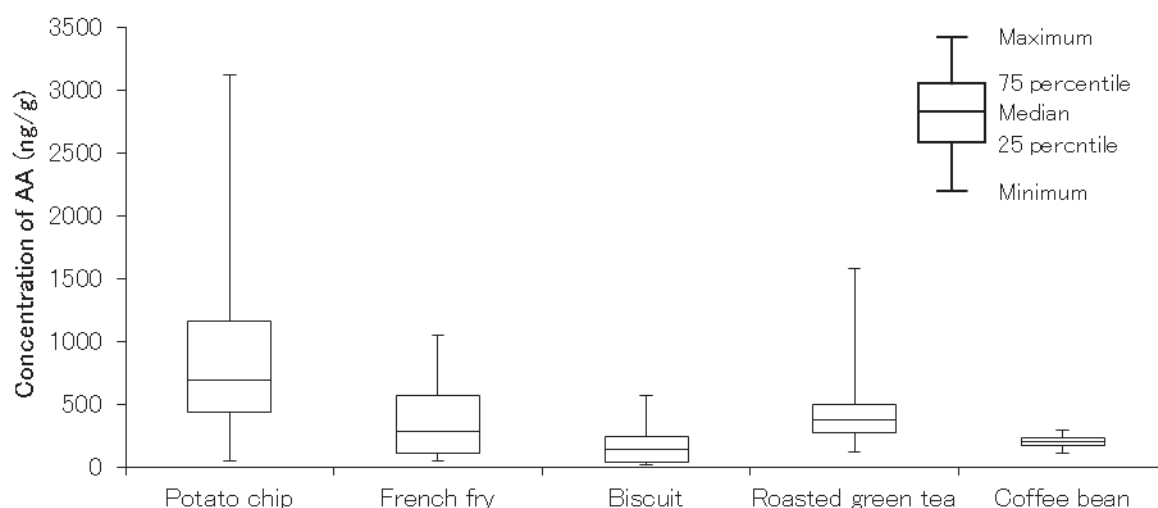


Fig. 2. Boxplot of concentration of AA in processed foods

Each boxplot was made by concentration of AA determined in the processed foods ( $n=20$ ). Box shows 25 and 75% percentiles and the center line shows the median. The end of whiskers show the maximum and minimum values.

Table 3. Comparison between present data and survey data by Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan

**Present data**

Sample	Number of samples	LOQ (ng/g)	Number of samples below LOQ	Concentration of AA (ng/g)			
				mean	median	maximum	minimum
Potato chip	20	10	0	830	690	3100	52
French fry	20	10	0	380	280	1000	50
Biscuit	20	10	0	170	140	570	16
Roasted green tea	20	10	0	500	380	1600	120
Coffee bean	20	10	0	200	200	300	110

**Survey data by Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan<sup>12)</sup>**

Sample	Number of samples	LOQ (ng/g)	Number of samples below LOQ	Concentration of AA (ng/g)			
				mean	median	maximum	minimum
Potato snack	541	20	1	1100	940	5500	<20
French fry	180	20	0	410	380	1500	90
Biscuit	30	20	1	180	160	460	<20
Roasted green tea	18	20	0	450	360	1100	190
Coffee bean	121	8	0	160	160	330	73

いフライドポテトほどAA含有濃度が高い傾向が認められた。ビスケット類では、名称がビスケットである試料とクッキーである試料を比較した。高濃度のAAを含むクッキーが1試料検出されているが、ビスケットの方が、クッキーよりもAA含有濃度が高い傾向があった。公正取引規約では糖分と脂肪分の合計が40%以上のものをクッキーと定めており、クッキーの方がビスケッ

トよりも糖分の含有量が多いと考えられるが、分析試料としたクッキーは比較的厚みがあり、ソフトな食感を持つものが多かったことから、ビスケットとの焼成度合いの違いなどがAA含有濃度に影響していると考えられた。ビスケットでも、ショートブレッドのように厚みがあり、焼き色の薄い試料はAA含有濃度が低く抑えられていた。ほうじ茶葉中のAA含有濃度は、葉茶、茎茶と



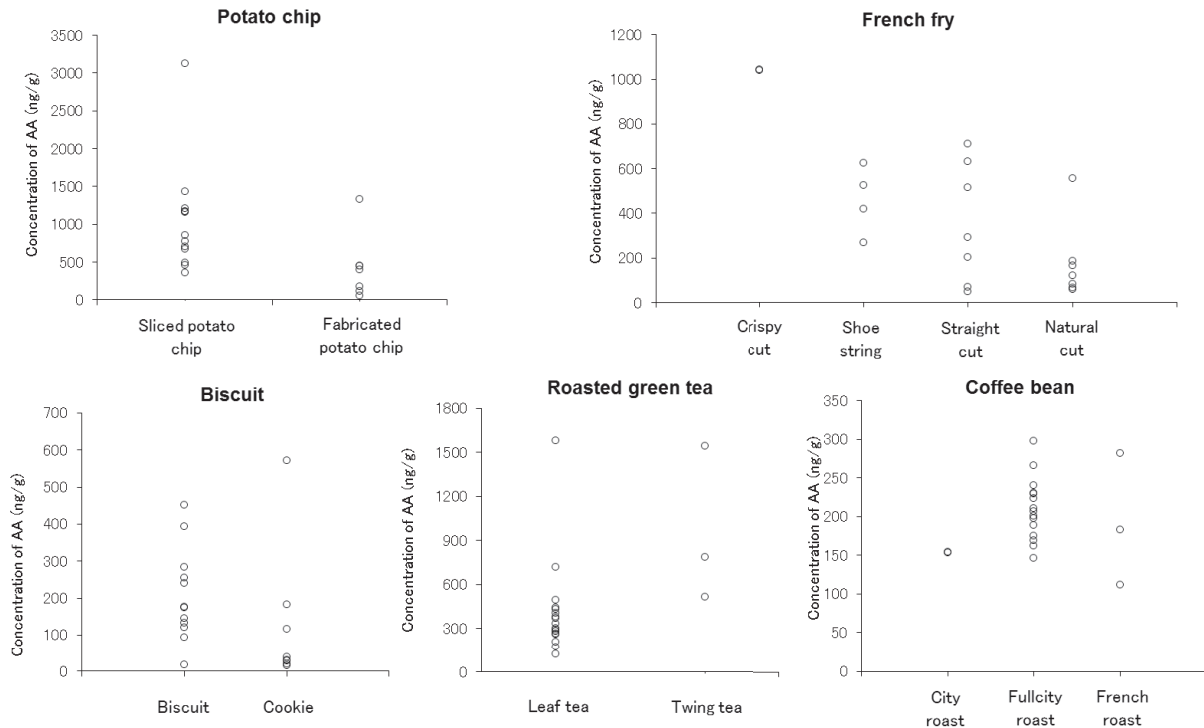


Fig. 3. Investigation of concentration of AA in the processed foods

Each processed food was classified into some categories depending on the property. Potato chips were classified into sliced potato chips ( $n=13$ ) and fabricated potato chips ( $n=7$ ). French fries were classified into crispy cut ( $n=2$ ), shoe strings ( $n=4$ ), straight cut ( $n=7$ ) and natural cut ( $n=7$ ). Biscuits were classified into biscuit ( $n=12$ ; including 5 samples for infant) and cookie ( $n=8$ ; including 2 samples for infant). Roasted green teas were classified into leaf tea ( $n=17$ ) and twing tea ( $n=3$ ). Coffee beans were classified into city roast ( $n=2$ ), fullcity roast ( $n=15$ ) and french roast ( $n=3$ ).

もに広い濃度分布を示した。コーヒー豆では焙煎度合いの低い順に、中煎り（シティロースト）、中深煎り（フルシティロースト）、深煎り（フレンチロースト）の試料を比較した。分析数に偏りがあるため判断が難しいが、焙煎度合いによるAA含有濃度の差は明確でなかった。本研究では、ほうじ茶葉およびコーヒー豆自体のAA含有濃度を調査したが、これら加工食品の実際の摂取状況を考えると浸出液が摂取されるため、食品からのAAの摂取量の推定には浸出液中のAA濃度を用いるのが適切であると考えられる。平成28年1月に国立環境研究所から発表された「食品由来のアクリルアミド摂取量の推定に関する研究」の中間報告書<sup>13)</sup>では、ほうじ茶葉中のAA濃度から浸出液中のAA濃度の換算には0.022、コーヒー豆中のAA濃度からコーヒー浸出液中のAA濃度の換算には0.067という係数が用いられている。ほうじ茶については過去の報告<sup>14)</sup>におけるほうじ茶葉中のAA濃度とほうじ茶浸出液中のAA濃度の関係から導かれた係数であるが、コーヒー豆については、豆10gに対して水150mLを用いると仮定し、移行率を100%と仮定して求めた係数であることから、実際のコーヒー浸出液中のAA濃度をどの程度反映しているかは不明である。食品からのAAの摂取量の推定に向けたAA含有実態把握の

ためには、ほうじ茶葉やコーヒー豆だけではなく浸出液中のAA含有濃度を調査することも重要であると考えられた。

EUでは、2007-2012年の実態調査データに基づいて算出された指標値（安全性の基準値ではなく、調査の必要性についての示唆を得ることを目的とした値）を超える濃度のAAを含む製品があれば、その製造・加工方法について詳細な調査を行うことが勧告されている<sup>15)</sup>。EUが定めた指標値は、ポテトチップスで1,000ng/g、フライドポテトで600ng/g、ビスケット類で500ng/g（乳幼児用ビスケット類200ng/g）、コーヒー豆（焙煎コーヒー）で450ng/gである<sup>13)</sup>。今回調査した100試料のうち、この指標値を超える試料が、ポテトチップスで7試料、フライドポテトで5試料、ビスケット類で3試料（いずれも乳幼児用ビスケット）検出された。コーヒー豆については、EUの指標値を超える試料はなかった。

#### 4. まとめ

加工食品5種に含まれるAAの含有濃度実態調査への利用が可能なLC-MS/MS分析法を確立した。本法を用いて、加工食品5種類（100試料）についてAA含有濃度実態を調査した結果、加工食品5種類中のAA含有濃

度(中央値)は、ポテトチップス、ほうじ茶葉、フライドポテト、コーヒー豆、ビスケット類の順に高い結果となった。また、コーヒー豆を除く加工食品では、試料によってAA含有濃度に大きな差があったが、その濃度範囲は過去に農林水産省が実施した有害物質含有実態調査で報告されているAA含有濃度の範囲とよく一致していた。またEUが定める指標値と比較した結果、ポテトチップスで7試料、フライドポテトで5試料、ビスケット類で3試料(いずれも乳幼児用ビスケット)がEUの指標値を上回る濃度のAAを含有していることが明らかとなった。

#### 謝辞

本研究は、厚生労働省食品等試験検査費(食品中の製造副生成物に関する試験検査、及び食品中の製造副生成物に関する実態調査)により実施された。

#### 引用文献

- 1) Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M: *J Agric Food Chem*. 2002;50:4998-5006.
- 2) Rosén J, Hellenäs EK: *Analyst*. 2002;127:880-2.
- 3) Nemoto S, Takatsuki S, Sasaki K, Maitani T: *J Food Hyg Soc Japan*. 2002;43:371-6.
- 4) Takatsuki S, Nemoto S, Sasaki K, Maitani T: *J Food Hyg Soc Japan*. 2003;44:89-95.
- 5) 食品安全委員会: 評価書 加熱時に生じるアクリルアミド, 2016年4月.  
[https://www.fsc.go.jp/osirase/acrylamide1.data/acrylamide\\_hyokasyo1.pdf](https://www.fsc.go.jp/osirase/acrylamide1.data/acrylamide_hyokasyo1.pdf)
- 6) Mottram DS, Wedzicha BL, Dodson AT: *Nature*. 2002;419:448-9.
- 7) Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, Robert MC, Riediker S: *Nature*. 2002;419:449-50.
- 8) Becalski A, Lau BP-Y, Lewis D: *J Agric Food Chem*. 2003;51:802-8.
- 9) Yaylayan VA, Wnorowski A, Locas CP: *J Agric Food Chem*. 2003;51:1753-7.
- 10) Roach JAG, Andrzejewski D, Gay LM, Nortrup D, Musser MS: *J Agric Food Chem*. 2003;51:7547-54.
- 11) Riediker S, Stadler RH: *J Chromatogr A*. 2003;1020:121-30.
- 12) 農林水産省: 有害物質含有実態調査 結果データ集(平成15~22年度), 2012年10月  
<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/seisaku/pdf/chem15-22r.pdf>
- 13) 国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク研究センター: 平成27年度食品健康影響評価技術研究「食品由来のアクリルアミド摂取量の推定に関する研究」中間報告書, 2016年1月  
<https://www.fsc.go.jp/fsciis/technicalResearch/show/cho99920151507>
- 14) Mizukami Y, Kohata K, Yamaguchi Y, Hayashi N, Sawai Y, Chuda Y, Ono H, Yada H, Yoshida M: *J Agric Food Chem*. 2006;54:7370-7.
- 15) EC: Official Journal of the European Union. 2013;L301:15-7.  
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:301:0015:0017:EN:PDF>

## 高速液体クロマトグラフィーを用いたフェロシアン化物中の フェリシアン化塩試験法の検討

建部千絵<sup>#</sup>, 久保田浩樹, 大槻崇, 多田敦子, 河村葉子, 穂山浩, 佐藤恭子

### Study on the determination of ferricyanide in ferrocyanide using high performance liquid chromatography

Chiye Tatebe<sup>#</sup>, Hiroki Kubota, Takashi Ohtsuki, Atsuko Tada, Yoko Kawamura,  
Hiroshi Akiyama, Kyoko Sato

Ferrocyanides of calcium, potassium, and sodium are widely used in the EU and the USA as anticaking agents for food grade salts. The purity test for ferrocyanides requires the detection of ferricyanide, which is quantified using benzidine blue, the meriquinoid oxidation product of benzidine. Benzidine is carcinogenic; therefore, determination methods for ferricyanide that do not use this compound are of great value. We have developed a simple and safe method for detecting ferricyanide in ferrocyanide without using hazardous substances such as benzidine. The separation of ferrocyanide and ferricyanide was achieved using ion-pair high-performance liquid chromatography (HPLC) on an octadecylsilyl column. A 35% acetonitrile in 25mM phosphate buffer (pH 7) containing 10mM of tetra butyl ammonium phosphate was used as the mobile phase and the detection wavelength was 205nm. The concentration of the ferrocyanide sample solution for the proposed HPLC method was chosen as 100 µg/ml because the detection limit of ferricyanide in the conventional purity test is approximately 2% (1 µg/50 µg) and the limit of quantitation for ferricyanide in the HPLC method was 2 µg/ml (S/N=10). In the recovery test (spike level: 2%) for ferricyanide from two commercial ferrocyanide samples using the HPLC method, the average recoveries were 100.1 ± 2.6 (n=6) and 104.0 ± 0.8% (n=3). The proposed HPLC method is simple, safe, and useful as an alternative to the conventional purity test using benzidine for the detection of ferricyanides in the specification of ferrocyanides.

Keywords: ferrocyanide, ferricyanide, ion-pair chromatography, HPLC

#### 1. 緒言

フェロシアン化物 (Ferrocyanide) (フェロシアン化カリウム ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ), フェロシアン化カルシウム ( $Ca_2[Fe(CN)_6]$ ), フェロシアン化ナトリウム ( $Na_4[Fe(CN)_6]$ )) は, 黄血塩とも呼ばれ, 塩の固結防止効果から, 米国, EU 諸国等において食塩への添加が認められており<sup>1-3)</sup>, 日本においても, 平成14年に指定された食品添加物 (固結防止剤) である<sup>4)</sup>.

日本を始め諸外国では食品添加物の一定の品質を保持するために, 指定されている添加物に対して様々な規格が設定されている. それらの規格試験法については, 科学技術の進歩に伴った高精度化や国際的な整合化が望まれ, これらに対応した試験法が使用されている. また, 作業者の人体や環境に有害な試薬の排除が望まれ, それらに向けての試験法改正が進められている.

2007年に刊行された第8版食品添加物公定書<sup>5)</sup>におけるフェロシアン化物の成分規格の純度試験には, FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA) 規格を参考に不純物として「フェリシアン化塩 (Ferricyanide)」が規定されており, その試験法 (現行法) は, フェロシアン化物の水溶液に, 硝酸鉛溶液を加え, フェロシアン

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:  
Chiye Tatebe; Division of Food Additives, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:+81-3-3700-1411 ext 267; Fax:+81-3-3700-9403; E-mail: c-sasaki@nihs.go.jp

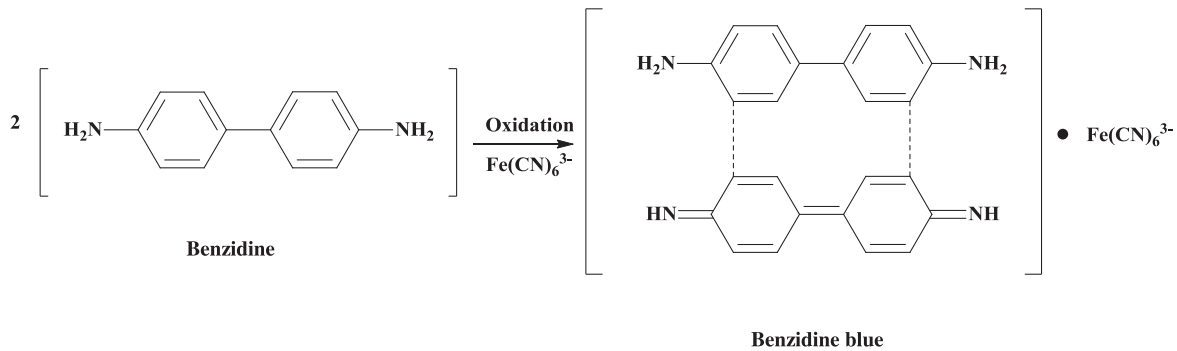


Fig. 1.

Generation of benzidine blue from benzidine and ferricyanide anion ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ).

化鉛を沈殿させた上で、ベンジジン酢酸溶液数滴を滴下し、青色を呈するか否か（又は、青色の呈色を）試験する方法である。これは、フェリシアン化物により、ベンジジンが酸性下で酸化され、酸化物であるベンジジンブルーの沈殿が析出することを原理としている (Fig.1)<sup>6)</sup>。しかし、ベンジジンは国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC) によってヒトに対する発がん性が認められる化学物質に分類されており<sup>7)</sup>、日本においては、労働安全衛生法で試験研究のため製造、輸入又は使用する場合のみベンジジンの使用が許されているが<sup>8)</sup>、試験者の安全のためにもベンジジンを使用しない代替試験法が求められている。

本研究では、食品添加物の規格試験における有害試薬排除への取り組みとして、イオンペア高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、ベンジジンを用いない安全で簡便なフェロシアン化物中のフェリシアン化塩試験法について確立したので報告する。

## 2. 材料及び方法

### 2.1 試薬・試液

フェロシアン化カリウム (ヘキサシアノ鉄 (II) 酸カリウム三水合物,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) は和光純薬工業製特級試薬, フェリシアン化カリウム (ヘキサシアノ鉄 (III) 酸カリウム,  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) 及びフェロシアン化ナトリウム十水和物 (ヘキサシアノ鉄 (II) 酸ナトリウム十水和物,  $\text{Na}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) は関東化学製特級および一級試薬を用いた。

リン酸二水素カリウム (特級) はシグマアルドリッチジャパン社製, リン酸水素二ナトリウム無水物 (特級) は関東化学社製, 0.5mol/L リン酸テトラブチルアンモニウム (TBA-P) 及び10%水酸化テトラブチルアンモニウム (TBA-OH) (いずれもイオンペア試薬HPLC用) は東京化成製, アセトニトリル (HPLC用) はメルク社製を用いた。

100mM リン酸水素二ナトリウム溶液は、リン酸水素二ナトリウム無水物4.2gを水で溶解し、1000mlとし調製した。

250mM リン酸緩衝液 (pH7) は、リン酸二水素カリウム6.8g, リン酸水素二ナトリウム無水和物10.6gを水で溶解し、1000mlとし調製した。

移動相Aは、100mM リン酸水素二ナトリウム溶液65mlに水を400ml加え、そこへ10% TBA-OH 13mlを加え、さらにアセトニトリル350mlを加えた後、水で1000mlとし調製した。

移動相Bは、250mM リン酸緩衝液 (pH7) 60mlに水を400ml加え、そこへ0.05mol/L TBA-P 20mlを加え、さらにアセトニトリル400mlを加えた後、水で1000mlとし調製した。

移動相Cは、250mM リン酸緩衝液 (pH7) 65mlに水を400ml加え、そこへ0.05mol/L TBA-P 20mlを加え、さらにアセトニトリル350mlを加えた後、水で1000mlとし調製した。

### 2.2 方法

#### 2.2.1 フェロシアン化塩及びフェリシアン化塩の分析

フェリシアン化カリウム10mgを量り、水を加えて100mlとしフェリシアン化カリウム溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とした。別に、フェロシアン化カリウム10mgを量り、そこへフェリシアン化カリウム溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 2mlを加え、水を加えて100mlとし、2%フェリシアン化カリウム添加フェロシアン化カリウム溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とした。各溶液を2.2.3 HPLC測定条件に示す条件により分析した。

#### 2.2.2 紫外可視分光光度計測定

フェリシアン化カリウム溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を水で5倍希釈したものを試験溶液 (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) とし、紫外可視分光光度計 (日本分光製, V-560) により紫外外部吸収

ペクトル (200-300nm) を測定した。

### 2.2.3 HPLC測定条件

HPLC装置：Agilent1100 series (アジレントテクノロジー社製), カラム：L-Column2 ODS 4.6mm i.d. × 150 mm (化学物質評価研究機構製), 流速：1 ml/min, カラム温度：40°C, 注入量：10 μL

条件① 移動相：移動相A, 検出波長：205nm

条件② 移動相：移動相B, 検出波長：215nm<sup>9)</sup>

条件③ 移動相：移動相C, 検出波長：205nm

### 2.2.4 添加回収試験

フェロシアン化カリウム及びフェロシアン化ナトリウム10mgを量り, それぞれにフェリシアン化カリウム溶液(100 μg/ml)2mlを正確に加え, 水を加えて100mlとし, 試験溶液とした。別に, フェリシアン化カリウム溶液(100 μg/ml)2mlを正確に量り, 水で100mlとし, 比較溶液とした。試験溶液及び比較溶液について, 上記の2.2.1フェロシアン化塩及びフェリシアン化塩の分析に従い試験し, 条件③により分析した。比較溶液のフェリシアンイオンのピーク面積に対する試験溶液中のフェリシアンイオンのピーク面積比から回収率を算出した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 HPLC測定条件の検討

金属シアン錯体塩の分離分析にはイオン交換カラムで分析する方法が報告されているが<sup>10)</sup>, 本検討では, イオン交換カラムと比べ汎用性が高く, 規格試験で多く採用されているオクタデシル化シリカゲル (ODS) カラムを用いることとした。陰イオン化物は容易にイオン化してしまうため, フェリシアンイオン ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ) とフェロシアンイオン ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ) がODSカラムに保持されるようにイオンペア試薬を用いた移動相で検討することとした。条件①では, フェリシアン化カリウム溶液 (100 μg/ml) を注入すると, フェリシアンイオンだけでなく, フェロシアンイオンが生成しピークとして検出された (Fig.2 A)。2%フェリシアン化カリウム添加フェロシアン化カリウム溶液 (100 μg/ml) を注入すると, フェリシアンイオンのピークは確認できたが感度は低く (Fig.2 B, C), 複数回分析を行った際に各ピークの保持時間が変動することも確認された。これらの原因は移動相のpH (8.5-8.9) が関係していると考えられた。

そこで, 条件②<sup>9)</sup>を検討したところ, フェリシアン化カリウム溶液 (100 μg/ml) を注入すると, フェロシアンイオンは検出されなくなった。しかし, Fig.3に示すように, フェロシアン化カリウム溶液 (100 μg/ml) を注入すると, フェロシアンイオンは保持時間の近傍にある

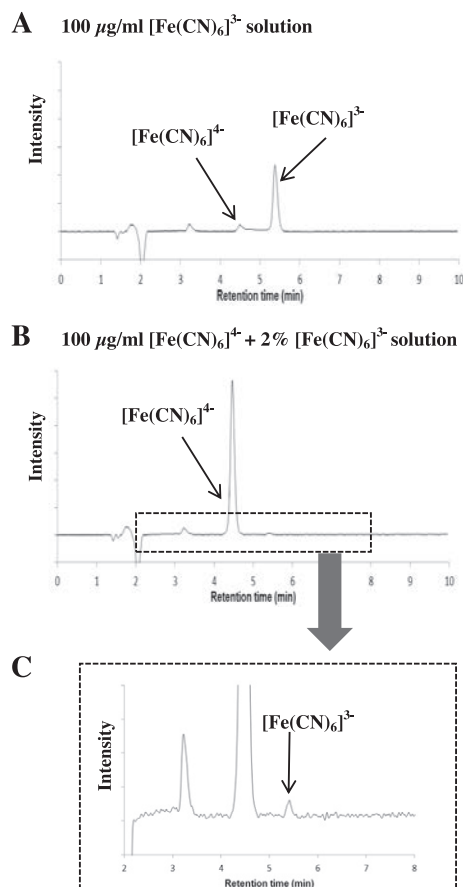


Fig. 2.

HPLC chromatograms of (A) 100 μg/ml ferricyanide anion ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ) solution; (B) 100 μg/ml ferrocyanide anion ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ) solution fortified with 2%  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ; and (C) an enlarged view of the  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  peak in Fig. 2(B). HPLC conditions: mobile phase: 35% acetonitrile in 10mM disodium hydrogen phosphate containing 5mM TBA-OH, wavelength: 205 nm.

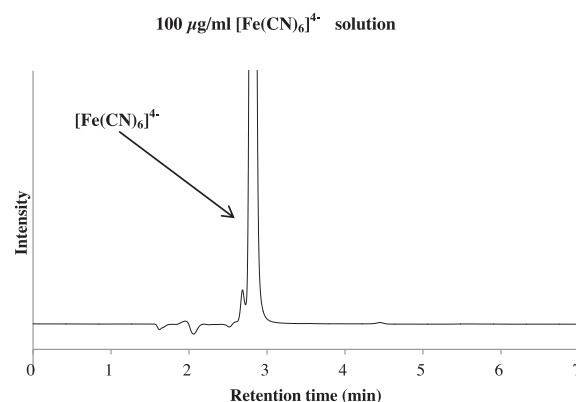


Fig. 3.

HPLC chromatogram of 100 μg/ml ferrocyanide anion ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ) solution. HPLC conditions: mobile phase: 40% acetonitrile in 25mM phosphate buffer (pH 7.0) containing 10mM TBA-P, wavelength: 215 nm.

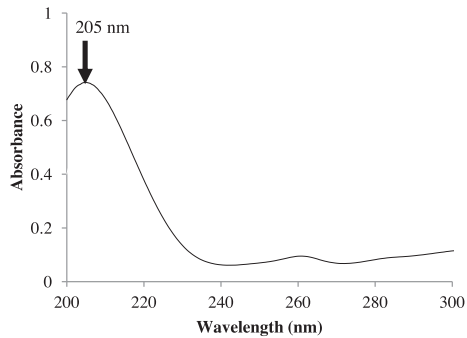


Fig. 4.

UV spectrum of 20 µg/ml ferrocyanide anion  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  solution.

移動相由来と思われる妨害ピークと重なってしまった。

そこで、フェロシアンイオンと妨害ピークが分離するように移動相のアセトニトリル濃度を35%に下げ、また検出波長をフェリシアン化カリウムの極大吸収である205nm (Fig. 4) とした条件③について検討した。

その結果、フェリシアン化カリウム溶液 (100 µg/ml) にフェロシアンイオンは検出されなかった (Fig.5 A)。また、2%フェリシアン化カリウム添加フェロシアン化カリウム溶液 (100 µg/ml) 中のフェロシアンイオンに移動相由来の妨害ピークが重ならず、単一のピークとして分析が可能であり、いずれのピークにおいても保持時間の変動は認められなかった (Fig.5 B, C)。さらに、フェロシアンイオンの感度は条件①で分析したときよりも向上した (Fig.2 C, Fig.5 C)。

以上の結果から、試験法として条件③を採用することとした。また、条件③でのフェロシアンイオン及びフェリシアンイオンの分離度を以下の式 (1) から求めたところ、分離度は13.37であり、良好な分離度が得られた。

$$Rs = 1.18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}} \quad (1)$$

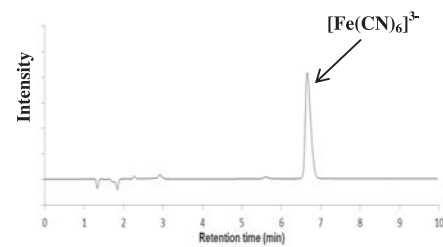
$t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ : 分離度測定に用いる二つの物質の保持時間。ただし、 $t_{R1} < t_{R2}$

$W_{0.5h1}$ ,  $W_{0.5h2}$ : それぞれのピークの高さの midpoint におけるピーク幅 (半値幅)

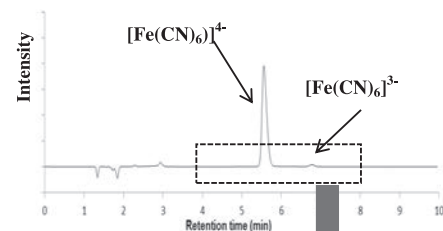
### 3.2 試験溶液濃度の設定

現行法では、フェロシアン化物 1mg/ml 水溶液 1滴 (フェロシアン化物 50 µg 相当) に硝酸鉛溶液 (1→100) 1滴及びベンジジン飽和酢酸溶液を滴下し、青色を呈することとされている。定性試験におけるフェロシアンイオンの検出限界はフェリシアン化カリウムとして 1 µg とされており<sup>11)</sup>、現行法でのフェロシアン化物に対する検

### A 100 µg/ml $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ solution



### B 100 µg/ml $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ + 2% $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ solution



### C

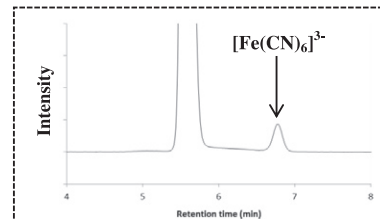


Fig. 5.

HPLC chromatograms of (A) 100 µg/ml ferricyanide anion  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  solution; (B) 100 µg/ml ferrocyanide anion  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  solution fortified with 2%  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ; and (C) an enlarged view of  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  peak in Fig. 4(B). HPLC conditions: mobile phase: 35% acetonitrile in 25 mM phosphate buffer (pH 7.0) containing 10 mM TBA-P, wavelength: 205 nm.

出限界は 1 µg/50 µg, すなわち 2% 相当となる。そこで、HPLC法による分析の際もフェロシアン化カリウム中のフェリシアン化カリウムとして 2% 以上の含量 (濃度) を分析可能にするように検討した。

条件③でのフェリシアン化カリウムの定量下限 ( $S/N > 10$ ) を求めたところ、2 µg/ml であったことから、HPLC分析におけるフェロシアン化物の試験溶液濃度を 100 µg/ml とした。

### 3.3 添加回収試験

フェロシアン化カリウム及びフェロシアン化ナトリウムに、それぞれフェリシアン化カリウムを 2% 添加し添加回収試験を行ったところ、平均回収率及び標準偏差はそれぞれ  $100.1 \pm 2.6\%$  ( $n=6$ ) 及び  $104.0 \pm 0.8\%$  ( $n=3$ ) であり、回収率、測定値の変動とも良好であった (Table 1)。

**Table 1.**

Recovery test for ferricyanide ions in potassium or sodium ferrocyanide

Ferrocyanide	Recovery(%)
Potassium Ferrocyanide (n=6)	103.7
	101.2
	99.8
	98.2
	96.2
	101.5
Sodium Ferrocyanide (n=3)	103.9
	103.2
	104.9

### 3.4 おわりに

本研究において、フェロシアン化物の純度試験において、有害試薬であるベンジジンを使用しないフェリシアン化塩試験法を確立した。本法は安全性の高い試験法であることから食品添加物公定書の規格試験法として適切な方法であると考えられた。

### 引用文献

- 1) Compendium of food additive specification, Combined specifications from the first to the thirty-seventh meeting 1956-1990, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Vol.1, pp. 651 (1981)
- 2) COMMISSION DIRECTIVE 2008/84/EC, Official Journal of the European Union, <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:253:0001:0175:EN:PDF> (2016.5.13 accessed)
- 3) Code of Federal Regulation, Title 21, Section 172.490, Yellow prussiate of soda
- 4) 食発第0801001号, 食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件について (平成14年8月1日), 厚生労働省 (2002)
- 5) 高木誠司著, 新訂定性分析化学, 中巻・イオン反応編, 南江堂, 東京, pp348, pp559 (1990)
- 6) 第8版食品添加物公定書 厚生労働省 (2007)
- 7) Benzidine IARC Monographs 100F:53-63. (2012) <https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-7.pdf> (2016.5.13 accessed)
- 8) 労働安全衛生法 (昭和47年6月8日法律第57号) <http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S47/S47HO057.html> (2016.5.13 accessed)
- 9) 「イオンペア試薬を用いたHPLCによるフェロシアン化カリウムとフェリシアン化カリウムの分析」L-column2 ODS Application No.2026 (財) 化学物質評価研究機構 [http://www.cerij.or.jp/service/09\\_chromatography/L-column\\_application\\_data/L2026.pdf](http://www.cerij.or.jp/service/09_chromatography/L-column_application_data/L2026.pdf) (2016.5.23 accessed)
- 10) EPA Method 9015 METAL CYANIDE COMPLEXES BY ANION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY AND UV DETECTION <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/EPA-Method-9015.pdf> (2016.5.23 accessed)
- 11) 石館守三著, 微量定性分析 理論と実験, 南山堂, 東京, pp264 (1979)

## β-アポ-8'-カロテナールの純度試験（副成色素）に関する検討

古庄紀子, 建部千絵, 久保田浩樹, 多田敦子, 穂山浩, 佐藤恭子<sup>#</sup>

### Study on the test method of subsidiary colors in the β-apo-8'-carotenal food additive

Noriko Furusho, Chiye Tatebe, Hiroki Kubota, Atsuko Tada,  
Hiroshi Akiyama, Kyoko Sato<sup>#</sup>

β-Apo-8'-carotenal is a carotenoid with an aldehyde group and is used worldwide as a food colorant. To establish the Japanese specification of β-apo-8'-carotenal as a food additive, we examined the HPLC method for the determining the subsidiary colors in β-apo-8'-carotenal, based on the specification by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). We developed an HPLC method for determination of subsidiary colors in a β-apo-8'-carotenal product, using improved HPLC conditions and an endcapped hexadecylamidopropylsilylated silica gel column. The results show that the subsidiary colors in a β-apo-8'-carotenal product, which include β-carotene, can be detected based on the appropriate peak shape and determined within 45 min on the HPLC chromatogram. The total amount of subsidiary colors in the product was 1.0 %, which is less than the maximum level (3 %) specified by JECFA. The HPLC method developed in this study to analyze the subsidiary colors in β-apo-8'-carotenal was adopted as the test method for the specification of β-apo-8'-carotenal which was designated as a food additive in Japan in 2014.

Keywords: β-apo-8'-carotenal, subsidiary colors, HPLC, colorant, food additive

#### 1. 緒言

β-アポ-8'-カロテナール (Fig. 1) は、アルデヒド基を有するカロテノイドであり、天然には緑黄色野菜や果物などに微量ではあるが存在する<sup>1)</sup>。また、β-カロテンがビタミンAに代謝される経路における中間代謝物の一つとして知られている<sup>2)</sup>。米国では、製造バッチごとの検定証明書の取得が不要な着色料として認められており、その使用基準は、固形及び半固形食品では1ポンド (約0.45kg) あたり、液状食品では1パイント (約0.47 L) あたり、15mgを超えない範囲と規定されている<sup>3)</sup>。欧州連合 (European Union : EU) では、β-アポ-8'-カロテナール単独もしくは他の特定の着色料との組み合わせ

で食品の種類ごとに使用基準が定められており<sup>4)</sup>、固形及び半固形食品では50～500mg/kg、液状食品では100～200mg/Lと上限が規定され、プロセスチーズ、菓子、アイスクリーム、スープ、ワインなどの色づけに使用されている<sup>4)</sup>。

β-アポ-8'-カロテナールは、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : JECFA) で安全性が評価されており、かつ、米国及びEU諸国等で使用が広く認められており、国際的に汎用性が高いと考えられる食品添加物 (国際汎用添加物) の一つである。国際汎用添加物については、国が主体的に指定に向けた検討を行うこととされていることから、β-アポ-8'-カロテナールのJECFAにおける

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:  
Kyoko Sato; Division of Food Additives, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-9484; Fax: +81-3-3700-6950; E-mail: ksato@nihs.go.jp

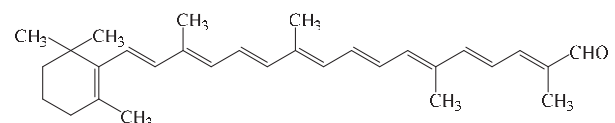


Fig. 1. Structure of β-apo-8'-carotenal



規格(JECFA規格)<sup>5)</sup>を参考に成分規格案を検討した。成分規格の純度試験の設定において、「副成色素」の試験を検証したところ、ピーク形状や分析時間等に問題点があり、JECFA規格からの変更が必要であった。そこで、本研究では、JECFA規格に記載されている方法を参考にして、β-アポ-8'-カロテナールの成分規格の「副成色素」分析法を開発した。本検討結果は、2014年6月18日に告示されたβ-アポ-8'-カロテナールの成分規格の基礎データとした<sup>6)</sup>。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料

β-アポ-8'-カロテナールは(一財)日本食品添加物協会を通じて入手した企業提供品(1社1製品)を用いた。

### 2.2 試薬

β-カロテン、テトラヒドロフラン、酢酸アンモニウム及びジブチルヒドロキシルエン(BHT)は和光純薬工業製特級品を、メタノール及びアセトニトリルはMerck社製液体クロマトグラフィー用グラジエントグレードを、2-プロパノール、エタノール及びギ酸は和光純薬工業製高速液体クロマトグラフ用を、*N*-エチルジイソプロピルアミンは関東化学(株)製を使用した。水は超純水製造装置(Millipore製Milli-Q<sup>®</sup> Gradient A10型)により精製した比抵抗値18.2MΩ・cm以上の純水を用いた。

### 2.3 装置

高速液体クロマトグラフは、Agilent製HPLCシステム1200 Infinityシリーズ(デガッサー:1260 Hi Pデガッサー、送液ユニット:1260 Bi ポンプ、カラムオープン:1290サーモスタット、フォトダイオードアレイ検出器:1260 DAD、オートサンプラー:1260 Hi P ALS、システムコントローラー:1260 TCC)を使用した。

紫外可視分光光度計は、日本分光(株)製分光光度計V-560型を用いた。

### 2.4 試料液等の調製

β-アポ-8'-カロテナール10mgを量り、0.025w/v% BHT含有テトラヒドロフランを加えて溶かし、更に0.025w/v% BHT含有テトラヒドロフランを加えて100mlとし、この溶液1mlを取り、エタノールを加えて10mlとした液を試料液とした。別に、β-カロテン10mgを量り、同様にβ-カロテン溶液を調製した。

### 2.5 HPLC測定条件

非エンドキャップ型ヘキサデシルアミドプロピルシリル化シリカゲル(HDAPS)カラムはSupelco(Sigma-Aldrich)社製Supelcosil<sup>™</sup> Suplex<sup>™</sup> pkb-100(内径4.6mm、長さ250mm、粒子径5μm;米国薬局方(United States Pharmacopeia(USP))カラムL68<sup>7)</sup>相当品)を、エンドキャップ型HDAPSカラムはAscentis<sup>®</sup> RP-Amide(内径4.6mm、長さ250mm、粒子径5μm;USPカラムL60<sup>7)</sup>相当品)を、高度エンドキャッピング法により残存シラノール基を抑えたオクタデシルシリル化シリカゲル(エンドキャップ型ODS)カラムは(一財)化学物質評価研究機構製L-Column2 ODS(内径4.6mm、長さ250mm、粒子径5μm)を用いた。

移動相は、以下の2つの条件で検討した。

移動相①:2-プロパノール20mlにBHT 50mgを加えて溶かし、*N*-エチルジイソプロピルアミン0.2ml、0.2w/v%酢酸アンモニウム25ml、アセトニトリル455ml及びメタノール450mlを加えて混合し、室温まで戻した後、更にメタノールを加えて1000mlとした。

移動相②:2-プロパノール20mlにBHT 50mgを加えて溶かし、*N*-エチルジイソプロピルアミン0.2ml、0.2w/v%酢酸アンモニウム25ml、ギ酸1ml、アセトニトリル455ml及びメタノール450mlを加えて混合し、室温まで戻した後、更にメタノールを加えて1000mlとした。

その他の分析条件は以下の通りとした。

カラム温度:30℃、流速:0.6~1.5ml/min、測定波長:463nm、試料注入量:10μl

## 3. 結果及び考察

### 3.1 JECFA規格試験法の確認

β-アポ-8'-カロテナールのJECFA規格では、純度試験の副成色素(Subsidiary colouring matters)として、総色素中のβ-アポ-8'-カロテナール以外の色素を3%以下<sup>5)</sup>と定めている。

JECFA規格の試験法(JECFA法)では、HPLC(面積百分率法)を用いていることから、JECFA規格に規定されている分析条件(移動相:移動相①、カラム:Supelcosil<sup>™</sup> Suplex<sup>™</sup> pkb-100(内径4.6mm、長さ250mm、粒子径5μm)、流速:0.6ml/min)を用いて試料液及びβ-カロテン溶液について分析を行った。その結果、β-アポ-8'-カロテナールの保持時間は約12分、β-カロテンの保持時間は約32分となり、β-カロテンのピークが、β-アポ-8'-カロテナールのテーリング上に重なることが確認された。両化合物の保持時間は、JECFA法に規定された保持時間(β-アポ-8'-カロテナールの保持時間は7~9分、β-カロテンの保持時間は17.85~22.95分)より遅かった。そこで、流速を0.6ml/minから0.8

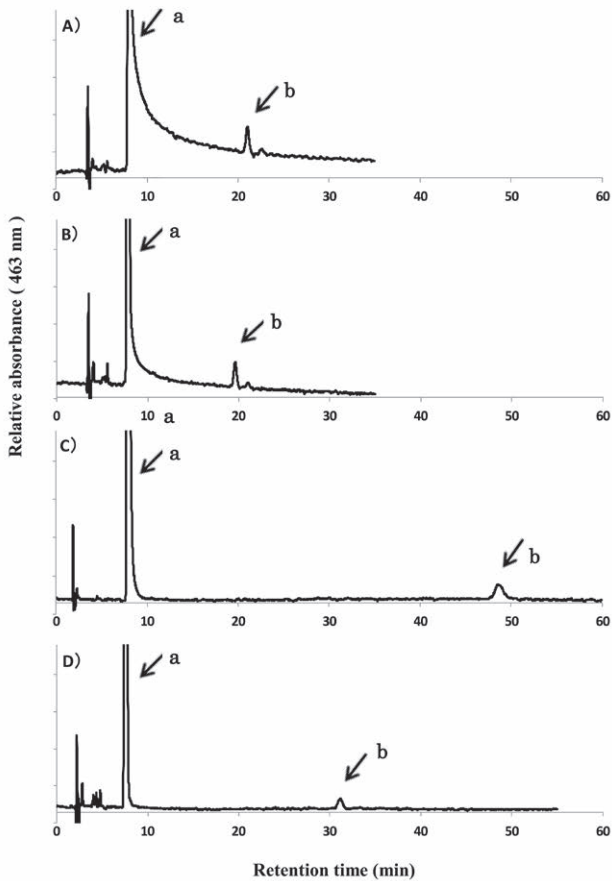


Fig. 2.

HPLC chromatograms of the  $\beta$ -apo-8'-carotenal sample solution using different HPLC methods for subsidiary colors

A) JECFA method at the 74th meeting in 2011

Mobile phase: mobile phase ① (without formic acid), column: Suplex<sup>TM</sup> pkb-100 (4.6mm i.d.  $\times$  250mm, 5 $\mu$ m), column temperature: 30°C, flow rate: 0.8ml/min, detection wavelength: 463nm

B) Method using a mobile phase with formic acid

Mobile phase: mobile phase ② (with 0.1vol % formic acid), column: Suplex<sup>TM</sup> pkb-100 (4.6mm i.d.  $\times$  250mm, 5 $\mu$ m), column temperature: 30°C, flow rate: 0.8ml/min, detection wavelength: 463nm

C) Method using an ODS column

Mobile phase: mobile phase ① (without formic acid), column: L-column2 ODS (4.6mm i.d.  $\times$  250mm, 5 $\mu$ m), column temperature: 40°C, flow rate: 1.5ml/min, detection wavelength: 463nm

D) Method using an endcapped column

Mobile phase: mobile phase ① (without formic acid), column: Ascentis<sup>®</sup> RP-Amide (4.6mm i.d.  $\times$  250mm, 5 $\mu$ m), column temperature: 30°C, flow rate: 1.2ml/min, detection wavelength: 463nm

a:  $\beta$ -Apo-8'-carotenal

b:  $\beta$ -Carotene

ml/minと変更したところ、 $\beta$ -アポ-8'-カロテナルの保持時間は約9分、 $\beta$ -カロテンの保持時間は約20分となり、JECFA法に記載の保持時間範囲になった。この分析条件における試料液の結果 (Fig. 2-A) を用い、検出波長463nmにおいて35分までに検出されるピークを対象 (総カロテノイド) とし、総カロテノイド中の $\beta$ -アポ-8'-カロテナル以外のカロテノイドの量 (副成色素量) を面積百分率から求めたところ、平均5.2% (n=3) と、JECFA規格値上限<sup>5)</sup>の3%を超え、相対標準偏差も42%と高かった。これらの結果は、 $\beta$ -アポ-8'-カロテナルのピークがテーリングし、 $\beta$ -カロテンのピークがその上に重なったためと考えられ、分析法の変更が必要であると考えられた。 $\beta$ -アポ-8'-カロテナル及び他のカロテノイドのHPLCを用いた分析法については様々な報告<sup>8-11)</sup>がされているが、国際整合の観点から、JECFA規格法を基本とした分析条件の検討を行うこととした。

### 3.2 ギ酸を加えた移動相による分析法

JECFA法の移動相に0.1 vol%相当のギ酸を加えて分析を行うとピーク形状が良好になるという情報 (試料提供企業からの情報) があったため、0.1 vol%相当のギ酸を加え (移動相②)、流速0.8ml/minで分析を行ったところ、 $\beta$ -アポ-8'-カロテナルのテーリングは幾分解消され、副成色素量も平均1.2% (n=3) とJECFA規格値上限<sup>5)</sup>の3%以下となった (Fig. 2-B)。しかし、酸を加えることによりカロテノイドの特有の波長での吸収が低下し、その影響は含有置換基により異なる<sup>12)</sup>ことから、ギ酸を含む移動相 (移動相②) 中ではカロテノイド間の吸光度比が移動相①の場合と異なる可能性が考えられた。そこで、JECFA法の移動相溶媒 (移動相①) 及びギ酸含有移動相溶媒 (移動相②) の各々に $\beta$ -アポ-8'-カロテナルまたは $\beta$ -カロテンを個々に2 $\mu$ g/mlの濃度で溶解した溶液について、紫外可視分光光度計を用いて、HPLC分析条件と同じ測定波長463nmにおける、 $\beta$ -アポ-8'-カロテナルに対する $\beta$ -カロテンの吸光度比の経時変化 (遮光、室温下) を調べた。その結果 (Fig. 3)、JECFA法の移動相溶媒 (移動相①, Fig. 3-A) では吸光度比がほぼ一定なのに対し、ギ酸含有移動相溶媒 (移動相②, Fig. 3-B) では、溶解5分後より吸光度比が減少した。 $\beta$ -カロテンの保持時間は約20分であるため、分析中に $\beta$ -アポ-8'-カロテナルに対する $\beta$ -カロテンの量が減少し、副成色素量が低く算出される可能性があり、正確な副成色素量を求めることが困難と判断された。したがって、移動相にはギ酸を加えず、JECFA法記載通りのものを用いることとし、他の分析条件の変更を検討することとした。

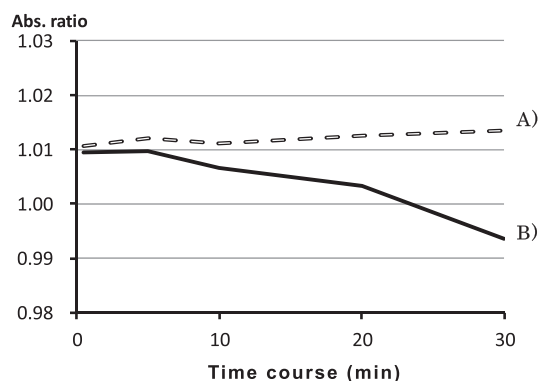


Fig. 3.

Ratio of absorbance at 463nm of β-carotene to that of β-apo-8'-carotenal in different mobile phases

A) Mobile phase ① (without formic acid)

B) Mobile phase ② (with 0.1vol% formic acid).

### 3.3 エンドキャップカラムによる分析法

JECFA法の分析条件及び流速を速くした条件 (Fig. 2-A) でテーリングが見られたのはβ-アポ-8'-カロテナールのピークのみであり、β-カロテンでは観察されなかった。JECFA法に規定されているカラムはシリカゲルにアルキルアミド基を化学結合させた際にエンドキャッピングを施していない。特定の化合物に限定してテーリングの症状が見られる場合、残存シラノール基に対する相互作用がテーリングの要因として考えられることから、今回の分析におけるβ-アポ-8'-カロテナールについても同様の事が懸念された。そこで、β-アポ-8'-カロテナールのテーリングを解消するため、分析用カラムをエンドキャップ型ODSカラムやエンドキャップ型HDAPSカラムに変更して再度検討を行った。

エンドキャップ型ODSカラム (L-Column2 ODS) を用い、JECFA法の分析条件を基本とし、流速を0.8ml/min、カラム温度を40℃に変更して分析したところ、β-アポ-8'-カロテナールのテーリングはほぼ解消されたが、その保持時間は約15分で、β-カロテンは試料注入後80分までに溶出されなかった。更に流速を1.5ml/minと速くしたところ (Fig. 2-C)、β-アポ-8'-カロテナールの保持時間は約8分となり、JECFA法記載の保持時間範囲となったが、β-カロテンは約48分と、溶出に時間を要した (Fig. 2-C)。更に移動相のメタノール/アセトニトリルの割合を変更して検討したが、β-カロテンの保持時間は顕著に短くならなかった。

また、エンドキャップ型HDAPSカラムを用い、JECFA法と同条件 (移動相①) で分析を行ったところ、β-アポ-8'-カロテナールのテーリングはほぼ解消され、保持時間は約15分、β-カロテンの保持時間は約62分となった。そこで、β-アポ-8'-カロテナールの保持時間を

7～9分にするため、流速を0.6ml/minから1.2ml/minと変更したところ (Fig. 2-D)、β-アポ-8'-カロテナールの保持時間は7.5分とJECFA法記載の保持時間範囲となり、また、β-カロテンの保持時間は31.1分とJECFA法に規定された保持時間より若干長いものの、改善が見られ、両化合物のピーク形状も問題が無く、良好なクロマトグラムが得られた (Fig. 2-D)。この条件で試料液を分析したところ、副成色素量は平均1.0% (n=3) とJECFAの規格値上限<sup>5)</sup>の3%以下であり、相対標準偏差は9.5%と比較的良好な結果が得られた。β-アポ-8'-カロテナールの副成色素分析法として良好に分析可能であることが示された。

### 4. まとめ

国際汎用添加物としてβ-アポ-8'-カロテナールの規格を設定するため、純度試験の中の副成色素試験の検討を行った。JECFA法では、シリカ担体の表面にアルキルアミド基を修飾させ、エンドキャッピングを施さない非エンドキャップ型HDAPSカラムを規定していたが、主成分であるβ-アポ-8'-カロテナールのテーリングが見られ、副成色素の量が規格値を超える結果となった。原因と考えられるピークのテーリングを解消することを目的として、JECFA法を基本とし、様々な検討を行った結果、JECFA法で規定していたタイプの担体にエンドキャッピングを施したエンドキャップ型HDAPSカラムを用いることで、ピーク形状や保持時間の問題が解消され、良好な結果が得られた。

本研究で得られた結果により、エンドキャップ型HDAPSカラムを用いたβ-アポ-8'-カロテナール中の副成色素量の分析法を確立した。確立した分析法は、β-アポ-8'-カロテナールの国内成分規格の純度試験に採用することが決定された<sup>6)</sup>。

### 引用文献

- 1) Mueller L, Boehm V: *Molecules* 2011;16:1055-69.
- 2) 高市真一, 三宅守, 富田純史: “カロテノイド—その多様性と生理活性—”, 裳華房, 東京, pp.69-70 (2006)
- 3) Electronic Code of Federal Regulations, Title 21, Chapter I, Subchapter A, Part 73, subpart A, § 73.90, β-Apo-8'-carotenal  
[http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=1f50be4a451f04ac26bb1e0919bce572&mc=true&node=se21.1.73\\_190&rgn=div8](http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=1f50be4a451f04ac26bb1e0919bce572&mc=true&node=se21.1.73_190&rgn=div8)
- 4) The European Parliament and the Council of the EU: Official Journal of the European Communities, 1994; L237:13-29.  
(<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/>

- ?uri=OJ:L:1994:237:TOC)
- 5) JECFA, "Compendium of Food Additive Specifications, Monograph 11",  $\beta$ -Apo-8'-carotenal, WHO/FAO, Rome, pp.21-4 (2011)  
([http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/jecfa\\_additives/docs/monograph11/additive-111-m11.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monograph11/additive-111-m11.pdf))
  - 6) 食安発0618第1号, 食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件について (平成26年6月18日), 厚生労働省 (2014)
  - 7) USP, "United States Pharmacopeia 39", Chromatographic Columns, the United States Pharmacopeial Convention, Maryland, pp.2187-8 (2016)
  - 8) Brulc L, Simonovska B, Vovk I, Glavnik V: *J Chromatogr A*. 2013;1318:134-41.
  - 9) Mitrowska K, Vincent U, von Holst C: *J Chromatogr A*. 2012;1233:44-53.
  - 10) Breithaupt DE: *Food Chemistry* 2004;86:449-56.
  - 11) Scotter MJ, Castle L, Croucher JM, Olivier L: *Food Addit Contam.* 2003;20:115-26.
  - 12) Mortensen A, Skibsted LH: *J Agric Food Chem.* 2000;47:279-86.

## 国立衛研 違法ドラッグデータ閲覧システムについて

田中理恵, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 瀬川勝智, 中野達也, 斎藤嘉朗, 緒方潤,  
最所和宏, 花尻 (木倉) 瑠理#, 袴塚高志

### Data search system for new psychoactive substances provided by the National Institute of Health Sciences in Japan

Rie Tanaka, Maiko Kawamura, Nahoko Uchiyama, Katsunori Segawa, Tatsuya Nakano, Yoshiro Saito,  
Jun Ogata, Kazuhiro Saisho, Ruri Kikura-Hanajiri#, Takashi Hakamatsuka

In the last few decades, many analogs of narcotic substances were widely distributed in Japan as easily available psychoactive substances and became a serious problem. To counter the spread of these new psychoactive substances (NPS), the Pharmaceutical Affairs Law in Japan was amended in 2006 to establish a new category, "Designated Substances (Shitei-Yakubutsu)" in order to more promptly control them. However, new analogs of controlled substances, especially synthetic cannabinoids and cathinone derivatives, have appeared continuously. Because information sharing among laboratories is the key to a fight against these NPS, we opened "Data Search System for New Psychoactive Substances (NPSDB)" (<http://npsdb.nihs.go.jp/Search/>) on the web site in March 2014. This NPSDB provides information on products of NPS sold in Japan, as well as analytical data (such as spectra of GC-MS and LC-PDA-MS) and the pharmacological properties of NPS detected in the products. This database is available in both English and Japanese. As of April 2016, 710 NPSs and 2,128 products are listed in this database, and more than 300 laboratories or offices, including international organizations, are registered. To avoid health problems and abuse caused by NPS, we have to continuously monitor the distribution of these substances.

Keywords: Database, New Psychoactive Substances, Designated Substances

#### 1. はじめに

日本において、危険ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) 含有製品の流通は1990年代後半頃より報告されている。2011年頃からは、危険ドラッグが関与する救急搬送事例や自動車事故の報告が増加し深刻な社会問題となった。これまでに危険ドラッグの社会への蔓延を防ぐために、地方自治体や国により様々な対策がなされてきた。

2006年6月に薬事法 (現在は医薬品医療機器等法) が改正され指定薬物制度が導入されて、2007年4月に最初

に31化合物が指定薬物として指定された。その後、一時期危険ドラッグ流通は減少したが、2008年頃から乾燥植物細片にカンナビノイド受容体に対し強い親和性を有する化合物群 (合成カンナビノイド) が添加された、いわゆる「脱法ハーブ」と呼ばれる製品の流通が問題となった。2014年6月には東京の池袋で「脱法ハーブ」を吸引した運転手による自動車の暴走事件がおこり1人が死亡、6名が重軽傷を負った。これが契機となり、これまで以上に危険ドラッグに対する規制が強化され、翌月の2014年7月には指定薬物制度下、事件に関与した危険ドラッグ製品に含まれていた2化合物に対して初の緊急指定が実施された。以降、指定薬物として規制される化合物数は増加し、2016年4月時点で個別に規制されている指定薬物は239化合物となった。また、その他、2013年3月に合成カンナビノイドの包括規制 (770化合物)、2014年1月、2015年5月に2回にわたりカチノン類の包括規制 (計1334化合物) が行われた。さらに、これま

# To whom correspondence should be addressed:

Ruri Kikura-Hanajiri; Division of Pharmacognosy, Phytochemistry and Narcotics, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-03-3700-8764; Fax: 03-3707-6950; E-mail: kikura@nihs.go.jp

で22化合物が指定薬物から麻薬へと規制強化された。

危険ドラッグに含まれる化合物を指定薬物として規制すると、その規制化合物の構造を一部変えた別の化合物が規制を逃れて新しく危険ドラッグ市場に出現する。これら続々と出現する化合物においては、試薬として流通していれば標準品として入手可能であるが、多くの場合、入手は困難であり、費用を差し置いたとしても、すべての指定薬物及び関連化合物の物性情報や分析データを個々の分析鑑定機関が独自に準備することは困難である。従って、国内外の研究機関の間で情報を公開し、共有化することが待望されていた。

国立衛研では、危険ドラッグ及び関連化合物に関するデータベースである「違法ドラッグデータ閲覧システム」を構築して2014年3月より公開している。この「違法ドラッグデータ閲覧システム」には2016年4月の時点で710化合物、2128製品が掲載され、海外の機関も含め306機関が登録している。本データ閲覧システムには、指定薬物やその構造類似化合物、また今後流通が予想される未規制化合物について、各化合物情報及び実測分析データを掲載するとともに、これまで国立衛研が入手した危険ドラッグ製品の含有化合物一覧が掲載され、内容が検索可能となっている。日本語とともに、英語でも利

用が可能である。

違法ドラッグデータ閲覧システムが公開されてから、2016年4月で2年が経過した。その間の利用状況や成果なども含めて以下に報告する。

## 2. 利用状況

違法ドラッグデータ閲覧システム <http://npsdb.nihs.go.jp/Search/> (以下、データシステム) は、ユーザーとして危険ドラッグ関連の業務・研究に携わる公的分析機関(都道府県の地方衛生研究所、税関、警察等)及び大学研究室(法医学教室等)に所属する人を対象としている。利用には事前の申請が必要で、承認後にアカウントとパスワードが発効される。

データシステムには、2016年4月時点で、国内277機関、海外29機関が登録している。国内の登録機関の内訳は、警察、税関、地方衛研が20%前後と同程度で、ついで各都道府県の薬務課、大学である (Fig. 1)。海外の機関には国連薬物犯罪事務所 (United Nations Office on Drug and Crime, UNODC) や欧州薬物・薬物依存監視センター (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA) も含む。

データシステム公開後2年間の利用状況について、月別のアクセス数を Fig. 2 に示した。2014年6月に前述の池袋の自動車暴走事件がおり、その後に行なわれた緊急指定を含む規制強化に伴いデータシステムへのアクセス数が増加した。特に2014年8～10月はひと月あたり1000件前後のアクセス数となり、一日に100件近いアクセスが認められた日もあった。2015年6月及び7月は、外部からのアクセスを一時期遮断していたために、利用数が減少している。2015年7月には、厚生労働省が国内の危険ドラッグ販売実店舗数がゼロとなったことを報告している。その頃から、データシステムへのアクセス数は減少しているが、2016年4月現在でも、毎月400件ほどのアクセスがある。

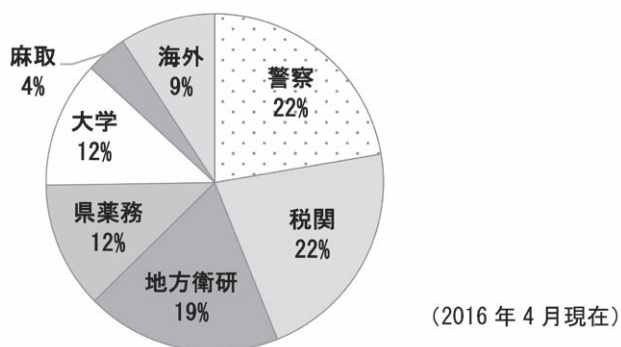


Fig. 1 違法ドラッグデータ閲覧システムの登録機関

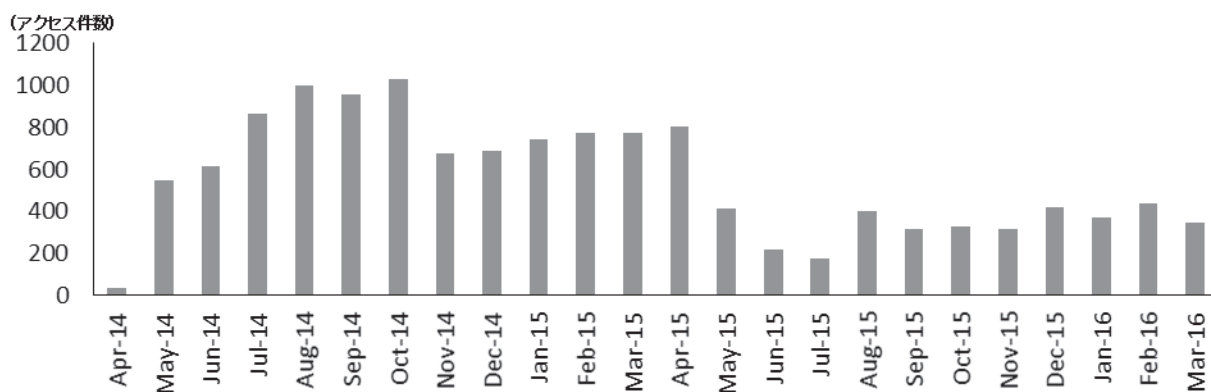


Fig. 2 違法ドラッグデータ閲覧システムへの月別アクセス件数

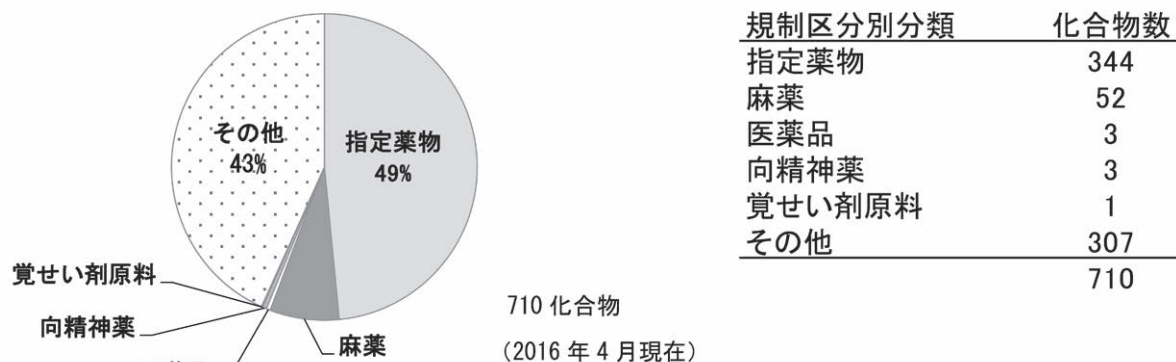


Fig. 3 違法ドラッグデータ閲覧システムに掲載されている化合物内訳（規制区分別）

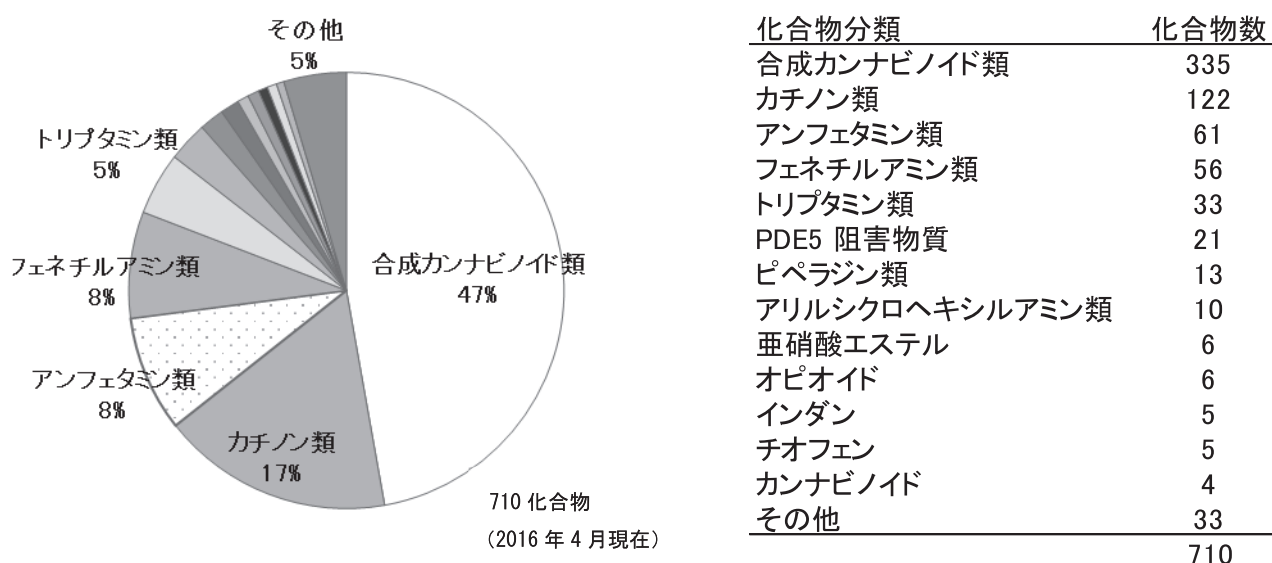


Fig. 4 違法ドラッグデータ閲覧システムに掲載されている化合物内訳（化合物種別）

### 3. 違法ドラッグデータ閲覧システムの構成

データシステムは主に化合物情報と製品情報のデータベースで構成されている。データベース作成は ChemBioFinder が用いられている。以下にデータシステムの掲載化合物と掲載含有製品について述べる。

#### 3-1. 掲載化合物について

データシステムには710化合物が掲載されている(2016年4月現在)。これらの化合物の内訳を規制区分別にみると、指定薬物がほぼ半数を占め、次に麻薬で、この中にはこれまでに指定薬物から麻薬へ指定強化された化合物を含む。未規制の化合物の中には、指定薬物の構造異性体、代謝物、分解物が含まれる。また、過去に強壮用健康食品などからの検出事例が報告されている ED 治療薬の構造類似化合物も含む (Fig. 3)。

化合物の分類についてみてみると、合成カンナビノイド類が最も多く、ほぼ半数を占めている。ついでカチノ

ン類、アンフェタミン類、フェネチルアミン類、トリプタミン類、ピペラジン類となっている。その他に分類した化合物には、近年流通が問題となっている向精神薬の構造類似化合物も含まれる (Fig. 4)。

これまでに個別指定された指定薬物はすべてデータシステムに収載しており、今後指定される化合物についても随時収載していく予定である。

#### 3-2. 掲載製品について

現在、データシステムには、2008年以降入手し、当所で分析した危険ドラッグ 2128 製品が掲載されている(2016年4月現在)。これらの内訳は形態別にみると、乾燥植物細片が最も多く、次いでいわゆるアロマリキッドなどの液体、パウダーと呼ばれる粉末の製品であり、これらで全体の99%を占める。その他の製品形態は、煙草状のもの、シート状の紙片、固形物や樹脂状のものがある。

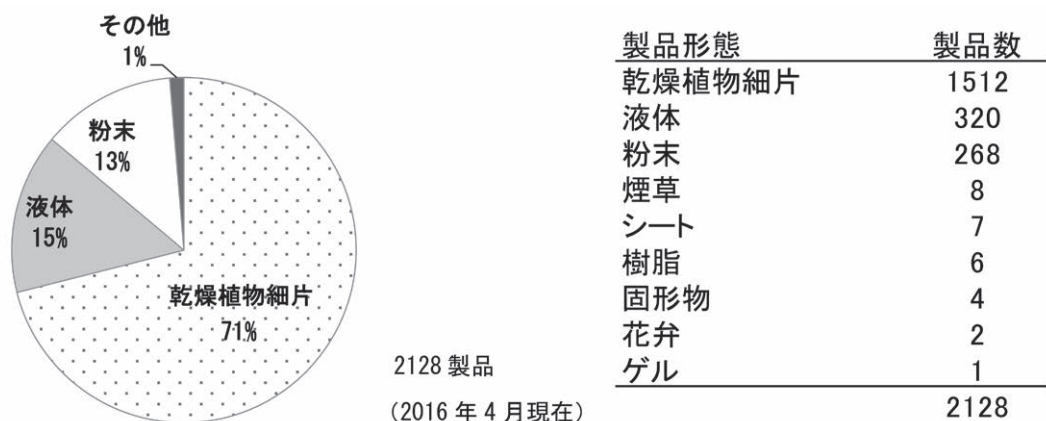


Fig. 5 違法ドラッグデータ閲覧システムに掲載されている危険ドラッグ製品の内訳

#### 4. 違法ドラッグデータ閲覧システムの機能について

データシステムは、主に掲載化合物一覧、掲載含有製品一覧、検索、化合物検索、化合物詳細データ、参考情報（指定薬物一覧、参考文献）の項目で構成されている。

##### 1) 掲載化合物一覧

掲載化合物一覧ではデータシステムに掲載された化合物の一覧が表示される。化合物のカテゴリ、化合物名、別名、IUPAC名、モノアイソトピック質量、規制区分、規制日、詳細データの項目があり、別名と詳細データ以外の項目について並び替えが可能である。各化合物について「詳細」をクリックすると後に説明する化合物詳細データのページが表示される。

##### 2) 掲載含有製品一覧

掲載含有製品一覧では製品の一覧が表示される。入手日、製品名、パッケージ名、形態、含有化合物、写真の項目があり、含有化合物と写真以外の項目で並び替えができる。含有される化合物のうちデータシステムに掲載されているものについては、クリックすることで、それぞれの化合物詳細ページが表示可能である。また「写真」をクリックすると、製品パッケージと内容物の写真を見ることが可能である。

##### 3) 検索

本データシステムにおいて、化合物検索と含有製品検索が可能である。化合物検索では化合物名、別名、CAS番号、分子式、分子量、モノアイソトピック質量、GC-MS、LC-MSのフラグメントイオンにより、候補化合物の検索ができ、分子量とモノアイソトピック質量は下限値と上限値で絞り込みができる。構造未知の危険ドラッグの構造推定に有効に使える。含有製品検索では、製品の名称、含有化合物名で、候補製品の検索ができる。

##### 4) 化合物詳細データ

化合物検索の検索結果から化合物詳細データの画面が別ウィンドウで開く。この画面は掲載化合物一覧から

も開く。化合物詳細データでは構造式をはじめ化合物の別名、IUPAC名、化合物分類、CAS番号、組成式、規制区分、規制日、試薬情報、文献情報などの基本情報を見ることができる。さらにGC-MSスペクトル及びLC-MSスペクトルのフラグメントイオン、UVスペクトルの極大波長等の分析データも記載されている。また「GC-MSスペクトル」、「LC-PDA-MSスペクトル」、「IRスペクトル」をクリックすると別ウィンドウで実測したスペクトルデータが表示される。またその化合物が検出された製品が登録されている場合、化合物詳細の検出含有製品数の「表示」から含有製品一覧を見ることが可能である。

##### 5) 参考情報

参考情報には指定薬物一覧と参考文献がある。指定薬物一覧では個別に指定された指定薬物、包括的に指定された指定薬物、また指定薬物から麻薬になった化合物が、規制日順に一覧表としてまとめられている。参考文献はこれまで国立衛研で報告した危険ドラッグ関連論文をまとめている。

#### 5. 新機能の追加

2016年3月に、これまでの使用経験やユーザーの要望をもとに、さらなる利便性の向上をめざしてシステムの機能の一部変更・追加を行なった。このうち最も大きな変更が「化合物スペクトルデータの並列表示」機能の追加である。化合物検索の検索結果の画面から表示したいスペクトルデータにチェックを入れ「スペクトル一覧表示」をクリックすると、同一画面上、選択した複数のデータが表示可能となった。これによりスペクトルデータの比較が容易になった。次に検索機能を向上させた。化合物検索と含有製品検索について検索名に記載されているスペース、ハイフン、ドット、カンマの検索枠が広がる仕様となり検索しやすくなった。その他、一部の画面表



### 化合物検索

化合物検索

化合物名:  (ex: A and B or C and D ...)

検索 クリア

化合物名	別名	IUPAC名	Monoisotopic Mass	規制区分	規制日	詳細データ	CG-MS スペクトル	LC-PDA-MS スペクトル	IRスペクトル
AB-CHMINACA		N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(cyclohexylmethyl)-1H-indazole-3-carboxamide	356.2212	Designated Substances	2014.07.25	詳細	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ADB-CHMINACA	MAB-CHMINACA	N-(1-amino-3,3-dimethyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(cyclohexylmethyl)-1H-indazole-3-carboxamide	370.2369	Designated Substances	2014.09.29	詳細	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CHMINACA-BA	MA-CHMINACA carboxylic acid isomer	1-(cyclohexylmethyl)-1H-indazole-3-carboxamide	357.2052	Designated Substances	2014.09.29	詳細	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MA-CHMINACA	AMB N-methylcyclohexyl analog	methyl 1-(cyclohexylmethyl)-1H-indazole-3-carboxylate	371.2065	Designated Substances	2015.1.5	詳細	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
				Designated Substances	2015.1.5	詳細	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

化合物詳細データ

化合物名: AB-CHMINACA

化合物名 (別名・通称):

化合物分類: Synthetic cannabinoids 規制区分: Designated Substances

規制日: 2014.07.25

販売会社/販売製品名/製品番号: Cayman/AB-CHMINACA/15434

GC-MSスペクトル  LC-PDA-MSスペクトル  IRスペクトル

GC-MSフラグメントイオン: m/z 241, 312, 145, 242, 313, 131, 55, 103, 246, 41

LC-MSフラグメントイオン: m/z 357, 340

極大波長: nm 303 nm

Marquis' Reagent Ehrlich Reagent Simon's Reagent Liebermann's Reagent Mandelin Reagent other reagents

検出含有製品数: 30 製品

GC-MS スペクトル

AB-CHMINACA

LC-PDA-MS スペクトル

AB-CHMINACA

### 含有製品検索

含有製品検索

含有製品名:  (ex: A and B or C and D ...)

化合物名:

検索 クリア

検索結果

No.	入手日	製品名	パッケージ名	形態	含有化合物	写真
1	2008	Spice diamond		Dried leaf (cutting)	Cannabicyclohexanol, 3-trans-Cannabicyclohexylphenol, $\alpha$ -Tocopherol	写真
2	2009.01.05	Spice diamond pipe		Dried leaf (cigarette)	Cannabicyclohexanol, 3-trans-Cannabicyclohexylphenol, $\alpha$ -Tocopherol	写真
3	2009.05.12	Spice diamond spirit		Dried leaf (cutting)	WH-018, $\alpha$ -Tocopherol	写真
4	2009.11.02	original diamond spirit		Dried leaf (cutting)	WH-073, $\alpha$ -Tocopherol	写真
5	2011.05.26	Original spice diamond		Dried leaf (cutting)	WH-203	写真

製品写真

Close

Fig. 6 違法ドラッグデータ閲覧システムの化合物検索と含有製品検索

示の変更や更新履歴の表示機能追加等を行なった。またこれまで公開していなかったIRスペクトルデータについて、財務省関税中央研究所よりデータの提供を受け、

GC-MSやLC-PDA-MSのスペクトルデータと同様に、化合物詳細画面や検索結果の画面から表示が可能となるように機能追加を行った。

## 6. 今後の予定

データシステム公開後、2014年度に95化合物、2015年度には63化合物と包括827化合物が、指定薬物に追加された。2014年度以降の規制・取締り強化により、危険ドラッグ流通は減少したが、インターネット販売等が消失したわけではない。今後も危険ドラッグの新規出現を継続的に監視し、それらの化合物情報及び分析データについて、データシステムに収載して活用できるようにしていく予定である。また引き続きシステムの機能改善、掲載項目の追加も検討していく予定である。これにはユーザーからの意見も反映させていきたいと考えている。

最後にこの違法ドラッグデータ閲覧システムが危険ドラッグ並びにその他の違法薬物の社会への蔓延を防ぐ一助となることを切に望む。

## 謝辞

本データシステム構築にご協力いただいた株式会社ビューリンクスに深謝します。

## Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (II)

Mika Takahashi, Mariko Matsumoto, Takashi Yamada,  
Atsushi Ono, Akihiko Hirose<sup>#</sup>

Under the Chemical Substances Control Law in Japan, initial hazard information on existing chemical substances is collected by the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan to assess potential initial risks to human health. This hazard information includes acute toxicity, repeated-dose toxicity, genotoxicity, and/or reproductive/developmental toxicity. In an attempt to disseminate such information more widely, we have been reporting this information. In the present report, a summary of hazard information is presented for the following five existing chemical substances: 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone (CAS: 31127-54-5); 1-propene, tetramer (CAS: 6842-15-5); 4-chlorobenzaldehyde (CAS: 104-88-1); diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate (CAS: 3012-65-5); and 2-nitro-p-cresol (CAS: 119-33-5). Additionally, we created a dossier for the clarification and evaluation of each study in English using the International Uniform Chemical Information Database version 5.

Keywords: hazard assessment, human health, IUCLID, dossier, JECDB

### Introduction

Under the Chemical Substances Control Law (CSCL) in Japan, initial hazard information on existing chemical substances is collected by the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW), Japan to assess potential initial risks to human health<sup>1)</sup>. This hazard information includes acute toxicity, repeated-dose toxicity, genotoxicity, and/or reproductive/developmental toxicity. Safety information obtained is essential for not only CSCL assessments but also safe handling of chemicals by users. We had reviewed these toxicity studies and submitted the initial risk assessment documents for 5-10 chemical substances per year to the OECD Cooperative Chemicals Assessment Programme (CoCAP). Although initial risk assessments for chemical substances ended at the CoCAP in 2014, toxicity studies on existing chemical substances are kept on conducting by MHLW. It is necessary to promote a wider dissemination of such information to

the public. Thus, we have continued to develop hazard assessments for the existing chemical substances targeted by MHLW, and we have been reporting this information<sup>2)</sup>. In the present report, as a contribution to our ongoing hazard assessment study, we present a summary of the hazard information related to the potential human health effects of the following five chemical substances: 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone (CAS: 31127-54-5); 1-propene, tetramer (CAS: 6842-15-5); 4-chlorobenzaldehyde (CAS: 104-88-1); diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate (CAS: 3012-65-5); and 2-nitro-p-cresol (CAS: 119-33-5).

Additionally, we created a dossier (a collection of study data containing a detailed summary of the methods, results, and conclusions of each study) for the clarification and evaluation of each study. Each dossier is written in English using the International Uniform Chemical Information Database (IUCLID) version 53). The IUCLID dossiers for these chemical substances will be available from the Japan Existing Chemical Data Base (JECDB)<sup>1)</sup>.

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

Akihiko Hirose; Division of Risk Assessment National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel:+81-3-3700-9878 Fax:+81-3-3700-1408 E-mail: hirose@nihs.go.jp

### (1) 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone (CAS: 31127-54-5)

The acute oral median lethal dose (LD<sub>50</sub>) for 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone was established at > 2,000 mg/kg body weight (bw) in female rats on the basis

of a study conducted according to the Organisation for Economic Co-operation and Development Test Guideline (OECD TG) 423. The substance caused no deaths or clinical signs of toxicity at 2,000 mg/kg bw.

A combined repeated oral dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test was performed according to OECD TG 422. Male and female rats (12 animals/sex/dose) were administered 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone at 0, 100, 300, and 1,000 mg/kg bw/day. Males were dosed for 42 days, including a 14-day pre-mating and mating periods; females were dosed for 41–45 days, including a 14-day pre-mating, mating, and gestation periods and the time until day 4 of lactation. In addition, male and female rats (five animals/sex/dose) were administered 0 and 1,000 mg/kg bw/day for 42 days without mating and examined after a 14-day recovery period. At 1,000 mg/kg bw/day, one female died on day 0 of lactation, salivation was observed in males and a decreased body weight gain was observed in both sexes. Regarding hematology parameters, anemia was observed at the same dose in males. Clinical chemistry studies demonstrated increased inorganic phosphorus at 300 mg/kg bw/day and higher in males. In the thymus, decreased organ weight and atrophy were observed at 300 mg/kg bw/day and higher in females. In the cecum, single cell necrosis of mucosal epithelial cells and diffuse mucosal hyperplasia were observed at 100 mg/kg bw/day and higher in both sexes. In the liver, in both sexes, increased organ weight at 1,000 mg/kg bw/day and decreased vacuolation of the peribular hepatocytes in a dose-dependent manner at 300 mg/kg bw/day and higher was observed. These changes tended to resolve after the recovery period. On the basis of the findings in the cecum, the lowest observed adverse effect level (LOAEL) for repeated-dose toxicity of 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone was determined to be 100 mg/kg bw/day in male and female rats.

In a bacterial reverse mutation assay using *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, and TA1537 and *Escherichia coli* WP2uvrA (similar to OECD TG 471), 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone was negative with or without metabolic activation. An *in vitro* chromosomal aberration test using CHL/IU cells (OECD TG 473) showed positive; however, an *in vivo* micronucleus study (OECD TG 474) showed negative up to the limit dose (2,000 mg/kg bw/day for 2 days) in mice. On the

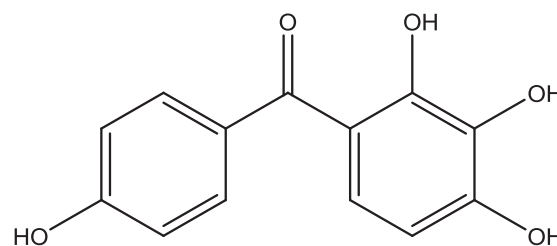


Fig. 1. Structure of 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone

basis of these results, 2,3,4,4'-tetrahydroxybenzophenone was regarded as non-genotoxic *in vivo*.

In the aforementioned combined repeated oral dose toxicity study (0, 100, 300, and 1,000 mg/kg bw/day) with the reproduction/developmental toxicity screening test (OECD TG 422), no effects were found on reproductive parameters up to 1,000 mg/kg bw/day. The body weights of male and female pups decreased on postnatal day (PND) 4 at 300 mg/kg bw/day and higher, with decreased body weights observed for both sexes on PND 0 at 1,000 mg/kg bw/day. The no observed adverse effect levels (NOAELs) for rat reproductive toxicity and developmental toxicity were determined to be 1,000 mg/kg bw/day and 100 mg/kg bw/day, respectively.

## (2) 1-Propene, tetramer (CAS: 6842-15-5)

The acute oral LD<sub>50</sub> of 1-propene, tetramer was >2,000 mg/kg bw in female rats based on a study conducted according to OECD TG 423. No deaths were observed at 2,000 mg/kg bw. This substance at 300 mg/kg bw caused diarrhea and at 2,000 mg/kg bw caused decreased locomotor activity, diarrhea, and soiled perineal region.

A combined repeated oral dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test was performed according to a Japanese guideline (similar to OECD TG 422). Male and female rats (12 animals/sex/dose) were administered 1-propene, tetramer at 0, 40, 150, and 600 mg/kg bw/day. Males were dosed for 42 days, including a 14-day pre-mating and mating periods. Females were dosed for 40–45 days, including a 14-day pre-mating, mating, and gestation periods and the time until day 4 of lactation. Five out of 12 males with administered doses of 0 and 600 mg/kg bw/day were evaluated as a 14-day recovery group. In addition, 10 females/dose were administered 0 and 600 mg/kg bw/day for 42 days without mating; they

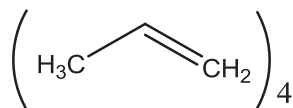


Fig. 2. Structure of 1-propene, tetramer

were examined after the administration period or after a 14-day recovery period. Regarding hematology parameters, anemia was observed at 150 mg/kg bw/day and higher in males, with decreased red blood cell counts at 600 mg/kg bw/day in females without mating. In the kidney, in males,  $\alpha$ 2u-globulin nephropathy was observed at 40 mg/kg bw/day and higher, with increased kidney weight at 40 mg/kg bw/day and higher and basophilic changes in the tubular epithelium at 150 mg/kg bw/day and higher. Furthermore, necrosis of the tubular epithelium, increased blood urea nitrogen level, and round epithelial cells in urinary sediments were observed in males at 600 mg/kg bw/day. These effects were considered to be caused by  $\alpha$  2u-globulin accumulation in the kidney as male rat specific disease, and were not relevant in human health. In the liver, in both sexes, increased liver weight was observed at 150 mg/kg bw/day and higher, with centrilobular hepatocytes hypertrophy at 600 mg/kg bw/day. Furthermore, increases in the  $\alpha$ 2-globulin fraction,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, and total cholesterol levels and a decrease in glucose level were observed at 600 mg/kg bw/day in both sexes. In the thyroid, in females, increased thyroid weight and hypertrophy of follicular cells were observed at 600 mg/kg bw/day, with thyroxin level increasing after the recovery period at this dose. Hematology, kidney, and liver, but not thyroid, changes tended to resolve after the recovery period. On the basis of anemia in males and increased liver weight in both sexes, NOAEL for repeated-dose toxicity was determined to be 40 mg/kg bw/day in male and female rats.

In a bacterial reverse mutation assay using *S. typhimurium* TA100, TA1535, TA98, and TA1537 and *E. coli* WP2uvrA (similar to OECD TG 471), 1-propene, tetramer was negative with and without metabolic activation. An *in vitro* chromosomal aberration test using CHL/IU cells (OECD TG 473) showed negative result with and without metabolic activation. On the basis of these results, 1-propene, tetramer was regarded as non-genotoxic *in vitro*.

In the aforementioned combined repeated oral dose toxicity study (0, 40, 150, and 600 mg/kg bw/day) with the reproduction/developmental toxicity screening test (OECD TG 422), no effects of this substance on reproductive and developmental parameters were observed at 600 mg/kg bw/day. NOAEL for the rat reproductive/developmental toxicity of 1-propene, tetramer was determined to be 600 mg/kg bw/day, the highest dose tested.

### (3) 4-Chlorobenzaldehyde (CAS: 104-88-1)

In a 28-day repeated-dose toxicity test performed according to OECD TG 407, male and female rats (6 animals/sex/dose) were administered 4-chlorobenzaldehyde at 0, 8, 40, 200, and 1,000 mg/kg bw/day. In addition, both sexes (6 animals/sex/dose) were administered 0 and 1,000 mg/kg bw/day of this substance for 28 days and examined after a 14-day recovery period. At 1,000 mg/kg bw/day, transient salivation and tremors were observed in both sexes, decreases in body weight gain and grip strength of forearms were observed in males, and a decrease in the locomotor activity was observed in females. At this dose, increases in serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase levels were observed in both sexes, whereas decreases in total protein and  $\beta$ -globulin fraction were observed in males, and increases in alkaline phosphatase and triglyceride levels were observed in females. Increased liver weight and decreased ovary weight were also observed at 1,000 mg/kg bw/day in females. Histopathological examinations revealed hyperostosis metaphysis of the femur in females at 200 mg/kg bw/day. Furthermore, at 1,000 mg/kg bw/day, hyperkeratosis of the mucosal epithelium in the forestomach, grade enhancement of regeneration of the tubular epithelium, dilatation of the renal tubules in the cortex, and cyst-like extension of the collecting duct in the kidney, and hyperostosis metaphysis of the femur were observed in both sexes. Additionally in males at 1,000 mg/kg bw/day,

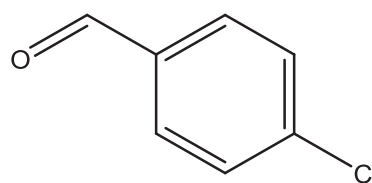


Fig. 3. Structure of 4-chlorobenzaldehyde

degeneration of nerve fibers in the sciatic nerve and atrophy of muscle fibers in the skeletal muscle were observed. And in females at 1,000 mg/kg bw/day, squamous cell hyperplasia of the boundary edge in the stomach was observed. These changes tended to resolve after the recovery period. On the basis of these effects, NOAELs for repeated-dose toxicity were determined to be 200 mg/kg bw/day and 40 mg/kg bw/day in male and female rats, respectively.

A reproduction/developmental toxicity screening test was performed according to OECD TG 421. Male and female rats (12 animals/sex/dose) were administered 4-chlorobenzaldehyde at 0, 40, 200, and 1,000 mg/kg bw/day. Males were dosed for 42 days, including a 14 day pre-mating and mating periods. Females were dosed for 42–45 days, including a 14-day pre-mating, mating, and gestation periods and the time until day 4 of lactation. Nine males and seven females died with tremors and decreased locomotor activity at 1,000 mg/kg bw/day by day 9 of administration. In this study, NOAEL for repeated-dose toxicity was determined to be 200 mg/kg bw/day in male and female rats.

In a bacterial reverse mutation assay using *S. typhimurium* TA100, TA1535, TA98, and TA1537 and *E. coli* WP2uvrA (OECD TG 471), 4-chlorobenzaldehyde was negative with or without metabolic activation. An *in vitro* chromosomal aberration test using CHL/IU cells (OECD TG 473) showed positive result with and without metabolic activation. On the basis of these results, 4-chlorobenzaldehyde was regarded as clastogenic *in vitro*.

In the aforementioned reproduction/developmental toxicity screening test (0, 40, 200, and 1,000 mg/kg bw/day) (OECD TG 421), administration of 4-chlorobenzaldehyde at 1,000 mg/kg bw/day was halted because of the frequent deaths in male and female rats. No effects of this substance on reproductive and developmental parameters were observed at 200 mg/kg bw/day. NOAEL for the rat reproductive/developmental toxicity of 4-chlorobenzaldehyde was determined to be 200 mg/kg bw/day.

#### (4) Diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate (CAS: 3012-65-5)

The acute oral LD<sub>50</sub> of diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate was >2,000 mg/kg bw in female rats based on a study conducted

according to OECD TG 423. No deaths were observed at 2,000 mg/kg bw. This substance caused mucoid stools at 2,000 mg/kg bw.

A combined repeated oral dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test was performed according to OECD TG 422. Male and female rats (12 animals/sex/dose) were administered diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate at 0, 100, 300, and 1,000 mg/kg bw/day. Males were dosed for 42 days, including a 14-day pre-mating and mating periods. Females were dosed for 41–47 days, including a 14-day pre-mating, mating, and gestation periods and the time until day 4 of lactation. Five animals/sex/dose administered 0 and 1,000 mg/kg bw/day were treated as the recovery group and examined after a 14-day recovery period. After the administration period, squamous cell hyperplasia of the boundary edge in the stomach was observed at 1,000 mg/kg bw/day in both sexes. This change resolved after the recovery period. On the basis of the observed stomach changes, NOAEL for repeated-dose toxicity was determined to be 300 mg/kg bw/day in male and female rats.

In a bacterial reverse mutation assay using *S. typhimurium* TA100, TA1535, TA98, and TA1537 and *E. coli* WP2uvrA (OECD TG 471), diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate was negative with or without metabolic activation. An *in vitro* chromosomal aberration test using CHL/IU cells (OECD TG 473) showed negative result with or without metabolic activation. On the basis of these results, diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate was regarded as non-genotoxic *in vitro*.

In the aforementioned combined repeated oral dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (0, 100, 300, and 1,000 mg/kg bw/day) (OECD TG 422), no effects of this substance on reproductive and developmental parameters were

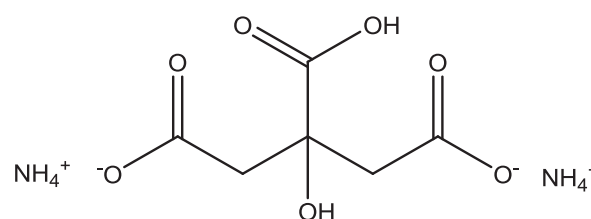


Fig. 4. Structure of diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate

observed at 1,000 mg/kg bw/day. NOAEL for the rat reproductive/developmental toxicity of diammonium hydrogen 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylate was regarded as 1,000 mg/kg bw/day, the highest dose tested.

#### (5) 2-Nitro-p-cresol (CAS: 119-33-5)

A 28-day repeated-dose toxicity test was performed according to the Japanese guideline (similar to OECD TG 407). Male and female rats (5 animals/sex/dose) were administered 2-nitro-p-cresol at 0, 15, 60, 250, and 1,000 mg/kg bw/day. In addition, both sexes (5 animals/sex/dose) were administered 0 and 1,000 mg/kg bw/day of this substance for 28 days and examined after a 14-day recovery period. At 250 mg/kg bw/day and higher, sedation and ptosis were observed in both sexes. Increase in the liver weight was observed at 250 mg/kg bw/day and higher in females and at 1,000 mg/kg bw/day in males. Furthermore, increases in the kidney weight in males and spleen weight in both sexes were observed at 1,000 mg/kg bw/day. Histopathological examinations revealed hypertrophy of hepatocytes at 250 mg/kg bw/day and higher in females. At 1,000 mg/kg bw/day, increase in the extramedullary hematopoiesis and brown pigmentation in the spleen was observed in both sexes. Additionally in males, hypertrophy of hepatocytes in the liver was observed at 1,000 mg/kg bw/day. Moreover, an increase in hyaline droplets containing  $\alpha$ 2u-globulin in the renal proximal tubular epithelium in the kidney was observed in males at the same dose. These changes, except brown pigmentation in the spleen, tended to resolve after the recovery period. On the basis of these effects, NOAEL for repeated-dose toxicity was determined to be 60 mg/kg bw/day in male and female rats.

A reproduction/developmental toxicity screening test was performed according to OECD TG 421. Male and female rats (12 animals/sex/dose) were administered 2-nitro-p-cresol at 0, 60, 250, and 1,000 mg/kg bw/day. Males were dosed for 42 days, including a 14 day pre-mating and mating periods. Females were dosed for 42–47 days, including a 14 day pre-mating, mating, and gestation periods, and the time until lactation day 4. At 1,000 mg/kg bw/day, ptosis and decreased locomotor activity were observed in both sexes. At the same dose, histopathological

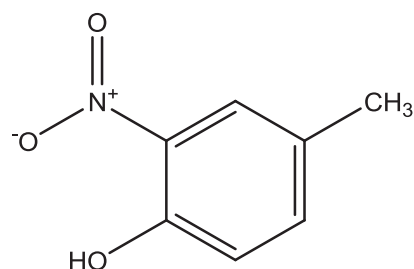


Fig. 5. Structure of 2-nitro-p-cresol

examinations revealed centrilobular hypertrophy of hepatocytes in the liver and increased extramedullary hematopoiesis in the spleen in both sexes. On the basis of these changes, NOAEL for repeated-dose toxicity was determined to be 250 mg/kg bw/day in male and female rats.

In a bacterial reverse mutation assay using *S. typhimurium* TA100, TA1535, TA98, and TA1537 and *E. coli* WP2uvrA (OECD TG 471), 2-nitro-p-cresol was negative with or without metabolic activation. An *in vitro* chromosomal aberration test using CHL/IU cells (OECD TG 473) showed positive result with metabolic activation. However, the result of an *in vivo* micronucleus study (OECD TG 474) were negative up to the maximum tolerated dose (1,000 mg/kg bw/day for 2 days) in mice. On the basis of these results, 2-nitro-p-cresol was regarded as non-genotoxic *in vivo*.

In the aforementioned reproduction/developmental toxicity screening test (0, 60, 250, and 1,000 mg/kg bw/day) (OECD TG 421), no effects of this substance on reproductive and developmental parameters were observed at 1,000 mg/kg bw/day. NOAEL for the rat reproductive/developmental toxicity of 2-nitro-p-cresol was determined to be 1,000 mg/kg bw/day, the highest dose tested.

#### References

- 1) Japan Existing Chemical Data Base (JECDB) available at [http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/jsp/SearchPageENG.jsp](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/SearchPageENG.jsp) (April, 2015)
- 2) Matsumoto M, et al. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (I), *Kokuritsu Iyakuhiin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*. 2015;(133):42-7
- 3) European chemicals agency (ECHA), IUCLID 5 International Uniform Chemical Information Database available at <http://iuclid.eu/> (April, 2015)





## 平成27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 川 西 徹

国立衛研のミッションは、医薬品・医療機器、食品、化学物質などの品質、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。このミッションを遂行すべく、国立衛研は、3つの研究の柱、すなわち①先端的医薬品・医療機器・再生医療製品等の開発を支援するレギュラトリーサイエンス（RS）の強化、②食とくらしの安全、化学物質安全研究の拡充（健康危機管理への対応）、あるいは③国として不可欠な試験・検査への対応、を重点的に取り組む課題として設定している。これら課題に沿って、平成27年度においても医薬品・医療機器・再生医療等製品分野、食品安全・生活衛生分野、安全性生物試験分野、安全情報・基礎支援分野、及び総務部のすべての部門において試験・研究・調査等の数多くの業務を遂行した。

国立衛研は、政府の科学技術政策の動向を踏まえて、近年研究組織再編に取り組んでいる。政府の基本施策である健康・医療戦略に対応し、平成27年には医薬品等の安全性の予測・評価機能を強化するために、省令研究室であった総合評価研究室を廃止し、インシリコ手法による安全性予測をとりまとめる新たな研究室を含め、4室体制からなる安全性予測評価部を設置した。平成25年以來の一連の組織再編によって、本研究所における革新的医薬品・再生医療等製品等への対応能力及び安全性予測評価研究機能が大幅に強化されることとなった。

また、平成27年4月から国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）が発足し、医療分野の研究開発における基礎から実用化までの一貫した研究開発の推進を目指して、医療分野の研究開発予算がAMEDに集約された。AMEDの研究費は委託研究費であり、きわめて目的性の強い研究費である。国立衛研はAMEDと連携し、RS分野で日本の健康医療戦略の推進に貢献する必要がある。

移転計画については、平成24年度に移転先を川崎市殿町三丁目地区に変更して以来、関係者のご支援のもと準備を進め、平成26年に基本設計・実施設計が完了し、建築工事等の契約が締結された。平成27年4月からは建築工事が開始されたところであり、プロット図を用いて研究室の仕様等の最終確認と調整を行いつつ、建物本体の建設が進行した。

狭隘かつ老朽化した試験研究施設に関しては、移転に

より大きく改善されることが期待される場所であるが、試験研究の基盤となる人材の確保及びインハウス予算に関しては、相変わらず困難な状況が続いている。新たな定員合理化計画によると、平成27年度から5年間で28名の業務改革による定員合理化減が求められている。平成28年度要求の結果では5名の合理化減を求められ、新規研究事業の実施による増員が認められたものの、総定員としては1名減員となっており、国立衛研の果たすべき業務を遂行するには厳しい状況となっている。予算面では、マイナスシーリングにもかかわらず、関係者のご尽力で影響は最小限に抑えられているが、研究所として必要な経費の確保が困難となっており、光熱水費の確保は重大な問題である。国の財政が厳しい折ではあるが、関係者・納税者のご理解をいただき、研究所の基本的な運営経費が確保されるよう、継続的な努力が必要である。

このように定員やインハウス予算については極めて厳しい状況にあるものの、国立衛研は過去、現在と同様、未来においても医薬品・医療機器・再生医療等製品、及び食品や生活環境中の各種化学物質のRSを実践する機関でありたいと考える。そのために、厚生労働行政の情勢変化・要請に対応し組織を見直しつつ、国民の健康維持・増進及び安全の確保のために、今後とも関係領域のRS実践のための試験研究機能を充実・発展すべきと考えている。

なお、マルウェア感染の恐れがあるとの外部通報によりネットワークを遮断せざるを得ない事態が6月に発生した。ネットワークの調査の結果、マルウェアに感染した端末の存在が確認され、ホームページやメールのネットワークと外部の接続を遮断し対応を行った。外部との不審な通信や新たなウイルス感染端末は確認されず、またセキュリティー対策を強化し、安全が確保されたため、約1ヶ月後にネットワークを再開することができた。国立衛研のネットワーク及びその取り扱いに脆弱な面があったことを反省するとともに、関係者に多大なご迷惑をおかけしたことをお詫びする。

平成27年度に国立衛研全体として取り組んだその他の主な事項は次の通りである。

- (1) 移転予定地区の研究機関との連携： 川崎市健康安全研究所及び実験動物中央研究所と共同研究を行い、国立衛研は、「動物モデル実験系を用いた食物由来変性タンパク質等のアレルゲン性の解析」及び「iPS細胞を使った再生医療等製品に混入する造腫瘍性細胞/多能性細胞の検出・除去系の開発」に関する研究を行った。
- (2) 研究活動の活発化を目指して： 大学との連携を深める目的で連携大学院の活用を図っており、10大学院と

連携協定を締結し、研究教育活動を実施している。

(3) 医薬品、医療機器、再生医療分野での人材交流：

厚生労働省の革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業を継続し、医療イノベーションを推進する上でのRSに関わる人材育成を目的として、アカデミアやナショナルセンターと共同研究を行うとともに、研究員の派遣及び受け入れを継続、実施している。

(4) 所員研修： 国立衛研の全研究員（非常勤職員等を含む）を対象とし、研究倫理及び研究費の執行に関するコンプライアンス研修を計3回実施し、対象者全員が受講した。さらに情報セキュリティ強化の一環として、全所員参加の情報セキュリティ研修を本年度から開始した。また、例年と同様、公務員としての研究倫理、法令遵守等に関する必須事項を身につけるとともに、当研究所における研究活動を円滑に実行するために必要な情報を伝えることを目的として、新人職員全員及び該当職員を対象に研究教育セミナーを開催した。

(5) 研究活動の広報： 1) 第5回国立衛研シンポジウムを「新しい法律に基づくレギュラトリーサイエンスの推進— 医薬品医療機器法、健康・医療戦略推進法—」をテーマとして平成27年7月24日（金）に国立衛研講堂で開催し、73名の参加者を頂いた； 2) 一般公開は、シンポジウム翌日25日（土）に「医薬品や食品等の品質確保、安全性、有効性を求めて」をテーマに行い、昨年を大幅に上回る307名の見学者の訪問を受けた； さらに、3) 国立衛研ホームページの「お問い合わせ」への対応を実施するとともに「研究者による発表スライド」の頁において、国立衛研研究者の最新の研究発表スライドを公開し、国立衛研の試験研究活動及び業績の広報に努めた。

(6) 夏季エネルギー節約への取組： 7～9月におけるピーク時最大消費電力について2,200KWを上限とし、空調、照明の節約、実験機器等の使用の自粛、研究計画の変更等の対策を実施した。

平成27年度の全国衛生化学協議会が静岡市で開催され（11/3-4）、食品衛生、環境衛生、薬事衛生等のすべての分野で当研究所の職員が大きな活躍をした。外国出張としては、川西所長は米国・ワシントンDCで開催されたWHO主催の第5回世界薬局方国際会議及び2015USP総会（4/18-27）並びに中国・蘇州で開催された第6回世界薬局方国際会議及び中国薬局方科学会議（9/20-23）に出席した。奥田副所長は、スイス・ジュネーブで開催された医薬品に関する第60回及び61回国際一般名称（INN）策定委員会（4/12-17及び10/12-18）、米国・ロッキンビルで開催された薬局方検討会議（11/1-6）、カナダ・オタワで開催された日米EU医薬品規制調和国際会議

（ICH）（9/13-20）、並びに米国・ホノルルで開催されたPacifichem 2015（12/14-19）に出席した。

今年度も厚生労働省等との併任、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、消費者庁の専門委員等、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貢献した。

また、学術の点でも多くの国立衛研職員の貢献が認められ、変異遺伝部本間部長は日本環境変異原学会学会賞及び望月喜多司記念賞を受賞した。毒性部北嶋室長は日本毒性学会日化協LRI賞を受賞した。また、生薬部政田主任研究官は日本生薬学会学術奨励賞を、佐藤期間業務職員（研究助手）は日本薬学会生薬天然物部会奨励研究賞を、食品添加物部大槻主任研究官は日本食品化学学会奨励賞を受賞した。食品部穂山部長らは日本食品化学学会賞から論文賞を受賞した。

なお、東日本大震災時の原子力発電所事故に伴う緊急対応として、当研究所では引き続き食品部、生化学部（旧代謝生化学部）が食品を中心として放射性物質汚染のモニタリングを継続的に実施している。大きな社会問題となっている危険ドラッグに関しては、生薬部を中心に薬理部、有機化学部が協力して対応し、国の強力な施策も伴い、ひとまず沈静したが、継続的な監視活動が必要である。

また、医薬品、医療機器、再生医療製品に関連する部門では、革新的医薬品・医療機器の開発環境整備のためのRS研究体制の強化が国家戦略の一環として要請されており、関係機関の人材交流等を活用しつつ、研究体制の増強を図っている。このような健康危機時の緊急対応、並びに我が国の未来を左右する新医療技術の評価及び評価技術開発研究等への対応は、国立衛研が創設以来期待され、かつ果たしてきた役割であり、引き続きこれらの期待に対して適切に対応するよう一体となり取り組んでいきたい。

## 総務部

部長 町田吉夫

### 1. 組織・定員

平成26年度末定員は、205名であったが、平成27年度においては、①インシリコ予測評価を行う体制の強化に伴う増として1名（室長・研4級）、②再生医療等製品のウイルス等安全性評価に係る研究業務の強化に伴う増として1名（主任研究官・研3級）、③医療機器の性能評価に係る研究業務の強化に伴う増として1名（室長・研4級）、④個別化医療の実現に向けた次世代型診断薬及びコンパニオン診断薬の信頼性評価及び有効利用に関する研究業

務の強化に伴う増として1名（主任研究官・研3級）が認められた。

また、平成27年度見直し時期到来分の加工食品中の農薬等の試験法開発に係る研究業務の強化に伴う定員1名（研究員・研2級）については、見直し解除が認められた。

一方、6名の削減が行われた結果、平成27年度末定員は指定職2名、行政職（一）27名、研究職174名、計203名となった。

## 2. 人事異動

- (1)平成27年4月10日付け組織改正に伴い、同日付けで広瀬明彦安全性生物試験研究センター総合評価研究室長が安全性生物試験研究センター安全性予測評価部長に配置換となった。
- (2)平成27年7月15日付けで石井明子生物薬品部第二室長が生物薬品部長に、佐藤恭子食品添加物部第一室長が食品添加物部長にそれぞれ昇任となった。
- (3)平成27年12月31日付けで中垣俊郎企画調整主幹が退職し、平成28年1月1日付けで奥田晴宏副所長が企画調整主幹の事務取扱となった。
- (4)平成28年3月31日付けで新見伸吾医療機器部長が定年退職し、同年4月1日付けで靄島由二医療機器部第一室長が同部長に昇任となった。
- (5)平成28年3月31日付けで最上知子生化学部長が定年退職し、同年4月1日付けで近藤一成生化学部第二室長が同部長に昇任となった。
- (6)平成28年3月31日付けで菅野純安全性生物試験研究センター毒性部長が定年退職し、同年4月1日付けで平林容子安全性生物試験研究センター毒性部第二室長が同部長に昇任となった。
- (7)平成28年3月31日付けで五十君静信食品衛生管理部長及び春日文子安全情報部長が退職し、同年4月1日付けで奥田晴宏副所長が両部長の事務取扱となった。

## 3. 予 算

平成27年度予算の概要は、別紙のとおりである。

平成27年度の一般会計予算は、研究課題の終了等により、裁量的経費は対前年度約2千5百万円の減額となり、非裁量的経費は現員の減による人件費の減等により約1千6百70万円の減となった。

施設整備費関係は、「川崎移転に係る経費」が認められた結果、約13億3千万円の増額となった。

「医薬品等規制行政に直結する政策研究費」について、4課題が平成26年度で終了し、新たに2課題が平成27年度より採択された。

## 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、文部科学省の科学研究費補助金及び日本医療研究開発機構（AMED）委託研究開発費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27年度は、厚生労働科学研究費補助金432,045千円、文部科学省所管の研究費130,556千円及び日本医療研究開発機構（AMED）委託研究開発費1,335,723千円等、総計1,960,693千円について、機関経理を行った。

## 5. 国際協力

国際交流としては、厚生労働行政等に関する国際会議への科学専門家としての参加、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27年度海外派遣研究者は、延べ210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71名、その他会議・学会への出席が延べ133名、諸外国の研究活動調査・打合せ等が延べ6名であった。行政に関する国際会議への出席内訳は、OECDが延べ12名、WHOが延べ2名、FAO/WHO合同会議が延べ8名、その他が延べ49名であった。

## 6. 厚生労働科学研究費補助金の配分機関

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27年度は18名に対し、計378,759千円を配分した。

## 7. シンポジウム及び一般公開の開催

シンポジウムについては、当所の研究についてより理解を深めてもらうことを目的に平成23年度より実施しており、平成27年度は7月24日（13:30～17:10）に開催した。

主題として「新しい法律に基づくレギュラトリーサイエンスの推進～医薬品医療機器法、健康・医療戦略推進法～」を掲げ、担当研究部長等が講演を行い、外部機関の研究者等73名が参加した。

一般公開については、一般市民を対象として毎年1回実施しており、平成27年度は7月25日（10:00～16:00）に開催した。

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「これって、もしかして副作用？～どう気づく、どう防ぐ～」と「食品中の放射性物質に対する取り組みについて～安全をめざした調査研究の紹介～」の講演を行い、見学者数は307名であった。

## 平成27年度予算額

事 項		平成 26 年度 (A)	平成 27 年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)
		(千円)	(千円)	(千円)
1. 一般会計				
(組織)	厚生労働本省試験研究機関	3,887,847	5,176,011	1,288,164
(項)	厚生労働本省試験研究所共通費	2,144,657	2,119,850	△ 24,807
	国立医薬品食品衛生研究所に必要な経費	2,144,657	2,119,850	△ 24,807
	既定定員に伴う経費	1,971,853	1,963,775	△ 8,078
	定員削減に伴う経費	△ 26,703	△ 26,725	△ 22
	増員要求に伴う経費	16,653	10,609	△ 6,044
	振替定員に伴う経費	0	△ 4,350	△ 4,350
	国立医薬品食品衛生研究所運営経費	48,185	51,151	2,966
	安全性生物試験研究センター運営費	74,874	74,838	△ 36
	施設管理事務経費	38,908	29,665	△ 9,243
	移転調査検討費	572	572	0
	研究情報基盤整備費	20,315	20,315	0
(項)	厚生労働本省試験研究所施設費	953,970	2,283,741	1,329,771
	厚生労働本省試験研究所施設整備に必要な経費	953,970	2,283,741	1,329,771
	国立医薬品食品衛生研究所施設整備費	953,970	2,283,741	1,329,771
(項)	厚生労働本省試験研究所試験研究費	778,505	761,705	△ 16,800
	国立医薬品食品衛生研究所の試験研究に必要な経費	778,505	761,705	△ 16,800
	国立医薬品食品衛生研究所運営経費	48,092	47,867	△ 225
	基盤の研究費	129,526	129,526	0
	安全性生物試験研究センター運営費	37,354	37,354	0
	施設管理事務経費	22,932	22,932	0
	受託研究費	98,122	98,096	△ 26
	総合化学物質安全性研究費	68,580	68,579	△ 1
	共同利用型高額研究機器整備費	151,675	151,675	0
	研究情報基盤整備費	26,041	21,057	△ 4,984
	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	8,112	7,706	△ 406
	競争的研究事務経費	58,992	58,989	△ 3
	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	24,134	22,927	△ 1,207
	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	17,726	16,840	△ 886
	健康安全確保のための研究費	87,219	78,157	△ 9,062
	※平成 27 年度より「医薬品等規制行政に直結する政策研究費」へ名称変更			
(項)	血清等製造及検定費	10,715	10,715	0
	医薬品等の国家検定及び検査等に必要な経費	10,715	10,715	0
	一般事務経費	1,871	1,871	0
	事業費	8,844	8,844	0
2. 移替予算				
(組織)	厚生労働本省試験研究機関	4,000	0	△ 4,000
(項)	科学技術・学術政策推進費	4,000	0	△ 4,000

\*予算額については両年度とも当初予算額

## 薬 品 部

部 長 合 田 幸 広

### 概 要

薬品部では、主として化学的に合成された医薬品を対象に、その有効性、安全性、品質確保に必要な研究を行っている。具体的には、第一室では、医薬品の生物薬剤学的評価および医薬品製剤試験に関する試験・研究、第二室では、医薬品の物性と安定性に関する研究、第三室では、医薬品の品質保証および分析法に関する研究、第四室では、高機能製剤の有効性・安全性に係わる品質特性および体内動態評価研究を主に実施している。

平成27年度特筆すべきこととして、まず、薬品部関係者が多方面で関与している日本薬局方第17局が平成28年3月7日告示されたことが挙げられる。さらに、研究費関係では、多くの厚生労働科学研究が日本医療研究開発機構（AMED）からの委託研究に変更され、従来と異なった体制での研究実施となった。

人事面では平成27年3月に香取典子第三室長が定年となり、再任用の主任研究官として採用された。また、後任の室長として坂本知昭主任研究官が昇任した。また、AMEDのリサーチレジデント（高機能性薬物キャリアを利用した医薬品の品質確保に関する研究）として、原矢佑樹博士が第4室に採用された。派遣職員の採用・退職は以下の通りである。平成27年7月1日付けで厩生敷涼子氏が採用され、平成28年3月31日付けで任期を終了した。平成27年12月31日付けで工藤眞子氏が、平成28年3月31日付けで下條千佳氏および桑名明美氏が任期を終了した。

短期の海外出張については次の通りである。合田は、平成27年6月14日から17日に暨南大学と広東省中医院での学術交流会への出席及び両者が主催する伝統薬物討論会での講演のため、中国・広州に出張した。さらに、6月22日から26日に、生薬に関する国際調和のための西太平洋地区会議（FHH）第二分科会に出席し、日本薬局方における定量NMRに関する講演を行うためスイス・ラインフェルデンに出張した。また8月31日から9月2日まで、不正薬物と医薬品成分添加健康食品に関する国際会議に出席し、招待講演を行うため台湾・台北に出張した。さらに、10月25日から29日まで、香港生薬標準第9回国際助言委員会に出席するため香港に出張した。

阿曾幸男室長、宮崎玉樹主任研究官は、2015AAPS（米国薬剤学会年会）参加のため米国・オーランドに出張した（平成27年10月）。香取典子主任研究官はWRIB2015参加のため米国・マイアミに出張した（平成27年4月）。坂本知昭室長は振動分光光学に関する国際会議（ICAVS 8）

で研究発表のためオーストリア・ウィーンに出張した（平成27年7月）。香取典子主任研究官はAAPS/FDA共催クリスタルシティワークショップ参加のため米国・ボルチモアに出張した（平成27年9月）。小出達夫主任研究官は分析化学及び分光学会合同会議（SCIX 2015）参加のため米国・プロビデンスに出張した（平成27年9月）。香取典子主任研究官は、2015AAPS（米国薬剤学会年会）参加のため米国・オーランドに出張した（平成27年10月）。

加藤くみ子室長はナノメディシンの臨床応用に関する欧州会議での講演のため、スイス・バーゼルに出張した（平成27年6月）。

### 業務成績

#### 1. 一斉取締試験

フェキソフェナジン塩酸塩を含有する内用剤28製剤、イミダプリル塩酸塩を含有する内用剤14製剤（1、2室）。

#### 2. 後発医薬品品質情報に基づく検討

ジェネリック医薬品品質情報検討会において、ジェネリック医薬品の品質に関する情報を、学会・論文発表、医薬品医療機器総合機構のおくすり相談窓口の相談事例などから収集して精査した。これまでのジェネリック医薬品品質情報検討会において課題が指摘された3品目（ロキソプロフェンナトリウム錠、ベニジピン塩酸塩錠、ファモチジン口腔内崩壊（OD）錠）の製剤について、溶出特性の改善を確認した。また地方衛生研究所10機関と共に行った6成分のアレルギー用薬の溶出試験結果について、類似性の解析・判定を行った。軽微な課題が認められたものについては追試験を実施し、ジェネリック医薬品品質情報検討会に結果を報告した（1室）。

#### 3. 薬事法に基づく登録試験検査機関の外部精度管理

医薬品医療機器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、67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。なお、PIC/S申請に対応した公的認定試験検査機関22機関についても同様の技能試験を実施した（3室）。

#### 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

坂本室長、香取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、当該コースの副主任として、医薬品等製造所のGMP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27年5月18日～6月19日）。また合田及び伊豆津室長、阿曾室長、坂本室長、香取主任研究

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(3室)。

## 5. その他

薬事・食品衛生審議会の医薬品の承認審査ならびに再評価における審議(医薬品食品局審査管理課、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、殺虫剤指針、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、医薬部外品原料規格の改正作業(医薬品食品局審査管理課)、「ナノ医薬品に関する勉強会」におけるリポソーム製剤及び核酸(siRNA)搭載ナノ製剤開発に関する指針作成作業、及び医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン作成作業(医薬品食品局審査管理課)、GMP専門分野別研修、公的認定試験検査機関への指導助言(医薬品食品局監視指導・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、医薬品品質フォーラム第18回シンポジウム「日本におけるQbDの申請と連続生産、現在までの取り組みと将来の展望」(平成28年2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(マラリア感染症)用の国内未承認医薬品であるリアメット錠(有効成分アーテメター及びルメファントリン)について、主薬成分の分布について赤外/近赤外分光法及びイメージング法を用いて調べた(AMED/新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)。

近赤外イメージングシステムにより迅速に製剤均一性を評価するための検討を行い、適切なデータを得るための測定に必要な条件を明らかとした。また、雰囲気からのOD錠への付着水量の経時変化を、テラヘルツ分光法を用いて調べ、カールフィッシャー法による水分量との相関を検討した。さらに製剤構成成分のフォノンを適切に検出するための錠剤粉砕物の最適なサイズを検討した(AMED/創薬基盤推進研究事業)。

赤外活性及びラマン活性をもつフォノン振動を検出することにより、酸化チタン(IV)の光触媒作用に基づいた医薬品成分の分解過程を検出することができた(文部科学省/革新的イノベーション創出プログラム)。

アセトアミノフェン顆粒を登録検査機関67機関および地衛研22機関に配布して技能試験を実施し、各機関の精度管理における実効性を検証した(医薬品安全対策等推

進費)。

### 2. 日本薬局方の規格及び試験方法に関する研究

日本薬局方の規格及び試験方法に関する研究として以下の研究を実施した(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)。

- ①注射剤の不溶性微粒子測定法について、Flow Microscopy法の有用性と標準化の可能性を検討した。
- ②経口固形製剤のPTP包装における水分透過性の評価法について技術動向を調査した。
- ③定量NMR(qNMR)に関する研究として、[6]-ショウガオールとロガニン、[6]-ギンゲオールについて、定量シグナルを決定した。さらに吸湿性のサイコサポニン類についても、市販形態を考慮した検討を行った結果、サイコサポニンb2について平成28年2月より定量NMRで値付けされた試薬が市販されることになった。
- ④口腔内崩壊フィルム剤の技術動向を調査し、規格と評価法を検討した。
- ⑤共結晶構造を持つ化合物の品質評価手法として、超低波数領域を用いたラマン分光法が有用であることを示した。

### 3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

生体内環境を反映した製剤機能の評価法と処方工程技術に関する研究として、①フロースルーセル法溶出試験装置について機種間差を検証した。また、ポンプ脈流種に起因する最大流速の差が、薬物の溶出率に影響することを明らかとした。②腸溶性製剤の放出性評価における炭酸水素緩衝液の有用性を示した。③吸入剤粉末剤の空気力学的粒子径測定において、米国薬局方・欧州薬局方に記載された異なる2つの装置を用いた評価に最新のカットオフ径とその換算式を用いることで、装置の互換性と、任意の流量における測定が可能であることを示した。④共結晶医薬品の不溶化現象について調査した(AMED/創薬基盤推進研究事業)。

後発医薬品の同等性ガイドラインにおける試験条件の最適化に関する研究として、NBCDまたはCGDと総称される複雑または高度な製剤を対象に以下の検討を行った。

- ①光散乱法による吸入エアゾール剤の幾何粒子径測定は、噴霧粒子を装置導入前に十分に乾燥することで安定したデータを取得できることを明らかとした。また、カットオフ径を補正することにより、幾何粒子径分布から空気力学的粒度分布を予測することが可能であることを示した。
- ②リユープロレリン酢酸塩封入マイクロスフェア製剤のin vitro薬物放出性評価において、浸透圧が高いほど初期放出が速くなること、特定の浸透圧では先発医薬品と後発医薬品の放出挙動が異なるものの、その他の条件では類似の放出挙動を示すことを明らかとした。
- ③点眼剤および吸入剤の後発医薬品開発における生

物学的同等性評価法について検討した（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

新規製剤技術評価法として①凍結乾燥製剤における、処方と工程制御による結晶多形の調整法を開発した。②塩および共結晶医薬品の凍結乾燥による製造と製剤設計への熱分析の活用を検討した。③医薬品の早期承認制度における新規工程技術の活用と製剤評価のあり方について検討した。

#### 4. 医薬品の物性と安定性に関する研究

難水溶性薬物の溶出性改善法として期待されるコアモルファス製剤の結晶化に対する安定性について検討を行った結果、ニフェジピンとアセトアミノフェン等やニコチン酸アミド等を等モル混合して作成したコアモルファスの結晶化は一部の例外があるものの、コアモルファスのガラス転移温度が低いコアモルファスほど速やかに進行する傾向が見られ、ガラス転移温度を指標にすることにより、安定性の評価が可能であることが示唆された（AMED／創薬基盤推進研究事業）。

市販の経皮吸収型製剤について汎用型のX線回折装置を用い、膏体中の結晶性薬物の有無の確認および多形判別を行った。結晶レジボアシステムが採用されている製剤では結晶性薬物が確認され、その多形判別も可能であることを明らかにした。さらに、汎用型装置で得られた結果の妥当性を確認するため、高輝度放射光施設での測定結果を得、比較を行った。また、モデルとした市販製剤からの薬物放出性測定に適切な試験法の選定を行った。さらに、貼付剤の粘着性を各種試験法により測定し、同一品目の製剤であっても、粘着性には差があることを明らかにした（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

#### 5. 高機能性製剤の有効性・安全性に関わる品質特性および体内動態評価研究

リポソーム製剤の有効性・安全性に関わる品質特性について研究を行った。具体的には、走査型プローブ顕微鏡（原子間力顕微鏡：AFM）を用い、リポソーム製剤の形態観察、膜弾性評価法の構築を行い、様々な組成からなるリポソームへ適用可能であることを示した。また、ナノDDS医薬品のサイズ・形態の解析手法について分光学的解析や画像解析等の検討を開始した。画像解析について、数百ナノメートルサイズまでの粒子観察が可能であった（AMED／創薬基盤推進研究事業及び医薬品等規制調和・評価研究事業）。

体内動態に関する研究では、HepG2細胞を用い、リポソームの細胞内取り込みを評価する手法を検討した。また、ヒト細胞を用いた自然免疫評価手法の開発研究を

行った。siRNA搭載リポソームのサイトカイン産生量に関し、ヒト末梢血単核細胞等を用いた評価手法を構築した（AMED／創薬基盤推進研究事業及び医薬品等規制調和・評価研究事業）。

「ナノ医薬品に関する勉強会」において、「リポソーム製剤の開発に関するガイドライン案」及び「核酸（siRNA）搭載ナノ製剤に関するリフレクションペーパー案」を作成した。ナノ医薬品の開発状況について文献等を用いて調査するとともに、免疫毒性に関連したICHガイドライン等を調査した（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

アカデミアとの人材交流を行い、高分子ミセル製剤やリポソーム製剤の特性評価法に関する議論を行った。高分子ミセル製剤の特性とその評価について、総説論文として取りまとめた（厚生労働省／革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業）。

リポソームの細胞内動態の分子メカニズムに関する研究では、PEG修飾リポソームと血清との相互作用、及び細胞内への取り込みに及ぼすリポタンパク質受容体の関与が示唆された（独立行政法人日本学術振興会／科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金））。

#### 6. 医薬品の品質保証に関する研究

GMP査察に関しては、我が国のPIC/Sへの正式加盟後、国立医薬品食品衛生研究所は地方衛研とともに公的認定試験検査機関（OMCL）として位置付けられた。当研究班はOMCLとして国立医薬品食品衛生研究所の品質システムの維持に努め、GMP調査に伴う取去品の試験検査および毎年実施される市販品の品質試験、監麻課のオンサイト査察等に対応し、必要に応じ、地衛研等に対して品質システム構築、維持の助言を行った。高度品質分析・評価技術に関する研究では、新たに開発した錠剤スライサーを用いて得た錠剤精密切断面を顕微近赤外分光法により解析し、正確な主薬成分及び添加物成分の分布特性の評価手法を開発した。医薬品品質の変動原因の検証を行うために、造粒工程パラメータを変動させた顆粒を作製し、ケミカルイメージングシステムを用いた測定を行い、得られた含有成分分布と品質との関連について解析を行った。その結果、過造粒になった顆粒を用いて作製した錠剤では主薬成分の偏析及び溶出遅延が生じ、その溶出遅延の原因は錠剤への水の浸透速度の低下であることを明らかとした（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

アンケート調査について、日本薬局方への品質リスクマネジメントの取り込み、「開発、規格設定、GMPが医薬品の品質保証の3方策」であるとする三位一体原則の概念に関する認識及び理解度、ならびに代替試験の活用

実態について解析し、効率的な薬局方医薬品の品質システムの取り組みに向けた課題を抽出した（厚生労働科学研究費補助金／地球規模保健課題解決推進のための行政施策に関する研究事業）。

本研究では主に医薬品の製造開発に関して研究を実施する。QbDに関連するICHガイドラインから国内課題を抽出、解決策を議論する。さらに今後ICHで検討されるQ12ガイドライン「ライフサイクル」の進展をみながら、我が国における円滑な変更管理の在り方も併せて検討した。本年度はまず産官学からなる組織を編成する。分担研究の原薬および製剤部門に関しては業界団体の研究者、医薬品総合機構の審査官・査察官計20～30名を研究協力者として組織、ブレインストーミングを開始した（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

## 7. 国際動向を踏まえた医薬品の品質確保に関する研究

3極で合意に至ったICH（医薬品規制国際調和会議）のDNA反応性不純物ガイドライン（M7）を国内で通知するため、ステップ4文書を翻訳した（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

また、バイオアナリシス分析法バリデーションガイドラインの国際協調の一環として、FDA/AAPS共催のワークショップで日本の状況について講演した（AMED／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

## 生物薬品部

部長 石井明子  
前部長事務取扱 奥田晴宏

### 概要

生物薬品部では、生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の品質・有効性・安全性確保に資するレギュラトリーサイエンス研究を行っている。

平成27年は、日本で初めてのバイオ医薬品である遺伝子組換えヒトインスリンが承認されてから30年となり、日本のバイオ医薬品史上、一つの節目の年であった。平成元年に前身の生物化学部をもとに創設された生物薬品部は、この間、バイオ医薬品に関する評価研究の中核を担い、本邦における規制環境整備と国際調和に貢献してきた。近年は、創薬支援を掲げる政府施策を背景に、アンメットメディカルニーズに応える医薬品として期待されながら進化を続ける様々な先端的バイオ医薬品に対応して、科学的・技術的課題に重点をおいて、バイオ医薬品の開発推進と承認審査の迅速化への貢献が求められて

いる。加えて、高騰する医療費の抑制への期待がかかるバイオ後続品の評価研究、さらには、公的試験検査機関としての職務も当部における重要課題である。

平成27年に新有効成分含有医薬品として承認されたバイオ医薬品は9品目に上り、これらの中には、日本で初めてのトランスジェニック動物由来バイオ医薬品の他、免疫チェックポイント阻害抗体医薬品等が含まれる。また、日本でも8番目のバイオ後続品が承認された。局方国際調和では、フローイメーシング法による不溶性微粒子試験法が新たに検討課題に上り、ICH品質分野ではQ12ライフサイクルマネジメントに関する議論が進んでいる。

このような現状を踏まえ、平成27年度は、バイオ医薬品の品質評価に関する研究として、O糖鎖試験法、不溶性微粒子試験法、次世代抗体の製法、生物活性評価に関する研究の他、バイオ医薬品のライフサイクルマネジメントに関する課題抽出等を行った。バイオ医薬品の有効性・安全性評価に関する研究として、抗体医薬品の生体試料中濃度分析法、抗薬物抗体評価法、有害反応発現機構、市販後安全性に関する研究等を行った。また、日本薬局方の生物薬品関連試験法に関する研究として、ヘパリンナトリウム各条のナトリウム確認試験に関する研究、糖鎖試験法の国際調和に関する研究、生物薬品の製造要件に関する研究を実施した。さらに、先端的バイオ医薬品等開発に資する研究として、新規基材を用いて製造されるバイオ医薬品、及び高度改変タンパク質医薬品等の品質・安全性評価に関する研究等を実施した。

これらの研究活動を通して得られた知見をもとに、日局ヘパリンナトリウム各条試験法原案作成、一般試験法<2.64>糖鎖試験法、参考情報（単糖分析及びオリゴ糖分析／糖鎖プロファイリング法、表面プラズモン共鳴法）のパブリックコメントへの対応、参考情報ELISAの原案作成、参考情報ペプチドマップ法及びSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法の国際調和に向けたコメント案作成に係わった。

平成27年度に生物薬品部から発表された主な論文は、以下の通りである。多田、石井、原園らによる論文“Characterization of anti-CD20 monoclonal antibody produced by transgenic silkworms (*Bombyx mori*)” (mAbs, 2015) では、農業生物資源研究所との共同研究により、トランスジェニックカイコ由来抗体の特性を明らかにし、バイオ医薬品の新しい生産基材としてのTgカイコの特徴を明らかにした。本論文は、mAbs誌の表紙に採用された。

鈴木、石井、多田らによる論文“A fluorescent imaging method for analyzing the biodistribution of therapeutic monoclonal antibodies that can distinguish



intact antibodies from their breakdown products.” (mAbs, 2015) では、未分解抗体と分解物を識別可能な新規手法として、蛍光二重標識法による抗体医薬品の体内分布解析法を開発した成果を報告した。

石井、橋井らによるWhite Paper “Approaches to Quality Risk Management When Using Single-Use Systems in the Manufacture of Biologics” (AAPS PharmSciTech, 2015) では、近年バイオ医薬品製造工程での利用が進むシングルユースシステムに関し、バイオ医薬品の品質と安定供給への影響を考慮したリスクマネジメント手法を提案した。

橋井らは東京都健康長寿医療センターとの共同研究によるChange in N-Glycosylation of Plasma Proteins in Japanese Semisupercentenarians (PLoS One, 2015) において糖鎖解析を担当し、バイオ医薬品の糖鎖解析技術を長百寿者の血漿グライコミクスに応用して、対照群との比較から、長百寿者に特徴的な糖鎖を見出すことに成功した。

鈴木、石井、日向、橋井らによる論文“日本薬局方各条ヘパリン定量法の改良に関わる研究” (医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 2015) では、試薬の特性の変動に対応可能な日局ヘパリン定量法の構築等について報告した。

これらの研究活動の他、薬事・食品衛生審議会、及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) における日局改正及び審査業務等に協力した。

人事面では、平成27年4月1日～7月14日、奥田晴宏副所長が部長事務取扱を務め、平成27年7月15日付けで、石井明子第二室長が部長に就任した。AMEDリサーチレジデントとして、高倉美智子博士が平成27年4月1日に着任した。

海外出張は以下の通りであった。原園景主任研究官、木吉真人研究員：USP Glycosylation Analysis for Biopharmaceuticals Workshop (米国・ロックビル：平成27年8月25～26日、ポスター発表)；石井部長：WHO バイオ医薬品標準品の今後の方向性に関する非公式会議 (スイス・ジュネーブ：平成27年9月21, 22日、口頭発表)；木吉真人研究員：Gordon Research Conference

Antibody Biology & Engineering (米国・Galveston：平成28年3月20～25日、ポスター発表)；橋井則貴第一室長：2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (米国・ホノルル：平成28年12月16～20日、ポスター発表)。

## 業務成績

### 1. 日局各条ヘパリンナトリウム等に含まれる不純物の規格及び試験法原案の作成及びその検証に関する研究

ヘパリンナトリウム各条の改正に向けて、日局一般試験法<1.09>ナトリウム塩の定性反応について、複数の原薬ロット、及び理化学試験法ヘパリンナトリウムを試料とした検討を実施し、測定方法を最適化するとともに、日局各条ヘパリンナトリウムのナトリウム確認試験としての当該試験法が適用可能であることを実証した。

### 2. 公的試験検査機関 (OMCL) としての試験検査の実施

厚生労働省監視指導麻薬対策課からの依頼を受けて、医薬品製造工程で用いられたヘパリンの品質評価、及び、製剤中残存ヘパリン活性試験を実施した。

### 3. 国際協力

ミャンマー FDA からの施設見学 (平成27年10月28日)、及び、台湾 FDA からの研修生 (平成27年11月17日) に対応し、日本におけるバイオ医薬品の開発と規制、ならびに、生物薬品部の業務を紹介した。石井部長は、WHO のバイオ医薬品国際標準品の今後の在り方に関する非公式会議に協力した。

### 4. 大学との連携

大阪大学大学院薬学研究科及び北海道大学大学院生命科学院と連携し、講義等を通して学生の指導を行った。明治薬科大学から実習生3名を受け入れ、指導した。石井室長は、平成27年5月29日高崎健康福祉大学薬学部において「バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保」について講義した。石井部長は、平成27年7月31日大阪大学大学院薬学研究科の学生を対象に、「バイオ医薬品の品質・安全性確保」について講義した。石井部長は、平成27年10月9日横浜市立大学において、「バイオ医薬品概論」について講義した。日向昌司主任研究官は、平成27年5月1日明治薬科大学薬学部健康薬学コースの学生を対象に、「抗体医薬品の薬効発現に影響する因子に関する研究」について講義した。

### 5. シンポジウム及び学術集会等の開催

バイオリジクスの研究開発に係る諸問題、及び製品の品質・有効性・安全性評価等に関する研究発表並びに情報交換の場として開催されたバイオリジクスフォーラム第13回学術集会「バイオリジクス開発におけるレギュラトリーサイエンスのインパクトと開発進展」(平成28年2月29日)の運営に協力した。バイオ医薬品分科会では、「日本におけるバイオ医薬品製造・品質管理技術のサイエンス」に関するセッションを企画し、アカデミア及び企業におけるバイオ医薬品製造・品質管理に関する研究紹介の後、パネルディスカッションを行い、日本における独自の組換えタンパク質発現ベクターや細胞樹立に関する技術開発の現状と課題を参加者で共有した。

石井部長は、日本薬学会第136年会シンポジウム「抗体医薬品を極める ―新規抗体創薬と品質安全性

評価のための基盤技術―」, 第35回動物細胞工学会シンポジウム「バイオ医薬品の物性と免疫原性」, 日本薬物動態学会第30年会シンポジウム「抗体医薬品の pharmacokinetics / pharmacodynamics」のオーガナイザーを務めた。

## 6. その他

薬事・食品衛生審議会の各種部会, 並びにPMDAにおける新有効成分含有医薬品及びバイオ後続品の承認審査及び一般名称作成に係る専門協議に参画した。また, 日本薬局方の改正作業並びに日本薬局方生物薬品標準品の品質評価に協力した。

## 研究業績

### 1. バイオ医薬品の品質評価に関する研究

1) 先端的バイオ医薬品の品質・安全性確保のための評価法開発 (AMED 創薬基盤推進研究事業)

①カルバミン酸アンモニウムを用いた非還元的アルカリβ脱離によるO-結合型糖鎖試験法は, ピーリング産物の生成及び回収率にばらつきが認められるものの, 類似した糖鎖プロファイルが得られることを明らかにし, バイオ医薬品の糖鎖試験法として適していることを確認した。

②ポリスチレン標準粒子を用いてフローイメージング法の真度の確認を行い, 2及び25μmの粒子を測定する際の注意点を明らかにした。

③ポリスチレン標準粒子を用いて, 「注射剤の不溶性微粒子試験」を低容量化したときの試験の真度及び精度を多機関共同研究により調べ, 低容量化が可能であること及びその要件を明らかにした。

④ペプチドマップ, 糖鎖プロファイル, サイズ排除クロマトグラフィーについて, 代表的なシステム適合性の設定例案を作成し, その要件について考察した。

2) 次世代抗体医薬品等の品質・安全性評価法の開発 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

①前年度までに樹立した2種類のFcγ受容体発現レポーター細胞株を用いた改変型抗体の免疫作用評価系の最適化を実施した。ヒト末梢血単核球を用いたサイトカイン放出測定系との比較により, 構築した評価系が抗体医薬品の有害作用発現に繋がりうる免疫作用の予測・評価に有用であることを明らかにした。

②シングルユースシステムを用いて製造されるバイオ医薬品の品質安全性確保のためのリスクマネジメント手法について, シングルユース製品由来不純物を中心とするリスクアセスメント, 及び, リスク対応の考え方をまとめ, White Paperとして公表した。③日米欧におけるバイオ後続品/バイオシミラーの製品開発及びガイドライン整備の動向を調査し, 日本のバイオ後

続品指針における課題を考察した。

③抗体を対象としてHDX/MSによる高次構造解析手法の最適化を行った。また, 抗体及びFc融合タンパク質のFc領域についてHDX/MS解析を行い, 両者のFcRn結合領域の高次構造に差異が認められることを明らかにした。

3) 水素重水素交換/質量分析による糖タンパク質-糖鎖複合体の相互作用解析技術の開発 (科学研究費補助金 (日本学術振興会))

HDX/MSによるAT-Hep複合体の相互作用解析により, ATのHep結合部位, 及びHepの結合に伴う高次構造変化を確認できることを明らかにした。HDX/MSは糖タンパク質-糖鎖複合体の相互作用解析技術としての応用可能であることを実証した。

4) Fc受容体固定化カラムを用いた抗体医薬品の特性解析法の開発 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

Fcγ受容体アフィニティークロマトグラフィーによって分離される抗体分子の糖鎖構造を明らかにした。また, それぞれの分離ピークにおけるADCC活性やCDC活性などの特性を明らかにした。

5) バイオ医薬品のライフサイクルマネジメントに関する研究 (AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業)

ICHガイドラインの新規トピックであるQ12医薬品のライフサイクルマネジメントに関し, バイオ医薬品関連の課題に対する科学的側面からの提案をまとめるため, 産官のメンバーからなる分科会を構築して, Established Conditions等に関する議論を開始した。

### 2. バイオ医薬品の有効性・安全性評価に関する研究

1) 先端的バイオ医薬品の品質・安全性確保のための評価法開発 (AMED創薬基盤推進研究事業)

①抗体医薬品を対象として, ヒト血清試料からの濃縮・精製方法, 酵素消化方法, 及び内標準物質の添加方法等の前処理方法の最適化を行うと共に, 各前処理工程において考慮する必要のある標準的な要件を抽出した。

②抗薬物抗体測定におけるカットポイント設定に関し, 共通データを用いて多機関での解析を行い, 各機関で用いられている統計解析手法を比較すると共に, 統計解析手法選択に関する考え方を明らかにした。

2) バイオ医薬品の安全性評価・品質管理に関する研究 (AMED医薬品等規制調和・評価研究事業)

①バイオ医薬品の製法開発の際に実施されるウイルスクリアランス工程評価に用いられるウイルス試験について, 使用するウイルス, 及び, 用いられる試験の種類とバリデーションの要件を整理した。また, バイオ医薬品のウイルス安全性に関する専門家からなる分科

会を構築し、ウイルスリスクマネジメント要件の明確化と日局への反映に向けた議論を開始した。

②電気化学発光法を用いた抗薬物抗体分析法を構築し、モデル抗薬物抗体を用いた分析能の評価を行った。また、免疫原性評価に関する海外ガイドラインの記載事項を調査し、抗薬物抗体分析法を中心に、免疫原性評価の要件を整理した。

③ in vivoで分布解析等を実施するための新生児型Fc受容体 (FcRn) 親和性改変抗体を発現、精製した。導入したアミノ酸改変がマウスの各種Fc受容体との結合性へ及ぼす影響を明らかにした。

④抗体医薬品と抗薬物抗体 (ADA) によって形成される免疫複合体の分子サイズとFc $\gamma$ 受容体活性化能の相関について明らかにした。モデルADAとして抗CD20抗体リツキシマブに対する抗イデオタイプ抗体を作製した。

3) 薬物結合抗体の動態関連分子結合性が細胞内・体内動態に及ぼす影響の解明 (科学研究費補助金 (日本学術振興会))

各種抗体薬物複合体 (ADC) モデルを用い、動態関連分子結合性の違いが動態に及ぼす影響を明らかにした。

4) 免疫グロブリン製剤に含まれる凝集体の特性と安全性に関する研究 (科学研究費補助金 (日本学術振興会))

免疫グロブリン製剤から生成させた凝集体の特性解析を行い、凝集体を形成しやすい抗体分子の特性を明らかにした。

5) 抗体医薬品の薬効発現に影響する因子に関する研究 (一般試験研究費)

EGFR発現細胞株において、ガングリオシドの生合成阻害剤PDMPが、抗EGFR抗体セツキシマブの細胞増殖抑制作用及び抗体依存性細胞傷害作用を増強することを明らかにし、セツキシマブの薬理作用が、細胞膜に存在するガングリオシドによる制御を受けている可能性を見出した。

6) 抗体医薬品の有害作用発現に関連するヒト免疫応答メカニズムの解析 (科学研究費補助金 (日本学術振興会))

抗体医薬品の生産細胞として用いられるCHO細胞の宿主細胞由来タンパク質に対するヒト血清反応性について明らかにした。

7) バイオ医薬品の薬剤疫学的研究 (一般試験研究費)

免疫調節作用を有するバイオ医薬品を中心に、各種の抗体医薬品について、医薬品副作用データベースに報告された種々の有害事象の報告オッズ比や発現時期を解析した。インフリキシマブとニューモシスチス肺炎との関連、セルトリズマブ ペゴルと帯状疱疹との

関連等が示唆された。

### 3. 日本薬局方の生物薬品関連試験法に関する研究

1) ヘパリン医薬品の活性試験及び純度試験等に関する研究 (医薬品承認審査等推進費)

①日局ヘパリンナトリウム各条に、ナトリウムに関する確認試験を新規設定するため、日局一般試験法<1.09>定性反応の「炎色反応試験 (1) 金属塩の炎色反応<1.04>」及び「(2) 沈殿反応」のヘパリンナトリウムへの適用について検討し、これらの試験によりヘパリンナトリウムに含まれるナトリウムを確認することができることを実証した。また、ヘパリンナトリウム各条ナトリウム確認試験の原案を作成した。

2) 日本薬局方等の医薬品品質公定試験法拡充のための研究開発 (一般試験研究費)

第十七改正日本薬局方において製造要件が定義されることを踏まえ、日局における生物薬品の製造要件の記載方法を考案した。また、生物薬品各条試験法の記載方法を整理し、原案作成要領として提案した。

3) 宿主細胞由来タンパク質の試験法に関する研究 (医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団研究補助金)

米国薬局方及び欧州薬局方に記載予定の宿主細胞由来タンパク質の試験法に関するガイドラインについて、調査分析した。

4) 日本薬局方 糖鎖試験法の国際調和に関する研究 (医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団研究補助金)

抗体医薬品を用いて、2-AB誘導体化及びHILIC/FL法、並びにAPTS誘導体化及びCE/FL法の再現性を確認した。

5) 日本薬局方の国際化に関する調査研究 (一般試験研究費)

第十七改正日本薬局方に記載される生物薬品関連の各条、一般試験法、及び参考情報について、適切な英語表記に関する調査を行った。

### 4. 先端的バイオ医薬品等開発に資する品質・有効性・安全性評価に関する研究

1) 規基材を用いて製造されるバイオ医薬品の品質・安全性確保に関する研究 (AMED創薬基盤推進研究事業)

トランスジェニックカイコを用いて製造されたTNFR-Fcの特性解析を行い、CHO細胞で製造されたTNFR-Fcとの糖鎖構造や熱安定性、凝集性などの物理化学的性質の相違を明らかにした。

2) Claudinを標的とした創薬基盤技術の開発 (AMED創薬基盤推進研究事業)

pH感受性蛍光色素により標識した抗Claudin抗体の

細胞内取り込み、及び、抗腫瘍薬結合Protein G共存下における細胞傷害活性について検討を行い、作製した抗Claudin抗体が抗体薬物複合体として適用可能であることを明らかにした。

### 3) 医薬品の力価測定法に関する研究 (AMED創薬基盤推進研究事業)

多様な薬効を有する医薬品をモデルとし、疼痛抑制作用の力価試験法の設定に向け、培養細胞及び疼痛モデルマウスを用い、薬理学的な特性を解析した。

### 4) 抗体医薬品の血中半減期延長技術確立を目指したFcRn親和性の基盤研究 (科学研究費補助金 (日本学術振興会))

FcRn親和性を改変した抗体について、血中半減期と相関の高いFcRn親和性の解析方法を明らかにすることを目的とし、表面プラズモン共鳴法を用いた各種解析方法に関して、算出される親和性等の違いを明らかにした。

## 生 薬 部

部 長 袴 塚 高 志

### 概 要

当部では生薬、生薬・漢方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。

第一室関連では、日本薬局方原案審議委員会生薬等委員会等において、第17改正日本薬局方第一追補に関する審議に参画し、生薬関連の新規収載及び既収載品目各条、及び関連する総則、一般試験法、参考情報等における原案作成に寄与した。また、日本薬局方外生薬規格2015(局外生規2015)発出のためWGを組織し、原案作成に寄与した。

第二室関連では、生薬部が全面的に協力した一般用の生薬・漢方製剤のリスク分類見直しで漢方製剤が第2類医薬品に一律に分類されたことについて、薬事・食品衛生審議会医薬品等安全対策部会安全対策調査会の求めに応じて作成した漢方製剤を安全に使用できるツール「安全に使うための漢方処方確認票」及び「安全に使うための一般用漢方処方の鑑別シート」のPDF版を一般に公

開した。さらに、局方医薬品承認申請の手引きの全面見直しを行い、平成27年に発出された薬生審査発1225第6号通知「生薬のエキス製剤の製造販売承認申請に係るガイドダンスについて」の原案作成に寄与した。

第三室関連では、危険ドラッグ対策として、厚生労働省より「指定薬物である疑いがある物品」について検査依頼があった製品、また、財務省関税局より厚生労働省を通じて依頼があった「指定薬物と類似の成分を含有すると推測される検体」もしくは「指定薬物である疑いがある物品」について対応した。また、新たな指定薬物の指定の過程に貢献し、これらの標準分析法を作成するとともに、分析用標品の交付体制を整えた。さらに、違法ドラッグデータ閲覧システムについて、新たに指定された化合物の更新作業を行い、平成28年3月時点で710化合物2128製品の情報を擁する同システムを、引き続き全国の公的分析機関及び海外の公的機関にアクセスを制限して公開した。

生薬部では、所掌にないが、国立衛研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。平成27年度は、「医薬品の成分本質に関するWG」が1度開催されたが、会議の開催に対して、監視指導麻薬対策課に全面的に協力した。

生薬の国際調和、国際交流関連において、当部はWestern Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH)「生薬に関する国際調和のための西太平洋地区会議」の日本事務局としてFHHの活動に関与するとともに、袴塚及び政田は平成27年12月10～11日に中国の杭州市で開催された常任委員会、及び同年6月23～24日にスイスのラインフェルデン市で開催された第2分科会に参加した。また、国際標準化機構(ISO)のTC249(中国伝統医学専門委員会)において、古代中国医学を源とする東洋伝統医学の薬用植物、生薬、処方及び鍼灸関連の器具・機器についての国際標準化が進みつつあり、袴塚は同年6月1～4日に中国北京市で開催された全体会議に参加した。花尻は平成28年3月13～24日にオーストリア・ウィーンで開催された第59会期国連麻薬委員会に参加した。

また、袴塚は平成27年6月16日に中国広東省暨南大学で開催された伝統薬物討論会にて漢方製剤の品質確保に資する規制について講演した。さらに、花尻及び内山は同年8月29日～9月6日にイタリアフィレンツェ市で開催された第53回国際法中毒学会に参加し、危険ドラッグに関する研究発表を行った。また、内山は、同年8月8～11日に韓国プサン市で開催されたIUPAC 48th General Assembly(国際純正・応用化学連合第48回総会)に参加発表した。

平成27年度の人事面の異動は以下の通りである。同年4月1日付けで、Lida Teng博士が短時間勤務非常勤職員として採用され、Kenny Kuchta博士が外国人特別研究員として採用された。派遣研究員に関して、同年5月1日付けで後藤佑斗氏、同年6月11日付けで吉富太一博士氏、同年8月10日付けで富田奈緒美氏が採用された。また、平成28年3月31日付けでLida Teng博士及び富田奈緒美氏が退職した。

なお、政田さやか主任研究官は、天然物医薬品の安全性及び品質確保に関する研究において、平成27年度日本生薬学会学術奨励賞を受賞し、佐藤直子博士は、生薬及び生薬製剤の品質確保のための研究において、平成27年度日本生薬学会生薬天然物部会奨励研究賞を受賞した。

### 業務成績

1. 日本薬局方外生薬規格 2015 の作成に向け、WG を組織すると共に、厚生労働省が主催する検討委員会に委員として参画した。同規格は、平成27年12月に、医薬・生活衛生局審査管理課長通知として発出された。
2. オウレン及びオウレンを含む漢方処方製剤（黄連解毒湯）9検体について重金属及びヒ素の分析試験を行った。その結果、全ての検体が規格に適合するものと判断された。
3. 厚生労働省が委託し、インターネットで買い上げた危険ドラッグ6製品について、指定薬物を含む代表的な危険ドラッグ成分及び構造類似麻薬成分を分析対象として成分分析を行った。
4. 厚生労働省から「指定薬物である疑いがある物品」について検査依頼があった1037製品について、指定薬物を含む代表的な危険ドラッグ成分及び構造類似麻薬成分を分析対象として成分分析を行った。
5. 税務省関税局等より厚生労働省を通じて依頼があった「指定薬物と類似の成分を含有すると推測される検体」もしくは「指定薬物である疑いがある物品」58製品について含有成分を分析するとともに、植物試料については遺伝子分析を実施した。
6. 各都道府県より買い上げられた強壯用健康食品について、21種の強壯作用を有する医薬品類を対象に分析を行った結果、146製品（重複2製品）中2製品から対象薬物が検出された。さらに、厚生労働省インターネット買い上げ強壯用健康食品について、上記対象薬物の分析を行った結果、昨年度買い上げた82製品中54製品より対象薬物が検出され定量を行った。また、今年度は、114製品の買い上げを行った。
7. 厚生労働省インターネット買い上げ痩身用健康食品について、分析を行った結果、故意に添加されたと思われる医薬品成分はいずれの製品からも検出されなかった。
8. あへん（国産あへん6件、輸入あへん66件、計72件）中モルヒネ含量について試験を行った。
9. 鑑識用麻薬標品として、平成26年度に新たに麻薬に指定された4化合物を大量確保し、これら標品について各種定性試験（NMR, TOFMS, GC-MS, LC-PDA-MS測定）及び品質試験（HPLCによる純度測定）を行った。なお、平成28年3月時点で鑑識用標準品として122化合物を管理し、依頼に応じて全国の鑑識機関に交付した（平成27年度のべ14化合物）。
10. 4種のタダラフィル構造類似化合物の迅速分析法を作成した。
11. 平成27年度の12月までに医薬品医療機器等法下、新たに指定薬物として指定された化合物のうち、包括指定の一部を含む50化合物について（包括指定の一部を含む）、分析用標品を大量製造・確保し、これら標品について各種定性試験（NMR, TOFMS, GC-MS, LC-PDA-MS測定）及び品質試験（HPLCによる純度測定）を行った。なお、平成28年3月時点で指定薬物分析用標品として375化合物2植物を管理し（包括指定化合物の一部を含む）、依頼に応じて全国の分析機関に交付した（平成27年度のべ1421化合物）。
12. 平成27年度に医薬品医療機器等法下、新たに指定薬物として指定された化合物のうち、包括指定の一部を含む70化合物について、GC-MS及びLC-MSによる標準分析法を作成した。また、本標準分析法は、「指定薬物の測定結果等について」として厚生労働省より全国に通知された。
13. 未記載であるオピオイド受容体アゴニストである麻薬（Fentanyl, Acetylfentanyl, AH-7921）、指定薬物（MT-45, p-Fluorobutyrylfentanyl）及びそれらの構造類似化合物（Butyrylfentanyl）について、定性・定量分析並びに各薬物の解説を記したマニュアルを作成した。
14. 前年度に構築した違法ドラッグデータ閲覧システムについて、引き続き全国の公的分析機関及び海外の公的機関にアクセスを制限して公開した。さらに今年度に新たに指定された化合物について順次データベースに追加して更新作業を行なった。また、公的機関からの危険ドラッグに対する問い合わせに対応した。平成28年3月時点で違法ドラッグデータ閲覧システムは710化合物2128製品の情報を掲載し、国内295機関、国外29機関が登録している。
15. 麻薬及び乱用薬物に関する情報収集（医薬食品局監視指導・麻薬対策課及び地方厚生局麻薬取締部）に協力した。特に、平成27年度に指定薬物及び麻薬として緊急に対応すべき薬物をリスト化し（指定薬物部会12

回、依存性薬物検討会2回)、これらの薬物について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。本報告は、厚生労働省が開催した薬事・食品衛生審議会指定薬物部会において、問題となる薬物を指定薬物に指定するための判断根拠となる科学的データとして提示された。

16. 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、平成27年11月13日に46都道府県等64名の担当者を対象として、平成26年度指定薬物分析研修会議を国立衛研で開催した。
17. 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課を通して正式な依頼を受け、地方衛生研究所、税関及び地方厚生局麻薬取締部等の公的分析機関から送付された未同定危険ドラッグ成分を含む危険ドラッグ製品について含有成分分析を実施した。
18. 地方衛生研究所等に対し、10種の分析用標品(フェンフルラミン、シルデナフィル、など)の配布(のべ104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。
19. 機能性表示食品6製品について、届出書類を基に成分の定量を行い、分析方法の妥当性を検証した。
20. 専ら医薬品に関する情報収集(医薬食品局監視指導・麻薬対策課)に協力した。
21. 薬事・食品衛生審議会の部会、調査会等の委員や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、動物用医薬品の承認審査、指定薬物の指定等に協力した(袴塚、花尻、丸山)。また、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(袴塚、花尻、丸山)。
22. 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。

## 研究業績

### 1. 生薬・生薬製剤・漢方処方及び植物薬の規格及び分析方法に関する研究

- 1) 漢方処方の局方収載のための原案作成WG会議を実施し、第17改正日本薬局方(17局)第一追補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、修正等を行った。
- 2) トウキ及び韓国トウキについて、LC/MS分析による成分の比較を行った。
- 3) 一般用漢方製剤承認基準について、施行後の問題点や見直しの必要性を検討するための基礎資料として、一般用漢方製剤294処方を13の疾患分類に選別した。
- 4) 生薬の品質確保に関する研究として、日本薬局方に収載された漢方エキスのうち、桂枝茯苓丸、柴胡桂枝湯及び釣藤散の構成生薬24品目70検体についてヒ素、

カドミウム、水銀及び鉛の実態調査を行った。

- 5) 生薬の国際調和に関する研究として、杭州で開催された第13回FHH Standing Committee会議に参加するとともに、Sub-Committee I及びIIの活動を行った。
- 6) 日本薬局方外生薬規格(局外生規)新規収載候補品目であるチクヨウ及びその類似生薬タンチクヨウの確認試験法案を作成すると共に指標成分の同定を行った。  
(以上、医療研究開発推進事業補助金・医薬品等規制調和・評価研究事業)
- 7) 遺伝子情報を利用する生薬の純度試験法の検討として、ボウフウの純度試験法案の作成を行った。多変量解析を用いた生薬の品質評価法の開発に関する基礎検討として、ショウキョウ及びカンキョウのTRPV1受容体賦活活性を指標にしたLC-MSデータのPLS回帰分析を行い、活性予測モデル式の作成を行った。
- 8) 我が国で一般用医薬品及び健康食品として流通する西洋ハーブ製剤について、LC/MS/MSによる成分分析を行い、成分組成や含量のばらつきから、品質評価を行った。
- 9) 漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースの構築のため、市場に流通するショウマ、リュウガンニク及びレンギョウの遺伝子情報を解析した。
- 10) 漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースの構築のため、リュウタン及びレンギョウに含まれる成分について、LC-MS/MS分析を行い、これらの化学情報の集積を行った。
- 11) ISO TC249(中国伝統医学(仮題)標準化専門委員会)における東アジア伝統医学に関する国際標準の作成作業に参画し、製造工程管理の考え方を加味した生薬及び処方の品質確保に関する国際標準案の作成に寄与した。  
(以上、医療研究開発推進事業補助金・創薬基盤推進研究事業)
- 12) 生薬製剤承認審査基準原案策定の基盤整備として「局方医薬品承認申請の手引き(局方手引き)」の見直しを行っていたが、これを基本骨格とした平成27年薬生審査発1225第6号通知「生薬のエキス製剤の製造販売承認申請に係るガイダンスについて」が発出された。この成果を受け、承認前例はあるが上記通知に収載されていない生薬及び生薬エキス製剤に着目し、これらの承認申請基準原案作成に向けた情報収集及び検討を行った。  
(医療研究開発推進事業補助金・医薬品等規制調和・評価研究事業及び創薬基盤推進研究事業)
- 13) さく葉標本から効率的にDNAを抽出・増幅する方法を確立し、正しい基原に由来する薬用植物のさく葉標

本から配列情報の収集に着手した。  
(日本学術振興会科学研究費補助金)

## 2. 生薬及び生薬資源の開発と利用に関する研究

- 1) 六君子湯構成生薬である半夏について、活性強度の異なる複数ロットについて蛍光指紋を測定した。
- 2) 八味地黄丸について、構成生薬の成分を指標として血清中の分析条件を決定し、湯剤と漢方処方エキス製剤との生物学的同等性の評価について検討を行った。Alisol A, Alisol A monoacetate, Alisol B, Alisol B monoacetate, Loganin, Morroniside及びPaeoniflorinについて検討を行った結果、これらの成分は同等性の評価に関する指標成分とするには、现阶段では困難と思われた。  
(以上、医療研究開発推進事業補助金・医薬品等規制調和・評価研究事業)
- 3) 漢方製剤の安全使用を目的として、情報提供補助ツール「安全に使うための漢方処方の確認票」と「安全に使うための一般用漢方処方の鑑別シート」のPDF版を作成し、当研究所及び関連団体のホームページ上でダウンロード可能な電子ファイルとして公開した。
- 4) 甘草配合漢方処方25処方におけるグリチルリチン酸含量を定量し、エキスのpHによってグリチルリチン酸抽出率が変化することを明らかにした。  
(以上、厚生労働科学研究費補助金・医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

## 3. 麻薬・依存性薬物及び指定薬物に関する研究

- 1) 危険ドラッグの関与が疑われている4死亡事例の尿試料について、LC-Q-TOF-MSを用いたスクリーニング分析の結果、いずれの試料からも、異なる薬理作用を有する複数の危険ドラッグ成分もしくは代謝物が検出され、麻薬成分や向精神薬が同時に検出された試料も存在した。グルクロニダーゼ酵素未処理及び処理試料について、予測される代謝物等も含め、LC-MS/MS MRMモードで定量分析を実施した結果、4試料から計27化合物(危険ドラッグ8化合物および代謝物10化合物、その他麻薬、向精神薬等9化合物)が0.1-1538 ng/mL(グルクロニダーゼ処理試料)検出され、様々な危険ドラッグ製品や薬物を併用している乱用実態が明らかとなった。
- 2) 危険ドラッグ製品のDNA塩基配列を指標とした植物種の鑑定を行い、各種DNA塩基配列解析の結果、ヘンナ(ヘナ)、ダミアナ、ドリームハーブ、スイレン、ハス、ハワイアンベイビewoodローズ、ホップ、ミナミシビレタケを製品中から検出した。
- 3) 大麻DNAのマイクロサテライト解析のひとつであ

るRAMS法を検討し、異動識別法には利用可能であることが示唆された。

- 4) ミナミシビレタケ由来DNAのLAMPを用いた簡易迅速目視判定法を検討した。子実体、菌糸(体)の両形態であっても分析できる点は分析法のひとつとして有効であると考えられた。
- 5) 危険ドラッグ446化合物についてLC-Q-TOF-MS分析と同時にイオンモビリティ分離(Ion Mobility Separation: IMS)を行い、得られた各化合物の保持時間、プレカーサーイオンおよびプロダクトイオン精密質量情報に衝突断面積(Collision cross section: CCS)情報を加えて化合物ライブラリを構築した。これを用いて、危険ドラッグが起因したと考えられる4名の死亡事例における血清試料中化合物の分析を行ったところ、IMSを併用することにより生体試料由来の夾雑物による影響の軽減が可能で、より信頼性や特異性の高いスクリーニングが可能であった。
- 6) 法規制薬物及び構造類似化合物(ベンゾジアゼピン類など計38化合物)について、TLC分析及び呈色試薬による発色を確認した。さらに、簡易薬物スクリーニングキットを用いて、法規制薬物及び未規制薬物(計124化合物)を対象として検出法の評価を行った。今回検討したキットでは、法規制薬物のみを識別することは困難であったが、新たな流通が危惧される法規制薬物の構造類似体等の簡易検出法の一つとして有用であると考えられた。
- 7) ヒト肝ミクロソーム画分を用いて新規流通トリブタミン系危険ドラッグ4-AcO-DETの代謝的検討を行った。その結果、1) 4-AcO-DETは、ヒト肝ミクロソーム画分の酵素により4-OH体に変換されること、2) 4-AcO-DETから4-OH-DETへの変換はNADPHに非依存的な反応であること、3) カルボキシルエステラーゼの特異的阻害剤であるbis(4-nitrophenyl)phosphateを用いて検討した結果、4-OH-DETへの変換を担う酵素は肝臓のCYPではなくカルボキシルエステラーゼであること、4) カルボキシルエステラーゼによる脱アセチル化反応は極めて速いこと、が明らかとなった。
- 8) 危険ドラッグ製品の迅速スクリーニング法の構築を目的として、DARTイオン源にOrbitrap MSをつなげたDART-Orbitrap MSによる危険ドラッグ製品の分析を検討した。スクリーニングの対象とする化合物の標準試薬のMS/MSスペクトルを測定し、データ解析ソフトウェアTraceFinder3.2のライブラリを構築した。危険ドラッグ製品をDART-Orbitrap MSで測定し、TraceFinder3.2でスクリーニング対象化合物の精密質量、同位体パターン、MS/MSスペクトルのフラグメ

ントイオン，作成したライブラリのMS/MSスペクトルとのマッチングをもとに含有成分の検出を行なった。その結果，乾燥植物細片，液体製品及び粉末製品とも含有される化合物の検出が可能であり，LC-MSやGC-MSに比べ非常に短時間でできるため有効な方法であることがわかった。

- 9) 平成27年度に入手した危険ドラッグ製品中から新規流通危険ドラッグ成分として41化合物を同定した。内訳としては，合成カンナビノイド，カチノン類，フェネチルアミン類，ベンゾジアゼピン類などである。今回検出された41化合物のうち，26化合物は，平成27年度に指定薬物として規制された。
- 10) 危険ドラッグ市場に新規に登場した合成カンナビノイド3化合物について，カンナビノイドCB1及びCB2受容体への結合親和性を測定し，中枢神経系へ影響を及ぼす蓋然性について検討した。測定の結果，3化合物のうち，pyrazole型の新規合成カンナビノイドAB-CHFUPYCAは，カンナビノイドCB1及びCB2受容体の両方に対しほとんど親和性を示さなかった。一方，FU-PX-2はCB1及びCB2受容体に対し，麻薬であるJWH-018と同程度の強い結合親和性を示した。また，indazole-3-carboxamideタイプの合成カンナビノイドCUMYL-5F-PINACAは，CB1及びCB2受容体に対して麻薬JWH-018の約100倍と，極めて強い結合親和性を示した。特にCB1受容体に対しては，ポジティブコントロール(R)-(+)-WIN55212-2よりも10倍程度強い親和性を示し，その危険性が憂慮された。
- 11) 活性未知26種類の危険ドラッグについて，ラット脳シナプトソーム画分におけるDopamine, Noradrenaline及びSerotonin再取り込み阻害活性(IC50値)を測定した。その結果，3化合物はいずれのモノアミンに対しても再取り込み阻害活性を示さなかったが，その他23化合物では活性が認められた。カチノン系化合物では，ベンゼン環上のメトキシ基及びメチレンジオキシ基，テトラリン構造，ピロリジン構造の導入，またアルキル主鎖の長さにより，3種類のモノアミン再取り込み阻害活性パターンが異なることが示唆された。さらに，フェニデート系化合物においては，いずれも強いDopamine及びNoradrenalineの再取り込み阻害活性が認められたが，ナフタレン構造を有する化合物は，Serotoninに対しても比較的強い阻害活性を有していた。
- 12) ヒト5HT2A受容体とAequorinを安定的に共発現する市販の組換え細胞を用い，24種類の危険ドラッグについて，5HT2A受容体を介したアゴニスト活性を相対的に評価した。その結果，いずれの化合物にも5HT2A受容体に対するアゴニスト活性が認められた。

トリプタミン系化合物では，全体的に4-OH体と比べて4-AcO体はEC50値が3-8倍高く，薬理活性が弱いと考えられた。また，トリプタミン骨格の末端アミンに修飾されるアルキル鎖が長く嵩高いほど受容体との結合を阻害し，結果的に薬理活性が弱くなると考えられた。

- 13) 主に平成27年度新規流通合成カンナビノイド(計11化合物)についてマウスの自発運動量に及ぼす作用を検討した。さらに，平成25～27年度に検討した計57化合物(指定薬物48化合物，未規制9化合物)について各作用を比較した。その結果，57化合物中36化合物はいずれもマウスの自発運動量を有意に減少させ，一部の化合物は，陽性対照であるJWH-018と同程度またはそれ以上に強力な行動量抑制作用を示した。
- 14) 平成27年度新規麻薬25I-NBOMeをマウスの腹腔内に投与し，脳波および自発運動量の変化について検討を行った。その結果，本化合物は投与後にマウスの自発運動量を有意に減少させ，その抑制作用の持続時間は陽性対照2CIと同じであった。さらに，両化合物はマウスの脳波パターンに変化を与えたが，両化合物の脳波スペクトルに明らかな共通パターンはみられなかった。
- 15) マウスに $\Delta$ 9-THC, 5F-ADB, JWH-018の何れかの薬物を投与した際に誘発される脳活動を神経活動マーカーであるc-fos mRNAの発現を指標に解析した。 $\Delta$ 9-THC, 5F-ADB, JWH-018はいずれも共通して扁桃体中心核，分界条床核，傍小脳脚核のc-fos mRNA発現を誘導したが，5F-ADB, JWH-018はこれらに加え，外側および内側視索前野，外側中隔核，視床下部室傍核，視床室傍核，視索上核，青斑核における強力なc-fos mRNAの発現も誘導した。これらの結果から，合成カンナビノイドは $\Delta$ 9-THCとは異なり，自律神経応答や情動行動，記憶を制御する脳領域に異常な脳活動を誘発していることが明らかになった。  
(以上，厚生労働科学研究費補助金・医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

#### 4. 天然有機化合物及び無承認無許可医薬品等に関する研究

- 1) 依頼のあった新規な植物由来物質5品目，化学物質4品目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。
- 2) オオイタドリ若芽の食薬区分上の取扱いを検討するため，国内各地産の同植物中のemodin含量を測定した。
- 3) 「専ら医薬品」である何首烏と誤用されやすい白首烏及び異様牛皮消について，これらの表示がある中国



市場流通品19検体を収集し、その基原植物種を成分と遺伝子解析の両面から推定した。その結果、何首烏として流通するものはすべて正しい基原種であることが示された。一方、白首烏及び異葉牛皮消として流通するものの基原種は表示から推定される基原種と異なっており混乱がみられた。

- 4) 「専ら医薬品」であるカクコンが混入する恐れのある健康食品、プエラリア・ミリフィカ含有製品について、3次元蛍光スペクトル測定を行い、同植物とカクコンを鑑別可能であることを確認した。
- 5) 原材料を濃縮して製造される製品に関して、その食薬区分に量的概念に基づく判定基準を導入できるかどうか検討した。
- 6) 食薬区分リストについて、原材料の基原や使用部位、名称、別名を中心として見直しを行い、修正原案を作成した。

(以上、厚生労働科学研究費補助金・医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

## 5. 生薬の形態学的試験及び検査に関する研究

- 1) 日局第17改正新規収載の生薬の性状、内部形態等について検討した。  
(一般試験研究費)

## 再生・細胞医療製品部

部 長 佐 藤 陽 治

### 概 要

再生医療・細胞治療は、現在の技術では治療困難な疾病に苦しむ患者にとって大いなる希望である。特にわが国のように、ヒトの臓器・組織ないしヒト細胞の確保が困難な医療状況下においてはなおのこと大きく期待されており、細胞の初期化、効率的分化誘導、目的細胞の純化など、昨今の研究・技術の進歩とともに、実用化と広がりを見込む声が増えつつある。

平成27年は、安全で有効な再生医療を迅速に患者のもとに届けるために成立した2つの法律、薬機法と再生医療等安全性確保法が施行されて1年目の年であったが、早くも平成27年の9月には薬機法のもとで、新しい製品カテゴリーである再生医療等製品として、ヒト（同種）骨髄由来間葉系幹細胞とヒト（自己）骨格筋由来細胞シートの2品目が、厚生労働省の製造販売承認を取得するに至っている。我が国独自の制度である条件・期限付き製造販売承認がヒト（自己）骨格筋由来細胞シートに初めて適用されたこともあり、日本の新制度は海外でも注目を浴びるようにもなった。

政府の『日本再興戦略』（平成25年6月）に掲げられた命題の一つ、「再生医療をはじめとする革新的医療技術の開発・実用化の推進」は順調に進んでいるように見える。ただ、開発側も規制側も経験はまだ多くはなく、最先端の技術を活用した医薬品、医療機器等の有効性と安全性を評価するためのレギュラトリーサイエンス研究、ならびに革新的医療技術の開発・審査ガイドラインの整備はまだ十分ではない。

再生医療等製品のうちヒトまたは動物に由来する細胞加工製品の品質・有効性・安全性の評価のためのサイエンスをミッションとしている再生・細胞医療製品部は、こうした状況の中で平成27年度も、有効で安全な細胞加工製品の迅速な実用化促進をめざし、以下の業務成績に示すように、関連する研究・開発の進展と共に登場してくるリスクの合理的評価法をはじめとした新たな基盤技術を世に先駆けて開発するとともに、これらをすべてのステークホルダーで共有するためのガイドライン案の作成に貢献してきた。今後もこのような活動を通じ、細胞加工製品の品質・安全性確保のための厚生労働行政が、科学的根拠に基づいて合理的に遂行されることに貢献することを目指している。

人事面では、平成28年3月1日に、日本医療開発研究機構のリサーチレジデントであった草川森士博士が、主任研究員として採用された。職員の海外出張としては、平成27年6月23日から29日まで、三浦、澤田、河野がスウェーデン・ストックホルムに渡航し、国際幹細胞研究会議 ISSCR 2015 Annual Meetingに参加している。同学会で澤田は間葉系幹細胞の遺伝子発現プロファイルに及ぼす生体親和性高分子材料の影響について発表した。平成27年8月20日から23日まで、安田はタイ・バンコクに渡航し、シンポジウム KMUTT's Special Seminar に参加し、日本における再生医療および細胞治療のレギュレーションについて講演した。平成27年10月には遊佐が中国・上海に渡航し、Pathogen Clean Asia Forum 2015にて、細胞加工製品のウイルス安全性について発表した。また、平成27年12月9日から13日まで、安田、三浦、草川、黒田が米国アトランタに渡航し、世界幹細胞サミット (WSCS: World Stem Cell Summit) に参加した。同サミットでは三浦が日本における再生医療および細胞治療の規制、レギュレーションについて講演した。

### 業務成績

#### 1. 革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業

平成24年度から実施されている厚生労働省「革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業」では、

7つの再生医療製品分野採択課題のうち、4課題について、製品の開発を目指す研究機関（大阪大学大学院医学系研究科、国立成育医療研究センター研究所、医薬基盤・健康・栄養研究所、理化学研究所）との人材交流を行い、27年度は5名の協力研究員受け入れ、細胞加工製品の品質・非臨床安全性評価のための試験法開発を展開すると同時に、「ヒト細胞加工製品の品質・安全性評価のための未分化多能性幹細胞検出試験及び形質転換細胞検出試験に関する留意点」（阪大採択課題）、「尿素サイクル異常症を対象疾患とするヒトES細胞加工製品の評価指標」（国成育七採択課題）、「再生医療等製品の原材料としてのヒト多能性幹細胞の品質についての考え方」（基盤研採択課題）のドラフトを執筆した。

## 2. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業

厚生労働省「次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業」の再生医療審査ワーキンググループの委員及び事務局を担当し、関節軟骨再生に関する評価指標（H22.12.15薬食機発1215第1号別添1）の見直しを行い、軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標（案）及び同種iPS（様）細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標（案）を作成した。また、耳介軟骨再生に関する評価指標（案）の作成に向けて調査及び討議を行った。

## 3. シンポジウム開催

バイオリジクスフォーラム主催の第13回バイオリジクスフォーラム学術集会（平成28年2月29日、於：タワーホール船堀）の事務局を生物薬品部とともに務めるとともに、日本医薬品等ウイルス安全性研究会主催の第16回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム「ウイルス安全性に関する最近のトピック」（平成28年2月13日、於：東京医科歯科大学）の世話人を務めた。

## 4. 学会活動

日本再生医療学会の理事として、同学会の推進戦略委員会委員としての活動を行うとともに、同学会データベース委員会委員長として、再生医療の臨床研究レジストリシステムの立ち上げを行った。

## 5. 各種委員会等への参画

- ①厚生労働省薬事・食品衛生審議会 再生医療等製品・生物由来技術部会委員を務めた。
- ②医薬品医療機器総合機構への協力としては、科学委員会CPC専門部会への委員として参画すると同時に、専門委員としての専門協議に参画した。
- ③医薬基盤・健康・栄養研究所基礎的研究評価委員会及

び実用化研究評価委員会専門委員を務めた。

- ④日本医療研究開発機構「再生医療の実現化ハイウェイ」の課題運営委員会委員を務めた。
- ⑤日本医療研究開発機構「再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システム」の課題運営委員会委員を務めた。
- ⑥日本医療研究開発機構「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」研究開発課題評価委員会外部専門家を務めた。
- ⑦日本医療研究開発機構「立体造形による機能的な永代組織製造技術の開発」課題POを務めた。
- ⑧新エネルギー・産業技術総合開発機構「次世代機能代替技術の研究開発」の事後評価委員を務めた。
- ⑨京浜臨海部ライフイノベーション国際戦略総合特区（殿町地区）連携協議会ワーキンググループのメンバーを務めた。
- ⑩農林水産省の「動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業」において動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会の委員を務め、「動物用自己由来細胞加工製品の品質・安全性確保のための指針」（案）の策定を主導した。
- ⑪食品安全委員会「動物用再生医療等製品のリスク評価ガイドライン案を検討するための基礎的調査」の検討会委員を務めた。
- ⑫日本医療研究開発機構「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業」採択課題における有識者会議の委員を務めた。

## 6. 業務外の社会貢献・教育活動

アウトリーチ活動の一環として従来行われてきた連携大学院におけるレギュラトリーサイエンスの教育活動については、平成27年度も引き続き、名古屋市立大学大学院薬学研究科（医薬品質保証学講座）、大阪大学大学院薬学研究科（レギュラトリーサイエンス大講座）、九州大学大学院薬学府（創薬産学官連携講座）において実施されている。また、群馬大学医学部非常勤講師、東京大学大学院非常勤講師としても、レギュラトリーサイエンスの教育活動を行っている。

さらに、薬学教育評価機構の評価委員を務めるとともに、東京医科歯科大学、慶應義塾大学および東海大学の特定認定再生医療等委員会に再生医療の有識者として参加し、再生医療等提供計画の審査を行った。

新聞・テレビ等での記事掲載としては、日経バイオテク4月13日号特集「第14回日本再生医療学会総会レポート」で、造腫瘍性に関する研究成果が取り上げられた。また、日経バイオテクOnLine（4月22日）では、「国立衛研の佐藤部長、造腫瘍性試験のガイドラインを今年度中に作成開始へ、バンク化の重要性も指摘」として、インタビュー記事が掲載された。日経バイオテク6月1日号

特集「再生医療の品質管理」にコメントが掲載された。8月14日付け日本経済新聞「iPS備蓄 安全性は」にコメントが掲載された。さらに、日経バイオテクOnline（12月21日）「特定認定再生医療等委員会を設置した蒲郡市長に聞く：『再生医療のまち』と認知されたい」、日経バイオテクOnline（1月1日）「新春展望、佐藤陽治＝国立医薬品食品衛生研究所再生・細胞医療製品部長 もっと再生医療にリスクコミュニケーションを！」、マイナビニュース（1月18日）「NIHSなど、再生医療用移植細胞中のがん細胞を超高感度に検出する方法を開発」と報じられたことに加え、3月4日にはNHK総合テレビのニュースで「iPS細胞で作った組織のがん 微量でも検出可能に」として当部で開発した試験法が紹介された。

## 研究業績

### 1. 細胞・組織加工製品の特性と品質評価に関する研究

①再生医療製品の品質・安全性評価のための新たな試験法に関する研究：

人材交流を介して、再生医療製品の品質評価法に関する論文の国際誌への投稿、製品の品質や規制に関する総説等の発表を行った。またWGを立ち上げ、品質・安全性評価の留意点に関するガイドラインの素案を作成した。（医薬品等審査迅速化事業費補助金）

②ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究：

培地、マトリックスなどの培養条件の異なるヒトiPS細胞の造腫瘍性試験を行うため、重度免疫不全NOGマウスへの投与を行った。ゲノム編集技術によりがん関連遺伝子に変異を導入したヒトiPS細胞株を作製した。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

③小児難病患者及び成育疾患患者由来iPS細胞の樹立と薬剤スクリーニング系の確立：

iPS細胞由来分化細胞を用いた小児難治性疾患に対する創薬シーズ探索方法と薬剤候補物質の安全性の評価方法の妥当性を、規制科学の視点から検討した。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

④多能性幹細胞のAW551984による心筋分化制御機構の解明：

AW551984が心筋細胞分化に重要な細胞シグナル経路を制御することが明らかになったため、AW551984結合タンパク質のエフェクター分子としての機能解析を行った。（科学研究費補助金（日本学術振興会））

⑤胚性幹細胞の新しいリプログラミング技術による高品質化と再生医学応用への基礎的研究：

リプログラミング因子依存性非ナイーブ様幹細胞は、多能性幹細胞としての特性は一部失われていたが、網羅的遺伝子発現解析およびメチル化解析により、非ナイー

ブ様幹細胞は部分的にリプログラミングされていることを明らかにした。（科学研究費補助金（日本学術振興会））

⑥特定細胞加工物／再生医療等製品の品質確保に関する研究：

全エクソーム解析による一塩基変異（SNV）の変動について解析を実施した結果、細胞加工物の継代ごとで蓄積される一塩基変異の箇所は正常な細胞株においては数個のみであることが観察された。また、従来の造腫瘍性細胞の検出感度を遥かに上回る超高感度検出法として、デジタル軟寒天コロニー試験法の開発に成功した。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

⑦ヒトiPS細胞等由来分化細胞の安全性に対するレシピエントの免疫状態の影響評価法の開発に関する研究：

レシピエントの免疫状態の強弱に応じたiPS細胞加工製品の適正な造腫瘍性評価法の体系化を目的に、遺伝的背景が同一で免疫抑制状態の異なるモデル動物を用いてヒトiPS細胞の造腫瘍性試験を行った。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

⑧再生医療実現化加速のための幹細胞等由来製品評価に最低限必須・共通の技術要件・基準に関する研究：

ヒト細胞加工製品の迅速な実用化・安全性確保のための共通のプラットフォームとすべく、MCPの体系化を進めると同時に、個別製品に対して追加的に必要な技術要件を検討した。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

⑨新たな戦略に基づく造腫瘍性未分化ES/iPS細胞の超高感度検出法の開発：

モデルヒト分化細胞として神経前駆細胞を用い、AdVベース及びAAVベースの分化細胞選択的アポトーシス誘導ウイルスベクターを感染させたところ、AdVベースベクターが高い感染効率を示し、平均97.6%の自殺効果が見られた。同条件でAdVベクターを感染させたiPS細胞には、全く自殺効果が見られなかったことから、目的の選択的ベクターが作製できたことを確認した。さらに神経前駆細胞にスパイクしたiPS細胞を41.6倍濃縮することができた。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

⑩日本人由来細胞の同一性・ゲノム安定性評価法の確立：

既存のヒトゲノム参照配列（hg19）と新規日本人ゲノム配列をゲノムワイドに比較した結果、新規マイクロサテライトの候補と予想された配列を279箇所同定した。（日本医療研究開発機構 委託研究開発費）

⑪再生医療等製品用生物由来原料のウイルス安全性確保のための試験法開発：

生物由来原料であるウシ胎児血清中に混入している可能性のある16種類のウイルスを産地やブランドの異なるウシ胎児血清について調べ、すべての検体からBVDVと

ウシポリオーマウイルスの核酸を検出した。(日本医療研究開発機構 委託研究開発費)

⑫最終製品の特性に応じた原材料の適切な品質評価のための分析ツールの開発:

ヒトiPS細胞株の三胚葉への分化プロベンシティと発現量との相関の高いmRNAを標的とするshRNAを安定発現するヒトiPS細胞を作製し, 三胚葉分化への影響を検討した。(日本医療研究開発機構 委託研究開発費)

⑬ヒトiPS細胞の均一性を評価するマーカーの探索:

分化誘導に耐性を示し, 未分化の状態のまま残存する細胞において特異的に発現する遺伝子(またはタンパク質)が, iPS細胞の原材料としての均一性を評価するマーカーとして妥当であるかを検証するため, 材料となる残存未分化細胞の単離・増殖およびストックの作製を行った。(日本学術振興会 科学研究費補助金)

⑭iPS細胞等を用いた臨床研究を実施する際の移植細胞の安全性評価の在り方に係る研究:

多能性幹細胞等由来細胞を用いる再生医療の安全性を確保するために, 安全性に関連する課題(risk issues)を整理して, 科学的見地から議論し, 特定認定再生医療等委員会における審議・評価に係る基本的考え方のとりまとめを行った。(厚生労働科学研究費補助金 厚生労働科学特別研究事業)

## 2. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標に関する研究

①再生医療等製品の評価指標に関する研究:

関節軟骨再生に関する評価指標(H22.12.15薬食機発1215第1号別添1)の見直しを行い, 軟骨細胞又は体性幹細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標(案)及び同種iPS(様)細胞加工製品を用いた関節軟骨再生に関する評価指標(案)を作成した。耳介軟骨再生に関する評価指標(案)の作成に向けて調査及び討議を行った。(医薬品審査等業務庁費)

## 3. 細胞・組織加工製品等のウイルス安全性に関する研究

①細胞組織加工製品における「ウイルス安全性実現のための基本スキーム」に関する研究:

細胞加工物のウイルス安全性を確保するために混入が想定されるウイルスを3つのグループに分類し, ウシヤブタのウイルス, 近年報告された新規のパルボウイルスなどを含めてqPCR法によるウイルスの検出法を樹立した。(科学研究費補助金(日本学術振興会))

②医薬品等の品質・安全性確保のための評価法の戦略的開発:

バイオ医薬品製造に多用されるCHO細胞から産生さ

れる内在性レトロウイルスクロンの不明だった一部のシーケンスを決定した。またこれらのウイルスクロンのCHO-K1株の産生量を明らかにした。(日本医療研究開発機構 委託研究開発費)

③バイオ医薬品製造に用いる細胞基材の新規ウイルス試験法の開発:

次世代シーケンサーを用いて細胞基材に感染したウイルスを高感度で検出することができる新規ウイルス試験法の樹立を目指してパイプラインの作成とウイルスデータベースの整備を行った。(日本医療研究開発機構 委託研究開発費)

## 4. 幹細胞の品質保持培養のためのメカノバイオマテリアルの開発に関する研究

①間葉系幹細胞の幹細胞性の総合的評価および簡易評価系の確立

分化フラストレートMSCの幹細胞性評価のためのコントロール条件となる均一弾性率ゲル上での培養MSCについて, 細胞培養の場の硬さの違いがMSCに与える影響について検討し, それぞれの遺伝子発現の変化の特徴を見出した。さらに, MSCの未分化性を示すマーカー遺伝子候補探索のための研究対象サンプル収集のため, 骨分化に対するプロベンシティの違うMSC株の選定を行い, 骨分化能が確認されたMSCを3株, 骨分化誘導されなかったMSCを10株見出した。(日本医療研究開発機構 委託研究開発費)

## 遺伝子医薬部

部長 内藤幹彦

### 概要

研究業務として8つの大課題, 遺伝子治療用製品の品質・有効性・安全性に関する研究, 核酸医薬品の品質・有効性・安全性に関する研究, 分子標的薬の安全性評価と創薬への応用に関する研究, 診断用医薬品に関する基礎的研究, 医薬品・再生医療等製品の有効性・安全性に関する研究, 細胞死阻害タンパク質及び細胞機能制御に関する研究, 腸管出血性大腸菌の毒性物質に関する研究, 代謝輸送の制御解明と創薬への応用に関する研究を中心に行った。

人事面では, 平成27年4月1日付けで前遺伝子医薬部第二室長であった井上貴雄博士が国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)に出向となり, 平成28年3月1日付けで遺伝子医薬部第四室の主任研究官として, 築茂由則博士が新規採用された。昨年度に引き続き, 青山

学院大学理工学部化学・生命科学科客員教授の降旗千恵博士を客員研究員として迎え、DNAチップを用いた発現解析に関する共同研究を継続するとともに、体外診断薬に関する研究業務の支援を受けた。平成27年7月より中央大学商学部西川可穂子教授を客員研究員として迎え、熱傷後の複合免疫不全病態の解析および高脂肪食による脂肪肝誘導におけるレスベラトロールの保護作用に関する共同研究を行った。また、平成27年4月1日付けで大阪大学大学院薬学研究科の佐々木澄美博士を協力研究員として迎え、オリゴ核酸の細胞内動態に関する共同研究を行った。

海外出張は以下の通りである。内藤部長は、第10回日米癌合同会議に参加し、プロテインノックダウン法による特異的タンパク質分解について発表するために米国ラハイナに（平成28年2月16日～22日）出張した。吉田研究員は、第11回核酸医薬学会年会（11th Annual Meeting of the OLIGONUCLEOTIDE Therapeutics Society）に参加し、核酸医薬品のオフターゲット効果に関する研究成果の発表のためにオランダ、ライデン市に（平成27年10月10日～16日）出張した。鈴木孝昌室長は「第3回予防・個別化医療と分子診断に関する国際会議」に参加し、コンパニオン診断薬の規制をめぐる課題についてポスター発表を行い（スペイン、バレンシア）、あわせて、バルセロナの癌の予防と個別化医療研究所を訪問し、横田淳博士と肺がんのバイオマーカーに関する共同研究の検討を行った（平成27年8月31日～9月3日）。また、HUPO（ヒトプロテオーム機構）2015会議に参加し、「環境および生体内変異原物質に対するヒト暴露モニタリングのためのタンパク付加体解析」についてポスター発表を行うためにカナダ、バンクーバーに（平成27年9月27日～30日）、上海交通大学より招聘を受け、上海交通大学医学院にて開催された「2015 中薬安全性シンポジウム（上海国際中薬安全性検討会）」に参加し、「尿プロテオーム解析によるアリストロキア酸の毒性マーカーの探索」に関する招待講演を行い、あわせて上海交通大学、欒洋教授と共同研究に関する打ち合わせを行うために中国、上海に（平成27年10月11日～15日）出張した。

## 業務成績

当部職員は、以下の活動を実施した。

平成27年8月12日科発0812第1号厚生科学課長通知「遺伝子治療等臨床研究に関する指針について」の別表1の別添「遺伝子治療等臨床研究計画書に係る品質及び安全性に関する評価項目の記載における留意事項について」の原案作成に協力した。

厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員として、医薬品第一部会、医療機器安全対策部会及び血液事業部会

安全技術調査会の審議に協力した。

厚生労働省厚生科学審議会専門委員として、遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の審議に協力した。

（独）医薬品医療機器総合機構専門委員として、遺伝子治療用製品のカルタヘナ法の第一種使用規程承認申請及び第二種使用等拡散防止措置確認申請に関する専門協議に協力した。

（独）医薬品医療機器総合機構専門委員日本薬局方原案審議委員会生物製品委員会委員として、日本薬局方の改正作業に協力した。特に、平成28年3月7日厚生労働省告示64号第十七改正日本薬局方の参考情報「バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験」の改正原案及び英文原案の作成を行った。

核酸医薬レギュラトリーサイエンス勉強会を主催し、2015年度は8月、11月の計2回実施した（11月は日本核酸医薬学会第1回年会内でのシンポジウム内にて開催した）。

日米医学協力研究課題、環境ゲノミクス専門部会に研究開発協力者として参加した。

（独）医薬品医療機器総合機構の専門委員として、体外診断薬の承認申請に関わる専門協議への協力を行うとともに、医療機器承認基準等審議委員会の委員として、審議に協力した。

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員として、科研費の審査に協力した。

## 研究業績

### 1. 遺伝子治療用製品の品質・有効性・安全性に関する研究

- 1) 核酸・遺伝子を用いた医薬品、ナノテクノロジーを応用したDDS製剤等の品質及び安全性評価に関する研究：AAV2ベクターの工程由来不純物として、開発中のカラムを用いてプラスミド含量を低減化できることを示した。また、3種類のプラスミドのトランスフェクションにより製造したAAV2ベクターを材料とし、宿主由来タンパク質の除去と比活性を指標に4種類の精製法を比較し、高度に精製可能な条件を明らかにした（委託研究開発費（国研）日本医療研究開発機構）／医薬品等規制調和・評価研究事業）。
- 2) 遺伝子組換え技術応用医薬品の利用における生物多様性の確保に係る規制のあり方に関する研究：ウイルスベクターの生体内分布と体外排出の実態、及び既承認遺伝子治療用製品の排出試験と環境影響及び第三者への伝播防止のあり方を文献情報等を基にまとめた。これらの結果に基づき専門家による検討会を開催して議論し、排出の有無や排出期間に応じたカルタヘナ第

一種使用の対応案の提言を作成した（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

3) 遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発にむけた安全性、有効性評価法の確立・ガイドライン作成・人材育成：成育医療研究センター、日本医大との共同研究により「遺伝子治療用製品等の品質及び安全性の確保に関する指針」の最終案を作成し、厚生労働省に提出した。また、AAVベクターと製法変更のリフレクションペーパーを作成するため、必要と考えられる項目案を作成した（医薬品等審査迅速化事業費補助金）。

## 2. 核酸医薬品の品質・有効性・安全性に関する研究

- 1) 核酸医薬品の臨床有効性、安全性の評価方法に関する研究として、阪大薬との共同研究で作成した核酸医薬品の非臨床安全性試験および品質管理に関する留意点と課題について、「中間報告書」をPMDAのホームページに掲載した。阪大薬が中心となり内容について関連企業等より意見をとりまとめ、シンポジウムにおいて議論した（医薬品等審査迅速化事業費補助金）。
- 2) 核酸医薬品の安全性確保のための評価技術開発に関する研究として、1) スプライシング制御型アンチセンスのオフターゲット効果について「高密度エクソソアレイ」を用いて適切に評価可能であることを示した。2) TLR9を活性化する短鎖オリゴ核酸に「修飾型人工核酸」を導入することで、TLR9を介した自然免疫系の活性化を抑制しうることを見出した（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／創薬基盤推進研究事業）。
- 3) 毒性ゼロに向けた革新的核酸医薬プラットフォーム構築—デュアル修飾型人工核酸の創製・探索・評価—に関する研究として、オフターゲット効果を回避し、且つ肝毒性を誘発するアンチセンスの選別を実施し、合計3本のアンチセンスを同定した（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業）。
- 4) オリゴ核酸の細胞内動態に関する研究として、siRNAの細胞輸送経路に関わる分子のスクリーニングを実施し、複数の候補分子を同定した（一般試験研究費）。
- 5) アンチセンス医薬品の相補配列依存的オフターゲット効果に関する研究として、pre-mRNAを対象としたオフターゲット候補遺伝子の抽出を行い、マイクロアレイにより発現変動を網羅的に解析した。その結果、短鎖Gapmer型アンチセンスがpre-mRNAにも作用しオフターゲット効果を誘導することを示した（一般試

験研究費）。

- 6) 核酸医薬品による肝毒性評価手法の構築に向けた基盤研究として、自然免疫（TLR9）の活性化の評価系を構築し、オフターゲット効果および自然免疫の活性化を回避したアンチセンスの選別を開始した（科学研究費補助金（文部科学省））。
- 7) 核酸・遺伝子を用いた医薬品、ナノテクノロジーを応用したDDS製剤等の品質及び安全性評価に関する研究として、「固相合成法」で合成したアンチセンスについて合成過程で混入する不純物の分析し、精製後の画分に混入しうる核酸特有の不純物を同定した（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

## 3. 分子標的薬の安全性評価と創薬への応用に関する研究

- 1) プロテインノックダウン法の開発と創薬に関する研究では、標的タンパク質を特異的に分解する各種化合物を合成し、そのプロテインノックダウン活性を評価した。in silicoスクリーニングでピックアップしたRasリガンド候補化合物の実際の結合活性を実証実験で確認した（一般試験研究費）。
- 2) 分子標的薬のオフターゲット効果の評価法開発に関する研究では、SNIPER法を利用して、ユビキチン化されたタンパク質を網羅的に解析する方法を新たに確立した。この手法は、プロテオーム解析より多くのタンパク質の変化を高感度に検出できることを明らかにした（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／創薬基盤推進研究事業）。
- 3) 微小管制御タンパク質を標的とした分解誘導薬剤の開発に関する基礎的研究では、TACC3分解誘導剤の抗がん活性を評価し、TACC3が高発現しているがん細胞に対して選択的な細胞死を誘導することを明らかにした（科学研究費補助金（文部科学省））。

## 4. 診断用医薬品に関する基礎的研究

- 1) コンパニオン診断薬の臨床性能試験のブリッジングに関する研究として、遺伝子型判定診断法に対する具体的なブリッジングのためのガイドライン案を作成した。また、PMDAによるコンパニオン診断薬の同等性評価に関する検討事項案の作成に検討委員会として協力するとともに、関連業界の意見をとりまとめた。正常ヒト由来不死化B細胞株を用いて、標準品としてのBRAF遺伝子変異標準株の作製を進めた。また、次世代シーケンサーの診断応用に関して、シーケンスデータの信頼性に関する基礎的検討を行うとともに、エラー率を低減させた高感度変異検出法を開発した（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）

／医薬品等規制調和・評価研究事業)。

## 5. 医薬品・再生医療等製品の有効性・安全性に関する研究

- 1) 血液製剤のウイルス等安全性確保のための評価技術開発に関する研究：NATの精度管理用に樹立したパルボウイルスB19パネルについて、デジタルPCRによるコピー数測定を実施した。またパルボウイルスB19のin vitro感染系において、ジェノタイプ1に比してジェノタイプ2の感染価が高いことを示した。さらに、HIV-RNA国内標準品の力価再評価のための共同研究に参加した（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／医薬品等規制調和・評価研究事業）。
- 2) セル・バンク等を構築する幹細胞等由来製品のウイルス否定試験における評価技術要件に関する研究：ウイルス検出の高感度化を目指し、昨年度選択したウイルス高感受性Vero細胞株を用いて、ウイルス検出試験でのウイルス感受性が向上する細胞培養条件を明らかにした。また、ウイルス試験の陽性ランコントロールウイルスとして、ポリオウイルスの調製を行った（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／再生医療実用化研究事業）。
- 3) 日本薬局方試験法に関する研究：参考情報「マイコプラズマ否定試験」の日局17改正により必要となるNAT試験用マイコプラズマ参照品の整備に協力すると共に、改正案の解釈やNAT実施上の留意点について解説をまとめた。また参考情報「タンパク質定量法」の国際調和の現状をまとめた（一般試験研究費）。
- 4) iPS由来心筋細胞の分化誘導法の標準化では、ヒト線維芽細胞株由来iPSを低分子化合物によって心筋細胞に分化させる条件の最適化を行った。さらに、マイクロアレイ解析により同定した中胚葉マーカーのうち、細胞表面に発現するマーカーの発現をフローサイトメトリーにて確認し、本マーカーを利用して中胚葉細胞を純化する指標とした（委託研究開発費（(国研)日本医療研究開発機構）／医薬品等規制調和・評価研究事業）。

## 6. 細胞死阻害タンパク質及び細胞機能制御に関する研究

- 1) 細胞死阻害タンパク質の機能に関する研究では、終止コドンのReadthrough変異によってC末に46アミノ酸が付加したFLIP変異タンパク質はプロテアソームにより速やかに分解されるが、同様な機構でヒトのPNPO、HSD3B2のReadthrough変異タンパク質が分解されることを見出した。Readthrough変異タンパク質の分解促進がヒトの遺伝的疾患のメカニズムとなっていることを明らかにした（一般試験研究費）。
- 2) ApollonによるMitosis制御機構に関する研究では、

Apollon-UBCドメイン変異マウスは野生型マウスと比べて低体重であり、Apollon欠損マウスと同様に胎生期15日頃から死亡する事、胎盤の形成不全が認められる事等を見出した。Apollon結合タンパク質をMS解析により探索し、候補に挙げられたタンパク質のうちのいくつかが実際にApollonと結合する事を見出した（科学研究費補助金（文部科学省））。

## 7. 腸管出血性大腸菌の毒性物質に関する研究

- 1) 志賀毒素感受性のTHP1細胞を志賀毒素で刺激すると、アポトーシス阻害タンパク質がプロテアソーム活性依存的に分解された。プロテアソーム阻害薬処理によって、志賀毒素によるアポトーシス阻害タンパク質の分解、caspaseの活性化、およびアポトーシスは抑制された。さらに、マウス志賀毒素投与モデルにおいて、プロテアソーム阻害薬bortezomibは志賀毒素の致死活性を緩和することが示された（科学研究費補助金（文部科学省））。

## 8. 代謝輸送の制御解明と創薬への応用に関する研究

- 1) 酸化ステロールによる抗ウイルス作用の解明に関する研究では、25ヒドロキシコレステロールによるストレス応答遺伝子の発現誘導に関わる因子を検討し、転写因子ATF4がこの発現誘導に関与することを明らかにし、25ヒドロキシコレステロールによって起こる細胞死がATF4によって制御されていることも分かった（科学研究費補助金（文部科学省））。

## 医 療 機 器 部

部 長 薮 島 由 二  
前部長 新 見 伸 吾

## 概 要

我が国の医療機器産業を日本の成長牽引役へと導き、世界最高水準の医療機器を国民に迅速に提供するためには、革新的医療機器を世界に先駆けて開発し、海外へも積極的に展開させると共に、デバイスラグの短縮にも取り組む必要がある。これらの国家戦略の実現化を目指して策定された医療分野研究開発推進計画、健康・医療戦略、先駆けパッケージ戦略及び過去の医療イノベーション5ヵ年戦略から医療機器開発に関する事項を抜粋して取りまとめた医療機器開発基本計画では、オールジャパンでの医療機器開発（医療機器開発支援ネットワーク）、国内医療機器産業の活性化、レギュラトリーサイエンスの推進（革新的医療機器の早期実用化支援）及び戦略的

な国際標準化の取組の促進等が掲げられている。また、第3回次世代医療機器開発推進協議会では、我が国の医療機器産業を活性化するための戦略の一つとして、産官学連携による実用的な評価法の開発と国際標準化を強化する重要性が提唱された。国際標準化の推進は第5期科学技術基本計画にも掲げられていることから、国際標準を初めとした各種規格・基準等の策定作業は国家的施策の一環として今後益々加速される。これらの背景から、平成27年度は、産官学連携のもとに医療機器・医用材料の安全性規格及び新規試験法の作成と標準化、医療機器開発支援ネットワークを介した情報提供、国際標準化支援活動、並びに安全性評価研究から展開した医療機器・医用材料の試験的製造等に関する研究業務を推進した。

人事面では、新見伸吾前部長が平成28年3月31日付けで定年退官され、再任用制度により、平成28年4月1日付けで生物薬品部主任研究官に異動された。新見前部長のご退官にあたり、平成25年度から3年間に渡り、医療機器部を牽引して頂いたことに感謝の意を表したい。後任の部長には、靄島由二第一室長が平成28年4月1日付けで昇格した。平成28年1月1日付けで、岡本吉弘氏が独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）から性能評価室長として赴任した。岡本氏はPMDA時代に整形外科分野等の医療機器審査を担当しており、今後、薬事上の課題を考慮した性能試験法の開発が期待される。また、短時間非常勤職員の岩佐弘子氏が平成28年4月13日をもって退職した。岩佐氏の退職にあたり、ここに感謝の意を表したい。

海外出張は以下の通りであった。平成27年6月（スウェーデン）でISO/TC 194総会が開催され、新見、宮島、中岡、加藤が出席し、医療機器の生物学的評価手法に関する国際標準化文書策定に参加した。平成27年9月（ドイツ）でISO/TC 150総会が開催され、新見、中岡、迫田が出席し、外科用インプラントに関する国際標準化文書策定に参加した。宮島は、平成27年9月（ポルトガル）で開催された第51回欧州毒性学会年会に参加し、ポリマーバイオマテリアルの血液適合性試験に関する研究成果を発表した。迫田は、平成27年10月（中華民国）で行われた人工股関節手術の死体骨を使用した評価試験（キャダバートライアル）に参加した。迫田は、平成27年3月（米国）で開催されたアメリカ整形外科学会に出席し、人工関節材料に関する情報収集を行った。宮島は、平成28年3月（米国）で開催された第55回米国毒性学会に参加し、ナノマテリアルの生物学的安全性評価系に関する研究成果を発表した。

平成27年10月23日に「日本発のロボット技術を医療・ヘルスケアへ：開発から薬事承認、上市への挑戦」を

テーマとした第13回医療機器フォーラムを開催した。ロボット技術は医工連携により今後大きな成長が見込まれる医療機器分野であり、当該フォーラムでは、対象とされる「ロボット技術」適用医療機器の研究開発、各種評価、上市化に至るまでの道のりや今後の展望に関する最前線の情報を産官学の関係者全員で共有した。

## 業務成績

### 医療機器及び細胞組織医療機器関係国際調和・国内基準等作成事業

ISO/TC 150/SC 7（再生医療機器）幹事国業務委員会に参加し幹事国としての運営及び業務を行った。ISO/TC 106（歯科材料）国内委員会、ISO/TC 150（外科用インプラント）国内委員会、ISO/TC 194（医療機器の生物学的評価）国内委員会、ISO/TC 210国内委員会（医療機器の品質管理と関連する一般事項）、IEC/TC 62（医用電気機器）国内委員会及び関連SC国内委員会等に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。また、工業団体が作成した4件のJIS原案（改正）、3件の医療機器承認基準原案（改正）及び114件の医療機器認証基準原案（指定高度医療機器認証基準制定8件、改正106件）について国際規格との整合性評価を行った。（医薬品審査等業務庁費）

## 研究業績

### I. 医用材料等の生体適合性評価に関する研究

I-1 プラスチック製医療機器の化学物質影響評価法の開発：簡易溶血性試験法は、9機関によるラウンドロビンテスト及び新規血液バッグ用素材を用いた検証実験により、再現性・頑健性が検証されたことから、現行公定法の代替法として利用できることが明らかとなった。また、可塑剤の炎症誘導能を評価するin vitro試験法は細胞毒性評価を加味したハイスループット検査法へ進化させた。（日本医療研究開発機構委託研究費）

I-2 代替可塑剤の特性評価に関する研究：新規血液バッグ用素材であるDOTh/DINCH及びDOTh/DL9TH配合PVCシートの細胞毒性試験、感作性試験及び刺激性試験を行った結果、医療機器としての生物学的安全性上、特筆すべき問題が認められなかった。また、DOTh/DL9TH配合PVCシートは優れた低温耐久性を有することが判明した。（日本医療研究開発機構委託研究費）

I-3 種々の表面特性を制御可能なモデル医用材料の調製に関する研究：表面を双性イオン構造にすることで、特定タンパク質の動的吸着が抑制されることが確認された。さらに、表面を同一分子内に双性イオンを



もつペタン構造にするとその抑制が増強することも確認された。(一般試験研究費)

I-4 同種軟骨細胞移植の免疫反応に関する研究: 2検体の多指症軟骨組織由来細胞シート(PDCCS)でリンパ球との混合培養を行った結果, 2検体間で程度の差はあるものの, いずれもリンパ球の増殖を抑制することが明らかになった。またフローサイトメトリー解析から, PDCCSとの共培養により, 対照と比べて, CD4+CD69+T細胞, CD4+CD25+F<sub>oxp3</sub>+T細胞およびCD4+CD25-F<sub>oxp3</sub>-T細胞の割合が増加し, これらの細胞群は制御性T細胞である可能性が示唆された。(日本医療研究開発機構委託研究費)

## II. 革新的医療機器で用いられる医療材料の生体への安全性等の評価方法等に関する研究

II-1 材料表面吸着蛋白質を指標とした血栓性評価法の開発に関する研究: 血液適合性の異なる高分子材料をコーティングしたPCシート, PCシート基材及びUHMWPEシートに吸着する血漿蛋白質は市販M-PER試薬により効率良く回収された。各シートに吸着する血液適合性評価マーカー候補蛋白質を市販ELISAにより定量した結果, VTNC, FIB, C1r及びC3aを組み合わせることで利用することにより, 医用材料の血液適合性を評価できることが示唆された。(日本医療研究開発機構委託研究費)

II-2 蛍光顕微鏡を利用した新規血小板吸着評価法の開発に関する研究: 血小板表面マーカーであるCD42bに対する抗体(MM2/174)と血小板活性化表面マーカーであるCD63に対する抗体(MX-49.129.5)の至適染色条件を決定した。また, 血小板活性化マーカーである抗CD62P抗体(M-20)が抗CD42b抗体(MM2/174)との二重染色が可能であることを明らかにした。(日本医療研究開発機構委託研究費)

II-3 水和状態を予測する分子動力的シミュレーション解析法の確立に関する研究: 中間水を含むPMEAを対象に温度条件に対する水分子の挙動をシミュレーションした。エステル結合カルボニル酸素原子近傍における水分子は温度上昇に伴って周囲の水分子と交換することが示された。中間水の存在状況を評価できることが示唆された。(日本医療研究開発機構委託研究費)

II-4 医療材料の血栓性評価マーカーの検証に関する研究: PMEA類似高分子材料を用いて, 血液適合性試験を実施し, 血栓形成に係る評価マーカーの挙動について検討した結果, 血液凝固系マーカーTAT, FPA及び血小板活性化のマーカー $\beta$ -TG, PF4は, 高分子材料の血液適合性評価マーカーとして有用性が高いと考えられ

た。(日本医療研究開発機構委託研究費)

## III. ナノマテリアルのリスク評価に関する研究

III-1 新規in vitro評価系およびマーカーの開発によるナノマテリアルのリスク評価及びリスク低減化に関する研究: ヒト血球系細胞株THP-1を用いた評価系を用いて, 細胞毒性及び免疫応答について検討した結果, ZnO(sigma)がZnO(alfa)より強い細胞毒性を示した。ZnOナノマテリアルは用量依存的にCD54発現量を増加させ, 相対蛍光強度はZnO(sigma)の方が高かった。ZnO処理後のTHP-1細胞をFACS解析した結果, 側方散乱光強度(SSC強度)の変化が用量依存的観察され, 細胞毒性との関連が示唆された。(厚生労働科学研究費補助金)

## IV. 医療機器の適正使用に関する研究

IV-1 医療機器QMSの現状及び監査手法に関する研究: 国内規制とも関連があるISO 13485の改訂動向を調査し, 最終的に改訂に至るまでの経緯, その概略及び問題点を取りまとめた。また, 副主任として薬事衛生管理研修の運営に携わった。(一般試験研究費)

## V. 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

V-1 大血管ナビゲーションのシステムデザイン最適化に向けたユーザビリティ工学的探究: 中軸骨格を用いたレジストレーションアルゴリズムを提案し, ファントムで十分な精度が得られたことから, これまでの臨床データから妥当性を評価した。マルファン症候群の患者は背骨の曲がりが大きかったが, 従来法と新法を同時に使い, よい方法を採用してナビゲーションができるようシステムを構築した。(文部科学省科学研究費補助金)

V-2 大動脈ステントグラフトを用いた治療目標達成度を評価する拍動流シミュレータ開発: 生体の大動脈モデルの内径変化を模擬した拍動循環シミュレータを開発した。シミュレータ内でステントグラフト留置を行い, MDCTを用いた画像評価とコンピュータシミュレーションにより, ステントグラフトの展開開始領域における血流の流れ方向が回転方向に一致することが見出された。開窓型ステントグラフトの血管内での回転量は血流エネルギーに関与すると考えられた。(文部科学省科学研究費補助金)

## VI. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標に関する研究

VI-1 微量診断装置の評価指標に関する研究: 微量診

断装置の開発・利用動向及び利用可能な診断マーカに関する調査を行った。また、微量診断装置の定義、臨床的意義、安全性及び性能評価法の基本的考え方、並びに微量診断装置をクリニックへ導入する際の留意点を取りまとめた。(医薬品審査等業務庁費)

VI-2 生体由来材料を用いた医療機器の評価指標に関する研究：生体組織や生体由来物質を利用して作製された医療機器に包括的に適用できる評価指標案を作成するため、国内有識者を委員としたWGを立ち上げ必要な評価項目に関する調査及び討議を行い、報告書を取りまとめた。(医薬品審査等業務庁費)

VI-3 生体吸収性ステントの評価指標に関する研究：専門家で構成されたワーキンググループを立ち上げ調査及び討議を行い、ポリマー製又は金属製の、冠動脈を中心とした血管用生体吸収性ステントに関する評価指標を作成した。(医薬品審査等業務庁費)

## Ⅶ. 医療機器の規格・基準等原案作成及び国際標準化に関する研究

Ⅶ-1 JIS規格及び適合性認証基準等原案作成に関する研究：平成27年度JIS規格及び適合性認証基準等原案作成事業を実施したと共に、各種JIS原案作成委員会及び医療機器承認基準等原案検討委員会に参画することにより、総計121件の規格を作成した。(医薬品審査等業務庁費)

Ⅶ-2 医用材料規格の新規提案に向けた検証実験に関する研究：我々が開発したGenapol X-080含有PVCシートの刺激性試験用陽性対照材料としての性能を動物代替法であるin vitroヒト三次元培養皮膚モデルにより検証したと共に、ISO/TC 194/WG 8が実施する刺激性試験国際ラウンドロビンテスト用標準品の一つとして提供した。また、当該陽性対照材料の国内外への領布に備え、形状をシートからペレットに変更し、その性能を検証した。(日本医療研究開発機構委託研究費)

Ⅶ-3 国際標準化を支援する体制構築に関する研究：ISOにおける再生医療分野とISO/IECにおける医療機器ソフトウェアの国際標準化の現状調査を行い、収集した情報の取りまとめ結果をインターネット上に公開、更新した。また、アジア連携構築を試行する場をTC 150と定め、各国関係者の連絡先を調査した。(日本医療研究開発機構委託研究費)

## Ⅷ. 革新的医療機器の実用化促進に関する研究

Ⅷ-1 革新的医療機器実用化のためのEngineering Based Medicineに基づく非臨床性能評価系と評価方法の確立に関する研究：早稲田大学先端生命医科学センターと連携し、持続的血液濾過器のin vitro血栓性

試験法のJIS原案を作成した。また、血管ステント耐久性試験法及び植込み型補助人工心臓用脱血管/血液適合性試験法の通知発出へ向けて、パブリックコメントを募集したと共に、ISO/TC 150/SC 2/WG 3及びISO/TC 194/WG 9に参加し、各試験法の標準化に向けた活動を行った。(医薬品等審査迅速化事業費補助金)

Ⅷ-2 新規低侵襲医療機器及びナノバイオデバイス応用医療機器の評価方法に関する研究：研究組織内で取り上げられている革新的医療機器全てのガイドライン案作成作業の検討を開始し、顎顔面骨に使用するカスタム金属プレート及び強力集束超音波医療機器の標的治療に関する非臨床評価ガイドライン案を完成させた。また、微量検体免疫分析装置に関しては技術報告書の作成に協力した。(医薬品等審査迅速化事業費補助金)

## Ⅸ. 新規機能性医用材料の創製に関する研究

Ⅸ-1 骨再生を促進する新規医用材料開発に関する研究：BMP2を特異的に捕捉するRNAアプタマーを選定した。同アプタマー存在下で細胞培養を行うことにより有効性を検証した結果、選定されたRNAアプタマーが意図した機能を発揮することが判明した。(日本医療研究開発機構委託研究費)

Ⅸ-2 新規創傷被覆材の開発に関する研究：SELEX法によりVEGF-Aに特異的に結合するRNAアプタマー候補を取得し、得られた配列の中から生理活性を保持した状態でVEGF-Aを捕捉可能なRNAアプタマーを選定した。(文部科学省科学研究費補助金)

Ⅸ-3 組織再生を促す医用材料の評価に関する研究：bFGF捕捉型RNAアプタマーを高効率で材料表面に固定化するための条件最適化を行なった。同材料表面に対する蛋白質吸着挙動を解析した結果、PEGを共存させることで特異性が向上することが判明した(日本医療研究開発機構委託研究費)

## X. 医療機器・医用材料の耐久性・疲労・寿命に関する研究

X-1 生体内物質による医用材料の劣化機構の解明：抜去インプラントに含まれる脂質を定量したが、埋植期間など患者背景との相関が見られなかったことから、関節液成分の個体差の影響が示唆された。マイクロスラリーエロージョン法により、抜去インプラント表層での材料劣化が評価できる可能性が示唆された。(文部科学省科学研究費補助金)

X-2 超高分子量ポリエチレンに疲労破壊を生じさせる応力状態の解明：人工股関節ライナーの形状を単純化した円筒状試験片を作製し、繰り返し荷重を加えた

が破壊は生じなかった。このことから、ライナー固有の形状が疲労破壊の原因であると推定された。（日本医療研究開発機構委託研究費）

## 生活衛生化学部

部 長 五十嵐 良 明

### 概 要

生活衛生化学部は、生活環境の安全性の確保を使命として、室内空気、大気、上水、環境水、水道用品、水道資機材及び水道薬品並びにこれらに含まれる環境汚染物及び自然発生物質、化粧品、化粧品原料及び医薬部外品、並びに家庭用品に含まれる有害物質に関する試験、検査及びこれらに必要な研究を行っている。また、これら所掌対象にかかわる指針や規格基準の策定及び検査法の設定に必要とされる曝露評価に関する調査・研究も推進している。

室内空気関連では、第19回シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会（平成28年3月4日）において、新たな化学物質の指針値設定に係る室内空気汚染実態調査結果を示した。本調査に当たっては全国の地方衛生研究所に継続的に多大な協力を頂いている。

化粧品・医薬部外品関連では、コムギ由来の医薬部外品原料によるアナフィラキシー等の再発防止を目指した規格改訂案を作成した。平成25年度に発生した美白化粧品による白斑問題に関しては、製品の安全性評価ガイドライン案を作成し、成分の安全性評価法作成に向けた研究を進めた。皮膚アレルギーを誘発することがある酸化染毛剤についてセルフテストやリスク伝達に関する国内外の規定を調査した。

水道水関連では、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法に、当部を中心に開発及び妥当性評価を行って提案したホルムアルデヒドの検査法が記載された。また、水質検査における試薬として国家計量標準にトレーサビリティが確保された市販標準液及び混合標準液の使用を認める総則が追加された。

家庭用品関連では、当部でこれまで実施してきた実態調査や試験法開発等の成果に基づき、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」について、新規有害物質として「アゾ化合物」の指定のための政令改正、トリフェニル錫化合物及びトリブチル錫化合物並びにホルムアルデヒドについて試験法の改定のための省令改正が実施された。この改正された政令及び省令は平成28年4月1日より施行される。また、繊維製品によるアレルギー性接触皮膚炎に関して、医師より原因究明のための協力

依頼があり製品分析を実施し、その原因物質を特定した。

人事面では、平成27年7月1日付けで酒井信夫主任研究官が生化学部より異動し第一室長として着任した。平成28年3月31日付けで伊佐間和郎第四室長が退職した。西村哲治氏（帝京平成大学薬学部）、鹿庭正昭氏（日本医薬情報センター）を引き続き、神野透人氏（名城大学薬学部）及び香川（田中）聡子氏（横浜薬科大学）を新規に客員研究員として受け入れた。また、中島晴信氏（元大阪府立公衆衛生研究所）を協力研究員として引き続き受け入れた。

海外出張は以下のとおりであった。伊佐間和郎第四室長は、第51回欧州毒性学会大会（平成27年9月、ポルトガル・ポルト）に参加し、研究成果を発表した。小林憲弘第三室長は、OECD 第15回工業用ナノ材料作業部会会議、リスク評価とレギュラトリープログラムグループ会合および試験評価法グループ会合（平成27年11月、フランス・パリ）に出席した。また、米国リスク研究学会2015年会（平成27年12月、米国・バージニア州アーリントン）に参加し、研究成果の発表を行った。

### 業務成績

#### 1. 室内空気関係

- 1) 超小形チャンバーを用いた床材、壁紙等からのテキサノール等VOCの放散を定量的に評価する方法を確立し、実製品の測定を行った。（厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室）
- 2) 全国100邸宅（居間）の室内空気を採取し、一般居住環境の汚染実態を明らかにした。（厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室）
- 3) 東京都内3カ所（霞ヶ関、新宿御苑、北の丸公園）の国設自動車排出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、防腐剤クロルフェネシンの配合表示記載及び配合制限量が守られているかどうか調査した。（厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課）
- 2) 医薬部外品原料の規格に関する調査：加水分解コムギ末や加水分解コムギたん白液等の医薬部外品原料規格記載の原料や一般試験法に関して規格素案の策定を行った。（厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課）

#### 3. 水道水関係

- 1) 水質基準項目のホルムアルデヒドと要検討項目の

セトアルデヒドについて、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)による誘導体化後に液体クロマトグラフで分離し、紫外検出器(UV)あるいは質量分析計(MS)により定性・定量を行う同時分析法を開発した。さらに、15機関によるバリデーション試験を実施し、分析法の妥当性を評価した。(厚生労働省健康局水道課)

2) 登録検査機関212機関、水道事業体175機関、公的研究機関54機関に対して、亜硝酸態窒素、ジェオスミン及びメチルイソボルネオールの3項目について外部精度管理調査を実施し、結果のデータ集計及び統計解析により、水道水質検査の分析技術の向上と信頼性確保のための改善点について提言を行った。(厚生労働省健康局水道課)

3) 水道水質の標準検査法に関して検査方法告示や水道課長通知には記載されていないが、検査を行う上で重要な注意点、使用器具、および機器の測定条件等について、平成28年に告示されたホルムアルデヒドの新規検査法と平成26年に通知された農薬類の新規6検査法を対象に、文献情報や各検査機関での適用例について調査した。また、調査した情報を生活衛生化学部のWebサイトに専用ページを開設して掲載し、水道水質検査に関わる全ての人々が最新の情報を得られるようにした。(厚生労働省健康局水道課)

#### 4. 家庭用品関係

1) 柔軟仕上げ剤等に関して、製品使用時の臭気強度等の評価方法を検討し、人による官能試験を実施した。(厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室)

2) ポリウレタン製繊維製品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤について簡易一斉分析法を開発した。(厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室)

3) 使用された染料に由来すると考えられる繊維製品中のアレルギー性金属の実態調査を実施した。(厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室)

4) クレオソート油を含有する家庭用木材防腐剤及び木材防虫剤並びにクレオソート油及びその混合物で処理された家庭用の防腐・防虫木材中の未規制多環芳香族炭化水素類の一斉分析法を開発した。(厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室)

5) グアニジン系加硫促進剤についてh-CLAT法による感作性評価及びゴム製品中の実態調査を実施した。(厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室)

6) 家庭用品の吸入に係る安全性評価検討会、国民生活

センター商品テスト分析・評価委員会に協力した。

#### 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

(1) 室内空気汚染物質定常型放散源のスクリーニング手法開発に関する研究：呼吸域近傍で使用されるウレタン製の家庭用品30製品について放散化学物質濃度のシミュレーションモデルを確立し、使用実態に則した曝露量を示した。(厚生労働科学研究費補助金)

(2) ベンゼン等VOC及びフタル酸エステル等SVOCのサンプリング法と測定法の確立に向けた検討を行った。(厚生労働科学研究費補助金)

###### 2) 生活環境化学物質の安全性評価に関する研究

(1) デカメチルシクロペンタシロキサン等の低分子環状シロキサンについて、国際機関、諸外国の規制等取組状況を取りまとめた。(厚生労働科学研究費補助金)

(2) 東京都内の公立小学校においてアレルギーに関する講義と実習を実施し、オンサイト分析法の開発に必要な学術的・技術的習熟度を評価した。(科学研究費補助金)

###### 3) 生活環境化学物質の曝露評価に関する研究

(1) ACGIH等において呼吸器への刺激性が記述されている化合物について、物理化学的なパラメータによる気道曝露の蓋然性について取りまとめた。(一般試験研究費)

##### 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) 化粧品成分の分析法に関する調査：美白等を目的に配合されるアスコルビン酸及びその誘導体4種類についてHPLC法による同時定量法を開発した。(医薬品承認審査等推進費)

(2) 医薬部外品及び化粧品配合成分の安全性確保のための規格等に関する研究：医薬部外品原料として市場に流通する加水分解コムギタンパク質について、分子特性及び抗原性の解析を行った。加水分解コムギ末及び加水分解コムギたん白液の平均分子量を測定して米国と欧州の推奨規格への適合性を評価するとともに、これら原料の医薬部外品原料規格案を確定した。(日本医療研究開発機構委託研究開発費)

(3) 化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究：界面活性剤中ジエタノールアミンについてISOに提案されたGC/MS法の妥当性について検討し、検出感度の悪さ等からGC/MS以外の方法の検討が必要であることが確認された。化粧品中のカドミウムとヒ素についてICP発光分析装置を用いた簡易分析法を作

成し、その妥当性を検討した。蛍光X線分析法による鉛の定量下限を調査した。（日本医療研究開発機構委託研究開発費）

## 2) 化粧品・医薬部外品の健康影響評価に関する研究

(1) 過酸化脂質の生成機序、疾病への関与機構および食品成分による抑制効果の解明に関する研究：フォスファチジルコリンヒドロペルオキシド (PCOOH) のヒト肝癌由来細胞に対する細胞毒性発現機構について検討した結果、フェロトキシスの関与を明らかにした。またPCOOHの免疫担当細胞に対する細胞毒性を評価した。（科学研究費補助金）

(2) 機能性化粧品成分の個体差等に基づく安全性評価法の策定に関する研究：ロドデノールがチロシナーゼ依存的にDPRA法で用いるシステイン含有ペプチドと結合することを明らかにした。医薬部外品安全性評価ガイドライン（仮称）原案を作成した。（厚生労働科学研究費補助金）

(3) 染毛剤等による皮膚障害の防止方策に関わる調査研究：酸化染毛剤の発色メカニズム、成分として使われる各種酸化染料の皮膚感作性とアレルギーの臨床事例、各国におけるセルフテストの方法とその根拠、製品表示におけるリスク伝達方法について調査した。（厚生労働科学研究費補助金）

## 3. 水道関係

### 1) 水質分析法に関する研究

液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC/MS/MS) による農薬類の一斉分析法を開発し、140農薬の一斉分析条件を確立するとともに、分析法の妥当性評価を行った。また、プロチオホスの塩素処理実験を行い、塩素処理によってプロチオホスオキソンが生成することが確認された。（厚生労働科学研究費補助金）

### 2) 環境水中農薬の動態予測シミュレーションとモニタリングに関する研究

水道水質検査の対象農薬リストに掲載されている120農薬について水中半減期（水中光分解速度）および土壌吸着係数等の物性パラメータを収集し、開発した動態シミュレーションモデルにより模擬的な河川における各農薬の相対的な検出可能性を予測した。（科学研究費補助金）

## 4. 家庭用品関係

### 1) 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究

(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：クレオソート油を含有する家庭用木材防腐・防虫剤並びにそれらで処理された家庭用防腐・防虫木材中

の未規制多環芳香族炭化水素類の一斉分析法を検討し、十分な回収率が得られ妨害物質の影響を受けない前処理法及びGC/MS法を開発した。ポリウレタン製品中の7種類のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤について、アセトン/ヘキサン浸漬による抽出と定量にHPLC/PDA（波長: 340 nm）を用いる簡易な一斉分析法を開発した。（家庭用品等試験検査費）

(2) 家庭用品に使用される化学物質の実態調査に関する研究：繊維製品に使用された染料に由来すると考えられる重金属について、蛍光X線分析を用いたスクリーニング調査を実施し、ナイロン、ウール及びシルク製品からアレルギー性を有するクロム及びコバルトが比較的高濃度で検出されることや、人工汗による溶出試験により繊維の素材及び人工汗の液性の違いによりそれらの重金属の溶出傾向が異なることを明らかにした。また、人工汗に溶出した金属濃度からは、接触皮膚炎を感作及び惹起する可能性は低いと考えられた。クレオソート油及びそれらで処理された木材中の26種類のPAHsについて実態調査を実施し、一部の製品でドイツやREACHの基準値を超えるPAHsが検出されることを明らかにした。（家庭用品等試験検査費）

(3) 弾性ストッキングによる接触皮膚炎の原因究明に関する研究：弾性ストッキングによる接触皮膚炎の原因物質の探索を医師より依頼され、対象製品をアセトン/クロロホルムにて抽出しGC/MS及びLC/MS/MSを用いて分析した。複数の含有化合物を同定し、そのうち2-*n*-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT) が原因物質であることを明らかにした。（一般試験研究費）

2) 家庭用品に含まれる化学物質の安全性に関する研究  
(1) 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：柔軟仕上げ剤等について、人によるにおい強度等に関する官能試験方法を検討し、におい強度に関しては製品評価について一定の指標となり得る可能性があることを示した。（家庭用品等試験検査費）

(2) 家庭用品による製品事故の原因究明に関する研究：4種類のグアニジン系加硫促進剤について、h-CLATによる感作性試験並びに手袋及び履物等の市販ゴム製品中のそれらの実態調査を実施し、1,3-ジフェニルグアニジン (DPG) 及び1,2,3-トリフェニルグアニジン (TPG) は感作性を有することや、複数のゴム製品にDPGが高濃度で、TPGは低濃度で存在することが確認された。（家庭用品等試験検査費）

(3) 室内空気汚染物質瞬時型放散源の定量的スクリーニングに関する研究：家庭用スプレー製品中のグリコール類、グリコールエーテル類等18種類の化合物の実態調査と製品使用時の平均室内空気濃度の推定を実施

し、ジエチレングリコール等8種類の化合物が製品中に比較的高濃度で存在することや、スプレー製品の使用がそれらの化合物の室内空気中濃度に寄与している可能性を明らかにした。(厚生労働科学研究費補助金)

(4) 気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究：DPRA法の実施に際してOECD TG 442Cに従いproficiency testを実施し、技能レベルが一定水準以上であることを確認した後にグリコール類並びにフマル酸及びマレイン酸ジエステル類等の計23化合物について試験を実施した。その結果、6化合物が陽性と分類され、それらについてシステインペプチド及びリジンペプチドとの結合性を比較し、DPRA法による気道感作性評価はある程度有効であることを確認した。(厚生労働科学研究費補助金)

## 5. ナノマテリアル関係

- 1) ナノマテリアル曝露による慢性及び遅発毒性評価手法の開発に関する研究：多層カーボンナノチューブの妊娠マウス反復気管内投与試験で得られた胎児の骨格検査および内臓検査を実施した。その結果、外表や胎児体重に異常がみられない低用量においても骨格異常が認められ、骨格異常が最も鋭敏な反応を示す評価指標であることが分かった。(厚生労働科学研究費補助金)
- 2) カーボンおよび金属ナノマテリアルによる肺および全身臓器障害と発がん作用の機序解析とそれに基づく中期検索法の開発に関する研究：白金ナノマテリアル分散液を限外ろ過膜で分離し、それぞれの画分について粒度分布及び白金含量を測定した。その結果、白金ナノマテリアルは大部分がナノサイズで存在しイオンは検出限界以下であった。白金ナノマテリアルの細胞毒性は粒子自身が関与することを明らかにした。(厚生労働科学研究費補助金)
- 3) 新規in vitro評価系とマーカーの開発によるナノマテリアルのリスク評価及びリスク低減化に関する研究：一次粒子径が異なるNiOナノ粒子(2種類)及びNiナノ粒子(1種類)について、二次粒子径サイズの異なる懸濁液の調製を遊星ボールミル型湿式ナノ粉碎機にて検討し、径が0.05 mmの粉碎用ジルコニアボールを用いることで、NiO及びNi懸濁原液で二次粒子径サイズ及び粒径分布が同程度となり、一次粒子径が異なり二次粒子径が同程度の懸濁液が調製できた。(厚生労働科学研究費補助金)

## 食 品 部

部 長 穂 山 浩

### 概 要

食品部では食品中の残留物質、有害物質等の試験検査及びその信頼性確保、及びそれらの摂取量推定に係わる研究、並びに生化学的試験研究を通して、食品の品質、安全性に関する研究を行っている。研究の実施には、全国の地方衛生研究所や食品衛生登録検査機関から多大な協力を頂いている。平成23年度からは福島第一原発事故による食品の放射性物質汚染に対応する業務を開始し、平成27度にも継続して実施した。

人事面では、平成28年4月1日付けで立命館大学井之上浩一准教授を協力研究員として受け入れた。また昨年度に引き続き、松山大学天倉吉章教授を客員研究員として受け入れた。手島玲子客員研究員は平成28年4月1日付けで生活衛生化学部の客員研究員に異動した。

海外出張としては、穂山は、International Symposium on Food Additives: Risk Science, Control Measures and Industry Best Practicesにおける研究発表のため、台北(台湾)に出張した(平成27年7月20日～22日)。また、Pacifichem 2015 THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIESにおける研究発表のため、ハワイ(米国)に出張した(平成27年12月14日～21日)。根本了室長は、第47回コーデックス残留農薬部会に出席するため、北京(中国)に出張した(平成27年4月13日～18日)。坂井隆敏主任研究官は、第22回コーデックス食品残留動物用医薬品部会に出席するため、サンホセ(コスタリカ)に出張した(平成27年4月27日～5月1日)。堤智昭室長及び片岡洋平主任研究官は、7th International Symposium on Recent Advances in Food Analysisにおける研究発表のため、プラハ(チェコ)に出張した(平成27年11月2日～4日)。鍋師裕美主任研究官は、Health Physics Society 60th Annual meetingでの研究発表のため、インディアナポリス(米国)に出張した(平成27年7月12日～17日)。植草義徳研究員は、35th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2015)における研究発表のため、サンパウロ(ブラジル)に出張した(平成27年8月23日～30日)。渡邊敬浩室長は、EFSAが主催する国際短期摂取量推定(IESTI)の見直しに関するステークスホルダー会合に出席するため、スイス(ジュネーブ)に出張した(平成27年9月6～10日)。また、第37回コーデックス分析・サンプリング法部会に出席するため、ブダペスト(ハンガリー)に出張した(平成28年2月22日～26日)。

## 業務成績

1. 食品中の残留農薬等試験法を審議する残留農薬等公示分析法検討会において、グリホサート試験法（畜水産物）等15試験法（14品目）について審議し、このうち5試験法については公示された。
2. 平成27年厚生労働省告示第384号（平成27年9月18日）で告示された「クロルスロン試験法」及び生食発1222第4号（平成27年12月22日）で通知された「イソチアニル及びプロスルホカルブ試験法（農産物）」等5試験法の文案を作成した。
3. 第47回コーデックス残留農薬部会に出席した。また、残留農薬分析法に関する性能規準ガイドライン作成に関する電子作業部会において、日本のコメントを作成した。
4. 平成27年5月15日厚生労働省報道発表資料「食品中の放射性セシウムから受ける放射線量の調査結果（平成26年9・10月調査分）」文章作成に協力した。
5. 平成27年7月31日厚生労働省報道発表資料「食品中の放射性ストロンチウム及びプルトニウムの測定結果（平成26年9・10月調査分）」文章作成に協力した。
6. 平成27年9月29日薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会資料4「平成26年度食品からのダイオキシン類一日摂取量調査等の調査結果について」文案作成に協力した。
7. 平成27年11月20日厚生労働省報道発表資料「食品中の放射性セシウムから受ける放射線量の調査結果（平成27年2・3月調査分）」文章作成に協力した。
8. 生食基発0401第1号，生食監発0401第4号（平成28年4月1日）「食品中の有害化学物質等の検査結果調査及び畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について」の別添1の文案作成に協力し、そこに示されたJMSデータ入力支援プログラムを開発しマニュアルとともに提供した。
9. 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会の農薬・動物用医薬品部会，残留農薬等公示分析法検討会，残留農薬等分析法検討会，新開発食品調査部会に協力し，また薬事・食品衛生審議会薬事分科会の生物由来技術部会，動物用医薬品等部会，動物医薬品残留問題調査会に協力した。他省庁関係では，消費者安全調査委員会食品・化学・医学等事故調査部会（消費者庁），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），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），（独）医薬品医療機器総合機構の医薬品名称委員会及び専門協議に専門家としての立場から参画・協力した。
10. 社会貢献・教育活動  
連携大学院におけるレギュラトリーサイエンスの教

育活動については，平成27年度に引き続き，大阪大学大学院薬学研究科（レギュラトリーサイエンス講座）に実施されている。また，東京農工大学工学部，東京大学農学部，三重大学大学院地域イノベーション学科においても，レギュラトリーサイエンスの教育活動を行っている。

## 研究業績

1. 液体クロマトグラフ・飛行時間型質量分析計（LC-TOF-MS）法の通知LC/MS一斉試験法Ⅰ（農産物：穀類・豆類）への適用検討（食品等試験検査費）  
LC-TOF-MS法の通知試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物：穀類・豆類）」への適用性について検討するため，LC-TOF-MSを用いて151農薬について1日2併行，5日間の妥当性評価試験を行った。
2. 液体クロマトグラフ・フーリエ変換質量分析法の通知LC/MS一斉試験法Ⅰ（農産物：茶，改良法）への適用検討（食品等試験検査費）  
液体クロマトグラフ・フーリエ変換質量分析法の通知試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物：茶，改良法）」への適用性について検討するため，煎茶を用いて147農薬について1日2併行，5日間の妥当性評価試験を行った。
3. フルトラニル試験法（畜水産物）の開発（食品等試験検査費）  
規制対象の変更に伴い，フルトラニル及びその複数の代謝物について，適用が可能な新たな試験法を開発した。
4. ジエチルスチルバストール試験法（告示試験法）改良法の開発（食品等試験検査費）  
既存の試験法を改良し，種々の畜水産食品に適用可能な試験法を開発した。
5. アピラマイシン試験法（畜産物）開発に関する基礎検討（食品等試験検査費）  
アピラマイシン試験法（畜産物）を開発するための基礎検討として，アピラマイシン及びその代謝物を加水分解することで生成されるジクロロイソエバニニック酸の測定条件及び精製方法について検討を行った。
6. 食品中の残留農薬試験法開発（食品等試験検査費）  
1) アバメクチン等6品目の農産物中の試験法の開発を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関と協力して

実施した。

- 2) アミトラズ等4品目の畜水産物中の試験法の開発を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関と協力して実施した。
- 3) 新規基準設定農薬のLC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物）の適用検討を地方衛生研究所と協力して実施した。
- 4) 新規LC/MS一斉試験法（畜水産物）〔愛知県法〕の妥当性評価試験（40化合物）を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関と協力して実施した。
- 5) 開発したGC-MS/MSによる農薬等の一斉試験法（茶：溶媒抽出法）の妥当性評価試験（46化合物）を食品衛生登録検査機関等と協力して実施した。

#### 7. 食品中の残留動物用医薬品試験法開発（食品等試験検査費）

- 1) エフロトマイシン等5品目の畜水産物中の試験法の開発を食品衛生登録検査機関と協力して実施した。
- 2) 新規LC/MS一斉試験法（畜水産物）〔国衛研法〕の妥当性評価試験（40化合物）を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関と協力して実施した。
- 3) 開発したHPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）の改良試験法の妥当性評価試験（45化合物）を地方衛生研究所及び食品衛生登録検査機関と協力して実施した。
- 4) 農薬等約200化合物を対象として、GC/MS及びLC/MSによる農薬等の系統試験法（畜水産物）の開発検討を昨年度に引き続き愛知県衛生研究所と協力して実施した。

#### 8. 試験法通知等の英訳（食品等試験検査費）

アセキノシル試験法（畜水産物）等20試験法について試験法通知の英訳版を作成した。また、試験法の英訳要領を改訂した。

#### 9. 食品に含有される天然ホルモンに関する調査研究（食品等試験検査費）

食品・添加物等の規格基準の食品一般の成分規格8の規定に係る物質である天然ホルモン類（エストラジオール、テストステロン等）の牛の筋肉及び脂肪中の含有量を調査した。

#### 10. 食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安全確保推進研究事業）

- 1) 安定同位体標準品による内標準法を用いた高精度な定量法の検討  
牛の肝臓やはちみつ等の食品を用いて添加回収試験を

実施し、安定同位体を用いた内標準法により定量を行う際、高精度な定量値を得るために留意すべき事項等を取り纏めた。

#### 2) 標準添加法を用いた高精度な定量法の検討

残留農薬検査において実施可能な簡便且つ高精度な分析値が得られる標準添加法による定量法を検討した。検討結果を基に残留農薬分析に適した性能評価方法・基準を提案した。

#### 3) LC-TOF-MS及びGC-TOF-MSを用いた残留農薬等の効率的・網羅的な分析法の開発

LC-TOF-MSを用いた残留動物用医薬品一斉分析への適用性について検討するため、82化合物について、牛肉及び牛乳を対象に1日2併行、5日間の妥当性評価試験を行った。また、GC-TOF-MS法の残留農薬一斉分析への適用性を検討するため、オレンジのマトリックス標準溶液を用いて、184農薬について選択性、ピーク面積の再現性、検出限界等について評価した。

#### 11. 食品中の放射性物質実態調査等（食品等試験検査費）

- 1) 福島第一原子力発電所周辺の17都県を産地とする流通段階の一般食品（計900試料）を買い上げ、放射性セシウム濃度を調査した。また、市販の乳児用食品（100試料）についても放射性セシウム濃度を調査した。
- 2) 放射性ヨウ素、放射性セシウム、放射性ストロンチウム、ウラン、プルトニウム、トリチウムを分析対象とし、緊急時に使用する分析法であることを踏まえ、迅速性、簡便性を重視した分析法を検討した。検討内容を反映した「緊急時における食品の放射線測定マニュアル改正案」を作成した。
- 3) 魚介類中のPCBsの暫定的規制値への適合を判定するための試験法として、GC-MS/MSを用いた全PCBs異性体分析を検討した。

#### 12. 食品中の放射性物質の摂取量等調査（食品等試験検査費）

- 1) 年2回作製した15地域のトータルダイエット（TD）試料（計420試料）を分析し、該当地域における放射性セシウム等の年間預託実効線量を推定した。
- 2) 放射性セシウム濃度が高かったTD試料（8試料）について、放射性ストロンチウムとプルトニウム分析を実施した。
- 3) 年度内に2回、全国15地域のTD試料（420試料）を作製した。

#### 13. 環境汚染物質検査（食品等試験検査費）

EUへの輸出品目とされている二枚貝、養殖魚並びに天然魚など計22試料を対象にダイオキシン類濃度の実態



調査を実施した。

#### 14. 震災に起因する食品中の放射性物質ならびに有害化学物質の実態に関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安全確保推進研究事業）

- 1) 各自治体が実施し、厚生労働省に報告した食品中の放射性セシウム濃度データ66,663件の集計を行い、検出率、基準値超過率の高い食品種を明らかにした。
- 2) 津波被災地域及び非津波被災地域に相当する計4つの県から買い上げた80食品（魚）のPCBs濃度（異性体別及び総PCBs）を明らかにした。
- 3) 大豆、タケノコ、ウメ、ウナギを用いて調理加工前後の食品中の放射性セシウム量の変化を評価した。

#### 15. 食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安全確保推進研究事業）

- 1) 全国10地域で調製したTD試料（計140試料）を分析し、有害な重金属を含む15元素、メチル水銀、PCBsの一日摂取量を推定した。
- 2) 臭素系難燃剤（ヘキサブromシクロドデカン）並びに塩素系難燃剤（デクロラン類）、多環芳香族炭化水素類（PAHs）の摂取量をTD試料あるいは陰膳試料の分析を通じて推定した。PAHsに関しては、加熱調理による濃度への影響についても検討した。
- 3) 全国7地区8機関で調製したTD試料（計60試料）を分析し、国民平均のダイオキシン類摂取量を推定した。また、個別の食品として、食肉、鶏卵、ベビーフード（計78試料）を分析し、それらのダイオキシン濃度を明らかにした。
- 4) 各種有害物質の全年齢層平均摂取量と幼児（1～3歳児）の摂取量を比較し、有害物質ごとの摂取の特徴を明らかにすると共に、平均摂取量を算術に使用した年齢別摂取量の推定について検討した。
- 5) TD試料を対象とした無機ヒ素分析法の改良を検討し、コメへの適用性を検証した。
- 6) アリル炭化水素レセプター（AhR）への結合活性を有することで、ダイオキシン様活性があると判断される化学物質の中に、健康リスクの原因とならない化学物質が含まれていることを明らかにした。
- 7) 有害元素類の摂取量推定値と毒性情報を元に、暴露マージン（MOE）を試算した。

#### 16. 国際食品規格策定プロセスを踏まえた食品衛生規制の国際化戦略に関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安全確保推進研究事業）

Codex委員会に設置されている分析・サンプリング法

部会（CCMAS）における議論を精査し、その背景にある科学的な原理・原則を踏まえ考察した。また、国際化のために今後我が国が採るべき行動について、CCMASにおける議論への貢献の仕方も含め提言した。

#### 17. 亜麻仁のシアン化合物含有量の実態調査（食品等試験検査費）

亜麻仁に含まれるリヌスタチンとネオリヌスタチン、また微量に含まれるリナマリンの計3種のシアン配糖体を一斉に定量する分析法を開発し性能を評価した後、当該分析法を用いて生亜麻仁及び加熱亜麻仁製品（計50製品）の含有量の実態を調査した。

#### 18. チョコレート及びチョコレート飲料のカドミウム含有量の実態調査（食品等試験検査費）

市場流通するチョコレート及びチョコレート飲料製品（計110製品）を買い上げ、カドミウム含有量の実態を調査した。

#### 19. 食品のフラン含有量の実態調査（食品等試験検査費）

市場流通する米飯やベビーフード、コーヒー類等の製品（計300製品）を買い上げ、フラン含有量の実態を調査した。

#### 20. 食品中に残留する農薬等の検査データの集計と解析（食品等試験検査費）

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課により収集された平成19年～平成24年に全国の自治体等で実施された検査の結果（総検査件数：約2400万件）をデータとして集計、解析あるいは再解析した。

#### 21. 機能性表示食品に係る機能性関与成分に関する検証事業（内閣府消費者庁支出委任費）

流通している機能性表示食品の8商品中の機能性関与成分2品目の分析法を検討し、定量を行った。

#### 22. 既存添加物の安全性確保のための規格基準設定に関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安全確保推進研究事業）

既存添加物アルギン酸リアーゼの生産菌の一種である *Flavobacterium multivorum* について種の同定解析を検討した。

#### 23. 栄養成分及び加工助剤についてのリスク評価方法の確立に関する研究（食品健康影響評価技術検査委託費）

国際的な評価に関する情報を専門的な見地から精査して、加工助剤である酵素、殺菌料、抽出溶媒について我

が国に適したリスク評価手法の開発に資する指針案を作成した。

#### 24. 食品添加物の新規抗原感作性評価手法の開発に関する研究(文部科学研究費補助金)

ヒト単球系細胞株から分化した樹状細胞を用いて抗原感作性評価法を用いてハプテン抗原に応用可能であるか検討するとともに、食品添加物の中でI型アレルギーの発症報告があるエリスリトール等の低分子物質の抗原感作性の評価を行った。

#### 25. 食品摂取により発症する新規アレルギー/アレルギー様反応に関する調査研究(食品健康影響評価技術検査委託費)

経皮的感作で新規アレルギー/アレルギー様反応の疑われるコメぬかやパパイアを含む物質の実態調査を行うとともに、コメぬか成分、パパイア成分等の抗原解析を進めた。

### 食品添加物部

部長 佐藤 恭子  
前部長事務取扱 奥田 晴宏

#### 概要

当部では、食品添加物等(指定添加物、既存添加物、一般飲食物添加物、天然香料、未許可添加物)、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、製品中の残存物質や溶出物の解明及びモニタリング、食品添加物等の一日摂取量調査等に関する研究を行っている。

器具・容器包装関連では、平成25年12月25日に省令改正された乳及び乳製品の成分規格等に関する試験法の作成に貢献した。また、安全性確保のための新しい規制のあり方、並びに規格基準に関する総則の検討が行われた。

人事面では、平成27年7月15日付けで佐藤恭子第一室長が部長に昇任し、奥田副所長の部長事務取扱は解除になった。また、平成27年10月15日付けで多田敦子主任研究官が第一室長に昇任した。平成28年3月31日付けで、河村葉子主任研究官が退職し平成28年4月1日付けで、客員研究員として受け入れた。平成28年3月31日付けで、大槻崇主任研究官が退職し日本大学専任講師に就任し、平成28年5月1日付けで、協力研究員として受け入れた。平成28年3月31日付けで非常勤職員熊井康人氏が退職した。また、山崎壮博士(実践女子大学生生活科学部教授)を客員研究員として、好村守生博士(松山大学薬学部助

教)(~平成28年3月31日)、伊藤裕才博士(共立女子大学准教授)、張替直輝博士(日本大学准教授)を協力研究員として受け入れた。

海外出張としては、佐藤恭子部長は台湾の食品添加物の国際シンポジウム:リスク科学、制御手法及び産業最良規範に出席するため、台北市(台湾)に出張し(平成27年7月20日~22日)、第48回コーデックス食品添加物部会に出席のため中国・西安に出張した(平成28年3月10日~19日)。多田敦子第一室長、大槻崇主任研究官、阿部裕主任研究官は2015環太平洋国際化学会議(PACIFICHEM 2015)で研究成果を発表するため、米国・ホノルルに出張した(平成27年12月15日~19日)。六鹿元雄第三室長は食品、薬品、化粧品、包装材料委員会国際シンポジウム2015に出席のため、米国・ボルチモアに出張した(平成27年6月15日~20日)。河村葉子主任研究官はFAO/WHO合同食品添加物専門家委員会第80回会議に出席のためイタリア・ローマに出張した(平成27年6月15日~27日)。

なお、大槻崇主任研究官は、日本食品化学学会第21回総会において、奨励賞を受賞した。

#### 業務成績

- (1)第9版食品添加物公定書作成検討会の審議に基づき公定書原案(マスターファイル)について、修正一覧と共に医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に提出した(食品等試験検査費)。
- (2)第9版食品添加物公定書の各品目の規格等検索システムを作成した。また、収載内容を自動入力するためのマクロを作成した(食品等試験検査費)。
- (3)増粘剤及び酵素のサルモネラ試験の培養温度の同等性に関する検討を行った(食品等試験検査費)。
- (4)国際的に汎用されている添加物等の指定に向けた調査研究として、酸性リン酸アルミニウムナトリウム、アルミノケイ酸ナトリウム、カルミンにつき成分規格案を策定した(食品等試験検査費)。
- (5)食品中の食品添加物分析法の設定として、食品中の亜セレン酸ナトリウム、カルミンの分析法を確立した(食品等試験検査費)。
- (6)食品添加物一日摂取量調査として、地方衛生研究所6機関の協力により、成人の喫食量に基づいたマーケットバスケット方式による甘味料の一日摂取量調査を実施した(食品等試験検査費)。
- (7)食品添加物の規格及び規格試験法に関する研究として、米国食品化学物質規格集、JECFA規格と食品添加物公定書・一般試験法との対比表を踏まえ、一般試験法見直しの優先順位付けのため、比較を行った。定量核磁気共鳴スペクトル測定法の改正案作成及び塩化

- 物試験法見直しの検討を行った（食品等試験検査費）。
- (8) 塩素殺菌処理された食品中の塩素酸及び亜塩素酸の残存調査として、食品中の亜塩素酸及び塩素酸分析法を開発するとともに、殺菌処理後の亜塩素酸の残存量の推移について調査を行った（食品等試験検査費）。
- (9) 食品中の過酢酸製剤配合成分残留実態調査として、オクタン酸及び1-ヒドロキシエチリデン-1,1-ジホスホン酸の輸入食品中の残留実態調査等を実施した（食品等試験検査費）。
- (10) 既存添加物の流通実態等の情報より、第4次消除対象品目リスト案を作成した（食品等試験検査費）。
- (11) 既存添加物8品目につき、規格試験法原案を作成し、第3者検証試験を行った（食品等試験検査費）。
- (12) 既存添加物4品目につき、標準品原案、成分規格原案、改正原案を作成した（食品等試験検査費）。
- (13) 器具・容器包装の規格試験へのTOC試験の導入に関する研究として、規格試験としての妥当性を検証した（食品等試験検査費）。
- (14) 合成樹脂製器具・容器包装の製造に係る製造管理および品質管理に関する調査を行い、約500種の添加剤についての情報を収集した（食品等試験検査費）。
- (15) フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジブチル及びフタル酸ベンジルブチルを含有するPVC製試料を作製し、種々の条件で溶出試験を行い、それらの溶出挙動を確認した（食品等試験検査費）。
- (16) 食品添加物の指定要請及び使用基準の改正などに必要な要請資料に関して、食品添加物指定等相談センターにおいて、要請者からの事前相談に応じ、相談業務を行った（食品等試験検査費）。

## 研究業績

### 1. 食品添加物に関する研究

- (1) 香料の摂取量に関する評価方法の確立に関する研究  
香料の安全性評価の摂取量推定方法であるSPET法に用いる食品分類の標準一食分量について、平成22年度の食品摂取頻度・摂取量調査で収集されたデータを基に検討した（食品健康影響評価技術検査委託費）。
- (2) 食品添加物の食品中における消長と副生成物に関する研究  
過酸化ベンゾイルを添加した麺類の調理過程で生成する副生成物の種類と残存量を明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。
- (3) 定量NMR法による定量用標準物質の純度分析法の確立  
フルジオキソニルをモデル試料として<sup>13</sup>C NMRによる定量NMRについて検討し、本法の有用性を明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。

- (4) 食品添加物の規格基準向上のための赤外スペクトルに関する調査研究  
減衰全反射法（ATR法）の問題点と有用性について検討した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (5) 食品添加物中の鉛分析法に関する研究  
有機塩類の前処理等について検討した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (6) 核磁気共鳴（NMR）技術を利用した食品中の化学物質分析法の確立に関する研究  
NMRによる食品添加物等の化学物質の定量法の確立に関する検討を行った（文部科学研究費補助金）。
- (7) 既存添加物の安全性確保のための規格基準設定に関する研究  
既存添加物について、自主規格、公定書規格案を整理すると共に裏付け試験を実施した。各種既存添加物の含有成分解析を行った。酵素の基原の解析法を検討した。酸化防止剤に含まれる活性成分の種類と各種試験法における抗酸化活性値との関連性を検討した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (8) 食品添加物等の各種理化学情報検索システム構築に関する研究  
食品添加物等の各種理化学情報検索システムを構築すると共にデータの拡充を行った（(公)日本食品化学研究振興財団研究助成金）。

### 2. 器具・容器包装等に関する研究

- (1) 器具・容器包装における蒸発残留物試験の性能評価  
蒸発残留物試験について、試験室間共同試験を実施し、公定法及び代替法の性能評価を行い、規格試験法としての妥当性を確認するとともに問題点の抽出を行った（厚生労働科学研究費補助金）。
- (2) 植物油総溶出物量試験法の改良  
植物油総溶出物量試験法の改良法について試験室間共同試験を行い、改良法の性能を評価した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (3) 揮発性物質試験におけるスチレンのメモリー現象に関する検討  
揮発性物質試験におけるスチレンのメモリー現象の発生状況や原因を追究し、メモリー現象の低減化を図るための対策案について検討した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (4) カプロラクタム試験におけるピーク形状改善のためのGC条件の検討  
カプロラクタム試験におけるピーク形状改善のためのGC条件を種々検討し、ピーク割れ発生時の対応策について検討した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (5) 合成樹脂製器具・容器包装の製造に関する自主管理

### ガイドライン案の作成

国内外の器具・容器包装に関する製造管理、品質管理、品質保証等に関する法規制や自主基準を精査し、国内の状況に適した「器具及び容器包装の製造に関する自主管理ガイドライン案」を作成した（厚生労働科学研究費補助金）。

### (6) DART-OT/MSおよびqNMRを用いた迅速かつ簡易な可塑剤分析法の検討

DART-OT/MSを用いた乳幼児用玩具中のフタル酸エステルの迅速スクリーニング法、並びにNMRを用いた乳幼児用玩具中のフタル酸エステル定量法を開発した（厚生労働科学研究費補助金）。

## 食品衛生管理部

部長事務取扱 奥田晴宏  
前部長 五十君静信

### 概要

当部は食品等の製造工程における微生物及び有害物質の制御、安全性評価、規格基準その他の食品等の衛生管理に関する調査及び研究、並びに食中毒に関連する微生物の試験及び検査、並びにこれらに必要な研究を行っている。

平成27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)食品の微生物学的リスク評価に関する研究、(3)遺伝子組換え微生物の安全性に関する研究、(4)マリントキシンによる食中毒に関する研究、(5)食品媒介性ウイルスに関する研究発展させた。業務関連では、製造基準（殺菌温度及び殺菌時間）に関する調査、清涼飲料水の製造基準（除菌）に関する文献等の調査、食品中の微生物検査における衛生指標菌に関する試験検査、豆腐中の微生物に関する試験調査、牛の肝臓の危害に関する試験等調査、貝毒規制に係る試験方法に関する調査研究、マリントキシン検査外部精度管理事業に係る試験検査、リステリア疫学情報のネットワーク化、食品媒介ウイルスの分子疫学的データのネットワーク化、生食用カキのウイルス学的安全性確保に関する試験法の実施を行った。

また、保健医療科学院において開催された食肉衛生検査研修、食品衛生危機管理研修、食品衛生監視指導研修において五十君静信部長、大城直雅第二室長、岡田由美子第三室長、上間匡主任研究官、百瀬愛佳主任研究官が副主任を務めコースの運営に参加した。前記5名に加え朝倉宏第一室長、野田衛第四室長は講義を担当した。

人事面では、非常勤職員として吉岡宏美氏、村田龍氏、三元昌美氏、橋理人氏、國吉杏子氏の5名、短時間非常勤職員として榊田和彌氏、宮下多美枝氏の2名を採

用した。客員研究員として山本茂貴博士、天野富美夫博士、協力研究員として北村勝博士を受け入れた。その他に大学等から研究生7名、実習生14名を受け入れた。なお、平成25年度より部長を務めた五十君静信部長は、平成28年3月31日をもって退職し、東京農業大学教授に就任した。

海外出張では、五十君静信部長は、平成27年6月21日～28日にオランダ・デルフトで開催された第22回ヨーロッパ標準化委員会技術委員会CEN/TC275/WG6会議及び第34回国際標準化機構（ISO）技術委員会TC34/SC9会議に参加し、情報収集および情報交換を行った。また、平成27年9月6日～14日にブラジル・リオデジャネイロで開催された食品中の予測モデルに関する国際シンポジウムICPMF9において口頭発表し、わが国の生食用牛肉の微生物基準策定について情報発信した。大城室長は、平成26年6月13日～19日にスペイン国バイヨナで開催された海産生物毒に関する第5回合同シンポジウム及びAOACタスクフォース会議に参加し、ポスター発表及び各国研究者と情報交換を行った。また、平成27年9月7日～12日にシガテラに関する現地調査のためタイ王国ハジャイにあるプリンス・オブ・ソクラー大学に出張し、平成27年12月13日～22日に2015環太平洋国際化学会議での招待講演およびハワイ州保健局でのシガテラに関する現地調査のために米国ホノルル市に出張した。

### 業務成績

#### 1. 製造基準（殺菌温度及び殺菌時間）に関する調査

乳及び乳製品、清涼飲料水、加熱食肉製品、容器包装詰加圧加熱殺菌食品に関する殺菌時間及び温度の条件検討を行った。

#### 2. 清涼飲料水の製造基準（除菌）に関する文献等の調査

清涼飲料水の製造過程で用いられる除菌工程について、特に管理検証方法等に関する情報を文献調査した。

#### 3. 食品中の微生物検査における衛生指標菌に関する試験検査

水産製品等について、公定法及びISO試験法に規定されているそれぞれの試験法を用い、食品の種類、培地の種類、菌量等による試験を実施した場合の試験結果の差異について検討した。

#### 4. 豆腐中の微生物に関する試験調査

豆腐を汚染することが懸念される細菌の同定、殺菌方法や保存期間について検討した。

## 5. 牛の肝臓の危害に関する試験等調査

牛肝臓中の大腸菌等汚染実態調査を行うと共に、高圧処理による微生物低減手法の検討を行った。

## 6. 貝毒規制に係る試験方法に関する調査研究

LC-MS/MS法による下痢性貝毒の一斉分析法を改良し、ホタテガイ以外の二枚貝に対する妥当性を確認した。

## 7. マリントキシン検査外部精度管理事業に係る試験検査

対EU向け輸出用ホタテガイの検査実施施設3機関4施設に対し、検査の品質保証に関する検証を行った。

## 8. リステリア疫学情報のネットワーク化

研究室保有の患者及び食品由来株について、PFGE情報の蓄積を行うと共に、外部機関との情報収集に関する協力体制を作った。

## 9. 食品媒介ウイルスの分子疫学的データのネットワーク化

全国の地方衛生研究所で食中毒事例等から検出されたノロウイルス152株、サポウイルス2株、A型肝炎ウイルス25株のシーケンスデータを収集し、系統樹解析を実施後、NESFDに還元した。開発したClustalWやローカルBlastは迅速なデータ還元にも有用であった。

## 10. 生食用カキのウイルス学的安全性確保に関する試験法

市販カキ109件についてノロウイルス、糞便系ファージ、生菌数、E.coli最確数を検査し、相関性を調査した。カキのノロウイルス検査法について国内法とISO法の前処理とRNA抽出について比較した。糞便系ファージのプラーク法と遺伝子検査法を検討した。カキ中のノロウイルスの安全性確保を中心とする論文を収集し、その内容を取りまとめた。

## 研究業績

### 1. 食中毒菌に関する基礎的研究

- 1) *Campylobacter jejuni*の肝臓移行を支えるゲノム特性の解明（一般試験研究費）

野外飼育鶏生体内での肝臓等腸管外臓器におけるカンピロバクター局在性について検討した。

- 2) 食中毒菌の生きているが培養できない（VBNC）状態に関する動態解析（一般試験研究費）

O157大腸菌等のストレス抵抗性発現に伴う遺伝子変動について検討を行った。

- 3) 鶏腸管におけるカンピロバクター感染動態のゆらぎ

に関する研究（日本学術振興会・科研費）

鶏由来培養細胞を用いて、カンピロバクター定着に伴う鶏宿主の免疫応答に関する検討を行った。

- 4) *Arcobacter butzleri* および *Campylobacter jejuni* の間で顕れる微生物間クロストークに関する研究（一般試験研究費）

*Arcobacter butzleri*のバイオフィーム形成関連候補遺伝子の機能性について検討を行った。

- 5) 生体内および環境ストレス条件下における *Listeria monocytogenes* シグマ因子の機能解析（一般試験研究費）

リステリアシグマ因子の活性酸素抵抗性に関する役割を解析した。

- 6) *Listeria monocytogenes* 菌株の分子疫学的解析に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

食品由来株18株患者由来株12株のPFGE解析を行い、情報のデータベース化により散发例の原因食品推定を行った。

- 7) 乳児用調製粉乳汚染細菌 *Cronobacter* spp. の新分類と病原性機構に関する研究（日本学術振興会・科研費）

免疫不全スナネズミ及びマウスを用いた *Cronobacter* 属菌の病原性評価法を検討した。

### 2. 食品の微生物学的リスク評価に関する研究

- 1) 非動物性の加工食品などにおける病原微生物の汚染実態に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

野菜浅漬け製品における衛生規範改訂版の有効性を衛生指標菌定量解析及びメタゲノム解析を通じて検討した。発芽野菜の種子ならびに発育に伴う菌叢変動をメタゲノム解析等により検討した。

- 2) 畜産食品の安全性確保に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

国内の畜肉における微生物及び寄生虫の汚染実態調査を行うと共に、畜産食品の非加熱殺菌法の検討を行った。

- 3) 腸管免疫系の発達とその役割に関する研究（一般試験研究費）

腸管免疫系の感染防御機構に関する研究を行った。

- 4) 食品中の微生物試験法の開発及びその実効性・妥当性評価に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

食品における微生物試験法のメソッドバリデーションの手法を検討し、統一した方向性を持ち、科学的根拠のある信頼性の高い標準試験法の策定を進め、それぞれの作業部会案を検討した。

- 5) 食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

食鳥肉などの食品を中心に大腸菌をはじめとする腸

内細菌科菌群の拡張型βラクタマーゼ産生菌(ESBL)の国内の汚染実態を調査した。

6) 食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

カンピロバクター定着に応じた鶏盲腸内菌叢の変動性を検討した。

7) 野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

ジビエ肉の販売・飲食段階での衛生管理実態を調査検証した。

### 3. マリントキシンによる食中毒に関する研究

1) マウス・バイオアッセイの原理解明, および動物福祉に配慮したその改良(日本学術振興会・科研費)

下痢性貝毒によるマウスの体温低下等について検討した。

2) シガテラ毒の分析法開発に関する研究(食品安全委員会食品健康影響評価技術研究委託費)

LC-MS/MS法によるシガトキシン類の分析法を検討し, 沿岸生物の汚染度調査を実施した。

3) シガテラ毒の毒性に関する研究(食品安全委員会食品健康影響評価技術研究委託費)

シガトキシン1Bおよび3Cの経口および腹腔内投与による毒性について検討した。

4) 魚貝毒のマウス・バイオアッセイに関する研究(一般試験研究費)

フグ毒に対するマウス致死曲線について検討した。

5) マリントキシンのリスク管理に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

フグ食中毒の調査票を作成した。またフグの毒性調査を実施した。

### 4. 食品媒介性ウイルスに関する研究

1) 食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

11機関を対象にウイルス検査の外部精度管理を実施し, 検査法の統一, 陽性コントロールの管理が重要であることを示唆した。X-barR管理図で評価が可能であることを示唆した。網羅的ゲノム解析法と感染性推定法の併用によりカキ中のノロウイルスは遺伝子型により感染性/非感染性粒子の存在比に違いがある可能性を示唆した。現行の通知法のリアルタイムPCR法ではカキの完全性確保が困難であることを示した。2015年2月採取カキの多くにGII.17変異株が蓄積され, 同年のカキ関連食中毒に多く関与している可能性を示した。

2) 感染性推定遺伝子検査法の改良と生存性試験, 汚染実態調査等への応用(一般試験研究費)

カキ中のウイルスの不活化に高圧処理が有用であり, また, その効果判定に感染性推定遺伝子検査法が有用であることを示した。

3) 消毒剤のウイルスに対する不活化効果の検証(一般試験研究費)

塩素系消毒剤10種類, アルコール系消毒剤11種類についてネコカリシウイルスを用いて不活化効果を調べた。

4) 広域・複雑化する食中毒に対応する調査手法の開発に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

全国で食中毒事例などから検出されるノロウイルスなどについて迅速な系統樹解析を実施するためのClastalWの自動化システムを構築した。それを用いて迅速なデータ共有ができた。

## 衛生微生物部

部長 寺嶋 淳

### 概要

当部は, 食品部, 食品添加物部, 食品衛生管理部および生化学部とともに当研究所の食品部門に属し, 食品, 医薬品, 医薬部外品, 医療用具, 環境等の分野の微生物関連の安全確保に係る試験・研究業務を行っている。

食品微生物関連では, 主に細菌, 真菌, 寄生虫等を取扱い, 広域食中毒事件における共通原因食品ならびに食中毒菌の究明, 寄生虫汚染による食中毒の原因物質および発症機構の究明を行うとともに, これらの検査法の開発および試験法策定に寄与する試験研究を行っている。平成27年度は粉末清涼飲料の性質に適合した細菌試験法を確立した。真菌分野では, 食品汚染真菌のリスク要因の解明および新規分類法の開発を行っている。また, 食品微生物に関する情報を地方衛生研究所と共有するとともに, 共同研究, 技術支援を行っている。

食品中のマイコトキシンでは, 規格基準策定に必要な科学的根拠を集積するとともに, 分析法の策定およびその評価のための妥当性試験等に関する試験研究を行っている。

医薬品, 医薬部外品, 医療用具関連では, エンドトキシン試験法における国際標準品の国際共同検定に係る試験研究を行い, 日本薬局方一般試験法収載の無菌試験や微生物限度試験に関する調査・研究を行っている。

環境微生物関連では, 主に真菌を対象として, アレルギー誘発因子の解明と予防法に関する調査・研究業務を行っている。特に, 東日本大震災被災地の住居における真菌暴露によるアレルギー疾患について, 呼吸器科・小

児科医師等と継続的な共同調査研究を実施した。

客員研究員として小西良子麻布大学教授、鎌田洋一岩手大学教授、三瀬勝利(独)医薬品医療機器総合機構専門委員、高鳥浩介NPO法人カビ相談センター理事長、小沼博隆公益社団法人日本食品衛生協会学術顧問、協力研究員として高橋治男千葉大学真菌医学研究センター非常勤講師、山口照英日本薬科大学教授、豊田淑江日本薬科大学助教、渡辺健東京医科歯科大学特任助教、湯之前雄太東京医科歯科大学技術補佐員、研究生2名、実習生5名とともに、精力的に共同研究を進展させた。

海外出張は、以下のとおりである。大西貴弘第四室長は、平成27年4月18日～24日までイギリス・ウェールズ市で開催されたIAFP European Symposiumに出席し、寄生虫性食中毒に関する研究成果の発表を行った。

所外業務として、寺嶋部長、渡辺第三室長、大西第四室長は国立保健医療科学院の研修講師を務めた。

その他、薬事・食品衛生審議会委員、日本薬局方生物試験法委員会委員、製剤委員会無菌医薬品包装の完全性評価WG専門委員、国際調和検討委員会委員、ISO/TC194 国内委員会委員、内閣府食品安全委員会 微生物・ウイルス専門調査会委員、かび毒・自然毒等専門調査会委員として、試験法評価、規格基準審査等に係る専門協議に従事した(寺嶋、菊池、窪崎、工藤、渡辺、大西)。

## 業務成績

### 1. エンドトキシン国際標準品検定の実施および同試験法候補の調査研究

ヒト細胞を用いたエンドトキシン等発熱性物質検出法の開発を目的とし、日局エンドトキシン標準品を用いて、日局エンドトキシン試験法とmonocyte activation test (MAT) の比較検討を行った。

### 2. 食中毒に関する調査研究

地方衛研で行う収去検査に用いる試験法を提示し、H27年度の食中毒菌汚染実態調査のとりまとめおよび菌株の保存を行った。

### 3. 広域散発食中毒事件等の原因究明および予防のためのガイドライン確立に関する研究

食品培養液の保存方法の検討では、検体培養液の保管は、DMSO添加での-80℃下および4℃での保管でも検出性が低下しない可能性が示された。多様な食中毒細菌の迅速検出法について60種類の菌種についての検出に有用な特異的遺伝子(配列)を対象にしたPCR法を整理し、類似の反応条件についての増幅性を検討した。

### 4. 平成27年度食品・添加物等規格基準に関する試験検

査等：食品中のかび毒に係る試験検査(フモニシン、デオキシニバレノール、ニバレノール及びオクラトキシシンAの含有実態調査)

食品中のフモニシン、デオキシニバレノール、ニバレノール、及びオクラトキシシンAの麦類、とうもろこし製品および豆類での実態調査を行った。トータル400検体の調査を行ったが、フモニシン類が1ppm検出されるコーンスナック検体が認められ、またデオキシニバレノールのコーングリッツ、ベビーフード及び国産小麦粉での陽性率が80%を超えていた。海外で設定されている基準値を超える検体は認められなかったものの、今後も調査を続け、我が国において基準値を設定する必要性の有無を判断するデータを提供する必要性が考えられた。

### 5. 平成27年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等：清涼飲料水の細菌試験法見直しに係る試験検査

ゼリー状となる粉末清涼飲料の細菌数(生菌数)の測定には、100倍乳剤を試料原液とし、試料原液調製から混釈培養までの操作を短時間でを行いゲル化の影響を最小限にすることが、告示法と同じく混釈培養法を応用した優れた試験法であることが示された。また、200倍乳剤を試料原液とする方法も同様の優れた試験法であると考えられた。

### 6. 平成27年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等：水産食品中のヒスタミン生成菌に係る試験検査

魚でのヒスタミン生成菌の測定結果から、魚の部位別では体表が最もヒスタミン生成菌の検出率が高く、菌数も高いことが示された。また、魚種別では、アジが最も検出率が高かった。さらに、次世代シーケンサーによる遺伝子解析を用いた微生物群集解析の結果、Shewanella balticaがヒスタミンを生成していたことが推測された。

### 7. 平成27年度食中毒関連情報調査等の実施：食品中のカビのリスクプロファイルに関する研究

National Epidemiological Surveillance of Foodborne Disease (NESFD) の機能を用いて構築したリスクプロファイル集とその後追加した補足的な情報について、システムの維持のため、経年による内容の削除および修正が必要な個所があるか否かを検討し、該当する箇所は無いことを確認した。

### 8. 平成27年度クドア・セプテンpunkタータ検査法コラボレーション試験事業

新しく開発されたクドア検査用のLAMP法およびイムノクロマト法キットの妥当性を評価するために7機関参加の試験室間共同試験を行った。その結果、これらの試

験法が通知法と同等の感度を有し、その妥当性が確認された。これらの試験法を用いることによって、検査時間が従来の5分の1から20分の1まで短縮できるため、クドア検査の効率化に貢献すると思われる。

## 研究業績

### 1. 医薬品の衛生微生物に関する研究

#### (1) 新規遺伝子増幅法を利用したマイコプラズマ否定試験の改良に関する研究（一般試験研究費）

マイコプラズマ7菌株（アコレプラズマを含む）を培養し、CFU/mLの算出と核酸増幅検査（NAT）による値付けを行い、日局17参考情報マイコプラズマ否定試験に用いるマイコプラズマ参照品を調製して供給体制を整備した。また、NATのランコントロール、精度試験及びバリデーションに用いる *Mycoplasma fermentans* NBRC 14400の16S rRNA-23S rRNA遺伝子（介在領域を含む）プラスミド標準品を作製した。

#### (2) 無菌試験の研究－細胞・組織加工品における無菌試験法の在り方について－（厚生労働科学研究費）

再生医療等の安全性の確保等に関する法律が施行されたことから、再生医療等製剤の出荷判定試験に適用する無菌試験法の在り方について、米国や欧州各国の規制を検討し、無菌試験法に適用可能な微生物迅速検出法を検証した。

#### (3) 微生物由来核酸の多項目検出に関する研究（一般試験研究費）

医薬品等に混入する可能性のある細菌および真菌など微生物の多項目同時検出技術として、次世代シーケンサーの活用に着目した。本年度では、細菌の16S rRNA情報を解析モデルに用いた次世代シーケンサーの可能性を検討した結果、高い検出能が示せた。

#### (4) iPS細胞等由来樹状細胞を用いたエンドトキシン等発熱性物質検出法の開発（受託研究・創薬基盤推進研究事業）

ヒト細胞を用いたエンドトキシン等発熱性物質検出法の開発を目的とし、正常ヒト血液中の単核球から樹状細胞を誘導する条件設定を行い、得られた成熟樹状細胞をエンドトキシンで刺激し、誘導されるTNF- $\alpha$ 、IL-6及びIL-1 $\beta$ を測定して発熱性物質試験への適用を試みた。また、発熱性物質試験に用いることを目的とし、正常ヒト血液由来単核球にOCT3/4、SOX2、KLF4及びc-MYCを導入してiPS細胞を樹立し、単球及び樹状細胞への分化誘導を行っている。

#### (5) オゾン過酸化水素混合ガスを用いたエンドトキシン等発熱物質不活化の研究（受託研究・創薬基盤推進研究事業）

生体高分子やプラスチック製品に適用可能なエン

ドトキシン不活化法の開発を目的とし、乾熱処理（250° C、2時間）の代替法として、オゾン過酸化水素混合ガスを温度50° Cで乾燥状態のエンドトキシンに暴露し、対数減少値3Log以上の不活化を確認した。BIを用いて同一条件下で滅菌も可能なことを確認し、オゾン過酸化水素混合ガスを暴露したプラスチック、金属等の被験材料の細胞毒性を評価している。

### 2. 食品微生物に関する研究

#### (1) 食品での新たな病原大腸菌のリスク管理に関する研究（厚生労働科学研究費）

腸管毒素原性大腸菌下痢症の食品での検査は主要血清群に対応した法が効果的であること、腸管出血性大腸菌の食品での検査法との共通検査の組み込むこと、散发下痢症患者の多くはインド、インドネシア、中国等海外渡航の関連が考えられること、原因食品として野菜を使用した食品が多いこと、が明らかになった。

#### (2) 食品における腸管出血性大腸菌の凍結損傷の検討（一般試験研究費）

血清群O157について冷凍野菜製品中での凍結損傷の発生割合を測定した。また、試験法の検討を行った。その結果対象とした冷凍野菜では100個以下の冷凍損傷菌であっても通知法によって検出が可能であることが明らかになった。

### 3. 食中毒細菌毒素に関する研究

#### 食品中の食中毒菌等の遺伝特性および制御に関する研究（厚生労働科学研究費）

昨年度作成した26のウェルシュ菌遺伝子を対象としたタイピング法の有効性を様々な菌株を用いて確認したところ、この方法が毒素産生性、菌株の由来などの特徴をよく表現しタイピングを行え、食中毒事例を解析するのに有用なツールとなることが明らかになった。

### 4. 真菌に関する研究

#### (1) 国内流通食品における *Fusarium* 属菌の分布状況に関する研究（厚生労働科学研究費）

カビおよびカビ毒に高濃度に汚染している現状が示唆された国産白小豆、および国内消費量が多く海外における高頻度のカビ毒汚染が報告されている輸入小麦について、それぞれ複数検体から *Fusarium sporotrichioides* を分離し、分離株のカビ毒産生性を分析した。その結果、T-2トキシンの産生性が確認でき、本菌が北海道産小豆のT-2トキシンの汚染原因菌であることが示された。

#### (2) 環境由来真菌アレルゲンに関する研究（一般試験研



究費)

住宅を高濃度・高頻度に汚染することが知られる *Aspergillus versicolor* のアレルギー性については検討が十分でなく知見が少ない。平成26年度に作成したデータベースから、当該菌の既知のアレルゲン遺伝子のうち複数菌種でアレルゲンとして登録のあるホモログを選別し、アレルゲン性を評価するためアミノ酸配列の解析を行った。その結果、同一菌種の株間において、配列多様性があることが明らかとなった。

(3) 東日本大震災応急仮設住宅室内を汚染する真菌危害の低減および予防に関する研究 (一般試験研究費)

仮設住宅のカビ汚染の原因となっている結露を改善しカビ低減効果を得ることを目的として、実際の仮設住宅に、熱交換型換気扇の設置および天井裏の断熱補修を実施し、継続的にカビ汚染低減効果について解析した。その結果、室内空気の換気効率は大きく上昇したが、高いカビ濃度の低減効果は得られず、カビ汚染が重篤な場合、カビ汚染が進行する前から換気および断熱施工を行うことが重要であることが示された。

(4) 水害被災地における真菌アレルギー患者の免疫血清学的検査の妥当性向上に関する研究 (文部科学省科学研究費)

津波浸水世帯、仮設住宅住民等、水害被災地における真菌アレルギー患者の発生実態の把握を行い、比較的高確率で喘息が発生している傾向にあることを明らかにした。また、当該住居室内で汚染が広がっている *Eurotium herbariorum* について、蛍光標識抗体を用いたELISA法による特異的IgEの高感度検出法を構築した。既存の方法で測定した結果と比較して、優れた測定感度が得られた。

## 5. 真菌産生毒素に関する研究

乳幼児用食品におけるカビ毒汚染のリスク評価に関する研究 (厚生労働省科学研究費)

小麦とトウモロコシを主原料とする乳幼児用食品について、12種のカビ毒一斉分析法を開発し、添加回収試験と自然汚染検体を用いた検討によりその性能を評価した。実態調査に用いられる性能を有することが示されたため、国内で市販されている乳幼児用食品30検体におけるカビ毒の汚染実態を調べた。さらに、デオキシニバロールについて乳幼児における曝露量推定を行い、健康へのリスクを評価した。

## 6. 寄生虫に関する研究

(1) 生鮮魚介類を原因食とする原因物質不明食中毒の原因究明 (厚生労働省科学研究費)

原因物質不明有症苦情事例残品中から高率に粘

液胞子虫のDNAを検出した。特にカンパチから *Unicapsula seriolae* が高率に分離され、事例との関連性が示唆された。

(2) ヒト腸管内環境における *Kudoa septempunctata* の生存性の検討 (厚生労働省科学研究費)

ヒト腸管内環境で *K. septempunctata* を培養したところ、長期間生存することが出来ず、*K. septempunctata* はヒト腸管内環境に適応できないことを明らかにした。この結果から、食中毒症状が治まったあとも駆虫などの特別な処置を行わない現行の対応でよいと思われる。

(3) *Kudoa septempunctata* の凍結保存方法の確立 (厚生労働省科学研究費)

*K. septempunctata* の凍結保存法を開発した。保存開始から1年の時点で、高い生存性を維持していること確認した。粘液胞子虫の凍結保存法はこれまで報告がなく、食中毒発症機序を解明していく上で大いに貢献するものと思われる。

## 7. 生物ゲノムの分子生物学的研究

(1) 毒素産生遺伝子・重金属耐性遺伝子・薬剤性遺伝子等の増殖機構の解明と細菌間拡散防止への対応 (一般試験研究費)

フットプリンティングの条件検討を行った。不特定の結合を阻害する試薬を検討・選択した。サイズマーカー調製の為、蛍光プライマーでダイデオキシ法によりサイクルシーケンス反応を検討した。

(2) 細菌転移因子と真核生物のRNA型転移因子の遺伝子発現の比較 (一般試験研究費)

フットプリンティングの条件を真核生物のDNA断片を用いて検討した。

(3) ゲノムの寄生性因子の転写装置の *in silico* 解析 (一般試験研究費)

真核生物のRNAポリメラーゼIIIの転写開始因子や細菌転写因子の二次構造上の類似性からタンパク質の近縁性を探索した結果、真核生物で一つ見つかった。ヘリケース様の配列だった。

## 8. 新興感染症に関する研究

異常型プリオンの新規検出法に関する試験研究 (一般試験研究費)

異常プリオン蛋白質を感染させるセルアッセイ系の構築に資する細胞株の樹立を目的として、T98G細胞にレトロウイルスベクターを用いてGPIアンカー欠損スプライス変異型プリオン遺伝子を導入して持続的にmRNAを発現する安定株を樹立した。

## 有機化学部

部長 栗原 正 明

### 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、厚生労働省管轄の研究所の中で唯一の有機化学を研究分野としている部である。有機化学、有機合成化学、計算機化学、メディシナルケミストリー、ケミカルバイオロジー、機器分析化学を基盤として、基礎的研究分野からレギュラトリーサイエンスに関する諸研究を推進すると共に所内の他の研究部門への研究支援、共同研究を積極的に推進している。遺伝子医薬部とはプロテインノックダウン法等の共同研究を行っている。生薬部、薬理部とは危険ドラッグに関する共同研究を行っている。栗原は東京工業大学大学院生命理工学研究科生体分子機能工学専攻の連携教授を引き続き行い、指導学生3名を研究生・実習生として指導した。

平成27年度の研究業務として1) 有用生理活性物質の合成及び化学反応性に関する研究、2) 有害物質の構造決定及び毒性評価に関する有機化学的研究、3) 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究、4) 医薬品の品質確保に関する研究などを行った。

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特任教授）、西尾俊幸博士（日本大学生物資源科学部教授）、福原潔博士（昭和大学薬学部教授）に客員研究員として参画いただいた。

協力研究員として袴田航博士（日本大学生物資源科学部准教授）、大庭誠博士（長崎大学薬学部准教授）と共同研究を行った。

国際学会発表のため、出水室長は、The 11th Australian Peptide Conference 2015(平成27年10月、オーストラリア・キングスクリフ)に、正田主任研究官及び三澤研究員はPACIFICHEM 2015(平成27年12月、米国・ハワイ)に外国出張した。

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）及びリガク単結晶X線結晶構造解析装置の管理・運営を行った。

### 業務成績

当部職員は、以下の活動を実施した。

薬事・食品衛生審議会薬事分科会の化粧品・医薬部外

品部会及び毒物劇物部会、毒物劇物調査会の委員として活動に協力した。

(独)医薬品医療機器総合機構(PMDA)専門委員(総合委員会, 総合小委員会, 医薬品名称委員会, 化学薬品委員会)として、日本薬局方の改正作業に協力した。

PMDA専門協議において医薬品一般名称(JAN)の作成に協力した。

危険ドラッグの包括指定(H27.5.11施行)に関して、カチノン系化合物の指定範囲を決定するため定量的構造活性相関(QSAR)による解析研究を行った。

### 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) 安定なヘリカル構造を形成できるペプチドの設計・合成を行った。また、その一部を用いてDDSキャリアペプチドへの展開を行った。
- 2) グラム陰性菌、グラム陽性菌に対して強い抗菌作用を持つペプチドの開発を行った。
- 3) エストロゲン受容体のリガンドであるタモキシフェンに修飾長鎖アルキル基を導入した化合物のタンパク質分解誘導作用を評価した。(文科科研費)

#### 2. 有害物質の構造決定及び毒性評価に関する有機化学的研究

- 1) 炭素鎖を延長したカチノン系化合物の包括規制を行った。(厚労科研費)
- 2) 新規流通危険ドラッグ成分の生物活性予測法について、その適用の妥当性について検討した。(厚労科研費)
- 3) 開発した構造類似性のみに基づいた毒性予測法を新規な化合物群に適用した。(厚労科研費)
- 4) ジフェニルメタン誘導体を合成し、CB1受容体に対する活性評価を行った。(精神・神経疾患研究開発費)
- 5) 3種のタンパクの構造からホモロジーモデリングでCB1受容体の構造を構築し、リガンドのドッキングシミュレーションを行った。(厚労科研費)
- 6) 重要なDNAアダクトの合成を行った。

#### 3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

- 1) AhRをユビキチンリガーゼとして用いるプロテインノックダウン法の開発を行った。(創薬基盤推進研究事業)
- 2) 核内受容体のリガンドとして、ジフェニルメタン構造を有する分子の合成を行った。
- 3) Notch受容体を分解誘導するペプチドの開発を行った。
- 4) post-modificationが可能な機能性ペプチドの合成を

行った。(文科科研費)

- 5) エストロゲン受容体, アンドロゲン受容体を標的とした転写活性化阻害ペプチドの開発を行った。(文科科研費)

#### 4. 医薬品の品質確保に関する研究

- 1) 日本薬局方への不純物情報の収載に関して, 記載方法の整備を行った。(厚労科研費)
- 2) 日局データベースの記載事項・内容の拡充を行った。以上の研究は, 山下博子, 依岡桃子, 沖津航陽, 田中克哉, 藤里卓磨, 小澤佑斗の研究生・実習生及び所内関連各部の協力を得て行った。研究の成果により第52回ペプチド討論会若手口頭発表優秀賞(山下博子研究生), 第41回反応と合成の進歩シンポジウム(山下博子研究生), 日本薬学会第136年会優秀発表賞(口頭発表の部)(藤里卓磨研究生)を受賞した。

研究の成果は, 下記学会等で発表した。

国際学会では, The 11th Australian Peptide Conference 2015, PACIFICHEM 2015, 国内学会では, ケミカルバイオロジー第10回年会(2015.6), 第31回日本DDS学会学術集会(2015.7), 第41回反応と合成の進歩シンポジウム(2015.10), 第52回ペプチド討論会(2015.11), 第33回メディシナルケミストリーシンポジウム(2015.11), 日本薬学会第136回年会(2016.3)等で発表した。また論文及び総説・解説等は, *Bioorg. Med. Chem.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *J. Org. Chem.*, *Chem. Pharm. Bull.*, *ChemBioChem*, *Eur. J. Org. Chem.* 等に発表した。

## 生 化 学 部

部 長 近 藤 一 成  
前部長 最 上 知 子

### 概 要

生化学部では, 業務関連物質の生化学的試験研究とともに, 新開発食品の検知法開発・安全性評価, 食品等のアレルギー, 放射線安全管理, 生体の生化学的機能制御に関する研究を行っている。

平成27年度は, 以下の6つの課題について研究業務を実施した。(1) 免疫系細胞の機能に関する研究, (2) 代謝機能に及ぼす医薬品等の影響に関する生化学的研究, (3) 遺伝子組換え食品の検査法・安全性に関する研究, (4) 健康食品の安全性・自然毒のリスクに関する研究, (5) 食物中アレルギー物質に関する研究, (6) 放射線安全管

理及び関連分野に関する研究である。

人事面では, 平成27年7月1日付けで第三室主任研究官酒井信夫は生活衛生科学部へ第一室長として移動した。平成28年3月1日付けで第三室主任研究官として為広紀正が採用された。また, 独立行政法人農研機構食品総合研究所佐藤里絵研究員を協力研究員として, また, 昭和薬科大学西島正弘教授を客員研究員として受け入れた。

外国出張は, 以下の通りである。近藤一成室長は遺伝子組換え体検出法の標準化に関するシンポジウムに出席(米国・ミネアポリス, 平成27年10月14日~18日), また, 食品分析の最近の進歩に関するシンポジウムで未知遺伝子組換え体の検出手法および自然毒の迅速分析法に関する発表(チェコ・プラハ, 平成27年11月2日~8日)を行った。安達玲子室長はPacifichem 2015の食物アレルギー分析法に関するシンポジウムにて日本における食物アレルギーの分析法に関する講演を行った(米国・ホノルル, 平成27年12月15日~21日)。中村公亮主任研究官はPacifichem 2015において遺伝子組換え体のエピゲノム検出手法に関する発表を行った(米国・ホノルル, 平成27年12月16日~20日)。

### 業務成績

#### 1. 新開発食品関係

- 1) 遺伝子組換え食品検査法の各試験検査機関における技能確認のため, 多機関による安全性未承認の遺伝子組換えパパイアの定性検査(リアルタイムPCR法)を対象として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)。
- 2) 安全性未承認GM食品監視対策のため, 安全性未承認遺伝子組換えジャガイモ(J3, F10, E12系統)検知法の開発と試験室間共同試験による妥当性確認を実施した(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監視安全課)。
- 3) 食品表示に関する試験検査のため, 遺伝子組換えトウモロコシの簡易粒検査法の開発, ステアリドン酸産生ダイズMON87769系統の特異的定量法の開発, ステアリドン酸産生ダイズMON87769系統および除草剤グリホサート誘発性雄性不稔及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシMON87427系統に対するリアルタイムPCRを用いた新規定性検知法の開発, GMダイズスクリーニング法開発のための候補配列の検討を行った(消費者庁消費者政策調査費, 消費者庁食品表示課)。

#### 2. 食物アレルギー関係

医師および患者向けの食物アレルギー関連資料(加工食品のアレルゲン含有量早見表, 食物アレルギーひやり

はっと事例集)の改訂を行った。(消費者庁消費者政策調査費, 消費者庁食品表示企画課)。

### 3. 放射線管理業務及び関連分野に関する研究

平成27年度放射線業務従事者22名(他一時立入者登録16名), 取扱等業務従事者15名, 1MeV以下の電子線等取扱等業務従事者22名の登録があった。放射線管理業務として食品中ストロンチウム分析が実施可能な施設の構築維持及びプルトニウムの使用承認申請を行ったほか, 所内の放射線使用に関してコンプライアンスも含め全般に対応した。

食品等試験検査(食品中の放射性物質の摂取量等調査)のため, トータルダイエツトスタディ調査を食品部と行った(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)。

食品等試験検査(食品中の放射性物質等実態調査)のため, 基準値の検証及び緊急時における分析法の検討を食品部と行った(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監視安全課)。

### 4. その他

- 1) 国立保健医療科学院食品衛生危機管理コース(平成28年1月)で, 次世代遺伝子組換え技術ときのこによる食中毒について講義を行った。
- 2) 薬事・食品衛生審議会の放射性医薬品基準改正検討委員会, 内閣府食品安全委員会専門調査会, 内閣府消費者委員会食品表示部会に協力を行った。

## 研究業績

### 1. 免疫系細胞の機能に関する研究

- 1) 「医薬部外品及び化粧品配合成分の安全性確保のための規格等に関する研究」として, 医薬部外品・化粧品等に使用されるタンパク質性原材料について, 動物モデル実験系を用いて経皮感作性の検討を行った。また, 実験系標準化のための陽性対照物質に関する検討を行った(医療研究開発推進事業費補助金)。
- 2) 「抗原性物質への免疫応答に対するナノマテリアル経皮曝露の影響に関する評価手法の開発研究」として, マウスを用いるin vivo評価系を用いて, 酸化チタンナノマテリアルの共存により抗原タンパク質による経皮感作が促進されることを示した(厚生労働科学研究費補助金)。
- 3) 「抗原性物質への免疫応答に対するナノマテリアル経皮曝露の影響に関する評価手法の開発研究」として, バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理において重要なアレルギー性の評価手法の整備のため, アレルゲンデータベースの更新を行った。アレル

ゲンのアミノ酸配列情報251, 及びエピトープ情報17を追加した(厚生労働科学研究費補助金)。

- 4) 「食物アレルギーにおけるアレルゲン経皮感作のメカニズム解析及びマーカー分子の探索」として, 食物アレルゲンタンパク質による経皮感作について, 動物モデルを用い, 関与するサイトカイン等に関する検討を行った(科学研究費補助金(日本学術振興会))。

### 2. 代謝機能に及ぼす医薬品等の影響に関する生化学的研究

- 1) ナノマテリアルの生体影響評価に関してカーボンナノチューブによる炎症応答に着目し, インフラマソーム活性化におけるリソソームの関与を解析した(厚生労働科学研究費補助金)。
- 2) 代謝輸送の機能解明として, HDL産生トランスポーター ABCA1の肝型バリエーションについて, 転写制御解析を行うとともに(政策創業総合研究事業), 肝培養細胞ソースや培養基材の評価に応用した(厚生労働科学研究費補助金)。
- 3) ロドデノールおよび類似物質によるメラノサイト選択的毒性発現に関して文献情報を収集するとともに, 代表的な細胞の感受性を検討した(厚生労働科学研究費補助金)。

### 3. 遺伝子組換え食品の検査法・安全性に関する研究

- 1) 「新開発バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理と国民受容に関する研究」(厚生労働科学研究費補助金)で, 以下の研究を行った。(a)コメ加工食品に混入した未承認遺伝子組換えコメ由来の遺伝子コピー数の測定。(b)標的DNAのメチル化の頻度およびパターン解析による新規GM検知法確立。(c)CaNCED配列を標的としたヒヨコマメ内在性遺伝子検知法の開発。(d)遺伝子組換え混入検査対象の食品に含有する食品添加物のDNA検体精製効率に与える影響。
- 2) 「未承認GMの峻別を可能とするイネ種子エピゲノムの一粒子プロファイリング」として, イネカルスのストレス培養条件下における, 内在型と導入型イネ由来プロモーター, 及び, 植物ウィルスプロモーターのエピゲノム解析を実施した。(科学研究費補助金(日本学術振興会))。
- 3) 「次世代バイオテクノロジー技術応用食品等の安全性確保に関する研究」(厚生労働科学研究費補助金)で, ゲノム編集技術の標準化, オフターゲット解析, 遺伝子ノックインによる変化, 及び, 諸外国の開発状況と規制に関する対応状況について文献・各国の規制状況を調査した。また, 次世代シークエンス技術を用いた未知組換え体検出手法を開発した。

4) 「LAMP法を用いた遺伝子組換え食品の簡易検査法の開発」として、GM食品検査の簡便化を目的にDNA精製操作を必要としないLAMP法を用いたGM食品検査法の開発を行った（科学研究費補助金（日本学術振興会））。

#### 4. 健康食品の安全性・自然毒のリスクに関する研究

「我が国で優先すべき生物学的ハザードの特定と管理措置に関する研究」において、高等植物およびきのこ毒の中毒被害低減に役立てるための新規遺伝子検査法開発に関する研究を行った（厚生労働科学研究費補助金）。

#### 5. 食物中アレルギー物質に関する研究

1) 「各種食物アレルゲンの解析並びにアレルゲンを含む食品の検査法の応用及び改良等」として、醤油等の発酵食品中の小麦及び大豆タンパク質含有量に関する検討、各種食物アレルゲン（柑橘類・バラ科食物・サケ・イカスミ）に関する解析、及び、現行のアレルゲンを含む食品の検査法について確認検査法の改良に関する検討を行った。（消費者庁消費者政策調査費、消費者庁食品表示課）。

2) 「食品摂取により発症する新規アレルギー／アレルギー様反応等に関する調査研究」として、健康食品に利用されるイチヨウ葉、葉酸、キトサン・グルコサミン等によるアレルギー／アレルギー様反応について、引き続き症例等に関する情報収集を行った。また実際の健康食品の原材料として使用されているキトサン及びグルコサミン等について甲殻類タンパク質の混入に関する調査を行った。（食品健康影響評価技術研究委託費、内閣府食品安全委員会）。

#### 6. 放射線安全管理及び関連分野に関する研究

平成23年3月の福島原子力発電所事故に起因する食品中放射能基準値に対応した検査法の普及に努め、食品中の放射性物質の検査に係る信頼性の向上に資するため、放射能測定の不確かさ、偏り等に関する研究を行った。（厚生労働科学研究費補助金）。食品中の放射性物質トリチウムおよびポロニウム分析法を構築するために、食品試料の前処理法、化学分離法、液体シンチレーション計測法、 $\alpha$ 線スペクトロメトリーの検討を行い、流通食品を分析した。（科学研究費補助金（日本学術振興会））。

#### 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27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。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。

海外出張では、春日部長が、第15回アジア学術会議カンボジア会合国際シンポジウム（カンボジア・シェムリアップ）に参加し、食品安全と文化に関する講演ならびに情報収集を行った。青木主任研究員が、第15回国際ファーマコビジランス学会年次総会（チェコ共和国・プラハ市、平成27年10月27日～30日）に参加し、医薬品リスク管理システムに関する最新情報の収集、調査を行った。窪田室長が、2015年次国際食品保全学会学術集会IAFP2015（米国・ポートランド、平成27年7月25日～28日）に参加し、発表を行うとともに海外の食中毒関連情報の収集を行った。また新興感染症に関する国際集会ICEID2015（米国・アトランタ、平成27年8月24日～26日）に参加し、発表を行うとともに海外の食中毒関連情報の収集を行った。世界保健機関太平洋地域事務局（WHO PAHO）からテクニカルアドバイザーとして招聘され、国際食品安全行政ネットワークと国内食品安全システム（INFOSAN）会合（中国・香港、平成27年11月23日～26日）に会議に参加し、食品安全における情報提供および情報収集を行った。また世界保健機関実地疫学研究グループ（WHO FERG）の世界の食中毒による被害実態の把握シンポジウム（FERG Symposium: Global Burden of Foodborne Diseases、平成27年12月15日～16日）に参加し、海外の食中毒関連情報の収集を行った。登田主任研究員が、PacifiChem 2015（米国・ホノルル、平成27年12月15日～20日）に参加し、我が国のシガテラの傾向について発表した。また、第34回コーデックス魚類・水産製品部会（ノルウェー・オーレスン、平成27年10月19日～24日）に出席した。

#### 業務業績

##### 1. 医薬品の安全性情報に関する業務

WHO、米国FDA、EU EMA、英国MHRA、Health Canada、豪州TGA、ニュージーランドMEDSAFEなどの海外公的機関から発信される医薬品の安全性に関わる最新情報、規制情報、評価情報等を収集、評価し、「医薬品安全性情報」として隔週で行政、PMDAなどの関連部署に配信した。また研究所のwebサイトを通じて一

#### 安全情報部

部長事務取扱 奥 田 晴 宏  
前部長 春 日 文 子

般にも情報提供を行った。さらに国際的な医学雑誌から医薬品の副作用に関する論文を収集して検討し、行政などの関連部署に詳細な情報提供を行った。

## 2. 食品の安全性情報に関する業務

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DGSANCO およびEFSA, 米国FDA, USDA, CDC, 英国FSA, カナダCFIA等）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, 調査した情報を一般にも提供した。

## 3. 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44冊を購入した。この結果, 購入中の雑誌は137タイトル(和雑誌:25, 洋雑誌:112), 管理している単行本は14,103冊となった。文献の相互貸借事業に関しては, 外部から14件の依頼を受け, 外部へ322件を依頼した。

### 2) 図書情報検索サービス

電子ジャーナル及び有料Web情報検索ツール5件を前年に引き続き導入した。

### 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27年, 第133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公的機関の最新の勧告や規制情報等について, 根拠となった公表文献等を調査・検討し, 情報提供した(26号発行, 総ページ数497ページ)。国際的な医学雑誌からは, 抗精神病薬と突然死のリスク, 抗糖尿病薬と膀胱癌のリスク, 抗てんかん薬と妊娠転帰, 生物製剤治療と重症感染症, ホルモン補充療法と卵巣癌, ワーファリンとスルホニル尿素系糖尿病薬の併用による低血糖などに関する最新情報の提供を行った(一般試験研究費)。

### 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担当機関の最新情報, 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, 検討した(例:アイスクリーム喫食によるリステリアアウトブレイク, 冷凍ベリーの喫食によるA型肝炎アウトブレイク等)。食品添加物及び農薬・動物用医薬品データベース及び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。また「欧米で発生しているA型肝炎ウイルス(HAV)感染アウトブレイクに関する食品関連情報」のwebサイトを作成し, 適宜情報提供を行った(一般試験研究費)。

#### 2) 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

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県の臨床検査機関における積極的サーベイランスおよび全国を対象とした民間検査機関からのデータを電話住民調査データと組み合わせた被害実態推定を行った(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 3) 非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究

米国における非動物性食品に関する微生物基準の動向を把握するため, 米国で2011年1月に成立した食品安全近代化法(FSMA: Food Safety Modernization Act)を実施に移すために2015年11月に米国食品医薬品局(US FDA: US Food and Drug Administration)により最終規則化された「農産物の安全に関する最終規則」について, 関連各種資料の調査を行った。(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 4) 食品由来疾患の障害調整生存年(DALYs)に関する研究

障害調整生存年(disability-adjusted life years: DALYs)を食品安全行政の施策立案に応用し, 優先順位の設定や政策評価を実施する可能性について検討する研究班において, 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)への菌検出報告数から被害実態の推定を行った。2008~2014年にJANISに報告された菌検出数を用い, それにJANISデータの住民カバー率, 電話住民調査の結果から求めた下痢症患者の医療機関受診率および受診者の検便実施率等の因子を推定モデルに導入することで, モンテカルロシミュレーション法により食品由来下痢症患者数の推定を行なった。さ

らにその結果からDALYsの推定を検討した。(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 5) 食中毒関連情報調査

食中毒調査支援システム(NESFD)データベースへの食中毒事件調査結果詳細の新規データの入力および更新を行った。また隔週で発行している「食品安全情報」のデータベースへの入力を行った。食中毒関連のメディア情報を収集し、毎日関係者に配信するとともにNESFDデータベースへの入力を行った(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部監視安全課)。

#### 6) 諸外国における食品微生物の規格基準に関する調査

CODEXおよびEU、米国、カナダ、豪州、英国における規格基準の食品分類、規格基準の位置づけ(規制か自主規格か)等を整理し、可能なものは規格基準設定の背景等に関する情報の調査を行った。(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課)。

#### 7) 輸出国における食品の病原微生物等による汚染状況等調査

2015年に発信された食品および飼料に関する早期警告システム(RASFF)の通知および米国食品医薬品局(US FDA)、米国農務省食品安全検査局(USDA FSIS)、カナダ食品検査庁(CFIA)の回収情報の内容を検討することで、特にアジアおよびTPP関連諸国を原産国とする食品の微生物に関する情報を収集し、汚染実態を検討した(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課)。

#### 8) 震災に起因する食品中の放射性物質ならびに有害化学物質の実態に関する研究

震災によるリスクの変動は放射性物質や化学汚染物質より消費者の行動の影響の方が大きいことが示唆されたので、適切にリスク管理を可能にする情報提供のありかたについて引き続き検討した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 9) 食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究の分担研究

日本人の金属類の摂取量推定結果をもとにMOEを試算した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 10) 輸出国における農薬等の使用状況等調査

諸外国の残留農薬・動物用医薬品モニタリング計画を調査し、検査対象項目、検出・違反頻度の多い品目・生産国・農薬/動薬等をまとめ、我が国と比較した。また、我が国と諸外国で設定されたADI・ARfDの一覧を作成した(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部監視安全課)。

#### 11) 食品中の製造副生成物に関する調査研究

食品中の製造副生成物のリスクプロファイルシート作成と文献収集を行った(食品等試験検査費、医薬食

品局食品安全部基準審査課)。

#### 12) 食品摂取量の調査方法及び化学物質の暴露量推定方法の研究

国際機関及び諸外国の公的機関が実施している食事摂取量調査及びリスク評価に関する情報を調査し、暴露評価のための食事摂取量から原材料レベルの摂取量への換算・集計方法について検討した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 13) 国際食品規格策定プロセスを踏まえた食品衛生規制の国際化戦略に関する研究

コーデックス食品汚染物質部会での議論の経緯をまとめるとともに、食品中化学物質の国際規格との整合性について我が国の課題を整理した。また、行政担当者向けに国際戦略対応に関する研修を企画・開催し、より効果的な研修にするための課題を検討した。(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 14) 熱帯性魚類食中毒シガテラのリスク評価のための研究

シガテラ調査票を作成し、沖縄県での食中毒事例調査及び漁業組合や医療機関を対象にした症例調査を行った。また、シガテラに関する公的機関情報及び学術文献について調査した(食品安全委員会食品健康影響評価技術研究委託費)。

#### 15) 健康食品に関する安全性確保対策等に係る調査

海外でのいわゆる健康食品の安全性確保のための取り組みや制度について調査し報告した(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室)。

## 医 薬 安 全 科 学 部

部 長 齋 藤 嘉 朗

### 概 要

医薬品の安全性に対する国民の関心の高まりと共に、副作用の実態を明らかにし、その発症を予測・回避しようとするような知見を得ること、さらにその知見に基づいた安全な投薬法の開発や行政施策への反映は、今後ますます社会的な要請が大きくなっていくものと考えられる。当部では、医薬品の開発効率化及び適正使用推進に資することを目的に、医薬品の安全性に関する情報の解析及び評価、医薬品による副作用発現の予測及び防止その他の医薬品の安全性の確保に関する研究を行っている。具体的には、医療情報データベース等を用いる薬剤疫学研究やアジア地域における医薬品の有効性・安全性に関する民族差研究、医薬品の有効性・安全性バイオマーカーの

探索、検証及び評価に関する研究、副作用発症機構の解明や発症予測系の確立に関する研究を主として行っている。

重症薬疹に関するゲノムバイオマーカー探索研究では、新たに京都府立医科大学との共同研究として、重症眼障害を伴う重症薬疹発症に関連する被疑薬には風邪の治療を目的とした解熱鎮痛薬が多いことを発見するなど、共同研究の成果を挙げている。また平成22年度に収集を開始した間質性肺障害に関しても、特定の医薬品に関する予備的な結果ではあるが、関連する遺伝子型候補が明らかとなってきている。

また平成27年度より官民共同による重篤副作用バイオマーカー開発研究を開始した。薬物性肝障害、間質性肺炎、重症薬疹を対象に、その発症と関連するマイクロRNA、蛋白質、内在性代謝物の網羅的な探索及び早期検出性を含めた検証を行う研究であり、その成果は開発バイオマーカーを用いた副作用の早期診断による重症化回避へ利用できるものと期待される。

さらに当部は所内のネットワーク管理を担っているが、平成27年6月～7月にかけて、マルウェア感染によりホームページ及び電子メールが使用できない状態に陥った。より充実したセキュリティ対策を施す等の対応を行い再開したが、ご迷惑をおかけした関係機関の皆様へ深くお詫び申し上げたい。

人事面では、平成27年4月1日付けで主任研究官として瀬川勝智博士が採用された。

海外出張は以下の通りである。齋藤嘉朗部長、中村亮介室長は、重篤副作用に関する症例の集積・遺伝子解析に関する調査のため、厚生労働省医薬食品局安全対策課の井上大輔専門官とタイに出張した(平成27年9月)。齋藤嘉朗部長は、日中韓薬事規制当局会合へ出席のため、中国に出張した(平成27年11月)。佐井君江第一室長は医薬品辞書の国際規格策定に関する会議(ISO/TC215 W6)へ出席のため、スイスへ出張した(平成27年11月)。齋藤嘉朗部長、前川京子第二室長は、第16回薬物性肝障害会議へ出席のため米国に出張した(平成28年3月)。

## 業務成績

### 1. 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。

### 2. 医薬品使用実態調査・安全対策推進事業

研究用医療情報データを用いて、向精神薬と高脂血症薬等による血糖異常等の薬物相互作用の解析を行った。

また、添付文書改訂等の安全対策の種類に依存した医療現場での反映状況の評価手法を検討した。

### 3. 遺伝子多型探索調査事業

重篤副作用の症例集積ネットワークや研究方法の改善等を目的として、タイ・コンケン大学等における重症薬疹研究の研究体制、試料収集方法および解析手法の調査を行った。さらにタイ保健省を訪問し、医薬品安全対策へのゲノム情報の反映について調査した。また薬物性肝障害について、23症例(累計204症例)の集積を行うと共にゲノム解析を行った。中間的な解析であるが、発症に関連する遺伝子多型を2種見いだした。遺伝子マーカーの調査に関しては、抗結核薬や抗がん剤等の報告を追加した。

## 研究業績

### 1. 医薬品の国内安全性情報の解析及び評価に関する研究

a) 個別症例安全性報告の国際標準規格の円滑な国内導入に向けた課題の調査・整理等に関する研究(日本医療研究開発機構委託研究費・医薬品等規制調和・評価研究事業)

国際的な安全性情報交換に必要な国際標準医薬品辞書の国内実装に向け、海外における実装ガイド・関連規格、メンテナンス方式等を調査し、国内標準のあり方を検討した。

b) 医薬品等の市販後安全対策のための医療情報データベースの利活用方法に関する薬剤疫学研究(日本医療研究開発機構委託研究費・医薬品等規制調和・評価研究事業)

厚労省・PMDAが進めている医療情報データベース(MID-NET)を用いた薬剤疫学解析のための研究である。共同研究施設である浜松医大の医療情報データベースを用いて、専門医の助言に基づき、プレドニゾロンによる薬剤性高血糖を高感度に検出するアルゴリズムを構築した。

c) 東アジア地域での薬剤応答性における民族差に関する調査研究(日本医療研究開発機構委託研究費・医薬品等規制調和・評価研究事業)

東アジア地域における医薬品添付文書の記載の比較を、主として腫瘍用薬等に関して行い、有効性や有害事象頻度に国間差を示す事例を見いだした。また、CYP2A6、アドレナリン受容体等の薬物応答関連のゲノムバイオマーカー頻度の民族差に関し文献調査を実施した。

d) 薬物動態(薬物相互作用及びマイクロサンプリング)に関する研究(日本医療研究開発機構委託研究費・医



薬品等規制調和・評価研究事業)

ICH S3AにおけるQ&A (マイクロサンプリング) に関し、電話会議等を通じて、ワーキンググループとしての合意案を作成し、平成28年3月にStep 1を完了した。

e) 新機序糖尿病治療薬の副作用に関する薬剤疫学研究とその応用 (日本学術振興会・科研費)

副作用自発報告データベースを用い、薬効別に糖尿病治療薬による副作用を集計し、糖尿病治療薬ごとの副作用の相違について検討を行い、今後の医療情報データベースを用いた薬剤疫学研究の実施可能性について検討を行った。

## 2. 医薬品の安全性等に関するゲノム薬剤疫学・バイオマーカー研究

a) 市販後における重篤副作用 (間質性肺炎、横紋筋融解症、重症薬疹等) の発症要因解明と安全対策に関する研究 (日本医療研究開発機構委託研究費・医薬品等規制調和・評価研究事業)

重篤な副作用であり、医薬品の適正使用にとって大きな問題となっている横紋筋融解症、薬物性間質性肺疾患、重症薬疹の3種に関して、厚生労働省医薬食品局安全対策課、医薬品医療機器総合機構安全第二部、及び日本製薬団体連合会の協力の下、全国から副作用患者資試料 (ゲノムDNA及び臨床情報) の集積を行った。これまでに横紋筋融解症では累計180症例 (確定例166例)、薬物性間質性肺疾患では累計226症例 (確定例99例)、重症薬疹では累計296症例 (疑い例を含む確定例) に達した。重症薬疹に関し、海外の連携研究機関が同定した抗てんかん薬誘発性SJS/TENの発症との関連が疑われた遺伝子多型2種について解析を行い、日本人症例における再現性を調べた。また、スタチンによる横紋筋融解症等で関連する遺伝子多型を同定した。さらに上記3種の副作用及び薬物性肝障害に関し、自発報告データベースを用いて、その発症と感染症との関連性に関する検討を行い、うち2種で関連性を示唆する結果を得た。

b) 新規低分子安全性バイオマーカー探索における標準的評価法構築 (日本医療研究開発機構委託研究費・創薬基盤推進研究事業)

非臨床段階での安全性評価を目的としたバイオマーカー探索の標準的評価法を確立する目的で、薬物性肝障害や腎障害の発生を予測可能なバイオマーカーの探索を、薬物性肝障害・腎障害モデル動物等を用いて行った。これら毒性発現の血中代謝物バイオマーカー候補を見いだすとともに、見出されたバイオマーカー候補につき、背景因子の影響 (個体差・雌雄差)、表現型

や病理診断との相関性、既存バイオマーカーとの優位性等を検討し、検討のスキーム案を考案した。

c) 官民共同による重篤副作用バイオマーカー開発 (日本医療研究開発機構委託研究費・医薬品等規制調和・評価研究事業)

薬物性肝障害、間質性肺炎、重症薬疹に関し、発症患者等の血液・尿・臨床情報収集を開始すると共に、健常者試料の収集を行った。健常者試料に関しては、マイクロRNA及びプロテオーム解析を行った。さらにアセトアミノフェン投薬患者の資試料を収集すると共に、一部バイオマーカー解析を開始した。

d) 多層的オミックス解析による、がん、精神疾患、腎疾患を対象とした医療技術開発 (日本医療研究開発機構委託研究費・創薬基盤推進研究事業)

疾患試料のメタボローム解析のための試料採取プロトコル、試料保存プロトコルを作成すると共に、血液成分 (血漿など) からの抽出条件の検討を行い、効率かつ迅速な方法を確立した。また、分析条件の改良、測定・解析のためのマニュアルの作成を行った。

e) がんの個別化医療実現のための、分子標的薬に関するレギュラトリーサイエンス研究 (名古屋市立大学) (厚生労働省・革新的医薬品等実用化促進事業)

血液がんに対する分子標的薬を対象に解析し、個別化医療に関するレギュラトリーサイエンス研究を行う。ボルテゾミブ含有療法をうけた骨髄腫患者の治療前血清のメタボローム解析を継続し、すでに見出した治療効果及び神経障害発症と関連するバイオマーカー候補に関する検証研究を行った。ガイドライン案に関し、規制当局内部で意見交換等の調整を行うと共に、意見収集及び発出方法の検討を行った。

f) ゲノム薬理学の利用による安全・効率的な臨床試験を行うためのレギュラトリーサイエンス研究 (東北大学) (厚生労働省・革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業)

アカデミア発の革新的医薬品 (PAI-1阻害剤) の臨床試験を安全、効率的に行うためにゲノム薬理学を応用するレギュラトリーサイエンス研究である。今年度は、候補化合物の動態に関与する肝取り込みトランスポーター分子種を同定し、その分子の機能遺伝子多型調査を行った。オフターゲット効果の評価のため、リコンビナントHLA-Bタンパク質と抗てんかん薬との結合親和性の解析を行った。ガイドライン案に関し、規制当局内部で意見交換等の調整を行うと共に、意見収集及び発出方法の検討を行った。

g) 多層的疾患オミックス解析における、メタボローム情報に基づく創薬標的の網羅的探索を目指した研究 (一般試験研究費)

6カ所のナショナルセンター及び慶應義塾大学との共同研究として、死亡率が高い、または国民罹患率が高く経済的な損失をもたらしている主要11疾患を対象に、生体内代謝物質の総体であるメタボロームの解析を行い、新規の創薬標的・診断マーカー候補及び薬剤反応性マーカー候補となる代謝物・代謝経路の同定を行った。今年度は、主として腎がん、肺がん、大動脈瘤に関し、他のオミックス領域の情報も用いて、メタボローム測定結果を主とする知見をまとめた。また多層的オミックス統合データベースに関し、データの公開を進めた。

h) 抗がん剤の薬物応答予測法の開発と診断への応用 (一般試験研究費)

オキサリプラチンの有効性・副作用情報と遺伝子多型との関連を検討するため相関解析を継続した。イマチニブ投与検体に関しても、遺伝子多型とトラフ値との関連を解析した。

i) 機能遺伝子多型に係る人種差に関する研究 (日本医療研究開発機構委託研究費・医薬品等規制調和・評価研究事業)

国際共同治験推進のための日本と東南アジア諸国間差の検討のため、東南アジア諸民族を含む国際共同治験データを用いた薬力学的な民族差に関する二次調査の結果を集計し、考察を加えた。また、HLA-A\*02:06等の薬剤反応性関連遺伝子の機能多型頻度に関する文献調査を実施し、一部は民族差を示唆する結果を得た。

j) 重症薬疹のゲノムマーカー探索と病態学的関連性検証に基づく発症予測診断系の開発 (日本学術振興会・科研費)

近年、国内発症患者数の最も多いラモトリギンに関し、SJS/TEN患者のゲノムDNAを累計で25例収集すると共に、発症と高い関連性を示すゲノムマーカー候補を網羅的に探索した。また併用薬の影響を含めた薬剤疫学的解析を開始した。

### 3. 医薬品の副作用機序の解明と予測等に関する研究

a) 薬物代謝酵素CYP2C9遺伝子多型の構造-活性相関に関する研究 (一般試験研究費)

野生型及び変異型CYP2C9のX線結晶構造解析で得られたロサルタンに対する基質結合様式の違いをまとめた。変異型では内在性基質に対する活性も低下することを明らかにした。

b) 腫瘍組織におけるオーファンP450発現の病態生理学的意義の解明と創薬への応用に関する研究 (日本学術振興会・科研費)

オーファンP450の内在性基質を同定し、基質結合部位の構造学的特性を明らかにするため、カイコを

用いたオーファンP450組換え酵素の発現と精製を継続するとともに、ヒト乳がん組織におけるオーファンP450の発現量や代謝物レベルと臨床情報との相関解析を行った。

c) 医療情報データベースを用いた免疫関連バイオ医薬品と化学薬品間の相互作用評価 (日本学術振興会・科研費)

医療情報データベースを活用して、免疫関連バイオ医薬品と化学薬品との薬物相互作用の有無及びその程度を明らかとする薬剤疫学的評価手法を確立することを目的に、昨年度の抗IL-6受容体抗体に関する評価手法を応用し、抗TNF $\alpha$ 抗体等の免疫関連バイオ医薬品と高脂血症薬との薬物相互作用の有無を検討した。

d) EXiLE法と質量分析法とを用いたアレルゲンエピトープの網羅的解析技術の開発 (日本学術振興会・科研費)

ヒト化マスト細胞株RS-ATL8細胞及び抗卵白アルブミン (OVA) IgEモノクローナル抗体を用いて、OVAの合成エピトープペプチドをpMレベルで検出できる超高感度なアレルゲンエピトープ解析技術を確立した。

e) 新規培養細胞株を用いたインフュージョン反応惹起性の評価法開発 (日本医療研究開発機構委託研究費・創薬基盤推進研究事業)

牛肉等のアレルゲン上の糖鎖構造 ( $\alpha$ -Gal) に対するIgEが、フタトゲチマダニによる感作によって生じたことを強く示唆する結果を得た。また、前年度までに確立した手法により  $\alpha$ -Gal特異的IgEの架橋能を調べたところ、 $\alpha$ -Galを介するIgEの架橋活性は非常に弱いことが分かった。さらに、樹状細胞様細胞株を用いてモデルタンパク質による分化抗原の発現上昇を調べる評価系の条件検討を行った。

f) メタボロミクス解析を用いた薬剤性間質性肺炎の発症メカニズムの解明 (日本学術振興会・科研費)

間質細胞の培養株を用いて実験を行うため、最適な細胞数の検討を行った。また、培養細胞株に対して薬剤性間質性肺炎を引き起こす医薬品6種を暴露し、メタボロミクス解析を行い、リン脂質等は大きな影響を受けないことを明らかにした。

g) 分子軌道法を用いた副作用機序の解析 (一般試験研究費)

フラグメント分子軌道法および非経験的分子軌道法を用いて、医薬品と副作用関連分子との相互作用を予想する方法の精緻化について検討した。

h) 官能基非依存性固定化ビーズを用いた重症薬疹の初期発症メカニズムの解明 (日本学術振興会・科研費)

重症眼粘膜障害を併発するアセトアミノフェン誘発

性スティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性壊死症の発症と関連するヒト白血球抗原についてアセトアミノフェンとの分子相互作用を検討した。

- i) 薬物性筋障害発症の初期分子機構に関する研究（日本学術振興会・科研費）

筋障害原因薬のHLA分子への結合評価のため、関連する白血球抗原型の発現系構築を開始した。

#### 4. システム開発と分析法の解析・評価手法に関する情報工学的研究

- a) 分野4次世代ものづくり（文部科学省・HPCI戦略プログラム）

フラグメント分子軌道法に基づいたバイオ分子相互作用シミュレーターの開発を行った。

- b) ラジカル消失過程の解明（一般試験研究費）

p-メチルチオベンゾイルオキシラジカルの分子構造を決定し、脱炭酸の活性化障壁を求め、消失過程の要因について検討した。

#### 5. 全所的な研究情報ネットワークの開発に関する研究

- a) 所内基盤ネットワークシステムの維持管理

研究情報ネットワークシステムを更新するなど、国立医薬品食品衛生研究所ネットワークシステム（NIHS-NET）の維持管理を引き続き行うと共に、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。また、国立衛研ホームページにおける試験研究業務の成果発信に関するホームページ改定作業を継続して行った。

### 安全性生物試験研究センター

センター長 西川秋佳

#### 試験・研究業務

安全センターの試験・研究業務は、1) 医薬品・医療機器（麻薬・劇毒物等ならびにワクチン等を含む）、2) 食品・食品添加物、3) 農薬・残留農薬および4) 新規ならびに既存の化学物質（生活化学物質を含む）に関連する殆どの環境中化学物質の安全性評価（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する諸処の業務によって構成されている。

医薬品・医療機器関連については、平成16年4月に発足した医薬品医療機器総合機構（PMDA）の審査担当各部門の事前審査等に、安全センターは過去11年にわたって内部審査の形で協力してきた。GLPについては、平成26年11月25日の薬事法改正に伴う医薬品・医療機器等法

の施行と期を一にして、安全センター内に設置されていたGLP評価委員会がPMDAのGLP専門協議として生まれ変わった。PMDAにおいて、医薬品GLPと医療機器GLPのそれぞれで適合性調査が進んでおり、医薬品GLPで調査成績が向上していることと相俟って、医療機器GLPについても漸次普及が進んできた。さらに、再生医療等製品についても、平成26年11月以降に調査申請された試験実施施設に対する適合性調査が開始されている。

食品・食品添加物の安全性評価については、本年度の検討会において、既存添加物（ブドウ種子抽出物、ラック色素）および指定添加物（L-リジンL-グルタミン酸塩、リボフラビン酪酸エステル、5-ウリジル酸二ナトリウム、クエン酸第一鉄ナトリウム）の評価を終了した。消除品目をのぞく品目については、引き続き報告書の作成が進んでいる。

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、平成15年7月に内閣府に設置された食品安全委員会の所掌に移行したが、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。センター長は農薬専門調査会の幹事会座長を務めている。その他、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、引き続き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が順調に進行しており、分解性・蓄積性、遺伝毒性および生態毒性にかかる(Q)SARのデータの試行的提示を継続している。ナノマテリアルの安全性評価については、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引き続いて進行中である。平成26年度より、シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会にも主体的に参画している。

調査業務としては、種々の国際評価機関、委員会および活動（OECD, WHO, ICH, JECFA, JMPR, IPCS, ICCR, いわゆるVAM組織等）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に係る業務が行われている。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、平成22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、協力している。

#### 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、種々の環境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、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、これに伴って日々新たな進展が展開している。

### 人事と研究交流等の行事

平成28年5月末現在の当センターの構成は5部、19室となっており、センター長1、部長5、室長19、主任研究官14、研究員5（再任用を含む）、客員研究員17名を合わせると61名である。加えて、協力・流動研究員9、研究生・実習生17および技術・事務補助員40名の他、10名の短時間勤務職員等が在籍しており、総勢137名である。安全センターは、平成15年度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、平成18年中端以降は16室体制となっていたが、平成25年度において変異遺伝部の1室減が回復した。また、平成27年4月より、総合評価研究室が安全性予測評価部となり、3室体制となった。しかし、毒性部動物管理室の省令室化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。なお、平成25年度より、新規試験法に係わるJaCVAMの体制を強化するため、安全センターが主体的に運営委員会に参画している。

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り、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、センター長は韓国・済州島での韓国実験動物代替法センター（KoCVAM）の開催する会議に参加し、また同時開催の第7回アジア毒性学会国際会議で座長を務めた（6/22～26）。日米EU医薬品規制調和国際会議（ICH）がフロリダ・ジャクソンヴィルで開催され、この会議に厚生労働省代表として出席し、意見交換、情報収集に努めた（12/6～12）。またフランス・パリで開催された経済協力開発機構（OECD）の第1回非遺伝毒性発がん物質専門家会合に出席し、試験・評価法の統合戦略について協議した（3/29～4/2）。

## 毒 性 部

部 長 平 林 容 子  
前部長 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、再生医療等製品又は衛生材料、毒物、劇物又は化学物質、食品や食品添加物、異物、器具、容器包装、食品汚染物質、食中毒検体、農薬、殺鼠剤、殺虫剤、室内空気又は上水に含まれる有害物質、家庭用品、などの毒性学的試験に加え、業務関連物質の後世代に及ぼす影響に関する試験や、機器による実験動物の臨床検査、並びに、実験動物の検疫、飼育管理及び育種改良、更に先端生命科学技術を取り入れた分子毒性学的試験、及び、これらに必要な各種の研究等、多岐にわたる。

特に化学物質リスク評価の基盤整備として、これまでのトキシコゲノミクス研究の成果を受け継ぎ拡充しつつ、平成27年度は「化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究－新型反復暴露実験と単回暴露実験の網羅的定量的遺伝子発現情報の対比による毒性予測の精緻化と実用版毒性予測評価システムの構築－」（厚生労働科学研究費補助金）を開始し、毒性分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの構築と、その迅速化、高精度化を進めている。また、化学物質及び食品などによる健康リスク評価として、ナノマテリアルなど新規化学物質に対する毒性試験法の開発、食品添加物の毒性試験や安全性評価に係る資料整備、毒・劇物指定調査のための毒性試験、化学物質審査規制法（化審法）に係る化学物質の安全性評価、農薬の各種毒性試験に関する文献収集等を行った。更に、受容体原性毒性など、恒常性維持に関わる高次機能の障害性に関する研究や、生殖発生毒性に関する基盤的研究の他、レギュラトリーサイエンスの一環として、医薬品規制に係る国際調和の推進を踏まえた医薬品等の安全性に関する研究、などを行っている。

受賞関連では、北嶋聡第五室長が第一回日化協LRI賞：日本毒性学会（日本化学工業協会）を受賞し、LRI第3期研究報告会において「化学物質の有害性評価の迅速化、定量化、高精度化に関する研究」と題する記念講演を行った。

人事面では、大久保佑亮主任研究官が日本学術振興会海外特別研究員に採用され、平成28年2月1日付けにてカリフォルニア大学パークレー校に客員研究員として派遣された。また、平成28年3月31日付けでの退職者は、菅野純部長、大竹史明主任研究官、及び非常勤職員の前田裕美子氏、片桐利恵氏、北條美伸氏であり、同日付けにて、漆谷徹郎客員研究員（同志社女子大学薬学部教授）及び水川裕美子協力研究員（同志社女子大学薬学部医療薬学科助教）が共同研究の終了により退所した。菅野純部長は在職期間における功勞に対して、名誉所員の称号が授

与された。また平成28年4月1日付けで安全性予測評価部の客員研究員となった。後任には平林容子第二室長が昇進し、第二室長を併任することになった。同日付けで大竹史明氏は当部の協力研究員となった。客員研究員として堀井郁夫氏（昭和大学薬学部客員教授）、種村健太郎氏（東北大学大学院農学系研究科教授）、協力研究員として壺井功氏（日本大学医学部准教授）を昨年度に引き続き受け入れた。

業務関連での海外出張では、菅野純毒性部長が、ナノマテリアル暴露による免疫毒性にかかるリスク評価のためのWHO/IPCS環境保健クライテリア文書に関する会議（オランダ・ビルトホーフエン）及び第2回工業用ナノ粒子及びナノテクノロジーの安全性にかかる国際会議/ナノソリューションズ国際諮問会議（フィンランド・ヘルシンキ）（4月7日～18日）への招聘、OECD分子スクリーニングとトキシコゲノミクスの拡大アドバイザーグループ会合（6月16日～19日、フランス・パリ）への出席、第7回アジア毒性学会学術集会（ASIATOX-VII）における特別講演、第51回欧州毒性会議（EUROTOX 2015）における発表（9月12日～18日）、OECD吸入試験ガイドライン改定専門家会議への出席及び講演（9月20日～24日、米国・ワシントン）、内分泌かく乱化学物質の試験及び評価に関するアドバイザーグループ会合へ Bureau（ビューロー）として出席（10月7日～10日、フランス・パリ）、第7回ナノテクノロジーの労働および環境健康影響に関する国際会議（NanOE7）における特別講演（10月18日～22日、南アフリカ・リンポポ州）、第2回マレーシア毒性会議（MyCOT 2015）において基調講演を行った。また、第55回米国毒性学会（3月11日～18日、米国・ニューオーリンズ）において研究成果の発表を行い、同時開催の国際毒性学連盟運営委員会へ出席した。

平林容子第二室長は、第13回国際幹細胞研究会議（6月24日～27日、スウェーデン・ストックホルム）、放射線影響研究所と米国立アレルギー感染症研究所との日米共同プロジェクトの合同研究会議（9月18日～20日、米国・ベセスダ）及び第55回米国毒性学会（3月13日～18日、米国・ニューオーリンズ）への出席と発表を行った。

高橋祐次第三室長は、第7回アジア毒性学会学術集会（ASIATOX-VII）での国際シンポジウム（6月23日～26日、韓国・チェジュ）において招聘講演、第7回ナノテクノロジーの労働および環境健康影響に関する国際会議（NanOE7）（10月18日～22日、南アフリカ・リンポポ州）出席と発表を行った。

北嶋聡第五室長は、第7回アジア毒性学会学術集会（ASIATOX-VII）での国際シンポジウム（6月23日～26日、韓国・チェジュ）において招聘講演を行った。

山本雅也主任研究官は、第29回OECD GLP作業部会（4月16日～17日、フランス・パリ）への出席と報告を行った。

小野竜一主任研究官は、FASEB "Mobile DNA in Mammalian Genomes"（6月14～19日、米国・パームビーチ）への出席と発表を行った。

## 試験業務

### 1. 既存化学物質の毒性試験

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研究の成果を受け継ぎ拡充しつつ、毒性分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの構築と、その迅速化、高精度化を進めることを目的として、平成27年度より「化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究－新型反復暴露実験と単回暴露実験の網羅的定量的遺伝子発現情報の対比による毒性予測の精緻化と実用版毒性予測評価システムの構築－」（厚生労働科学研究費補助金）を開始し、当部で開発した新型反復暴露実験をアセトアミノフェン及びフェノバルビタールナトリウム塩について実施し、反復暴露毒性の分子毒性機序の解明と、その応用による毒性予測評価システムの拡充を進めている。併せて本研究と12年間の先行研究の成果を基に、既存化学物質の毒性評価・予測の試行を行った。また、「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を考慮した不定愁訴の分子実態の把握と情動認知行動影響を包含する新評価体系の確立－」（厚生労働科学研究費補助金）を開始した。実験動物による吸入毒性試験において病理組織学的な病変を誘発する暴露濃度は、ヒトのシックハウス症候群（SHS）の指針濃度をはるかに超える濃度であることから、そこから得た毒性情報をヒトへ外挿することの困難さが指摘されてきた。これに対し、先行研究では「厚生労働省シックハウス問題に関する検討会」が掲げる物質をその指針値レベルでマウスに反復吸入暴露（7日間）し、病理組織所見が得られない段階での遺伝子発現変動をPercellomeトキシコゲノミクス法により測定し、肺、肝において化学物質固有及び共通のプロファイルを網羅的に捕えた。加えて、海馬に対し化学構造の異なる3物質が共通して神経活動抑制を示唆する遺伝子発現変化を誘発したことから、これがヒトのSHSにおける「不定愁訴」の原因解明の手がかりとなる可能性が示された。そこで本研究では、反復暴露の結果の検証とその判定根拠の一般化を目指し、SHSレベルでの単回暴露実験を実施し、①同一個体の海馬、肺、肝の遺伝子発現変動を解析し神経活動抑制の上流に位置する分子機序と肺・肝の関与の解明、②情動認知行動解析と海馬における神経科学的物証の収集による中枢に対

する有害性の実証データと、遺伝子発現変動データの突合による、遺伝子発現情報からの中枢影響に関する予見性の確認、を目的として検討している。この際、脳が高感受性期にある子どもの特性に配慮した幼児期暴露-遅発性影響も検討する。平成27年度はホルムアルデヒド(指針値:0.08 ppm)及びアセトアルデヒド(指針値:0.03 ppm)について、SHSレベル下での2時間単回吸入暴露を成熟期マウスに実施し、経時的にサンプリングしたマウス脳・肺・肝について遺伝子発現変動解析を網羅的に解析した結果、昨年度実施のキシレン及びパラジクロロベンゼン同様に、両物質に共通して海馬において、神経活動の指標となるImmediate early gene (IEG)の発現の抑制(ホルムアルデヒドでは抑制傾向)が、暴露2時間直後の時点で指針値レベルの濃度から先行研究での反復暴露(7日間)での場合と同程度に観測され、海馬神経活動の抑制を示唆する所見が再確認された。この抑制は、その2時間後には回復していた。したがって、化学構造の異なる4物質に共通して、少なくとも暴露2時間以内にIEGを抑制する共通因子が海馬に影響を与える事が示唆された。このIEGの抑制機序として、先行研究において、肺或いは肝からの二次的シグナルとして特定のサイトカインが海馬に働く可能性が高いことを報告しており、今後、検証を進める。また、SHSレベルでのホルムアルデヒドの22時間/日×7日間反復暴露を成熟期のマウスに実施し、情動認知行動を3種類の試験により解析した結果、暴露3日後でも回復しない学習記憶異常が誘発されることが示された。これらの遺伝子発現低下と情動認知行動の逸脱(異常)の発生が関連していることから、海馬に対する有害性を分子レベルで実証し、海馬での遺伝子発現変動データは上記情動認知行動の逸脱を予見することを確認し得たものと考えられる。

## 2. 食品及び食品添加物の毒性試験

食品添加物に関して、5品目(硫酸アンモニウム、硫酸マグネシウム、アセトアルデヒド ジエチル アセター、1,3,5-ウンデカトリエン、ジメチルスルフィド)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。(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

グリコール酸の毒性情報の調査、ミスト及びガス状物質の急性吸入毒性試験に対応するため基盤整備を実施した。(化学物質安全対策室)。

## 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に「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。

さらに、内分泌かく乱化学物質に関する研究については、各国において政策遂行上の観点から検討作業が進められており、その中でBPAの健康や環境への影響をいかに評価していくかが、重点的に検討されている。内分泌かく乱化学物質検討会拡張試験スキームに則り、スクリーニング試験として子宮肥大試験、ハーシュバーガー試験を先に実施した*in vitro*および*in silico*スクリーニング情報をもとに選択した化学物質約100物質について、実施して来ており、ホルモン活性陽性の物質のリストを毎年更新している。また、厚生労働科学研究費補助金等による研究の成果として、実験動物における周産期暴露による遅発影響の同定が進んでいる。

### 2) 化学物質の安全性評価

化学物質審査規制法(化審法)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、または生産量が多いにもかかわらず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、反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験及び簡易生殖試験の結果における毒性の有無と無毒性量をもとに、優先評価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。また、新規化学物質の審査資料とする試験成績及び有害性の調査のための試験成績の信頼性を確認するため、試験実施施設の化学物質GLP査察、及びスイスGLP当局に対するOECDによるGLP適合査察プログラム現地評価

を行った。

### 3) 食品添加物の安全性評価に関する調査研究

食品添加物のうち指定された時期の古いもの等については、再度安全性の確認をする必要があることから、これまで反復投与毒性試験、遺伝毒性試験が順次実施されている。これらの試験成績と文献情報等を活用し、3品目（5'-ウリジル酸二ナトリウム、クエン酸第一鉄ナトリウム、L-リシンL-グルタミン）について安全性評価に係る資料整備を行った。

### 4) 農薬の各種毒性試験に関する文献収集事業

4品目の農薬（1, 2-ジブromo-3-クロロプロパン、フェノプロップ、ペンタクロロフェノール、1, 2-ジブromoエタン）について、国際機関及び諸外国の評価書及び当該評価書の参照文献の入手、評価書発行以降の新たな知見の収集を実施した。

## 研究業務

### 1. 毒性試験法の開発に関する実験的研究

#### 1) 化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究

日本におけるポストゲノム毒性学のセンター的役割を担うべく、基礎的研究から応用研究開発まで幅広い活動を行っている。既に内分泌シグナルや発生・分化、発がん、肝毒性、肺の低濃度暴露影響時、中枢神経系等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。

毒性分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの構築を目標に実施した12年間の先行研究に引き続き、平成27年度から、「化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究－新型反復暴露実験と単回暴露実験の網羅的定量的遺伝子発現情報の対比による毒性予測の精緻化と実用版毒性予測評価システムの構築－」（厚生労働科学研究費補助金）を開始した。これは、先行研究に於いて構築した、①約140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、反復（慢性）暴露データベース、多種臓器間の関連性を検討するトキシコゲノミクスデータベース等と、②これらデータベース群の大量データから毒性ネットワークに関わる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技術を拡張し、単回暴露だけでなく、反復暴露の安全性評価にも対応できる毒性機序に基づいた網羅的毒性予測評価システムの実用化に向けた研究を行うものである。特に反復毒性に於ける過渡反応（毎回の投与の度の変化）と基線反応（回を重ねるに連れて発現値の基線が徐々に移動する変化）を分解し、反復毒性成立

機序の解析を可能とする新型の反復暴露実験を考案し、先行研究での解析に引き続き、平成27年度はアセトアミノフェン、及びフェノバルビタールナトリウム塩による反復毒性機序の解析を行って、化学物質固有の所見と共に、単回暴露時の過渡反応成分（暴露の都度の変化を示す成分）と反復暴露時の基線反応成分（回を重ねるに連れて発現値の基線を徐々に移動させる成分）の基本的な関連性を見いだした。また、化学物質の反復暴露による基線反応成立へのエピジェネティクス機構について、次世代シーケンサーによる網羅的なDNAメチル化解析を用いて取り組む研究、及び化学物質の反復暴露におけるノンコーディングRNAの発現変動解析を行う研究を開始し、測定プロトコルの最適化と標準データの取得を実施した。毒性インフォマティクス研究としては、一般データの絶対量推定ソフトウェアなどの改良を継続したほか、Perccellomeデータベースのオンライン一般公開を維持しつつ、ユーザーの利便性向上のためにミラーサイトの開設準備を進めた。これらのサイトを介して、ライフサイエンス研究用ソフトウェアの国際共通プラットフォーム Garuda Platform (<http://www.garuda-alliance.org/>) に対応した開発研究を実施した。

#### 2) タール色素等毒性試験法のための研究

毒性プロファイルを精査する為の遺伝子発現変動解析を実施し、もって健康被害の未然防止の観点から「タール色素」の安全性確保を図ることを目的として、平成27年度は「赤色501号」（スカーレットレッドNF、あるいはスタンIV）について、マウスに単回経口投与した際の肝における遺伝子発現変動を網羅的に解析した結果、特定の核内受容体を強く活性化する事が示唆された。（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

「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－全身暴露吸入による毒性評価研究－」では、MWCNTの原末（U-CNT）と、Taquann法により凝集体・凝固体を除去し高分散状態とした検体（T-CNT）をマウスに全身暴露吸入し、肺に沈着した繊維の量と長さを経時的に測定し比較した。質量濃度が約2mg/m<sup>3</sup>の同等の条件で暴露を行ったがMWCNTの肺負荷量の平均値は、T-CNT群ではDay0、Day7及び13Wにおいてそれぞれ、8.2 μg/動物、4.4 μg/動物、1.4 μg/動物であるのに対し、U-CNT群では4.3 μg/動物、1.6 μg/動物、1.2 μg/動物と、肺に到達する量がU-CNT吸入では半減していた。これに呼応し、鼻腔粘膜に実体顕微鏡で観察可能な黒色の凝集体・凝固体の沈着がU-CNT吸入マウスに多く観察された。肺内の繊維長の平均はU-CNT、T-CNT共に約7 μm、

最大約40  $\mu\text{m}$ で差はなかった。肺負荷量が半減した原因の一つとして、U-CNTでは鼻腔内に多く補足された可能性が考えられた。(厚生労働科学研究費補助金)。

「ナノマテリアル曝露による生体毒性の慢性移行及び遅発性に関わる評価手法の開発研究」では、マウス及びラットの全身暴露吸入を実施するため、MWCNTをモデル物質として独自開発したTaquann直噴全身吸入装置を、サイズ、形状、組成が多彩で、異なった物理化学的特性を有する未検討の各種ナノマテリアル検体へ適用する際の具体的な微調整法を確立し、吸入毒性が評価可能であることを示すことを目的として実験を行った。H27年度は、チタン酸カリウムを対象とし、①Taquann法によるチタン酸カリウムのための①分散条件の調整、②エアロゾル化の際の機器パラメータ決定、及び、③肺沈着量測定のためのチタン酸カリウムの肺組織からの回収の方法の最適化を実施した。

チタン酸カリウムの繊維長及び繊維径の平均値は、それぞれ $4.5 \pm 3.9 \mu\text{m}$  (最大長 $27.9 \mu\text{m}$ )、 $283 \pm 171 \text{nm}$ 、(最大径 $1.743 \text{nm}$ )、単位重量当たりの繊維数は、 $1.2 \times 10^6 \text{本}/\mu\text{g}$ であった。①については、チタン酸カリウムはTaquann法処理とTaquann直噴全身吸入装置Ver2.5により高度に分散したエアロゾル化が、MWCNTで設定した方法を全く変更することなく実現され、エアロゾルの繊維長の平均値、最大値は原末と同様の値であった。②については、エアロゾルの分散状態は現状のパラメータのままで問題なく達成されたが、直噴操作の間隔をMWCNTと同じに設定した場合、エアロゾルの濃度変動はMWCNTに比較して大きく、安定性が劣っていた。この原因として、チタン酸カリウムはMWCNTに比較して太く短い形状で比重が大きいことから沈降速度が高いことが原因と考えられた。対処法として、より短間隔で直噴操作を行うことで解決することとした。③については、上記②の条件でマウスに2時間全身暴露吸入し、肺病理組織標本を観察し、チタン酸カリウムをMWCNTと同様に、肺胞レベルまで到達すること、よって、吸入毒性を正しく評価できる条件が設定出来たことを確認した。同時に、肺沈着量の測定方法も確立した。(厚生労働科学研究費補助金)

#### 4) 受精卵培養液中のフタル酸類の受精卵及び出生児に対する影響評価研究

ヒト体外受精で用いられる培養液中から、正常妊娠の妊婦の血清中平均濃度の10倍以上のフタル酸類(DEHP及びMEHP)が検出されたため、受精卵及び出生児に及ぼす影響の評価に資する科学的情報を、マウスを用いた各種の実験により取得すると共に、それ

らの方法を基に初期胚の化学物質曝露に対する短期間且つ高感受性の安全性評価手法を開発するための研究を行った。DEHPについては、実際の不妊治療で採用されている流動パラフィン重層培養法において、培養開始時の添加濃度(0  $\mu\text{M}$ 、0.2  $\mu\text{M}$ 、2.0  $\mu\text{M}$ )に依らず培養終了時(3日後)には培養液中DEHP濃度が0.014 ~ 0.025  $\mu\text{M}$ に低下することが判明した。また培養液中のMEHP濃度は培養終了まで安定していることが確認されたため、MEHPについては暴露実験を実施した。MEHP(0  $\mu\text{M}$ 、0.5  $\mu\text{M}$ 、5.0  $\mu\text{M}$ )に暴露した胚盤胞を採取して網羅的遺伝子発現解析を実施した結果、変動量が極めて小さいものの、MEHP暴露により統計的に有意な変動を示す発生関連遺伝子を複数抽出した。さらにMEHP暴露下、受精卵を胚盤胞まで培養し、これを母胎に移植して産仔マウスを得て12 ~ 13週齢時に情動認知行動解析を実施した。その結果、条件付け学習記憶試験による音-連想記憶能の低下が示唆された。

## 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) シグナル毒性として考察可能な有害作用の検出系の確立に関する研究

(1) 毒性発現メカニズムに支えられた新たな中枢神経系を主対象とした神経行動毒性評価系を確立する目的で、「発生-発達期における低用量の化学物質曝露による成熟後の神経行動毒性の誘発メカニズム解明と、その毒性学的評価系構築に資する研究」(厚生労働科学研究費補助金)を開始した。本研究では、情動認知行動異常を呈するエストロゲン受容体遺伝子改変マウス2種(国立医薬品食品衛生研究所毒性部にて独自に作出した)を、特有の異常を恒常的に示す「標準マウス」として用いるが、この異常行動誘発メカニズムの解明を目的として、脳における網羅的遺伝子発現変動解析を行った。エストロゲン受容体(ER)  $\alpha$  遺伝子座に、ER  $\alpha$  cDNAと牛成長ホルモン由来の3'-UTRをつなげたものを、相同組換えにより遺伝子導入し、独自に作製したER  $\alpha$  受容体遺伝子置換マウス(このホモ型をER  $\alpha$  KIと記載)を使用し、脳3部位(大脳皮質、海馬、脳幹)について網羅的に遺伝子発現変動を解析し、野生型あるいはER  $\alpha$  欠失マウスのもものと比較・検討した。先行研究における情動認知行動解析結果から、ER  $\alpha$  KIマウスおよびER  $\alpha$  欠失マウスは、音-連想記憶及び空間-連想記憶に障害が認められることが確認されている。その結果、ER  $\alpha$  欠失マウスとER  $\alpha$  KIマウスにおける情動認知行動異常の差(情動障害)は、大脳皮質におけるRARシグナル伝達の低下、あ



るいは大脳皮質および脳幹における概日リズムが乱れることが関係していることが示唆された。

- (2) アリルヒドロカーボン受容体 (AhR) 等の受容体調節機構の一つであるユビキチン系について、基盤となる分子作用機構の解析を行った。ユビキチン分子自身がアセチル化修飾によって制御されることを見出した。さらにアセチル化ユビキチンの細胞内基質としてヒストンH2Bを同定した。機能解析を進めた結果、アセチル化ユビキチンが基質のモノユビキチン化を安定化することが示唆された。(科学研究費助成事業新学術領域研究(研究領域提案型))アリルヒドロカーボン受容体 (AhR) の分子機能を解析するため、脂溶性リガンドを用い、遺伝子発現解析及び蛋白質機能解析を実施した。また、これら受容体調節機構の一つであるユビキチン系について、基盤となる分子作用機構の解析を行った。ユビキチン分子自身がアセチル化修飾によって制御されることを見出した。モデル基質を用いた解析から、ポリユビキチン化及び蛋白分解とアセチル化との関連を示した。また、試験管内反応での詳細な分子機構解析を進めた結果、アセチル化がE2酵素との相互作用に影響することを見出した。(科学研究費助成事業新学術領域研究(研究領域提案型))
- (3) ゲノム編集による二重鎖DNA切断を修復する際にレトロトランスポゾンなどの挿入が起こることを明らかにし、そのメカニズム解析を行っている。(科学研究費助成事業基盤研究(C))
- (4) 父性発現インプリンティング遺伝子Peg10が自然免疫を抑制するメカニズム解析を行っている。(新学術領域研究(研究領域提案型))

### 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) Shh シグナルの制御因子Rab23を原因遺伝子とし、外脳症、多肢症、脊椎骨の異常を示すOpen brain 1 (opb1) 変異体マウスを用いて、脊椎骨の形成過程を解析した。opb1ホモ胚の軟骨骨格標本において、脊椎骨の椎体間に余分な軟骨塊の形成を伴う椎間板の形成異常が観察された。また神経弓には異常な分離・結合パターンがみられた。軟骨及び椎間板マーカー遺伝子、Shh シグナル標的遺伝子の発現パターンの観察から、正常胚の脊椎骨形成過程では予定椎間板領域でShh シグナルが活性化していることを明らかにした。opb1ホモ胚の椎間板/椎体の分化異常は、Shh シグナル活性化領域および椎間板原基の異常な形状に起因すると考えられた。Uncx-LacZトランスジェニックマウスを利用して、神経弓の形成には硬節の再分節化が関与していること、opb1ホモ胚における異常な

分離結合は再分節化の異常であることが示された。

- (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いること、またそれに対する抑制的なシグナルとしてT (Brachyury)、Mesogeninといった遺伝子が作用していることを明らかにした。この機構の概略は、魚類からほ乳類まで共通していた。この解析も含め今後の遺伝子組み換え動物作製に役立てるため、新しい遺伝子ターゲティング手法であるCRISPR法の導入を行った。ES細胞、マウス受精卵において簡便かつ非常に高率な遺伝子ターゲティングが行えることを確認した。血管形成因子Etv2の上流配列にTbx6結合配列が存在し、これを破壊することでEtv2の発現が低下することを培養細胞系のレポーターアッセイで確認した。
- (3) 双方向のNotch-Deltaシグナルによる組織発生制御機構の解明(科学研究費補助金(日本学術振興会)若手B)

Notch-Deltaシグナル伝達に関して、これまでとは逆方向のNotchをリガンドとしたDelta受容体のシグナル伝達の生理作用を体節形成において解析した。これまでの解析において未分節中胚葉でDeltaシグナルを過剰発現させると脊椎骨形成が異常となることが明らかになっていた。この原因を明らかにするために体節形成を制御するMesp2タンパク質およびNotchシグナル活性を調べたところ、これらには異常がみられず分節化も正常に行われていることが明らかになった。この結果からDeltaシグナルは体節形成において分節化ではなく、その後の脊椎骨形成に関わることが示唆された。

- (4) 組織機能回復の革新を目指した細胞パーティ編成技術の開発((公財)武田科学振興財団)

Notch-Deltaシグナル伝達に関して、これまでとは逆方向のNotchをリガンドとしたDelta受容体のシグナル伝達の生理作用を後根神経節神経発生において解析した。後根神経節由来の神経堤幹細胞を用いた分化用同実験を行い、Deltaシグナルは初代培養系においても神経への分化を促進することが明らかになった。

- (5) 遺伝子改変マウスを用いたネフローゼ症候群の病因解明(科学研究費補助金(日本学術振興会)基盤研究B)

東邦大学・関根孝司教授ほかとの共同研究として、変異型ミオシンを腎臓特異的に発現するトランスジェニックマウスを作出し、変異型ミオシン発現依存的にタンパク尿を呈するネフローゼモデルマウスとして利用できることを確認した。腎機能異常の分子機序解明を目指す基礎研究のほか、化学物質への高感受性モデルとしての利用も視野に研究を進める。

#### 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) 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造血幹細胞動態制御と加齢影響に関する研究

(1) 低酸素状態で維持される造血幹・前駆細胞の静止期 (dormancy) の維持機構や、細胞周期内における自己複製性増殖の調節機構に対する、生体異物相互作用の場としての所謂ニッチの役割に着目して、造血幹・前駆細胞の細胞周期静止機構の成立並びにこれにかかる新生児期の造血動態変化の分子機構や、ストレス蓄積過程としての加齢・老化に伴う細胞周期静止期分画の変化、といった項目を中心に逐次検討を進めている。

(2) 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：未分化な造血幹・前駆細胞レベルでのアリルハイドロカーボン受容体 (AhR) 特異的な対ベンゼン相互作用をより包括的に解明することを目的として、AhRを欠失する未分化な造血前駆分画における発現遺伝子の違いに着目して、AhRの造血における幹細胞性の維持など、生理的機能に関する研究を進めている。

(3) 化学物質や放射線による細胞障害機構に関する網羅的遺伝子発現解析：網羅的遺伝子発現解析法を用いて、化学物質などの異物と生体との相互作用に起因する広範な対象を念頭に、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、メカニズムや標的の評価も視野に入れた多面的な毒性の評価を可能とする予知技術を確認するための解析を進めている。解析にあたっては、生体の異物に対する応答としての網羅的遺伝子発現変化が、処置や系統、遺伝子改変などの実験条件による群ごとに決定論的に共通して応答する遺伝子群とは別に、個体ごとに異なった多様な応答シグナルに沿って発現するストカスティック・シグナルが存在することを作業仮説として遺伝子プロファイルの抽出を行い、検討を進めている。併行して、造血幹・前駆細胞における細胞増殖やアポトーシス関連分子の発現の変動に着目した細胞生物学的解析による検証を進めた。

## 薬 理 部

部 長 関 野 祐 子

## 概 要

当部では、医薬品や化学物質がもたらす有害作用から国民の健康を守るために、化学物質の体内動態、毒性発現メカニズムや、医薬品の薬効薬理や安全性薬理に関する

研究業務をおこなっている。平成27年に新たに開始した主な研究は、ヒトiPS分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究 (日本医療研究開発機構研究費：関野祐子研究代表者) である。

人事面では、最上由香里博士を任期付職員に採用した (第一室)。薬理部・旧新規試験法評価室は安全性予測評価部に第二室として併合され小島肇室長が異動した。籾内桃子博士は、薬理部・第四室に再任用職員として着任した。日本薬理評価機構の井出吉紀研究員、慶応大学薬学部の林真理子助教が協力研究員となった。AMEDリサーチレジデントとして、清水英雄博士、久保祐亮博士、大垣総一郎博士が採用された。入江智彦主任研究官が1年間研究休職した。新たに研究生として尾山実砂氏、実習生として梅園誠氏、関口敬洋氏、馬場楓氏を受け入れた。研究生であった風間崇吾氏、熊谷美穂氏、実習生であった高松美奈氏、笠原のぞみ氏、片倉明日美氏、小針彩奈氏、石原加織氏、西原麻由子氏、田中崇裕氏、麻薙美紀氏、三上哲理氏が退所した。客員研究員として、松木則夫東京大学名誉教授、井上和秀九州大学教授、小澤正吾岩手医科大学教授、小泉修一山梨大学教授を迎え入れた。

関野祐子部長は、新たに独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員、独立行政法人大学評価・学位授与機構国立大学教育研究評価委員会専門委員を委嘱された。日本神経化学会の脳研究推進委員となり、脳科学連合評議員を任命された。佐藤薫第一室長は日本神経化学大会プログラム委員、日本神経化学会将来計画委員、日本神経化学会評議員を、諫田泰成第二室長は日本動物実験代替法学会プログラム委員、第6回DIAカーディアックセイフティ・ワークショップ運営委員、Scientific Reportsの編集委員を、石田誠一第三室長はJaCVAM資料編纂委員を任命された。

国際協力については、関野部長、諫田第二室長、山崎大樹主任研究官は米国の包括的インビトロ催不整脈アッセイ (CiPA) と協調したパイロットスタディーを実施した。関野薬理部長、佐藤第一室長、松木客員研究員はOECD AOP外部評価委員、諫田第二室長はGood In Vitro Test Method Practice (OECD) の専門家、石田第三室長はBiotransformation Assays (OECD) 専門家、山崎主任研究官はHESI・Framework for Intelligent Non-Animal Alternative Methodsの運営委員に任命された。

会議関連として、関野薬理部長は中国食品薬品検定研究院国家薬物安全評価観測センター (北京、中国) を訪問した。関野薬理部長は'iPSC Good Cell Culture Practice Workshop'に参加した。'HESI心臓安全性に関

するテクニカルコミッティー 2015年総会' (ワシントン, 米国), 'CIPA Steering Team In-Person Meeting' (シルバースプリング, 米国), 米国毒性学会ではCIPAマイオサイトチームの対面会議, HESI NeuToxの対面会議に出席した (ニューオリンズ, 米国). 石田第三室長はOECD Biotransformation Assays専門家グループ会合に, 山崎主任研究官はHESIの対面会議に参加した. 関野薬理部長, 諫田第二室長, 山崎主任研究官はiPSC Good Cell Culture Practice Workshop'ガイダンス改訂作業を行った.

国際学会等には, 関野部長が中国安全性薬理学会 (広州, 中国), 第15回国際安全性薬理学会 (SPS 15th annual meeting; プラハ, チェコ共和国), Organ-on-a-Chip World Congress & 3D-Printing in the Life Sciences (ボストン, 米国), 第55回米国毒性学会に参加して成果発表・情報収集した. 2015 International WIC Institute Workshop on Brain Big Data Based Wisdom Serviceに国際評価委員として招聘された. 佐藤第一室長はGLIA2015 (ビルバオ, スペイン), SPS 15th annual meeting, SfN2015 (シカゴ, 米国), 諫田第二室長はFASEB夏季会議 (バンフ, カナダ), SPS 15th annual meetingに参加した. 山崎主任研究官はSPS 15th annual meeting, 第60回米国生物物理学会 (ロサンゼルス, 米国)に参加した.

関野部長は, 第42回日本毒性学会学術年会, 医療薬学フォーラム2015/第23回クリニカルファーマシーシンポジウム, 平成27年度国立医薬品食品衛生研究所シンポジウム, 第35回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会, 第5回レギュラトリーサイエンス学会学術大会, 千里ライフサイエンスセミナー, iPSC細胞ビジネス協議会第18回情報交換会, 第3回JMACシンポジウム, 安全性評価研究会2015年冬のセミナー, iPSC細胞を用いた疾患・創薬研究, AMEDレギュラトリーサイエンス公開シンポジウム, 第3回心臓安全性に関するシンクタンクミーティング 2016合同公開シンポジウムで講演をした. 佐藤第一室長は第58回日本神経化学学会大会, 千里ライフサイエンスセミナー J3, 第 89 回日本薬理学会年会シンポジウム, 群馬大学医学部で講演した. 諫田第二室長は安全性評価研究会・夏のフォーラム2015, BMB2015, 第88回日本生化学会の合同大会, 第18回環境ホルモン学会シンポジウム, AMEDレギュラトリーサイエンス公開シンポジウム, 第17回MAQC/JMACジョイントワークショップ, 第3回心臓安全性に関するシンクタンクミーティング, 第 89 回日本薬理学会年会. 日本薬学会 第136回大会, 徳島大学薬学部で講演した. 石田第三室長は, 第22回HAB研究機構学術年会, JASIS2015, 日本化学会第96 春季年会で講演を行った. 山崎主任研究官は新潟

大学大学院医歯学総合研究科大学院, 第57回日本平滑筋学会総会で講演した.

## 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

- 1) ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合開発および体内動態を含む基礎的有害性情報の集積に関する研究において, カーボンナノチューブの凝集体の細胞毒性メカニズムを明らかにした論文を投稿した.
- 2) 個体の成長期における毒性メカニズムに基づく新規in vitro発達神経毒性評価法に関する研究において, 昨年に引き続き, 遅発性の神経毒性が懸念されるバルプロ酸, トリプチルスズ, 今年度は有機リン系農薬クロルピリホスを研究班共通の化学物質として使用し, 独自に構築した各発達段階におけるin vitro神経毒性評価を行った. 幹細胞から生後・幼若期までの各発達段階においてバルプロ酸の神経毒性作用が検出できることを明らかにした.
- 3) 新規培養基材等を用いた肝代謝・動態等評価系の開発において, PXB-cellsに肝代謝・動態等評価のために十分な薬物代謝能と酵素誘導能があること, PXB-cellsを新規培養基材であるad-MED ビトリゲルチャンパーで培養することで薬物代謝能が亢進すること, 新規培養基材であるVECELL培養器による培養で星細胞が機能変化することを明らかにした.
- 4) AMED委託研究費 (医薬品等規制調和・評価研究事業)「ヒト iPSC 細胞由来神経細胞等を用いた新規 in vitro 医薬品安全性評価法の開発」において, 薬理評価に必要な神経細胞機能を備えた hiPSC-neuron 等の選抜を行った. hiPSC-neuron の NMDA 受容体機能を促進する因子を見だし, そのメカニズムを明らかとした.

### 2. 医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理的な研究

- 1) 小脳失調症と小脳機能に対して電位依存性Kチャンネルが果たす役割の解明において, 小脳変性症を引き起こす変異型遺伝子が, 患者の生体内でどのような影響を及ぼすかを検討するために, マウス小脳から作成した初代培養細胞に, 変異型遺伝子を導入した. これにより, 患者で引き起こされていると考えられる神経変性等を再現し, そのメカニズムを解明した.
- 2) 危険ドラッグ等の乱用薬物に関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究において, これまで評価が難しかった危険ドラッグのNMDA 受容体との相互作用の薬理評価系を確立した.

### 3. ヒトiPS細胞由来分化細胞を用いた薬理学的研究

- 1) AMED委託研究費（医薬品等規制調和・評価研究事業）「ヒトiPS細胞由来肝／小腸細胞による再現性のある薬物代謝酵素・トランスポーター等の薬物誘導性評価試験の開発」において、ヒトiPS細胞由来肝細胞を用いた薬物による代謝酵素誘導能を評価する系を開発するための培養条件を検討し、酵素誘導を亢進する低分子化合物を見出した。併せて、酵素誘導試験の再現性の検討を継続的に行った。
- 2) 薬物誘発性不整脈に関する機能解析および発症予測へ向けた統合的評価法の構築において、iPS心筋細胞シートを用いて、抗癌剤による心毒性が動きベクトル法により新たに評価できることを明らかにした。
- 3) 成熟したiPS由来心筋細胞の樹立と創薬・医療への応用に関する研究において、ヒトiPS細胞から作成した心筋細胞を用いて、電気生理学的に成熟化する方法を開発し遺伝子発現および薬理作用の基礎データを取得した。
- 4) AMED委託研究費（医薬品等規制調和・評価研究事業）「ヒトiPS細胞由来心筋細胞株を成人心筋に橋渡しするためのインシリコツールの開発」において、分化心筋細胞の大きさ、多点電極における波形、イオンチャネルの発現が細胞株間で異なることを見出した。

### 4. 安全性試験法の公定化に関する研究

- 1) AMED委託研究費（医薬品等規制調和・評価研究事業）「ヒトiPS分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究」において、心筋細胞に関しては、Japan iPS Cardiac Safety Assessment (JiCSA)における国内検証試験を実施し、TdPリスクの異なる60化合物のデータを取得した。肝細胞に関しては、継続的に細胞機能の評価を進め、低分子化合物による分化誘導の実験プロトコルの最適化を検討した。神経細胞はトレサブルなヒト iPS 細胞由来神経細胞を用いた興奮毒性評価系を確立し試行した。ヒト細胞と齧歯類細胞での相違点・課題を明らかとした。
- 2) 医薬品の安全性および品質確保のための医薬品規制に係る国際調和の推進に関する研究において、安全性薬理試験法ガイドラインの改訂に係る国内・国際動向に関する研究において、E14 / S7BのDiscussionグループの議論の動向を調査した。ICHE14ガイドラインについて、Q&Aがstep4となった。Thorough QT試験のWaiverで承認された医薬品について、論文とポスターが発表となった。
- 3) Good in vitro Test Method Practice (GIVTMP) に関する調査研究において、OECDのGood in vitro

Test Method Practice (GIVTMP) のdraftingに必要な文献検索等の調査研究を行うとともに、ヒトiPS細胞を例にして評価項目を検証した。

### 5. 薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

- 1) ユビキチンリガーゼCHIPによる乳癌幹細胞の制御機構の解明と新規治療法の開発に関する研究において、悪性度とユビキチンリガーゼCHIPの逆相関を明らかにし、今までとは異なる新たな制御機構の可能性を見出した。
- 2) 化学物質による胚のタンパク発現変化の発生異常に及ぼす影響に関する研究において、バルプロ酸によるラット胚タンパクの発現変化についてさらに解析をすすめた。
- 3) 医薬品による副作用発現に関する研究として、副作用発現を評価するためのTric-b欠損ES細胞の作製とコンディショナルTric-b欠損マウスの作製を行った。

### 6. その他 共同研究など

関野部長は、豊橋技術科学大学吉田祥子講師、産業医科大学上野晋教授ならびに笛田由紀子講師らと共同研究を行っている。その他、AMED委託研究費（医薬品等規制調和・評価研究事業）「ヒトiPS分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究」（研究代表：関野祐子）の研究班において、学外・部外の分担研究者である杉山篤・東邦大学教授、吉田善紀・京都大学講師、安藤博之・小野薬品工業(株)研究員、山本渉・帝人ファーマ(株)研究員、小島肇・国立医薬品食品衛生研究所安全性評価予測部第二室長、澤田光平・エーザイ(株)グローバルCV評価部部长、黒川洵子・東京医科歯科大学准教授、芦原貴司・滋賀医科大学講師、山下潤・京都大学教授、内藤篤彦・東京大学特任助教、中西真人・(国研)産業技術総合研究所幹細胞工学研究センター副センター長、内藤幹彦・国立医薬品食品衛生研究所遺伝子医薬部部长、白尾智明・群馬大学教授、金村米博・(独)国立病院機構大阪医療センター室長、白木伸明・東京工業大学准教授、犬塚隆志・日本薬理評価機構研究総括ほか、日本安全性薬理研究会メンバーと共同研究を行っている。また、麻薬関連物質の薬効とその作用メカニズムを簡便に評価するin vitro実験系の開発においては、合田幸広・国立医薬品食品衛生研究所薬品部部长、袴塚高志・国立医薬品食品衛生研究所生薬部部长、花尻(木倉)瑠理・国立医薬品食品衛生研究所生薬部第三室長、内山奈穂子・国立医薬品食品衛生研究所生薬部第二室長らと共同研究を行っている。佐藤第一室長は、ナノマテリアルの健康影響評価手法の

総合開発および体内動態を含む基礎的有害性情報の集積に関する研究において五十嵐良明・国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部長、広瀬明彦・国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部長と、ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 in vitro 医薬品安全性評価法の開発において、池谷裕二・東京大学大学院薬学系研究科教授、宮本憲優・エーザイ(株)研究主幹、白尾智明・群馬大学教授と、ヒトiPS細胞由来神経細胞の分化誘導について岡野栄之・慶応大学医学部教授、岡田洋平・愛知県立医科大学准教授、金村米博・(独)国立病院機構大阪医療センター室長と、グリア細胞による神経細胞分化誘導法開発についてジェームズ E. ゴールドマン・コロンビア大学神経病理学教授と共同研究を行っている。諫田第二室長は、ホルモンによる乳癌幹細胞の増殖制御に関する研究について林慎一・東北大学医学部教授、山口ゆり・埼玉県立がんセンター主幹、栗原正明・国立医薬品食品衛生研究所有機化学部部長と、脂質による幹細胞制御についてTigyi Gabor・米国テネシー大学教授と、ヒトiPS細胞を用いた心臓安全性評価系について古川哲史・東京医科歯科大学難治疾患研究所教授、黒川洵子・東京医科歯科大学難治疾患研究所准教授、芦原貴司・滋賀医科大学講師と、化学物質による毒性評価系について古武弥一郎・広島大学大学院医歯薬学総合研究科准教授、板垣宏・横浜国立大学工学部教授、栗原正明・国立医薬品食品衛生研究所有機化学部部長と共同研究を行っている。石田第三室長は、肝細胞共培養系に関して小澤省吾・岩手医科大学教授と、肝がん細胞の三次元培養に関して松下琢・崇城大学教授と、コラーゲンビトリゲルを用いた評価系の開発に関して竹澤俊明・(独)農業生物資源研究所上級研究員とそれぞれ共同研究を行っている。山崎主任研究官は、医薬品による副作用発現に関する研究に関して青山峰芳・名古屋市立大学大学院薬学研究科教授と共同研究を行っている。簾内桃子主任研究官は、花尻(木倉)瑠理・国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長とともに包括的危険ドラッグ指定のため、プロドラッグ様の危険ドラッグ候補物質の生体内代謝活性化に関して共同研究を行っている。

## 7. 業績数

論文発表：10件

学会発表：91件

その他：総説、著書7件

## 病 理 部

部 長 小 川 久 美 子

### 概 要

病理部では、実験動物を用いた病理組織学的解析および臓器や細胞の局在を考慮した分子生物学的解析を手法とした安全性評価に係る研究を実施している。特に環境中の化学物質の各種毒性・発がん性とその機序に関する安全性評価に寄与する新手法・生体指標に関する研究、化学発がん系や各種トランスジェニック動物を用いたり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。

人事面では、平成27年4月1日付けで赤木純一研究員は薬理部併任解除となり、病理部を主体として研究活動を行うこととなった。平成27年6月30日付けで吉田緑第二室長が退職し、内閣府食品安全委員会委員に就任した。平成27年10月1日付けで井上薫主任研究官が内閣府食品安全委員会事務局評価第一課評価技術企画室に課長補佐として出向し、当所病理部併任となった。平成28年3月1日付けで松下幸平博士が研究員として着任し、平成28年3月31日付けで、井上薫主任研究官が病理部併任解除、協力研究員となった。また、平成28年3月31日付けで、高橋美和主任研究官が退職した。廣瀬雅雄元部長および小野寺博志元主任研究官には引き続き客員研究員としてご指導を仰ぐこととなり、国立国際医療研究センター病院中央検査部臨床病理室の額賀明子博士には協力研究員として引き続き研究協力を依頼することとなった。

短期海外出張として、梅村隆志第一室長はイタリア・ローマで開催された第80回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会(JECFA)に出席し、食品添加物の安全性評価を行った(平成27年6月16日～26日)。小川久美子部長はイタリア・ローマで開催された第81回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会(JECFA)にて残留動物用医薬品の安全性評価を行った(平成27年11月17日～26日)。また、小川久美子部長は米国・ジャクソンビルで開催された日米EU医薬品規制調和国際会議(ICHジャクソンビル会議)にて検討中の2年間ラットがん原性試験の省略に関する意見交換を行うとともに(平成27年12月7日～10日)、フランス・リヨンで開催された評価書115巻－工業化合物等に関するがん原性評価ワーキンググループ(動物発がんサブグループ)において議論に参画し、担当物質についてモノグラフ草稿およびサマリーの作成(平成28年2月2日～9日)を行った。

また、豊田武士主任研究官(現第二室長)は米国・フィラデルフィアで開催された米国癌学会(平成27年4月18日～22日)に、小川久美子部長および曹永晩第三室長

は韓国・済州島で開催された第7回アジア毒性学会（平成27年6月23日～26日）に、梅村隆志第一室長、石井雄二主任研究官および高須伸二主任研究官はポルトガル・ポルトで開催された第51回欧州毒性学会（平成27年9月13日～16日）に、梅村隆志第一室長、曹永晩第三室長、高須伸二主任研究官および井上薫主任研究官は米国・ニューオーリンズで開催された第55回米国毒性学会（平成28年3月13日～17日）に参加し、それぞれ発表および情報収集を行った。

## 研究業績

### 1. 化学物質の臓器傷害性に関する研究

#### 1) 肝再生プログラミング破綻とNrf2の意義に関する研究

*Nrf2*ホモ欠損並びにその野生型マウスに部分肝切除を施し、肝細胞増殖を継時的に評価した結果、部分肝切除168時間後のPCNA陽性細胞率は野生型に比して*Nrf2*ホモ欠損マウスで高値を示した（科学研究費補助金（日本学術振興会））。

### 2. 食品添加物、農薬、医薬品の安全性に関する研究

#### 1) 食品中の複数の化学物質による健康影響に関する調査研究

臭素酸カリウム ( $\text{KBrO}_3$ ) と alizarin (Alz) の併用投与群において、酸化的DNA損傷が加算的に増加すること、同時に欠失サイズの増加を伴った欠失変異頻度が増加することを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。Estragole (ES) と flumequine (FL) を4週間併用投与したB6C3F<sub>1</sub>系*gpt* deltaマウスの肝臓における*in vivo*変異原性の検索を行った結果、FLの併用投与群において*gpt*変異体頻度の増強が認められ、FLによる細胞増殖活性がESの突然変異誘発性を増強することを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。長期間の高脂肪食摂取は*gpt* deltaマウス肝臓におけるMeIQxの*in vivo*変異原性に影響を与えない可能性が示された（厚生労働科学研究費補助金）。

#### 2) 食品添加物の安全性に関する研究

2,3-Pentandioneのラットにおける90日間反復経口投与試験を実施し、病理組織学的検索を終了した。無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも30 mg/kg bw/dayと判断した（食品等試験検査費）。2-Furanmethanthiolのラットにおける90日間反復経口投与試験のための用量設定試験を実施し、90日間反復投与毒性試験の動物飼育を終了した（食品等試験検査費）。Furfural propyleneglycol acetalのラットにおける90日間反復経口投与試験を実施するため、溶媒中における被験物質の安定性試験を実施した（食品等試験検査費）。

trans-2-ヘキセノールのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験を実施し、最終報告書を作成した（食品等試験検査費）。2-エチルプタナールのラットにおける90日間反復経口投与試験を実施し、最終報告書を提出した。2-エチルプタナール投与による影響は体重、肝臓および腎臓に認められ、無毒性量は雌雄ともに200 mg/kg体重と判断された（食品等試験検査費）。バニリンプロピレングリコールアセタールの毒性評価を行うための用量設定予備試験を実施した。得られた結果から、本試験での投与用量を1000, 300, 100 mg/kg体重に設定した（食品等試験検査費）。2-(4-メチル-5-チアゾリル) エタノールの毒性評価を行うための用量設定予備試験を実施した。得られた結果から、本試験での投与用量を1000, 300, 100 mg/kg体重に設定した（食品等試験検査費）。5-ヘキセニルイソチオシアネートのラットにおける90日間反復経口投与試験のための28日間の用量設定試験を実施し、90日間反復経口投与試験の動物実験を終了した（食品等試験検査費）。イソオイゲニルメチルエーテルのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験のため、用量設定試験を実施した（食品等試験検査費）。

#### 3) 畜水産食品に含まれる動物用医薬品等の安全性確保に関する研究

*Nrf2*欠損マウスが酸化ストレスに高感受性であることを確認し、酸化的DNA損傷はnitrofurantoin (NFT) または5-nitrofurfural (NFA) 投与により増加したことから、NFTによる遺伝毒性発現に対する酸化ストレスの関与が強く示された（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt* deltaラットにNFTと3種の抗酸化剤 (N-acetylcysteine, ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol) を4週間併用投与した（厚生労働科学研究費補助金）。

#### 4) 化学物質（特に農薬）のリスク評価に当たって必要となる試験の再検討に資するための研究

農薬の毒性評価における「毒性プロファイル」と「毒性発現量」の種差を考慮した毒性試験の新たな段階的評価手法を提言するため、農薬評価書をもとに農薬ごとに解析の基礎データを整理して、短期試験と長期試験の毒性プロファイルと毒性発現量の種差について解析した（食品健康影響評価技術研究委託費）。

### 3. 化学物質の安全性評価に関する研究

#### 1) 化学物質の臨界期曝露が神経内分泌・生殖機能へ及ぼす影響の機序解明と指標に関する研究

エストロゲン受容体 (ER)  $\alpha$ ,  $\beta$  アゴニストおよびER  $\alpha$  アンタゴニストの新生児期曝露による影響を検討した結果、遅発影響を生じる化学物質はER  $\alpha$  アゴニストに限らない可能性が示唆された（厚生労働科

学研究費補助金).

## 2) 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

ラットを用いた卵巣発育を標的とする卵巣毒性のDBAについて、卵巣発育および破裂に関連するステロイド合成に影響して卵巣毒性をもたらす可能性が示唆された(一般試験研究費).

## 3) 毒性評価におけるヒト化モデル動物の有用性に関する研究

ヒト肝細胞キメラマウスの全身諸臓器について標本作製を実施し、組織学的な基礎データを収集した(一般試験研究費).

## 4) ナノマテリアルの経口曝露による免疫毒性に対する影響に関する研究

ナノ銀のI型アレルギー反応について評価方法を確立した(厚生労働科学研究費補助金). また、ナノ銀の経皮感作後、抗原の腹腔内および強制経口投与について、アレルギー反応に対するアジュバント効果は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金).

## 5) アブラナ科植物由来成分の食道発がん修飾作用に関する研究

*gpt delta* ラットにジエチルニトロソアミン(DEN)によるイニシエーション1週間から5週間、MTBITCを混餌投与した結果、肝臓の*in vivo*変異原性に対してMTBITCの明らかな抑制作用が認められた。F344ラットにDENによるイニシエーション期にMTBITCを混餌投与し、肝臓の前がん病変であるGST-p fociを検討した結果、MTBITCによる明らかな修飾作用は認められなかった。ヒトおよびラット由来の肝細胞において、MTBITC処理により*Nrf2*タンパク発現が増加した。qPCRにおいてMTBITC処理により*Nrf2*下流遺伝子(*Hmox1*および*Gclc*)発現が増加した(一般試験研究費).

## 6) 室内環境中の未規制物質の網羅的解析に関する研究

難燃剤であるTDBPICのラット28日間反復投与毒性試験の結果、肝臓、腎臓および甲状腺を毒性標的とする可能性が示唆されたが、詳細に関しては今後より長期間の試験による解析を行う必要があると考えられた(厚生労働科学研究費補助金).

## 7) 食品中遺伝毒性物質の「事実上の閾値」形成に関する研究

Pol $\zeta$  KI *gpt delta* マウスおよび *gpt delta* マウスにbenzo[a]pyrene (BaP) を40, 80および160 mg/kgの用量で単回腹腔内投与し、投与後31日目に肝臓を採取した。その結果、高用量群ではPol $\zeta$  KI *gpt delta* マウスにおいて*gpt*変異体頻度が増強することを明らかにした。一方、低用量および中間用量群で遺伝子型間に

差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

KBrO<sub>3</sub>投与による欠失変異は8-OHdG形成に起因する変化であり、一方でNFT投与によるグアニン塩基の1塩基置換は8-OHdG以外の酸化ストレスによる変化であることを明らかにした(一般試験研究費). Piperonyl butoxide (PBO) を投与した野生型マウス肝臓における肝再生性結節および肝腫瘍に関して網羅的遺伝子発現解析を行い、それぞれの病変における遺伝子発現の特徴を明らかにした(科学研究費補助金(文部科学省)). F344ラットに対してKBrO<sub>3</sub>またはNFTの13週間投与およびnitrotriacetic acidの37週間投与を開始した。また、*gpt delta*ラットに対するKBrO<sub>3</sub>またはNFTの13週間投与を開始した(一般試験研究費). *Nrf2*欠損マウスに対してIQおよびMeIQxを投与し、肺、肝臓、大腸を採材した(一般試験研究費). *Nrf2*欠損*gpt delta*マウスにeugenol (EG), ESおよびsafrole (SA) を13週間投与し、標的臓器である肝臓を採取した(一般試験研究費).

### 2) 膀胱を標的とする遺伝毒性発がん物質検出系の開発

膀胱に対する遺伝毒性および発がん性の早期検出指標探索のため、マウスに種々の化学物質を投与し、DNA二重鎖切断マーカーである $\gamma$ -H2AXの発現を免疫組織化学的に検討した。6週齢の雄B6C3F<sub>1</sub>マウスに、BBNなどの遺伝毒性膀胱発がん物質3剤、DENなどの膀胱を標的としない遺伝毒性発がん物質4剤、非遺伝毒性膀胱発がん物質1剤、その他の物質3剤のいずれかを混餌または飲水にて4週間投与した。その結果、遺伝毒性膀胱発がん物質投与群ではいずれも膀胱粘膜における $\gamma$ -H2AX陽性細胞の有意な増加がみられたのに対し、膀胱を標的としない遺伝毒性発がん物質投与群では対照群と同レベルにとどまった。以上の結果から、 $\gamma$ -H2AXはマウスにおいても膀胱に対する遺伝毒性発がん物質の早期検出指標として利用し得る可能性が示された(厚生労働科学研究費補助金).

### 3) 食物アレルギーにおけるアレルゲン経皮感作のメカニズム解析及びマーカー分子の探索に関する研究

アレルゲンタンパク質の経皮感作性あるいはアジュバント様効果の指標となる候補分子の検討を行った(科学研究費補助金(日本学術振興会)).

### 4) 栄養成分・加工助剤に関するリスク評価方法の確立に関する研究

栄養成分および加工助剤の我が国に適したリスク評価手法に関する指針案を策定した(食品健康影響評価

技術研究委託費)。

- 5) ラット前がん病変の生物学的特徴に基づいた新たな肝発がんバイオマーカーの探索に関する研究

Diethylnitrosamineまたはfuran投与により発生する肝前がん病変の網羅的遺伝子発現解析を行うための動物実験を実施した(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) 網羅的DNA損傷解析と*in vivo*変異原性の包括的試験法に関する研究

EG, methyleugenol (MEG), SAおよびESを4週間投与した*gpt delta*ラットの肝臓においてPP2Aのリン酸化タンパクの増加が認められたことから、フェニルプロペノイド系化合物の細胞増殖にはPP2Aを介したErk経路の活性化が寄与することを明らかにした(一般試験研究費)。

- 2) 遺伝毒性・発がん性短・中期包括的試験法の確立と香料の安全性評価への応用に関する研究

包括的試験法を行うための用量設定試験としてF344ラットにelemicinを0, 100, 200または400 mg/kg体重の用量で4週間強制経口投与し、本試験の投与量を0, 25, 100および400 mg/kg体重とした。本試験として、F344系*gpt delta*ラットに対して、これらの用量のelemicin投与を開始した。*gpt delta*ラットを用いた肝短期遺伝毒性・発がん性試験法に従って種々のfuran誘導体を投与し、GST-P陽性巣の定量的解析を実施した(厚生労働科学研究費補助金)。

- 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

トリアゾール系、フィブラート系等の化学物質の肝発がん過程におけるマウスCARの関与について、病理組織学的および分子生物学的検索を実施した(一般試験研究費)。イチヨウ葉エキスのマウス肝発がん機序におけるCARの関与について解析した(一般試験研究費)。Protox阻害剤によるマウス肝肥大・肝発がん機序へのマウスCARの関与の有無を確認するため、野生型およびCAR欠損マウスへのoxadiazon/acifluorfen投与実験を実施し、両剤による肝肥大にはマウスCARは関与しないことを明らかにした。一方で、両剤による肝発がんにはCARが関与することを明らかにした(一般試験研究費)。

- 4) ヘリコバクター・ピロリ除菌後胃がんの発生機序におけるDNA損傷・修復経路の役割

ヘリコバクター・ピロリ(ピロリ菌)除菌後胃がんの発生機序におけるDNA損傷・修復経路の役割を検索するため、スナネズミを用いた動物実験を実施した。5週齢の雄SPFスナネズミ(MON/Jms系統)にピロリ

菌(ATCC43504株)を接種し、2週後より胃発がん物質として10 ppm MNUを20週間飲水投与した。27週または37週時に除菌を行い、22週・32週・42週・52週目に解剖し胃粘膜を採材した。各種炎症およびDNA修復関連因子の発現を検索するため、免疫組織化学的および分子生物学的解析を開始した(科学研究費補助金(日本学術振興会))。

- 5) Pol $\kappa$ (カッパ)欠損マウスを用いた高感度なCYP非依存的ベンゾ[a]ピレン誘発遺伝毒性の評価に関する研究

CYP非依存的ベンゾ[a]ピレン誘発DNA損傷による細胞増殖抑制に関わる損傷乗り越え複製ポリメラーゼとその分子機構を検討し、Pol $\kappa$ およびPol $\iota$ が非代謝ベンゾ[a]ピレン誘発遺伝毒性の抑制に関与することを明らかにした。また、次年度の*in vivo*遺伝毒性・発がん性試験のためにPol $\kappa$ 欠損マウスの繁殖を行った(厚生労働科学研究費補助金)。

## 6. 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

システムを構築し、データ入力を行うとともに、安全性評価業務と評価手法の研究を継続した(一般試験研究費)。

## 変異遺伝部

部長 本間正充

### 概要

変異遺伝部は、食品関連物質、医薬品、農薬、工業化学物質等、我々の生活環境中に存在する化学物質の安全性を評価するための一環として、これら化学物質の変異原性、遺伝毒性を微生物、ほ乳類培養細胞あるいは動物個体を用いて試験・研究することを所掌業務とする。研究業務としてはこれまでに引き続き、遺伝毒性の評価と解釈に関する研究、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、化学物質の遺伝毒性予測のための構造活性相関に関する研究等に取り組んだ。

人事面では、平成27年4月1日付けで清水雅富博士(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。平成27年10月1日より独立法人医薬品医療機器総合機構の福地準一博士と平林啓司博士を新たに協力研究員として受け入れた。

受賞関連では、本間部長が第44回日本環境変異原学会



において、学会賞「部位特異的損傷をゲノム中に導入したヒト細胞における突然変異誘発機構の研究」と、望月喜多司記念賞「遺伝毒性試験ガイドライン策定への貢献」を受賞し、受賞講演を行った。

短期海外出張としては、本間部長は平成27年4月12日～18日まで米国・ワシントンD.C.に出張し、健康環境科学研究所会議へ出席した。増村第三室長も上記会議に出席し、生殖細胞変異原性に関して口演を行った。本間部長は5月18日～25日までインド・インパールに出張し、第39回インド環境変異原学会に出席し、OECD遺伝毒性試験ガイドラインに関する招待講演を行うと共に、マンニプル大学との研究打ち合わせを行った。本間部長は6月15日～19日まで米国・ニューオーリンズに出張し、国際化学工業協会協議会の長期研究イニシアチブ米国環境保護局の共同開催2015ワークショップへ参加し、構造活性相関による化学物質の毒性予測に関する講演を行った。山田室長は6月23日～26日まで大韓民国・済州島に出張し、第7回アジア毒性学会議に出席、ホールゲノムシーケンスに関するポスター発表をするともに、国際環境変異原ゲノミクス学会連合によるICEM2017について大会長らと打ち合わせをした。佐々研究助手は7月31日～8月5日までオーストラリア・ケアンズに出張し、国際会議「Zing Conference: Genomic Integrity 2015」に出席、クラスターDNA損傷の修復機構に関するポスター発表をした。本間部長は9月25日～10月5日まで米国・ニューオーリンズに出張し、第46回米国環境変異原ゲノム学会へ参加し、BLMヘリケース欠損細胞の遺伝的不安定に関する口演を行った。杉山第二室長も上記学会に参加し、新規に構築した酵母をプラットフォームとしたDNAメチル化阻害剤検出系についてポスター発表を行った。本間部長は11月7日～13日まで米国・レッドロックに出張し、第46回米国学術毒性学会へ参加した。増村第三室長は平成28年3月12日～19日まで米国・ニューオーリンズに出張し、第55回米国毒性学会に参加し、生殖細胞変異原性に関してポスター発表を行った。本間部長は3月20日～26日までオーストラリア・メルボルンに出張し、第14回DNA放射線損傷国際ワークショップに参加し、酸化的DNA損傷の突然変異誘発性に関して口演、およびポスター発表を行った。

研究概要としては、第一室では主として(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)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を行った。(1)遺伝毒性メカニズムの研究としては、DNA付加体1分子を細胞ゲノム内に導入し、その遺伝的影響を*in vivo*で解析できるTracing DNA Adducts in Target Mutagenesis (TATAM) 実験系を開発した。本年度は、チミジンキナーゼ遺伝子(TK)変異を

復帰させる陽性対照ターゲティングベクター、およびTK復帰させない陰性対照ターゲティングベクターの混合割合を規則的に変えて細胞ゲノムへ導入し、TK復帰頻度を調べることによって検出感度を明らかにした。また、脱アミノ化等で形成する数種のシトシン修飾DNA損傷についてもTATAM実験系で調べ、その脱アミノ化の強さ、およびシトシン修飾体の突然変異誘発メカニズムを明らかにした。さらに、DNAに誤って取り込まれた8-オキシリボグアノシン(8-oxo-rG)が引き起こすゲノム不安定性について*in vitro*で解析した。その結果、8-oxo-rGは、8-オキシ-2'-デオキシリボグアノシンと比べてDNA合成酵素による損傷乗り越えDNA合成を強く阻害し、結果的にゲノム不安定性を促進させることが示唆された。(2)新しい遺伝毒性評価系として、次世代シーケンサーによるバクテリアの全ゲノム解析の研究を行った。エームス試験陰性の化学物質であるアクリルアミドを曝露したバクテリアのゲノム全体の突然変異数は陰性対照値と変わらなかった。そのほか、ICH遺伝毒性試験ガイドライン(ICH-S2(R1))のオプション2において*in vivo*試験バッテリーの最適な組合せを検討するため、対象臓器とエンドポイントがそれぞれ異なる遺伝毒性試験の組合せにより4つの発がん物質を共同研究で評価した。メトロニダゾールは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(TG試験)で肝臓において陽性、ニトロソグアニジン(胃のコメット試験)が陰性、アクリロニトリルは小核試験が肝臓で陽性、末梢血で陰性、Pig-aアッセイが陰性、塩化カドミウムはPig-aアッセイ、肝臓と腎臓のコメット試験、骨髄小核試験がすべて陰性だった。以上の結果は、昨年(2015)の結論「未知の化合物の場合、*in vivo*試験の組合せの第一選択は小核試験(骨髄もしくは末梢血)とTG試験(肝臓)が推奨できる」に矛盾しなかった。(3)日本独自の香料の安全性評価へのQSARの利用を検討するため、簡易エームス試験を実施した126物質のQSARの結果予測が偽陰性だった1物質について標準的なエームス試験を実施し、陰性であることを確認した。これにより、QSARによる簡易エームス試験・標準的なエームス試験の陰性予測率は97%に修正された。

第二室では(1)酵母をプラットフォームとしたエピ変異原スクリーニング試験法の開発、(2)エームス試験を用いた過酸化脂質による突然変異誘発機構および同検出系の構築に関する研究を昨年度に引き続き実施した。エームス試験株等の遺伝毒性試験関連株の分与に関しても、依頼にもとづいて国内(10件)および海外(4件)に継続的に分譲を行った。(1)酵母をプラットフォームとした短期エピ変異原(DNAメチル化酵素阻害剤)スクリーニング試験法の開発については、選抜育種したヒトDNAメチル化酵素遺伝子形質転換酵母が特異的に示す表現型

(凝集反応)が、DNAメチル化酵素阻害剤である5-aza-2'-deoxycytidineに感受性を示すことを明らかにしているが、同表現型を誘発する原因遺伝子の探索を行った結果、酵母凝集関連遺伝子の1つがその転写レベルが亢進、また5-aza-2'-deoxycytidineにより同転写誘導が抑制されることを見出した。育種した酵母がエビ変異原であるDNAメチル化酵素阻害剤に遺伝子レベルで応答しうることを確認したと同時に、同定した凝集関連遺伝子*FLOI*のプロモーター領域が可塑性保持したうえでエピジェネティックな制御下にあることを示唆した。(2)エームス試験を用いて、食品中に含まれる過酸化脂質の遺伝毒性を昨年に引き続き検討した。本年度では、多価不飽和脂肪酸の過酸化脂質であるクロトンアルデヒドおよびグリオキサールを被験物質としてエームス試験を行った。その結果、一部の株が陽性を示したことから、体内で生じる過酸化脂質が内因性遺伝毒性物質となる可能性が明らかとなった。また、これらの物質については、DNAポリメラーゼIVもしくはRI高発現株を用いた同様のエームス試験を実施したところ、先に得られた結果以上に影響を与えた。したがって、クロトンアルデヒドおよびグリオキサールが今回示した変異原性には、DNAポリメラーゼIV及びRIが関与していることが推測された。

第三室では主として(1)遺伝毒性物質の経世代的影響に関する研究、(2)アクリルアミドの生殖細胞変異原性に関する研究、(3)*Pig-a*アッセイに関するバリデーション研究、(4)*Pig-a*アッセイの検出感度に関する研究、(5)DNAトポロジと関連するDNA損傷修復機構の分子生物学的解析に関する研究を行った。(1)遺伝毒性の次世代個体への影響をゲノム変異を直接検出することにより評価するため、3用量群のエチルニトロソ尿素(ENU)を投与した雄*gpt delta*マウスを無処理の雌と交配してF1個体を得た後、各用量群1家族について次世代シーケンサーを用いた全エキソーム解析を行った。一塩基変異の親子間比較を行って子の新規変異を検出した結果、父親へのENU投与用量依存的に子のゲノムにおける変異の増加がみられた。また、体細胞及び生殖細胞における遺伝子突然変異頻度の用量反応データを得るため、ENUを投与した雄*gpt delta*マウスの肝臓、精巣および精子からゲノムDNAを抽出し、*gpt*アッセイにより点突然変異体頻度を測定した。(2)アクリルアミドの生殖細胞に対する遺伝毒性評価のため、雄*gpt delta*マウスにアクリルアミドを28日間経口投与し、最終投与の3日後及び49日後に採材を行い、*gpt* assayを実施した。得られた変異体の塩基配列解析を行い、変異スペクトルを分析した結果、最終投与3日後の精子DNAにおいて点突然変異頻度の有意な増加が見られた。(3)新規遺伝毒性試験である*Pig-a*

アッセイはその有益性から、現在米国を中心にOECDガイドライン化に向けた取り組みが進められており、米国をリード国としたStandard Protocol Submission Form (SPSF)がOECDに投稿された。これらの動向に対する日本国内の取り組みが評価され、本SPSFには日本からの貢献と協力が明記されている。*Pig-a*アッセイのOECDガイドライン化達成に向け、哺乳動物試験研究会に参加する産官の計16機関での共同研究を継続し、今年度は24種の化学物質の遺伝毒性評価結果を国際論文特集号で発表するための取りまとめを行った。(4)妊娠マウスに遺伝毒性物質を投与し、新生仔の遺伝毒性を*Pig-a*アッセイで評価した結果、妊娠の中期や後期に遺伝毒性物質に暴露された母マウス由来の仔マウスは強い遺伝毒性影響を受けることを明らかにした。(5)DNAトポロジ解消において中心的な役割を果たすDNA topoisomerase Iの相互作用タンパク質を同定し、それら各因子の過剰及び抑制発現条件を検討した。

上記の研究以外に、部長を中心として以下の研究も行った。(1)食品添加物等の遺伝毒性発がんリスク評価のための新戦略法に関する研究；発がんのAdverse Outcome Pathway (AOP)の分子初期事象である遺伝毒性の階層型試験系として、DNA付加体検出と、DNA付加体の突然変異誘発に関する試験系の構築を行った。DNA付加体の突然変異誘発の定性・定量的解析には、当研究部で開発したTATAM実験系が有効であることを示した。(2)化学物質のヒト健康リスク評価におけるQSARの実用化に関する研究；エームス変異原性試験の大規模データベースを完成させ、これを元にQSARツールの予測性向上のための国際共同研究を開始した。共同研究には世界7カ国11の研究機関が参画した。(3)医薬品の品質、安全性確保のための国際調和に係わる研究；医薬品中に含まれる変異原性不純物の国際ガイドライン(ICH-M7)に関する化合物特異的摂取許容量算出のための補遺の策定を行った。(4)ナノ物質の遺伝毒性評価に関する研究；カーボンナノチューブの*in vivo*遺伝毒性を評価するために、マウスを用いた肺小核試験法を確立した。

## 研究業績

### 1. 医薬品・医療機器の実用化促進のための評価技術手法の戦略的開発

メトロニダゾール、ニトロソグアニジン、アクリロニトリル、塩化カドミウムについて、各種*in vivo*遺伝毒性試験を実施した。「未知の化合物について実施する試験の組合せの第一選択は、エンドポイントと標的臓器が異なる小核試験(末梢血もしくは骨髄)とトランスジェニック動物遺伝子突然変異試験(肝臓)が推奨できる」という昨年の結論に矛盾しない結果を得た(医療研究開発推

進事業費補助金・創薬基盤推進研究事業)。

## 2. 医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究

医薬品中の遺伝毒性不純物の評価と管理に関する国際ガイドライン (ICH-M7) の実用化に向けて、化合物特異的許容量の算出に関する補遺の策定を行った。(医療研究開発推進事業費補助金・創薬基盤推進研究事業)。

## 3. AOPおよびIATAに立脚した国際的な安全性評価手法の確立

発がん過程の一部である遺伝毒性を検出するための試験のうち、TG490に記載された「チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞の*in vitro*遺伝子突然変異試験」を評価するための準備を行った(厚生労働科学研究費・化学物質リスク研究事業)。

## 4. ナノマテリアル曝露による生体毒性の慢性移行及び遅発性に関わる評価手法の開発研究

カーボンナノチューブの*in vivo*遺伝毒性を評価するために、マウスを用いた肺小核試験法を確立した。(厚生労働科学研究費・化学物質リスク研究事業)。

## 5. 化学物質のヒト健康リスク評価における(定量的)構造活性相関およびカテゴリーアプローチの実用化に関する研究

エームス試験QSARモデルの予測性の向上を目的とした国際共同研究を立ち上げた。世界7カ国11のQSAR開発者が共同研究に参画し、第一回目の国際コンペティションを行った。更に、エームス試験データベースの充実化、*in vivo*小核試験予測モデルの開発に成功した(厚生労働科学研究費・化学物質リスク研究事業)。

## 6. 新規*in vivo*遺伝毒性試験である*Pig-a*遺伝子遺伝毒性

試験の胎仔を含めた週齢および性差に関する開発研究化学物質の子どもおよび胎児への遺伝毒性影響を検出可能な評価手法として*Pig-a*アッセイを提案し、その有用性を明らかにするため、妊娠マウスに遺伝毒性物質を投与し、新生仔の遺伝毒性を*Pig-a*アッセイで評価した。その結果、妊娠の中期や後期に遺伝毒性物質に暴露された母マウス由来の仔マウスは強い遺伝毒性影響を受けることを明らかにした(厚生労働科学研究費・化学物質リスク研究事業)。

## 7. 食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究

構造活性相関のソフト3種類を用いて構造アラートが見つけられなかった香料(126)のうち、簡易エームス試験が陽性だった12物質のうち、2物質は入手できず、昨年9物質選んで標準的なエームス試験を実施した。今年度は残りの1物質について、エームス試験陰性の結果を得た(厚生労働科学研究費・食品の安全確保推進研究事業)。

## 8. DNA付加体1分子が関わる遺伝子変異誘発機構の緻密性に関する研究

陽性および陰性対照ターゲティングベクターを用いてTATAM実験系の基礎データを取得したところ、誤塩基対形成頻度の低いDNA付加体は、野生型細胞のエキソン系では正確に検出できないことが示唆された。(文部科学省科学研究費)。

## 9. 食品添加物等の遺伝毒性発がんリスク評価法に関する研究

発がんプロセスの分子初期事象である遺伝毒性の階層型試験系として、DNA付加体検出と、付加体の突然変異誘発に関する試験系の構築を行った。後者では、哺乳類細胞を用いた遺伝子ターゲットによる追跡型突然変異検出系を開発し、DNA酸化的損傷変異原性の定性・定量的評価を行った(厚生労働科学研究費・食品の安全性確保推進研究事業)。

## 10. 遺伝毒性物質の経世代的影響の定量的評価法に関する研究

雄*gpt delta*マウスに高、中、低用量のエチルニトロソ尿素を投与し、無処理雌マウスと交配して得られた仔個体のゲノムを用いて全エクソンシーケンシングを行い遺伝子突然変異を検出した(文部科学省科学研究費)。

## 11. 過去の大気浮遊粒子曝露が現在の肺がん発症等の健康リスクに及ぼす影響の評価に関する研究

多環芳香族炭化水素の遺伝毒性評価のため、*gpt delta*マウスを用いてベンツピレン誘発点突然変異の用量反応関係を解析した(文部科学省科学研究費)。

## 12. DNA二本鎖切断(DSB)モデルの構築と、それを用いた修復と低線量影響に関する研究

ゲノム編集技術により、BLMヘリケースをノックアウトした細胞にI-SceIを用いてDNA二本鎖切断を導入し、その修復機構を解析した(文部科学省科学研究費)。

## 13. DNA構造位相変換制御と修復・転写・クロマチン構造変換のカップリング

TOP1を介在するDNA損傷と修復の分子メカニズムを分子生物学的な研究手法を用いて明らかにするために、相互作用因子の細胞生物学的解析のための予備試験を実施し、各因子の過剰および抑制発現条件を決定した（文部科学省科学研究費）。

#### 14. エピ変異可視化システムの創成に関する研究

ヒトDNAメチル化酵素遺伝子形質転換酵母が示す可塑的凝集性誘発機構について検討し、同凝集機構に凝集関連遺伝子*FLO1*が関与する可能性を示した（文部科学省科学研究費）。

#### 15. 食品添加物安全性再評価・変異原性試験

指定添加物について*in vivo*小核試験6試験、トランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験2試験を実施した（食品等試験検査費）。

#### 16. 既存化学物質安全性再評価・変異原性試験

既存化学物質について復帰突然変異試験8試験、染色体異常試験12試験を実施した（既存化学物質点検）。

### 安全性予測評価部

部長 広瀬明彦

#### 概要

安全性予測評価部は、毒性評価手法の開発研究や厚生労働省・OECD等の化学物質評価に関する行政支援を行ってきた安全性生物試験研究センター省令室であった総合評価室、新規の動物実験代替法のテストガイドライン化を推進してきた同センター薬理部新規試験法評価室、化学物質に関するWHO等国际協力を行ってきた安全情報部第四室が統合して、総合的なリスク評価を行える基盤部局として再編成するとともに、計算科学的予測評価手法を用いた効率的な評価手法の開発研究を行うインシリコ評価室を創設して、総合的なレギュラトリーサイエンスを推進することを目的に新設された。

平成27年4月10日付けで、総合評価研究室は安全性予測評価部として振替えられ、薬理部新規試験法評価室と安全情報部第四室を統合した。安全性予測評価部は4月の時点では、総合評価研究室の業務を引き継いだ第一室、新規試験法評価室と安全情報部第四室の振替による第二室および第三室からなる体制で開始した。その後、10月1日にインシリコ評価技術に関する研究を所掌業務とする第四室が設置された。人事面では、4月10日に安全性予測評価部長として広瀬明彦省令室長が、第二室長とし

て小島肇室長が、第三室長として森田健室長が振替られることとなった。第一室長には小野敦主任研究官が8月1日付けで昇任し、第四室長には山田隆志室長が11月1日付けで着任した。

研究面では、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、環境化学物質や水道水汚染物質等の毒性評価に関する研究、ナノマテリアルの健康影響評価法に関する研究、新規の安全性評価試験法の開発と、国際的ガイドライン化に関する研究、医薬品製剤に含まれる不純物等のリスク評価に関する研究、農薬の毒性試験における新たな段階的評価手法の提言に関する研究等を行っている。

行政支援業務としては、食品安全委員会、水質基準逐次改正検討会、化学物質安全性評価委員会、毒物劇物調査会、家庭用品専門家会議、GHS分類検討委員会等に参画し、食品関連物質や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。

#### 業務成績

##### 1. OECD化学物質共同評価プログラムにおける初期評価文書の作成及び発表

OECD化学物質共同評価プログラムに関する業務として、初期評価文書を作成・提出し、化学物質共同評価会議で討議している。平成26年10月に開催された第6回化学物質共同評価会議に出席し、日本政府としてMethyland Ethylcyclohexane (CAS:108-87-2,1678-91-7) および経済産業諮問委員会原案作成のtrimethylsilanol (CAS:1066-40-6) の計3物質の初期評価文書、また1,2-dichloro-4- (chloromethyl) benzene (CAS:102-47-6), 1-naphthol-4-sulfonic acid sodium salt (CAS:6099-57-6), Disperse Red 206 (CAS:26630-87-5) の計3物質の選択的初期評価文書を提出し、いずれも合意された。

##### 2. 新規化学物質の安全性評価業務

昭和48年10月16日に制定され、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）の実施を要求している。この試験結果から、人健康影響に関して優先判定における有害性クラスの判定を行っている。当室では、この試験結果の評価作業を行うとともに、平成27年度は485物質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

厚生労働省では、OECDの化学物質共同評価プログラムの業務に関連した化合物と国内独自の既存化学物質に

ついて、国内の受託試験機関に委託してスクリーニング毒性試験を実施している。当室では、試験を実施する候補物質の選定を行い、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27年度は5物質についての反復投与・生殖発生併合試験の試験計画書の確認及び最終試験報告書レビュー作業を行った。また、H27年度はリスク評価Ⅱのための有害性の詳細リスク評価書（4物質）の作成、監修業務を行った。

#### 4. 化審法の評価作業支援業務

化審法新規化学物質データベースに申請データ及び構造データを入力し、試験結果をもとにした評価作業のサポートを行った。また、電子申請されなかった新規化学物質申請資料の電子化を行った。平成27年度は、305物質（560構造）について構造活性相関システムによる変異原性の予測計算を行い、調査会資料を作成した。

#### 5. 化学物質の安全性に関する国際協力

WHOのIPCS（国際化学物質安全性計画）に参画し、日本語版を含む65物質の国際化学物質安全性カード（ICSC）を作成するとともに、ICSC標準語句の日英対照表を整備し、webサイトで提供した。また、国際的化学物質評価文書提供として、8件のEUリスク評価書（2,4-ジニトロトルエン、炭酸ニッケル、2-ニトロトルエン、塩素、クロロホルム、硝酸ニッケル(II)、p-tert-ブチルフェノール、4-メチル-m-フェニレンジアミン）の翻訳を行い、webサイトで提供した。さらに、以下の計14件のOECDテストガイドライン（TG）を翻訳し、webサイトで提供した：遺伝毒性に関するTG4件（TG476, TG478, TG483, TG490）、刺激性に関するTG7件（TG405, TG430, TG431, TG437, TG438, TG439, TG460）、感受性に関するTG1件（TG429）、生殖毒性に関するTG1件（TG443）および内分泌攪乱に関するTG1件（TG457）。

#### 6. 毒物劇物の指定に係る情報収集および評価

厚生労働省の依頼を受け、国連危険物輸送勧告においてClass 6.1（毒物）あるいはClass 8（腐食性物質）に分類されている物質（2-tert-ブチルフェノール、吉草酸、n-酪酸、塩化アルミニウム（無水物）、ジフェニルアミン、n-ヘプタン酸、メルカプト酢酸、水酸化リチウム水和物）について、物性、急性毒性、刺激性及び既存規制分類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。

#### 7. 化学物質に関する知識情報基盤の整備

化学物質による緊急危害対策への対応として、18物質

の急性曝露ガイドラインレベル（AEGL）最終化文書について、日本語版文書を作成し、webサイトで提供した。また、webサイトで提供している毒物劇物取締法データベースのデータの追加・更新を行った。

#### 8. 安全性試験公定化にかかる検証・評価のための研究開発

新規試験法である皮膚感作性試験代替法 角化細胞株レポーターアッセイ、光安全性評価法 活性酸素種（ROS）アッセイおよび眼刺激性試験代替法 短時間暴露法（STE法）の3試験法の新規試験法提案書を作成し、行政に提案した。

#### 9. その他（各種調査会等）

平成27年度は、OECDの第10回(Q)SARアプリケーション・ツールボックス・マネジメント・グループ会議、第14回工業用ナノ材料作業部会の全体会議及びスポンサーシッププログラム会議、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13回非動物試験検証管理グループ（VMG-NA）会議、第27回テストガイドラインナショナルコーディネーター会議（WNT-27）、生体内変化専門家会議、皮膚感作性専門家会議、眼刺激性・腐食性専門家会議、第8回ハザードタスクフォース及び分子スクリーニング及びトキシコゲノミクス諮問委員会会議、第1回IATAケーススタディプロジェクト会議に出席し討議に加わった。また、第5回動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議（VICH）、代替法国際協調会議及び日米EU医薬品規制調和国際会議のQ3D（金属不純物）専門家作業部会会議等に出席し討議に加わった。国内では、医薬品及び医療機器GLP評価委員会、安衛法GLP査察専門家、化学物質GLP評価会議、食品添加物等安全性評価検討会、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、化学物質・汚染物質専門調査会、農薬専門調査会）、環境省中央環境審議会環境保健部会環境基準健康項目専門委員会、環境省中央環境審議会土壌農薬部会土壌環境基準小委員会、医薬品医療機器総合機構専門委員、毒物劇物調査会、家庭用品専門家会議、GHS分類検討委員会、固体ばら積み貨物査定検討ワーキンググループ委員（国土交通省）等の活動に協力した。

#### 研究業績

##### 1. 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評価するための評価スキームの構築に関する研究を行っている。平成27年度は、下記2つの研究を行った。

#### (1) 化学物質のヒト健康リスク評価における (定量的) 構造活性相関およびカテゴリーアプローチの実用化に関する研究

これまでの研究において、化審法既存点検により反復投与毒性試験が実施された化合物のデータを用いて作成してきた肝毒性に関するラピッドタイプアラート (RP) の構築と検証を行ってきた。27年度はアラート作成の新たなアプローチとして、肝毒性エンドポイントに関連するkey eventモデルを予測し、生体内経路の攪乱に関する化合物群のプロファイルと組み合わせることによる肝毒性の予測モデルの作成を行った。

また、類似物質についての毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断される化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとにした毒性クラス判定の可能性について検討を行った。2つのin vivo遺伝毒性試験である小核試験およびトランスジェニック動物試験の大規模データベースを再構築し、それらの試験の発がん性感受性と特異性を評価した [厚生労働科学研究費補助金]。

#### (2) 構造活性相関手法による有害性評価手法開発

試験報告書データベースへの新規データ追加のため既存化学物質点検事業により実施された反復投与毒性試験や反復投与生殖毒性併合試験のうち新たに公開された試験のデータ整理を行った [一般試験研究費]。

### 2. 水道水に係わる毒性情報評価に関する研究

本研究は、飲料水中の化学物質の基準値設定及び改定に資するために、新たに健康影響が懸念される化学物質の毒性情報を収集し整理すると共に、化学物質の安全性評価手法に関する最新知見の動向調査を行い、得られた知見の基準値設定等への適用の妥当性について検証することを目的としている。27年度は、水道水質基準項目8項目について亜急性評価値を用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度 (参照値) の算出を試みた。さらに、長鎖パーフルオロカルボン酸類 (PFCA) の炭素鎖長と毒性強度の関係について解析を行い、標的PFCA以外に含まれるPFCAの関与が示唆された [厚生労働科学研究費補助金]。

### 3. 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いるが、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する情報は以前不足している。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。「ナノマテリアル曝露による慢性及び遅発毒性評価手法の開発に関する研究」では、本研究班の主任研究者としての取り纏めを行うと共に、多層ナノチューブを用いたメカニズム解析として、中皮腫誘発性におけるサイトカイン分析と単回気管内投与の慢性観察実験、および発生毒性に及ぼすナノチューブの加熱処理の影響を検討した。MWCNTの中皮腫誘発性に関する解析において、酸化ストレス以外のメカニズムの関与が示唆する知見を得た。また、繊維長に依存したMWCNTによる催奇形性が母体の炎症性に影響を受けている可能性を得た [厚生労働科学研究費補助金]。また、「ナノマテリアルの経口曝露による免疫毒性に対する影響：曝露評価 (食品等を含む) に関する国際動向調査」では、27年度はEFSAが主催している化学ネットワークの活動を調査委することにより、欧州における食品関連分野でのナノ製品の開発、市場動向や規制状況等を取りまとめた [厚生労働科学研究費補助金] [一般試験研究費]。

### 4. AOPおよびIATAに立脚した国際的な安全性評価手法の確立

OECD-EDTAで提案された化学物質の内分泌かく乱性評価in vitroスクリーニング試験法のうち、行政的有用性が期待される方法について、OECDガイドライン化に向けた研究を進めている。HeLa9903細胞を用いたアンタゴニスト検出系について、OECDガイドライン成立の見込みとなった。アンドロゲン受容体転写活性化法については、バリデーションレポート案、ガイドライン案を作成してOECDに提出した。さらにin vitro皮膚感作性試験ヒト樹状細胞株を用いた検出法 (h-CLAT: human Cell Line Activation Test) のテストガイドライン成立に尽力した。

また、免疫抑制に関するAOPを作成するとともに、光安全性試験スクリーニング (ROS: Reactive Oxygen Species) アッセイの申請書をOECDに提出した [厚生労働科学研究費補助金]。

### 5. 新規動物試験代替法の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究

「化粧品・医薬部外品の安全性評価に用いる代替法の国際標準化及びその普及の促進」を目的とし、必要な調

査研究、代替法の開発、改良およびバリデーション、代替法を用いたリスク評価の検討、代替法で評価された成分のヒト試験の利用ガイダンス等を検討した。

成果の一つとして、「眼刺激性試験代替法としてのニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法（ICE）を化粧品・医薬部外品の安全性評価に資するためのガイダンス」についてが、厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課長より、薬生審査発1116第3号平成27年11月16日として発出された〔厚生労働科学研究費補助金〕。

#### 6. トキシコゲノミクスデータベースを活用した医薬品安全性評価に関する研究

プロジェクトで得られた研究成果については、今後の活用や方向性に関して関連プロジェクトのメンバーと協議を行うと共に、日本毒性学会及び韓国代替法学会でトキシコゲノミクスの安全性評価への活用に関する講演として発表を行った〔一般試験研究費〕。

#### 7. 日米EU医薬品規制調和における元素不純物に関する毒性学的研究

平成22年より、医薬品における元素不純物（主に金属）の規制に関するガイドラインの作成を目的としてQ3Dトピックが開始された。当部では主に元素不純物の毒性学的評価やPDEの算出等について協力を行っている。平成27年度はガイドラインQ3Dの実施に向けた、トレーニングマテリアルの作成において、7モジュールを作成した。さらに、残留溶媒ガイドラインQ3Cの追補文書ではStep2文書が合意され、パブリックコメントを行った〔厚生労働科学研究費補助金〕。

#### 8. 免疫毒性評価試験法Multi-ImmunoTox assayの国際validationへ向けての検討

新たなin vitro免疫毒性評価試験法（Multi-ImmunoTox assay：MITA）のOECD（Organisation for Economic Co-operation and Development）試験法ガイドラインとしての公定化を目指し、国際バリデーションに向けた活動を行った。国際的な専門家を招聘して本試験法に対して意見を求めた〔厚生労働科学研究費補助金〕。

#### 9. 既存化学物質の反復投与毒性及び生殖発生毒性に関する研究

ベータプロモスチレンの28日間反復投与毒性試験の結果を論文化した〔一般試験研究費〕。

#### 10. 次世代抗体医薬品等の品質・安全性評価法の開発：製法変更に伴う製剤中化学物質等の安全性評価手法に関する研究

次世代抗体医薬品等のバイオ医薬品製造において、従来のステンレス製培養槽に代わり、プラスチック製品を主としたシングルユース製品等の利用が増えている。医薬品中への溶出化学物質等のリスク評価法に関する基本的な考え方の原案を作成すると共に、シングルユース製品から溶出する可能性のある化学物質リストを抽出した〔厚生労働科学研究委託費〕。

#### 11. 農薬の毒性評価における「毒性プロファイル」と「毒性発現量」の種差を考慮した毒性試験の新たな段階的評価手法の提言—イヌ慢性毒性試験とマウス発がん性試験の必要性について—

農薬評価書のある275剤について、マウスのみによる発がん性検出性やその妥当性（マウス特異性やヒトへの外挿性）、ADI設定における有用性等を解析し、ラットに加えマウス発がん性試験の必要性を評価した〔食品健康影響評価技術研究委託費〕。

#### 12. ヒトiPS分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究

胚性幹細胞またはヒト人工多能性幹細胞（iPS細胞）を用いた新規試験法の国際標準化に向け、国際標準化を見据えてバリデーションを行っている他の研究の動向とその方法を調査した〔日本医療研究開発機構研究費〕。

#### 13. 石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発

遺伝子発現変動データから各種毒性の発現可能性情報を取得する手法の開発および標的臓器毒性等の毒性やヒト代謝機能の影響を検出し得る細胞試験法（in vitro試験法）の開発及び、これら試験法等の複数の細胞試験法を迅速かつ効率的に実施可能なHTP試験システムの開発をプロジェクトリーダーとして支援した。〔経済産業省研究開発事業〕。

## 平成27年度所外研究員等の受け入れ名簿

## Researchers List in Fiscal Year 2015

## 平成27年度所外研究員等の受け入れ名簿

(客員研究員) 67名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
小沼博隆	公益社団法人日本食品衛生協会学術顧問	衛生微生物部	15.4.1		男	
井上和秀	九州大学大学院薬学研究院教授	薬理部	17.3.1		男	
熊谷健夫	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター	生薬部	17.4.1		男	
吉松嘉代	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター	生薬部	17.4.1		女	
測野裕之	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター	生薬部	17.4.1		男	
菱田敦之	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター	生薬部	17.4.1		男	
河野徳昭	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター	生薬部	17.4.1		男	
漆谷徹郎	同志社女子大学薬学部教授	毒性部	17.4.1	28.3.31	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	
渋谷淳	東京農工大学大学院教授	センター	19.4.1		男	
高鳥浩介	NPO法人カピ相談センター理事長	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	
小木美恵子	金沢工業大学バイオ・化学部応用バイオ学科教授	遺伝子医薬部	20.4.1		女	
天野富美夫	大阪薬科大学生体防御学研究室教授	食品衛生管理部	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	国立研究開発法人産業技術総合研究所安全科学研究部門招聘研究員	安全予測評価部	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	センター	20.12.1		男	
海老塚豊	東京大学大学院薬学系研究科名誉教授	生薬部	21.2.1		男	
宮田直樹	名古屋市立大学特任教授	有機化学部	21.3.1		男	
緒方宏泰	明治薬科大学薬学部名誉教授	薬品部	21.4.1		男	
澤田純一	(独)医薬品医療機器総合機構嘱託	医薬安全科学部	21.4.1		男	
川原信夫	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター長	生薬部	21.4.1		男	
降旗千恵	青山学院大学理工学部化学・生命科学科客員教授	遺伝子医薬部	21.12.1		女	
長谷川隆一	(独)医薬品医療機器総合機構新薬審査第5部嘱託	医薬安全科学部	22.4.1		男	
田口良	中部大生命健康科学部教授	医薬安全科学部	22.4.1	28.3.31	男	
三瀬勝利	(独)医薬品医療機器総合機構専門委員	衛生微生物部	22.5.1		男	
堀井郁夫	昭和大学薬学部客員教授	毒性部	22.10.1		男	
檜山行雄	元当所薬品部室長	薬品部	23.4.1		男	
西島正弘	昭和薬科大学学長	生化学部	23.4.1		男	
頭金正博	名古屋市立大学大学院教授	医薬安全科学部	23.4.1		男	
関田清司	(独)医薬品医療機器総合機構GLPエキスパート	センター	23.4.1		男	
種村健太郎	東北大学大学院農学系研究科教授	毒性部	23.7.1		男	
西尾俊幸	日本大学生物資源科学部教授	有機化学部	23.11.1		男	
能美健彦	国立研究開発法人日本医療研究開発機構創薬コーディネーター	センター	24.4.1		男	
鹿庭正昭	一般財団法人日本医薬情報センター事業部門・医薬文献情報担当	生活衛生化学部	24.4.1		男	
鈴木和博	(独)医薬品医療機器総合機構専門委員	再生・細胞医療製品部	24.4.1		男	
西村哲治	帝京平成大学薬学部教授	生活衛生化学部	24.4.1		男	
山崎壮	実践女子大学生活科学部教授	食品添加物部	24.4.1		男	
森川馨	帝京大学大学院薬学研究科教授	安全情報部	24.6.1	27.5.31	男	
廣瀬雅雄	元当所病理部長	病理部	24.7.1		男	
荒戸照世	北海道大学大学院医学研究科連携研究センター教授	再生・細胞医療製品部	25.10.31		女	
天倉吉章	松山大学薬学部教授	食品部	25.4.1		男	
鎌田洋一	岩手大学農学部共同獣医学科教授	衛生微生物部	25.4.1		男	
黒瀬光一	東京海洋大学大学院食品生産科学部門教授	医薬安全科学部	25.4.1		男	
小野寺博志	(独)医薬品医療機器総合機構毒性領域テクニカル・エキスパート	病理部	25.4.1		男	
松岡厚子	(独)医薬品医療機器総合機構テクニカルエキスパート	医療機器部	25.4.1		女	
山本茂貴	東海大学海洋学部水産学科食品科学専攻教授	食品衛生管理部	25.4.1		男	
小西良子	麻布大生命・環境科学部食品生命科学科教授	衛生微生物部	25.4.1		女	



氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
福原 潔	昭和大学薬学部教授	有機化学部	25.4.1		男	
四方田千佳子	一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団大阪事業部副所長	薬品部	25.4.1		女	
小園 知	神奈川県歯科大学客員教授	医療機器部	25.6.3	28.3.31	男	
安食菜穂子	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター研究員	生薬部	25.11.1		女	
岩崎 清隆	早稲田大学理工学術院教授	医療機器部	25.6.3		男	
児玉 幸夫	元当所毒性部主任研究官	センター	26.4.1		男	
片倉 健男	(独) 科学技術振興機構プログラムオフィサー	再生・細胞医療製品部	26.4.1		男	
鹿庭 なほ子	一般財団法人日本医薬情報センター嘱託	医薬安全科学部	26.4.1		女	
松木 則夫	東京大学名誉教授	薬理部	26.8.1		男	
宮原 誠	元当所企画調整主幹付主任研究官	生薬部	27.4.1	28.3.31	男	
神野 透人	名城大学薬学部教授	生活衛生化学部	27.4.1		男	
香川(田中) 聡子	横浜薬科大学薬学部教授	生活衛生化学部	27.4.1		女	
手島 玲子	(独) 医薬品医療機器総合機構嘱託	食品部	27.4.1		女	
山口 照英	日本薬科大学客員教授	衛生微生物部	27.6.1		男	
西川可穂子	中央大学商学部教授	遺伝子医薬部	27.7.1		女	
三森 国敏	東京農工大学名誉教授	センター	28.1.1		男	
中垣 俊郎	京都府立大学大学院医学研究科教授	医薬安全科学部	28.2.1		男	
知久馬 敏幸	昭和薬科大学教授	薬品部	28.2.28		男	
山田 友紀子	農林水産省顧問	安全情報部	28.3.1		女	

## (協力研究員) 57名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
壺井 功	日本大学医学部准教授	毒性部	11.4.1		男	
清水 雅富	東京医療保健大学准教授	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特別任用助教	毒性部	17.4.1	28.3.31	女	
糸数 七重	日本薬科大学講師	生薬部	18.4.1		女	
平澤 祐介	星薬科大学生薬学教室助教	生薬部	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	
袴田 航	日本大学生物資源科学部准教授	有機化学部	19.5.1		男	
好村 守生	松山大学薬学部助教	食品添加物部	19.11.1	27.10.31	男	
安藤 剛	(独) 医薬品医療機器総合機構新薬審査第4部審査役	生物薬品部	20.4.1		男	
北村 勝	名古屋大学大学院医学系研究科招聘教員	食品衛生管理部	20.8.1	27.7.31	男	
齋藤 充生	帝京平成大学薬学部准教授	医薬安全科学部	21.6.1		男	
高橋 治男	千葉大学真菌医学研究センター非常勤講師	衛生微生物部	22.2.1		男	
佐藤 里絵	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構主任研究員	生化学部	22.8.1		女	
鳥谷部 貴祥	(独) 医薬品医療機器総合機構安全第二部調査専門員	医薬安全科学部	24.4.1		男	
鄭 美和	北里大学北里生命科学研究所特任助教	生薬部	24.5.1	27.4.30	女	
高田 のぞみ	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所研究調整専門員	再生・細胞医療製品部	24.10.1		女	
児玉 進	東北大学大学院薬学系研究科助教	医薬安全科学部	24.10.1		男	
中村 孝司	北海道大学大学院薬学研究科助教	薬品部	24.11.1		男	
齋藤 充弘	大阪大学医学部附属病院未来医療開発部未来医療センター講師	再生・細胞医療製品部	24.11.1		男	
伊東 絵望子	大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科学特任研究員	再生・細胞医療製品部	24.11.1		女	
若菜 大悟	星薬科大学薬化学教室助教	生薬部	25.1.1		男	
脇本 敏幸	東京大学大学院薬学系研究科准教授	生薬部	25.2.1	28.1.31	男	
五十嵐 友香	国立成育医療研究センター成育遺伝研究部研究員	遺伝子医薬部	25.2.1	27.8.31	女	
中村 克徳	名古屋市立大学大学院薬学系研究科臨床薬学分野准教授	医薬安全科学部	25.2.1	28.1.31	男	
栗林 亮佑	(独) 医薬品医療機器総合機構ジェネリック医薬品等審査部審査専門員	生物薬品部	25.4.1		男	
大庭 誠	長崎大学大学院医歯薬総合研究科准教授	有機化学部	25.4.1		男	
梶本 和昭	北海道大学大学院薬学研究院未来創剤学研究室特任准教授	薬品部	24.5.1	28.3.31	男	
中島 啓行	国立成育医療研究センター研究員	再生・細胞医療製品部	25.6.1		男	
熊田 秀文	神奈川県歯科大学准教授	医療機器部	25.6.3		男	

中島晴信	元大阪府立公衆衛生研究所主任研究員	生活衛生化学部	25.8.1			男	
馬渡力	(独) 医薬品医療機器総合機構安全第二部調査専門員	医薬安全科学部	25.11.1	27.10.31		男	
伊藤裕才	共立女子大学家政学部准教授	食品添加物部	26.4.1			男	
張替直輝	日本大学薬学部准教授	食品添加物部	26.4.1			男	
花谷忠昭	厚生労働省保険局医療課課長補佐	医薬安全科学部	26.4.1	28.3.31		男	
黒澤努	鹿児島大学客員教授	医療機器部	26.7.1			男	
奥平桂一郎	徳島大学医歯薬学研究部准教授	遺伝子医薬部	26.7.1			男	
桶本和男	名古屋市立大学大学院特任助教	医薬安全科学部	26.8.1			男	
藤麗達	東京大学大学院薬学系研究科特任研究員	生薬部	26.11.1	27.10.31		女	
額賀明子	国立国際医療研究センター病院医師	病理部	26.12.1			女	
櫻井京子	(独) 医薬品医療機器総合機構再生医療製品等審査部審査専門員	生物薬品部	27.4.1			女	
佐々木澄美	大阪大学大学院特任研究員	遺伝子医薬部	27.4.1			女	
井上貴雄	国立研究開発法人日本医療研究開発機構規制科学・臨床研究支援室長	遺伝子医薬部	27.4.1			男	
添田麻由実	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所研究調整専門員	再生・細胞医療製品部	27.6.1	28.3.31		女	
豊田淑江	日本薬科大学非常勤職員	衛生微生物部	27.6.1			女	
林真理子	慶應義塾大学医学部薬理学教室助教	薬理部	27.6.1			女	
白畑辰弥	北里大学薬学部講師	生薬部	27.7.1			男	
于洋	暨南大学薬学院助教	生薬部	27.10.1			女	
大嶋直浩	国際医療福祉大学薬学部助教	生薬部	27.10.1			男	
関澤信一	(独) 医薬品医療機器総合機構新薬審査第二部主任専門員	薬理部	27.10.1			男	
福地準一	(独) 医薬品医療機器総合機構レギュラトリーサイエンス推進部審査専門員	変異遺伝部	27.10.1			男	
平林啓司	(独) 医薬品医療機器総合機構新薬審査第二部審査専門員	変異遺伝部	27.10.1			男	
築茂由則	McGill University Reseach Associate	遺伝子医薬部	27.11.1	28.2.29		男	
川崎淳史	(独) 医薬品医療機器総合機構安全第二部調査専門員	医薬安全科学部	27.11.1			男	
渡邊健	東京医科歯科大学発生発達病態学分野特任助教	衛生微生物部	28.1.1			男	
湯之前雄太	東京医科歯科大学再生医療研究センター技術補佐員	衛生微生物部	28.1.1			男	
梶川揚申	東京農業大学助教	食品衛生管理部	28.2.1			男	
三枝大輔	東北大学東北メディカル・メガバンク機構講師	医薬安全科学部	28.2.1			男	

## (リサーチ・レジデント) 7名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
山本詩織	公益財団法人日本食品衛生学会	食品衛生管理部	26.6.1		女	
原矢佑樹	国立研究開発法人日本医療研究開発機構	薬品部	27.4.1		男	
高倉美智子	国立研究開発法人日本医療研究開発機構	生物薬品部	27.4.1		女	
草川森士	国立研究開発法人日本医療研究開発機構	再生・細胞医療製品部	27.4.1	28.2.29	男	
久保祐亮	国立研究開発法人日本医療研究開発機構	薬理部	27.4.1		男	
清水英雄	国立研究開発法人日本医療研究開発機構	薬理部	27.4.1		男	
大垣総一郎	国立研究開発法人日本医療研究開発機構	薬理部	27.4.1	28.2.29	男	

## (日本学術振興会特別研究員) 1名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
森下裕貴	(独) 日本学術振興会	医療機器部	27.4.1		男	

## (日本学術振興会外国人特別研究員) 1名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
KUCHTA, K	(独) 日本学術振興会	生薬部	27.4.1		男	

## (研究生) 44名

氏名	依頼者	受入部	入所	退所	性別	備考
小沼ルミ	地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター理事長	衛生微生物部	21.4.13	28.3.31	女	

松下幸平	鹿児島大学共同獣医学部教授	病 理 部	23.5.1	27.4.30	男	
黒田 顕	岐阜大学応用生物科学部教授	病 理 部	23.10.1	27.9.30	男	
鈴木 勇	岐阜大学大学院連合獣医学研究科長	病 理 部	24.10.1		男	
藤巻 日出夫	一般財団法人民生科学協会理事長	生活衛生化学部	25.4.1		男	
市村 亮平	東京農工大学教授	病 理 部	25.4.1	28.3.31	男	
藤澤 彩乃	東京大学大学院工学系研究科教授	医療機器部	25.6.3		女	
山崎 佳世	一般財団法人民生科学協会理事長	医療機器部	25.6.3		女	
平田 直	昭和大学薬学部教授	病 理 部	25.11.1		男	
横尾 諭	岐阜大学応用生物科学部教授	病 理 部	25.9.17	27.9.16	男	
間中 友美	和洋女子大学教授	食品衛生管理部	26.1.6	28.3.31	女	
麻薙 美紀	横浜国立大学大学院工学研究院教授	薬 理 部	26.4.1	28.3.22	女	
渡辺 美遥	麻布大生命・環境科学部教授	食品衛生管理部	26.4.1	28.3.23	女	
中村 和真	麻布大生命・環境科学部教授	衛生微生物部	26.4.1	28.3.31	男	
榑木 真吾	明治大学准教授	食品衛生管理部	26.4.7		男	
土屋 卓磨	岐阜大学大学院連合獣医学研究科長	病 理 部	26.4.1		男	
田中 健一	東京農業大学大学院農芸化学専攻教授	食品衛生管理部	26.4.18	28.3.31	男	
風間 崇吾	麻布大学獣医学部教授	薬 理 部	26.4.14	28.3.31	男	
赤間 一望	明治大学農学部准教授	食品衛生管理部	26.4.23	28.3.31	男	
山下 博子	東京工業大学学長	有機化学部	26.4.25	28.3.31	女	
依岡 桃子	工学院大学学長	有機化学部	26.5.7	28.3.31	女	
桑田 和倫	東京農工大学農学部獣医学科教授	病 理 部	26.8.1		男	
吉村 昌徳	一般財団法人日本冷凍食品検査協会理事長	食品衛生管理部	27.2.5	27.8.21	男	
須田 貴之	一般財団法人日本食品分析センター理事長	食品衛生管理部	27.4.1	27.12.28	男	
熊谷 美穂	麻布大学獣医学部教授	薬 理 部	27.4.1	28.3.31	女	
土切 美穂	横浜国立大学大学院工学研究院教授	生 化 学 部	27.4.1		女	
小菅 大嗣	麻布大生命・環境科学部教授	食品衛生管理部	27.4.1		男	
富川 拓海	帝京科学大学生命環境学部教授	食品衛生管理部	27.4.1		男	
藤里 卓磨	東京薬科大学大学院生命科学研究科長	有機化学部	27.4.1		男	
市原 麻由	東北大学大学院薬学研究科教授	医薬安全科学部	27.4.3		女	
関根 侑	東京農業大学生物応用化学科学科長	食品衛生管理部	27.4.6		男	
豊田 淑江	日本薬科大学客員教授	衛生微生物部	27.4.13	27.5.31	女	
田中 克哉	東京工業大学学長	有機化学部	27.4.13	27.9.30	男	
沖津 航陽	東京工業大学学長	有機化学部	27.4.28		男	
成田 和人	横浜国立大学教授	安全予測評価部	27.5.1		男	
九十九 英恵	横浜国立大学教授	安全予測評価部	27.5.1		女	
尾山 実砂	北里大学薬学部教授	薬 理 部	27.5.1		女	
三浦 ななみ	一般財団法人日本冷凍食品検査協会理事長	食 品 部	27.7.1	28.3.31	女	
積田 優一郎	一般社団法人日本貨物検数協会代表理事会長	食 品 部	27.7.1	27.7.7	男	
曾根 瑞季	東京農工大学農学部獣医学科教授	病 理 部	27.8.1		女	
安河内 彩	一般財団法人日本冷凍食品検査協会理事長	食品衛生管理部	27.9.1	28.1.27	女	
時 亮	筑波大学大学院人間総合科学研究科教授	病 理 部	27.10.1		女	
加藤 巧馬	長崎大学薬学部教授	有機化学部	28.1.18	28.2.19	男	
森 篤志	一般財団法人日本冷凍食品検査協会理事長	食品衛生管理部	28.2.1		男	

(実習生) 57名

氏 名	依 頼 者	受 入 部	入所	退 所	性 別	備 考
小針 彩奈	北里大学薬学部薬理学教室教授	薬 理 部	26.2.5	28.3.31	女	
片倉 明日美	北里大学薬学部薬理学教室教授	薬 理 部	26.2.5	28.3.31	女	
笠原 のぞみ	北里大学薬学部薬理学教室教授	薬 理 部	26.2.5	28.3.31	女	
照山 晏菜	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	26.4.1	28.2.29	女	
高松 美奈	麻布大学獣医学部教授	薬 理 部	26.4.14	28.3.31	女	
高橋 信人	豊橋技術科学大学講師	薬 理 部	26.4.15	28.1.31	男	

瀧波 磨理江	日本大学薬学部教授	薬品部	26.6.1	27.5.29	女
古山 祐輔	帝京科学大学生命環境学部教授	食品衛生管理部	26.9.1	28.3.31	男
道坂 瑛	東京バイオテクノロジー専門学校校長	変異遺伝部	26.10.15	28.2.29	男
西原 麻有子	慶應義塾大学薬学部薬学教育研究センター准教授	薬理部	26.12.1	27.11.30	女
田中 崇裕	慶應義塾大学薬学部薬学教育研究センター准教授	薬理部	27.2.10	27.8.31	男
須知 由未子	北里大学薬学部薬理学教室教授	薬理部	27.2.3		女
石原 加織	北里大学薬学部薬理学教室教授	薬理部	27.2.3	27.11.30	女
小原 悠	北里大学薬学部薬理学教室教授	薬理部	27.2.3		男
小澤 佑斗	日本大学生物資源科学部長	有機化学部	27.2.12	28.3.31	男
安部 友絵	東京医薬専門学校学校長	生活衛生化学部	27.4.1	28.2.29	女
佐藤 拓人	東京医薬専門学校学校長	生活衛生化学部	27.4.1	28.3.31	男
矢代 和史	東京医薬専門学校学校長	生活衛生化学部	27.4.1	28.3.31	男
高田 絵理	東京医療保健大学副学長	変異遺伝部	27.4.1	28.3.31	女
川井 亜由葉	明治薬科大学学長	生物薬品部	27.4.1	28.3.31	女
新井 聡太	明治薬科大学学長	生物薬品部	27.4.1	28.3.31	男
木口 恵理	明治薬科大学学長	生物薬品部	27.4.1	28.3.31	女
市川 裕司	明治薬科大学学長	食品添加物部	27.4.1	28.3.23	男
公久 瀬綾香	明治薬科大学学長	食品添加物部	27.4.1	28.3.24	女
小寺 梓	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	27.4.1	27.8.31	女
竹内 惇	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	27.4.1	27.12.25	男
濱津 由里菜	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	27.4.1	28.3.24	女
長谷川 滉	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	27.4.1	27.8.31	男
堀田 彩乃	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	27.4.1	27.12.25	女
鈴木 貴文	明治薬科大学学長	食品衛生管理部	27.4.1	28.3.23	男
富田 紘希	明治薬科大学学長	衛生微生物部	27.4.1	28.3.31	男
栗原 瑞季	北里大学理学部教授	生活衛生化学部	27.4.1	28.2.29	女
野口 佳嵩	麻布大学生命・環境科学部教授	食品添加物部	27.4.1	28.3.7	男
國井 成則	麻布大学生命・環境科学部教授	食品添加物部	27.4.1	28.3.7	男
平田 瑞生	日本大学生物資源科学部部長	食品添加物部	27.4.1	28.3.31	女
市橋 直樹	日本大学生物資源科学部部長	食品添加物部	27.4.1	28.2.17	男
田形 卓巳	麻布大学生命・環境科学部教授	食品衛生管理部	27.4.1	27.8.6	男
木村 浩紀	東京農業大学農学部教授	食品衛生管理部	27.4.1	27.12.21	男
有路由 佳	麻布大学生命・環境科学部教授	食品衛生管理部	27.4.1	28.2.19	女
野田 大樹	麻布大学生命・環境科学部教授	食品衛生管理部	27.4.1	28.2.19	男
磯 陽子	麻布大学生命・環境科学部教授	食品衛生管理部	27.4.1	28.2.19	女
鈴木 結子	麻布大学生命・環境科学部教授	衛生微生物部	27.4.1	28.3.15	女
鈴木 恵理	麻布大学生命・環境科学部教授	衛生微生物部	27.4.1	28.3.15	女
藤原 真理奈	麻布大学生命・環境科学部教授	衛生微生物部	27.4.1	28.3.1	女
梅田 歩希	共立女子大学教授	衛生微生物部	27.4.1	28.3.31	女
布施谷 実聡	共立女子大学教授	生化学部	27.4.1	28.2.29	女
町井 香苗	共立女子大学教授	生化学部	27.4.1	28.2.29	女
木嶋 麻乃	共立女子大学学長	食品添加物部	27.4.1	28.2.29	女
宮原 彩花	麻布大学生命・環境科学部教授	衛生微生物部	27.4.1	28.3.31	女
大野 祐美	帝京科学大学生命環境学部生命科学科教授	食品衛生管理部	27.4.1	28.3.14	女
三上 哲理	豊橋技術科学大学環境生命工学系講師	薬理部	27.7.1	28.2.25	男
清水 夏貴	東海大学海洋学部教授	食品衛生管理部	27.9.1	28.2.4	男
坂井 優美	帝京科学大学教授	食品衛生管理部	27.10.1		女
馬場 楓	慶應義塾大学薬学部准教授	薬理部	28.1.15		女
梅園 誠	北里大学薬学部教授	薬理部	28.2.16		男
関口 敬洋	北里大学薬学部教授	薬理部	28.2.16		男
葩島 一史	日本大学生物資源科学部部長	有機化学部	28.2.23		男

Morita H\*, Nishino H\*, Nakajima Y\*, Kakubari Y\*, Nakata A\*, Deguchi J\*, Nugroho AE\*, Hirasawa Y\*, Kaneda T\*, Kawasaki Y, Goda Y: Oxomollugin, a potential inhibitor of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production including nuclear factor kappa B signals.

*J Nat Med.* 2015;69:608-11.

Mollugin, a naphthoquinone derivative, was reported to possess various biological activities such as anti-inflammatory and anti-tumor activity. Mollugin isolated from *Rubia tinctorum* roots inhibited lipopolysaccharide induced nitric oxide (NO) production in RAW264.7 macrophages. However, mollugin synthesized for further investigation of its anti-inflammatory mechanism showed weak activity in addition to unstable assay results. From the result of analysis on a degradation product of mollugin, oxomollugin was found to be the main active substance of mollugin degradation, showing a potent inhibitory activity on NO-production including nuclear factor kappa B signals.

Keywords: oxomollugin, iNOS, inflammation

\* Faculty of Pharmaceutical Science, Hoshi University

Nishino H\*, Nakajima Y\*, Kakubari Y\*, Asami N\*, Deguchi J\*, Nugroho AE\*, Hirasawa Y\*, Kaneda T\*, Kawasaki Y, Goda Y, Morita H\*: Syntheses and anti-inflammatory activity of azamollugin derivatives.

*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2016;26:524-5.

Oxomollugin (2) is a degradation product of mollugin and a potent inhibitor of NO-production including nuclear factor kappa B signals. In our endeavor to develop a potent anti-inflammatory compound, we synthesized several aza-derivatives of oxomollugin and evaluated their NO-production inhibitory activity. Azamollugin showed a potent inhibitory activity, and its activity (IC<sub>50</sub> 0.34 M) was proved to be more potent than that of oxomollugin (IC<sub>50</sub> 1.3 μM).

Keywords: Azamollugin, Anti-inflammation, NO-production inhibitor

\* Faculty of Pharmaceutical Science, Hoshi University

伏見直子\*<sup>1,2</sup>, 安食菜穂子\*<sup>3</sup>, 伏見裕利\*<sup>4</sup>, 御影雅幸\*<sup>5</sup>, 合田幸広, 川原信夫\*<sup>3</sup>: 分光測色計を用いた生薬滑石の識別に関する研究.

*生薬学雑誌* 2016;70:10-6.

“Kasseki” is defined as “a mineral substance, mainly composed of aluminum silicate hydrate and silicon dioxide. It is not the same substance with the mineralogical talc” in The Japanese Pharmacopoeia (JP). While, “Huashi” is defined as “mainly hydrated magnesium silicate” in Pharmacopoeia of The People’s Republic of China (CP). Thus, the origins of Kasseki defined in JP (JP Kasseki) and Huashi defined in CP (CP Huashi) are different from each other even though they are highly similar on morphological characteristics. The Kasseki distributed in the market and used in Japan is almost completely imported from China. Previously, we have found that Japanese and Chinese markets have at least six (one is in Japan and five are in China) types of these mineral crude drugs (Types A-F) by using X-ray diffraction method. These facts suggest that mineral crude drugs other than JP Kasseki may be mistakenly imported as Kasseki from the Chinese market to Japan in the future responding to increased demand. In this paper, for development a new simple and easy method for discrimination of the six types of this mineral crude drugs, we investigated their color by using spectrophotometer about L\*, a\*, b\* values as defined CIE 1976 L\*a\*b\* Color system. Among six types, it was difficult to distinguish each other because we observed only slight difference of value among them, and the value of some parameters differed widely. On the other hand, the result suggested that it would be possible to discriminate Type A (JP Kasseki) from Type D (CP Huashi) by using this method. Furthermore, we examined ten samples of Type A and Type D, and the significant difference were recognized on each L\*, a\* and b\* values. These data suggested that the method by using spectrophotometer is valid for the discrimination JP Kasseki from CP Huashi.

Keywords: Kasseki, Huashi, Pharmacopoeia

\*<sup>1</sup> 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科

\*<sup>2</sup> 株式会社ウチダ和漢薬

\*<sup>3</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研

究センター

\*4 富山大学和漢医薬学総合研究所附属民族薬物研究センター

\*5 東京農業大学農学部バイオセラピー学科

Shibata H, Izutsu K, Yomota C, Okuda H, Goda Y: Investigation of factors affecting in vitro doxorubicin release from PEGylated liposomal doxorubicin for the development of in vitro release testing conditions.

*Drug Dev Ind Pharm.* 2015;41:1376-86.

Establishing appropriate drug release testing methods of liposomal products for assuring quality and performance requires the determination of factors affecting in vitro drug release. In this study, we investigated the effects of test conditions (human plasma lot, pH/salt concentration in the test media, dilution factor, temperature, ultrasound irradiation, etc.), and liposomal preparation conditions (pH/concentration of ammonium sulfate solution), on doxorubicin (DXR) release from PEGylated liposomal DXR. Higher temperature and lower pH significantly increased DXR release. The evaluation of DXR solubility indicated that the high DXR release induced by low pH may be attributed to the high solubility of DXR at low pH. Ultrasound irradiation induced rapid DXR release in an amplitude-dependent manner. The salt concentration in the test solution, human plasma lot, and dilution factor had a limited impact on DXR-release. Variations in the ammonium sulfate concentration used in solutions for the formation/hydration of liposomes significantly affected DXR release behavior, whereas differences in pH did not. In addition, heating condition in phosphate-buffered saline at lower pH (<6.5) exhibited higher discriminative ability for the release profiles from various liposomes with different concentrations of ammonium sulfate than did ultrasound irradiation. These results are expected to be helpful in the process of establishing appropriate drug release testing methods for PEGylated liposomal DXR.

Keywords: doxorubicin, in vitro drug release, liposome

Yoshida H, Kuwana A, Shibata H, Izutsu K, Goda Y: Particle image velocimetry evaluation of fluid flow profiles in USP 4 flow-through dissolution cells.

*Pharm Res.* 2015;32:2950-9.

PURPOSE: To evaluate fluid flow profiles in the

flow-through cell (FTC, USP apparatus 4) system with pulsatile and non-pulsatile pumps. METHODS: Instantaneous velocity vectors in the dissolution cells were obtained from images sequentially captured by a particle image velocimetry (PIV) system. The data were sorted to follow the pump pulse cycle. RESULTS: The analysis showed changes in the flow profiles during a pump pulse (0.5 s) at a 0.025-s interval in two sizes of cells installed in the FTC system. Supplying a slow flow from the pulsatile pump induced instantaneous downward (inner layer) and upward (outer layer) flow in the larger cell during the suction phase. Analysis at varied medium and cell temperatures strongly suggested a contribution of natural convection to the complex flow caused by relatively high cell temperature. Uniform upward flow was observed in other cells and flow rate conditions. The time-averaged vertical velocities in the cells were similar in the pulsatile and non-pulsatile pump systems. CONCLUSIONS: The PIV analysis provides information on how flow rate and pump pulse affect fluid flow profiles at multiple points in flow-through dissolution cells. An appropriate temperature control should reduce the complex flow of the medium in the FTC system.

Keywords: flow-through cell dissolution testing, hydrodynamics, pulsatile pump

Fujii K<sup>\*1,2</sup>, Izutsu K, Kume M<sup>\*1</sup>, Yoshino T<sup>\*1</sup>, Yoshihashi Y<sup>\*1</sup>, Sugano K<sup>\*1</sup>, Terada K<sup>\*1</sup>: Physical characterization of meso-erythritol as a crystalline bulking agent for freeze-dried formulations.

*Chem Pharm Bull.* 2015;63:311-7.

The purpose of this study was to identify and characterize new crystalline bulking agents applicable to freeze-dried pharmaceuticals. Thermal analysis of heat-melt sugar and sugar alcohol solids as well as their frozen aqueous solutions showed high crystallization propensity of meso-erythritol and D-mannitol. Experimental freeze-drying of the aqueous meso-erythritol solutions after their cooling by two different methods (shelf-ramp cooling and immersion of vials into liquid nitrogen) resulted in cylindrical crystalline solids that varied in appearance and microscopic structure. Powder X-ray diffraction and thermal analysis indicated different crystallization processes of meso-erythritol depending on the extent of cooling. Cooling

of the frozen meso-erythritol solutions at temperatures lower than their  $T_g'$  (glass transition temperature of maximally freeze-concentrated phase,  $-59.7^\circ\text{C}$ ) induced a greater number of nuclei in the highly concentrated solute phase. Growth of multiple meso-erythritol anhydride crystals at around  $-40^\circ\text{C}$  explains the powder-like fine surface texture of the solids dried after their immersion in liquid nitrogen. Contrarily, shelf-ramp cooling of the frozen solution down to  $-40^\circ\text{C}$  induced an extensive growth of the solute crystal from a small number of nuclei, leading to scale-like patterns in the dried solids. An early transition of the freezing step into primary drying induced collapse of the non-crystalline region in the cakes. Appropriate process control should enable the use of meso-erythritol as an alternative crystalline bulking agent in freeze-dried formulations.

Keywords: crystallization, freeze-drying, thermal analysis

---

\*<sup>1</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

\*<sup>2</sup> POLA Pharma Inc.

Shibata H, Yoshida H, Izutsu K, Haishima Y, Kawanishi T, Okuda H, Goda Y: Interaction kinetics of serum proteins with liposomes and their effect on phospholipase-induced liposomal drug release. *Int J Pharm.* 2015;495:827-39.

We used surface plasmon resonance (SPR) to measure the affinity and kinetics of the interaction between serum proteins and both conventional and PEGylated liposomes. The effect of the interactions on secretory phospholipase A2 (sPLA2)-induced release of a model drug from liposomes was also assessed. SPR analysis of 12 serum proteins revealed that the mode of interaction between serum proteins and liposomes greatly varies depending on the type of protein. For example, albumin bound to liposomes at slower association/dissociation rates with higher affinity and prevented sPLA2-induced drug release from PEGylated liposomes. Conversely, fibronectin bound at faster association/dissociation rates with lower affinity and demonstrated little impact on the drug release. These results indicate that the effect of serum proteins on sPLA2 phospholipid hydrolysis varies with the mode of interaction between proteins and liposomes. Understanding how the proteins interact with

liposomes and impact sPLA2 phospholipid hydrolysis should aid the rational design of therapeutic liposomal formulations.

Keywords: liposomes, surface plasmon resonance, phospholipase A2

Sasakura D<sup>\*1</sup>, Nakayama K<sup>\*2</sup>, Sakamoto T, Chikuma T<sup>\*1</sup>: Strategic development of a multivariate calibration model for the uniformity testing of tablets by transmission NIR analysis.

*Pharmazie* 2015;70:289-95.

The use of transmission near infrared spectroscopy (TNIRS) is of particular interest in the pharmaceutical industry. This is because TNIRS does not require sample preparation and can analyze several tens of tablet samples in an hour. It has the capability to measure all relevant information from a tablet, while still on the production line. However, TNIRS has a narrow spectrum range and overtone vibrations often overlap. To perform content uniformity testing in tablets by TNIRS, various properties in the tableting process need to be analyzed by a multivariate prediction model, such as a Partial Least Square Regression modeling. One issue is that typical approaches require several hundred reference samples to act as the basis of the method rather than a strategically designed method. This means that many batches are needed to prepare the reference samples; this requires time and is not cost effective. Our group investigated the concentration dependence of the calibration model with a strategic design. Consequently, we developed a more effective approach to the TNIRS calibration model than the existing methodology.

Keywords: content uniformity testing, tablet analyses, near Infrared spectroscopy

---

\*<sup>1</sup> Showa Pharmaceutical University

\*<sup>2</sup> Towa Pharmaceutical Co.

Yamamoto Y<sup>\*1</sup>, Fukami T<sup>\*2</sup>, Koide T, Onuki Y<sup>\*3</sup>, Suzuki T<sup>\*4</sup>, Katori N, Tomono K<sup>\*4</sup>: Studies on Uniformity of the Active Ingredients in Acetaminophen Suppositories Re-solidified after Melting under High Temperature Conditions. *Chem Pharm Bull.* 2015;63:263-72.

The target of the present pharmaceutical study was the antipyretic analgesic, acetaminophen;

its suppository form is usually split when used in pediatric patients. We focused on the active ingredient uniformity in these products, which were re-solidified after melting under high temperature condition. When sections of the cut surfaces of the seven acetaminophen suppository products (SUP-A-G) commercially available in Japan were visualized by polarized microscopy, acetaminophen crystals that were dispersed in the base were identified. The results of the quantitative determination of agent concentration for each cut portion (mg/g) suggested uniform dispersion of these crystals in the base of each product. The agent concentration in each portion of the suppositories that was re-solidified after melting at high temperatures was measured. Segregation of the active ingredient was observed in four products at a temperature of 40 ° C for 1 h, while active ingredient uniformity was maintained in the other three products (SUP-C, SUP-F and SUP-G). The latter three products also showed high viscosity at 40 ° C. At 50 ° C for 4 h, only the uniformity of the active ingredient in SUP-C was maintained. These results suggest that the uniformity of the active ingredient is lost in some acetaminophen suppositories that were re-solidified after melting under high temperature conditions. The degree of loss varies depending on the product.

Keywords: Suppository, Acetaminophen, Uniformity

\*1 Teikyo Heisei University

\*2 Meiji Pharmaceutical University

\*3 Hoshi University

\*4 Nihon University

Onuki Y<sup>\*1</sup>, Funatani C<sup>\*1</sup>, Yokawa T<sup>\*2</sup>, Yamamoto Y<sup>\*3</sup>, Fukami T<sup>\*4</sup>, Koide T, Obata Y<sup>\*1</sup>, Takayama K<sup>\*1</sup>: Magnetic resonance imaging of the phase separation in mixed preparations of moisturizing cream and steroid ointment after centrifugation.

*Chem Pharm Bull.* 2015;63:377-83.

A mixed preparation consisting of a water-in-oil emulsion-type moisturizing cream and a steroid ointment is frequently prescribed for the treatment of atopic dermatitis. We have investigated the compatibility of moisturizing creams and ointments because there are concerns regarding the physical stability of these mixed preparations. The key technology used in this study was magnetic resonance

imaging (MRI). A commercial moisturizing cream and white petrolatum or clobetasone butyrate (CLB) ointment samples were mixed in a weight ratio of 1 : 1. A centrifugation test protocol (20000 × g for 3 min) was implemented to accelerate the destabilization processes in the samples. After centrifugation, the mixed preparations separated into three distinct layers (upper, middle, and lower), while no phase separation was observed using moisturizing cream alone. The phase separation was monitored using chemical shift selective images of water and oil and quantitative T2 maps. In addition, MR and near-infrared spectroscopy were employed for component analysis of each phase-separated layer. Collectively, it was confirmed that the lower layer contained water, oils, and organic solvent, while the upper and middle layers were composed solely of oils. Furthermore, this study investigated the distribution of CLB in the phase-separated samples and showed that a heterogeneous distribution existed. From our results, it was confirmed that the mixed preparation became unstable because of the incompatibility of the moisturizing cream and ointment. Keywords: Mixed external preparation, Magnetic resonance spectroscopy, MR imaging

\*1 Hoshi University

\*2 Bio View Corporation

\*3 Teikyo Heisei University

\*4 Meiji Pharmaceutical University

Koide T, Yamamoto Y<sup>\*1</sup>, Fukami T<sup>\*2</sup>, Katori N, Okuda H, Hiyama Y: Analysis of Distribution of Ingredients in Commercially Available Clarithromycin Tablets Using Near-Infrared Chemical Imaging with Principal Component Analysis and Partial Least Squares.

*Chem Pharm Bull.* 2015;63:663-8.

The aim of this study was to evaluate pharmaceuticals using a near-infrared chemical imaging (NIR-CI) technique for visualizing the distribution of ingredients in solid dosage forms of commercially available clarithromycin tablets. The cross section of a tablet was measured using the NIR-CI system for evaluating the distribution of ingredients in the tablet. The chemical images were generated by performing multivariate analysis methods: principal component analysis (PCA) and partial least squares



(PLS) with normalized near-infrared(NIR) spectral data. We gained spectral and distributional information related to clarithromycin, cornstarch, and magnesium stearate by using PCA analysis. On the basis of this information, the distribution images of these ingredients were generated using PLS analysis. The results of PCA analysis enabled us to analyze individual components by using PLS even if sufficient information on the products was not available. However, some ingredients such as binder could not be detected using NIR-CI, because their particle sizes were smaller than the pixel size (approximately  $25 \times 25 \times 50 \mu\text{m}$ ) and they were present in low concentrations. The combined analysis using both PCA and PLS with NIR-CI was useful to analyze the distribution of ingredients in a commercially available pharmaceutical even when sufficient information on the product is not available.  
Keywords: near-infrared, chemical imaging, clarithromycin

---

\*<sup>1</sup> Teikyo Heisei University

\*<sup>2</sup> Meiji Pharmaceutical University

Hisada H<sup>\*1</sup>, Inoue M<sup>\*1</sup>, Koide T, Carriere J<sup>\*2</sup>, Heyler R<sup>\*2</sup>, Fukami T<sup>\*1</sup>: Direct High-Resolution Imaging of Crystalline Components in Pharmaceutical Dosage Forms Using Low-Frequency Raman Spectroscopy. *Org Process Res Dev.* 2015;19:1796–8.

Crystalline forms of active pharmaceutical ingredients need to be clearly understood and characterized by the pharmaceutical industry to ensure the correct dosage is produced. In this study, we evaluated the crystalline form of two different pharmaceutical cocrystals and a physical mixture consisting of caffeine and 4-hydroxybenzoic acid using a Raman microscopy system equipped with a measurement module to access the low-frequency region. We also demonstrated the differences between a low-frequency Raman spectroscopy image of a cocrystal and its physical mixture in a pharmaceutical dosage form. The measured pharmaceutical dosage forms were: a prepared pharmaceutical cocrystal, a physical mixture, and microcrystalline cellulose. The spectral patterns of the cocrystal and physical mixture were easily distinguished in the low-frequency region of the Raman spectrum. Based on the spectrum of the cocrystal and physical mixture, two different

crystalline forms in the pharmaceutical dosage form were visualized using Raman microscopy. We concluded that low-frequency Raman spectroscopy is able to directly visualize the crystalline form of active pharmaceutical ingredients in pharmaceutical dosage forms without any pretreatment.

Keywords: Cocrystal, Low-frequency Raman microscopy, Imaging

---

\*<sup>1</sup> Meiji Pharmaceutical University

\*<sup>2</sup> Ondax Inc.

Fukami T<sup>\*1</sup>, Koide T, Hisada H<sup>\*1</sup>, Inoue M<sup>\*1</sup>, Yamamoto Y<sup>\*2</sup>, Suzuki T<sup>\*3</sup>, Tomono K<sup>\*3</sup>: Pharmaceutical evaluation of atorvastatin calcium tablets available on the Internet: a preliminary investigation of substandard medicines in Japan. *J Drug Deliv Sci Tec.* 2016;31:35-40.

Substandard medicine is a type of substandard/spurious/falsely labeled/falsified/counterfeit (SSFFC) drug as defined by the WHO that has permeated the distribution of drugs on the Internet, and is accessible without prescription. An influx of substandard medicines is thus a serious matter in many developed countries. Here, Lipitor and its generic drugs containing atorvastatin calcium (ATC), used for the treatment of hyperlipidemia worldwide, were selected as a model prescription drug. Six brands of ATC tablets were purchased from four Japanese-language web sites. Raman spectroscopy and powder X-ray diffraction (PXRD) were employed to determine ATC and ingredients in the tablets. Although PXRD measurements showed no diffraction peaks of ATC because of its low content, a handheld Raman spectrometer detected ATC in unmodified tablets (without crushing). The tablets were assayed for drug content and dissolution profile according to the Japanese Pharmacopoeia, and one product showed an obviously slower drug release. X-ray computed tomography (CT) showed the interior of the tablet in detail and suggested that massive agglomerations caused slow disintegration of the tablet. This is the first report applying X-ray CT to tablets obtained on the Internet and indicates that unqualified prescription drugs are easily distributed on the Internet without any quality assurance.

Keywords: Internet drugs, Atorvastatin tablets, X-ray

computed tomography

<sup>\*1</sup> Meiji Pharmaceutical University

<sup>\*2</sup> Teikyo Heisei University

<sup>\*3</sup> Nihon University

Imazato-Hirano M<sup>\*1</sup>, Taniguchi Y<sup>\*2</sup>, Kakehi M<sup>\*3</sup>, Kuze Y<sup>\*3</sup>, Nakamura T<sup>\*4</sup>, Minamide Y<sup>\*5</sup>, Miya K<sup>\*6</sup>, Hosogi J<sup>\*7</sup>, Katashima M<sup>\*8</sup>, Maekawa K<sup>\*9</sup>, Okuda H, Niimi S, Kawasaki N, Ishii-Watabe A, Katori N: Japanese bioanalytical method validation guideline: the world's first regulatory guideline dedicated to ligand-binding assays.

*Bioanalysis* 2015;7:1151-6.

After almost one and a half years of thorough discussion, 'The Guideline on Bioanalytical Method (Ligand Binding Assay) Validation in Pharmaceutical Development' was issued on 1 April 2014 from the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) of Japan [1]. This Guideline, hereinafter referred to as the 'MHLW LBA Guideline,' is the world's first regulatory guideline solely dedicated to ligand-binding assays (LBA) and became effective on 1 April 2015.

To develop the MHLW LBA Guideline, its supplemental Q&A Document [2] and their English translation [3], the authors have worked in the Study Group of MHLW and its affiliated LBA Working Group, representing the regulatory agency and industries. This manuscript provides an overview of the developing process of the MHLW LBA Guideline and the highlights of key issues.

Keywords: LBA, BMV Guideline, Regulated Bioanalysis

<sup>\*1</sup> Novartis

<sup>\*2</sup> Toray Research Center

<sup>\*3</sup> Takeda Pharmaceutical

<sup>\*4</sup> Shin Nippon Biomedical Laboratories

<sup>\*5</sup> Shimadzu Techno-Research

<sup>\*6</sup> Chugai Pharmaceutical

<sup>\*7</sup> Kyowa Hakko Kirin

<sup>\*8</sup> Astellas Pharma

<sup>\*9</sup> Hisamitsu Pharmaceutical

Welink J<sup>\*1</sup>, Fluhler E<sup>\*2</sup>, Hughes N<sup>\*3</sup>, Arnold M<sup>\*4</sup>, Garofolo F<sup>\*5</sup>, Bustard M<sup>\*6</sup>, Coppola L<sup>\*7</sup>, Dhodda R<sup>\*8</sup>, Evans C<sup>\*9</sup>, Gleason C<sup>\*10</sup>, Haidar S<sup>\*11</sup>, Hayes R<sup>\*12</sup>, Heinig K<sup>\*13</sup>, Katori N, Le Blaye O<sup>\*14</sup>, Li W<sup>\*15</sup>, Liu

G<sup>\*4</sup>, Santos MGL<sup>\*16</sup>, Meng M<sup>\*17</sup>, Nicholson B<sup>\*18</sup>, Savoie N<sup>\*19</sup>, Skelly M<sup>\*11</sup>, Sojo L<sup>\*20</sup>, Tampal N<sup>\*6</sup>, van de Merbel N<sup>\*21</sup>, Verhaeghe T<sup>\*22</sup>, Vinter S<sup>\*23</sup>, Wickremsinhe E<sup>\*24</sup>, Whale E<sup>\*23</sup>, Wilson A<sup>\*25</sup>, Witte B<sup>\*26</sup>, Woolf E<sup>\*27</sup>: 2015 White Paper on recent issues in bioanalysis: focus on new technologies and biomarkers (Part 1 – small molecules by LCMS).

*Bioanalysis* 2015;7:2913-25.

The 2015 9th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (9th WRIB) took place in Miami, Florida with participation of over 600 professionals from pharmaceutical and biopharmaceutical companies, biotechnology companies, contract research organizations and regulatory agencies worldwide. It is once again a 5-day week long event – a full immersion bioanalytical week – specifically designed to facilitate sharing, reviewing, discussing and agreeing on approaches to address the most current issues of interest in bioanalysis. The topics covered included both small and large molecules, and involved LCMS, hybrid LBA/LCMS, LBA approaches including the focus on biomarkers and immunogenicity. This 2015 White Paper encompasses recommendations that emerged from the extensive discussions held during the workshop, and is aimed to provide the bioanalytical community with key information and practical solutions on topics and issues addressed, in an effort to advance scientific excellence, improve quality and deliver better regulatory compliance. Due to its length, the 2015 edition of this comprehensive White Paper has been divided into three parts. Part 1 covers the recommendations for small molecule bioanalysis using LCMS. Part 2 (hybrid LBA/LCMS and regulatory agencies' inputs) and Part 3 (large molecule bioanalysis using LBA, biomarkers and immunogenicity) will also be published in volume 7 of *Bioanalysis*, issues 23 and 24, respectively.

Keywords: LC-MS, BMV Guideline, Regulated Bioanalysis

<sup>\*1</sup> Dutch MEB

<sup>\*2</sup> Pfizer, Pearl River

<sup>\*3</sup> Bioanalytical Laboratory Services a Division of LifeLabs LP

<sup>\*4</sup> Bristol-Myers Squibb

<sup>\*5</sup> Angelini Pharma

<sup>\*6</sup> Health Canada

- \*<sup>7</sup> Apotex  
 \*<sup>8</sup> AbbVie Inc.  
 \*<sup>9</sup> GlaxoSmithKline  
 \*<sup>10</sup> Bristol-Myers Squibb  
 \*<sup>11</sup> US FDA  
 \*<sup>12</sup> MPI Research, Mattawan  
 \*<sup>13</sup> F. Hoffmann-La Roche Ltd.  
 \*<sup>14</sup> France ANSM  
 \*<sup>15</sup> Novartis  
 \*<sup>16</sup> Brazil Anvisa  
 \*<sup>17</sup> Covance  
 \*<sup>18</sup> PPD  
 \*<sup>19</sup> CFABS  
 \*<sup>20</sup> Xenon Pharmaceuticals Inc.  
 \*<sup>21</sup> PRA Health Sciences  
 \*<sup>22</sup> Janssen Research & Development, Beerse, Belgium  
 \*<sup>23</sup> UK MHRA, London  
 \*<sup>24</sup> Eli Lilly & Company  
 \*<sup>25</sup> AstraZeneca  
 \*<sup>26</sup> Germany BfArM  
 \*<sup>27</sup> Merck Research Labs

Ackermann B<sup>\*1</sup>, Neubert H<sup>\*2</sup>, Hughes N<sup>\*3</sup>, Garofolo F<sup>\*4</sup>, Abberley L<sup>\*5</sup>, Alley SC<sup>\*6</sup>, Brown-Augsburger P<sup>\*1</sup>, Bustard M<sup>\*7</sup>, Chen L<sup>\*8</sup>, Heinrich J<sup>\*9</sup>, Katori N, Kaur S<sup>\*10</sup>, Kirkovsky L<sup>\*11</sup>, Laterza OF<sup>\*12</sup>, Le Blaye O<sup>\*13</sup>, Lévesque A<sup>\*14</sup>, Mendes G, Santos GML<sup>\*15</sup>, Olah T<sup>\*16</sup>, Savoie N<sup>\*17</sup>, Skelly M<sup>\*18</sup>, Spitz S<sup>\*19</sup>, Szapacs M<sup>\*5</sup>, Tampal N<sup>\*18</sup>, Wang J<sup>\*16</sup>, Welink J<sup>\*20</sup>, Wieling J<sup>\*21</sup>, Haidar S<sup>\*18</sup>, Vinter S<sup>\*22</sup>, Whale E<sup>\*22</sup>, Witte B<sup>\*23</sup>: 2015 White Paper on recent issues in bioanalysis: focus on new technologies and biomarkers (Part 2 – hybrid LBA/LCMS and input from regulatory agencies).

*Bioanalysis* 2015;7:3019-34.

The 2015 9th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (9th WRIB) took place in Miami, Florida with participation of over 600 professionals from pharmaceutical and biopharmaceutical companies, biotechnology companies, contract research organizations and regulatory agencies worldwide. It is once again a 5-day week long event – a full immersion bioanalytical week – specifically designed to facilitate sharing, reviewing, discussing and agreeing on approaches to address the most current issues of interest in bioanalysis. The topics covered included both small and large molecules, and involved LCMS, hybrid LBA/LCMS, LBA approaches including

the focus on biomarkers and immunogenicity. This 2015 White Paper encompasses recommendations that emerged from the extensive discussions held during the workshop, and is aimed at providing the bioanalytical community with key information and practical solutions on topics and issues addressed, in an effort to advance scientific excellence, improve quality and deliver better regulatory compliance. Due to its length, the 2015 edition of this comprehensive White Paper has been divided into three parts. Part 2 covers the recommendations for hybrid LBA/LCMS and regulatory agencies' inputs. Part 1 (small molecule bioanalysis using LCMS) and Part 3 (large molecule bioanalysis using LBA, biomarkers and immunogenicity) will be published in volume 7 of *Bioanalysis*, issues 22 and 24, respectively.

Keywords: Hybrid LBA/LC-MS, BMV Guideline, Regulated Bioanalysis

- 
- \*<sup>1</sup> Eli Lilly & Company  
 \*<sup>2</sup> Pfizer, Andover  
 \*<sup>3</sup> Bioanalytical Laboratory Services a Division of LifeLabs LP  
 \*<sup>4</sup> Angelini Pharma  
 \*<sup>5</sup> GlaxoSmithKline  
 \*<sup>6</sup> Seattle Genetics  
 \*<sup>7</sup> Health Canada  
 \*<sup>8</sup> Boehringer Ingelheim  
 \*<sup>9</sup> Roche Innovation Center Penzberg  
 \*<sup>10</sup> Genentech  
 \*<sup>11</sup> Pfizer, San Diego  
 \*<sup>12</sup> Merck & Co., Inc.  
 \*<sup>13</sup> France ANSM  
 \*<sup>14</sup> inVentiv Health Clinical  
 \*<sup>15</sup> Brazil ANVISA  
 \*<sup>16</sup> Bristol-Myers Squibb  
 \*<sup>17</sup> CFABS  
 \*<sup>18</sup> US FDA  
 \*<sup>19</sup> MedImmune  
 \*<sup>20</sup> Dutch MEB  
 \*<sup>21</sup> Antaeus Biopharma  
 \*<sup>22</sup> UK MHRA  
 \*<sup>23</sup> Germany BfArM

Amaravadi L<sup>\*1</sup>, Song A<sup>\*2</sup>, Myler H<sup>\*3</sup>, Thway T<sup>\*4</sup>, Kirshner S<sup>\*5</sup>, Devanarayan V<sup>\*6</sup>, Ni Y G<sup>\*3</sup>, Garofolo F<sup>\*7</sup>, Birnboeck H<sup>\*8</sup>, Richards S<sup>\*9</sup>, Gupta S<sup>\*4</sup>, Luo L<sup>\*3</sup>,

Kingsley C<sup>\*10</sup>, Salazar-Fontana L<sup>\*9</sup>, Fraser S<sup>\*11</sup>, Gorovits B<sup>\*12</sup>, Allinson J<sup>\*10</sup>, Barger T<sup>\*4</sup>, Chilewski S<sup>\*13</sup>, Fjording M S<sup>\*14</sup>, Haidar S<sup>\*5</sup>, Islam R<sup>\*15</sup>, Jaitner B<sup>\*16</sup>, Kamerud J<sup>\*17</sup>, Katori N, Krinos-Fiorotti C<sup>\*12</sup>, Lanham D<sup>\*18</sup>, Ma M<sup>\*4</sup>, McNally J<sup>\*12</sup>, Morimoto A<sup>\*2</sup>, Mytych D<sup>\*4</sup>, da Costa A N<sup>\*19</sup>, Papadimitriou A<sup>\*20</sup>, Pillutla R<sup>\*3</sup>, Ray S<sup>\*1</sup>, Safavi A<sup>\*21</sup>, Savoie N<sup>\*22</sup>, Schaefer M<sup>\*20</sup>, Shih J<sup>\*4</sup>, Smeraglia J<sup>\*19</sup>, Skelly M F<sup>\*5</sup>, Spond J<sup>\*23</sup>, Staack R F<sup>\*20</sup>, Stouffer B<sup>\*3</sup>, Tampal N<sup>\*5</sup>, Torri A<sup>\*24</sup>, Welink J<sup>\*25</sup>, Yang T-Y<sup>\*26</sup>, Zoghbi J<sup>\*9</sup>: 2015 White Paper on recent issues in bioanalysis: focus on new technologies and biomarkers (Part 3 – LBA, biomarkers and immunogenicity).

*Bioanalysis* 2015;7:3107-24.

The 2015 9th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (9th WRIB) took place in Miami, Florida with participation of 600 professionals from pharmaceutical and biopharmaceutical companies, biotechnology companies, contract research organizations and regulatory agencies worldwide. WRIB was once again a 5 day, week-long event – A Full Immersion Bioanalytical Week – specifically designed to facilitate sharing, reviewing, discussing and agreeing on approaches to address the most current issues of interest in bioanalysis. The topics covered included both small and large molecules, and involved LCMS, hybrid LBA/LCMS and LBA approaches, including the focus on biomarkers and immunogenicity. This 2015 White Paper encompasses recommendations emerging from the extensive discussions held during the workshop, and is aimed to provide the bioanalytical community with key information and practical solutions on topics and issues addressed, in an effort to enable advances in scientific excellence, improved quality and better regulatory compliance. Due to its length, the 2015 edition of this comprehensive White Paper has been divided into three parts. Part 3 discusses the recommendations for large molecule bioanalysis using LBA, biomarkers and immunogenicity. Part 1 (small molecule bioanalysis using LCMS) and Part 2 (hybrid LBA/LCMS and regulatory inputs from major global health authorities) have been published in volume 7, issues 22 and 23 of *Bioanalysis*, respectively.

Keywords: LBA, BMV Guideline, Regulated Bioanalysis

- \*<sup>3</sup> Bristol-Myers Squibb
- \*<sup>4</sup> Amgen
- \*<sup>5</sup> US FDA
- \*<sup>6</sup> Abbvie
- \*<sup>7</sup> Angelini Pharma, Pomezia
- \*<sup>8</sup> Roche Pharma Research and Early Development, Roche Innovation Center
- \*<sup>9</sup> Sanofi
- \*<sup>10</sup> LGC
- \*<sup>11</sup> Pfizer, Groton
- \*<sup>12</sup> Pfizer, Andover
- \*<sup>13</sup> Bristol-Myers Squibb
- \*<sup>14</sup> Novo Nordisk A/S
- \*<sup>15</sup> Celerion, Lincoln
- \*<sup>16</sup> Novartis Pharma
- \*<sup>17</sup> Eurofins Bioanalytical Services
- \*<sup>18</sup> Eurofins Bioanalytical Services
- \*<sup>19</sup> UCB Biopharma
- \*<sup>20</sup> Roche Pharma Research and Early Development, Roche Innovation Center
- \*<sup>21</sup> Bioagilytix Labs
- \*<sup>22</sup> CFABS
- \*<sup>23</sup> Merck
- \*<sup>24</sup> Regeneron Pharmaceuticals
- \*<sup>25</sup> Dutch MEB
- \*<sup>26</sup> Janssen R&D

Sakai-Kato K, Nanjo K, Kusuhara H<sup>\*1</sup>, Nishiyama N<sup>\*2</sup>, Kataoka K<sup>\*3</sup>, Kawanishi T, Okuda H, Goda Y: Effect of knockout of Mdr1a and Mdr1b ABCB1 genes on the systemic exposure of a doxorubicin-conjugated block copolymer in mice.

*Mol Pharm.* 2015;12:3175-83.

We previously elucidated that ATP-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) mediates the efflux of doxorubicin-conjugated block copolymers from HeLa cells. Here, we investigated the role of ABCB1 in the in vivo behavior of a doxorubicin-conjugated polymer in Mdr1a/1b(-/-) mice. The area under the curve for intravenously administered polymer in Mdr1a/1b(-/-) mice was 2.2-fold greater than that in wild-type mice. The polymer was mostly distributed in the liver followed by spleen and less so in the brain, heart, kidney, and lung. The amount of polymer excreted in the urine was significantly decreased in Mdr1a/1b(-/-) mice. The amounts of polymers excreted in the feces were similar in both groups despite the

\*<sup>1</sup> BiogenIdec

\*<sup>2</sup> Genentech

higher systemic exposure in Mdr1a/1b(-/-) mice. Confocal microscopy images showed polymer localized in CD68(+) macrophages in the liver. These results show that knockout of ABCB1 prolonged systemic exposure of the doxorubicin-conjugated polymer in mice. Our results suggest that ABCB1 mediated the excretion of doxorubicin-conjugated polymer in urine and feces. Our results provide valuable information about the behavior of block copolymers in vivo, which is important for evaluating the pharmacokinetics of active substances conjugated to block copolymers or the accumulation of block copolymers in vivo.

Keywords: ABCB1, Block copolymer micelles, Clearance

<sup>\*1</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

<sup>\*2</sup> Polymer Chemistry Division, Chemical Resources Laboratory, Tokyo Institute of Technology

<sup>\*3</sup> Graduate School of Medicine, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

Sakai-Kato K, Nishiyama N<sup>\*1</sup>, Kozaki M<sup>\*2</sup>, Nakanishi T<sup>\*3</sup>, Matsuda Y<sup>\*4</sup>, Hirano M<sup>\*4</sup>, Hanada H<sup>\*5</sup>, Hisada S<sup>\*6</sup>, Onodera H<sup>\*4</sup>, Harashima H<sup>\*7</sup>, Matsumura Y<sup>\*8</sup>, Kataoka K<sup>\*9</sup>, Goda Y, Okuda H, Kawanishi T: General considerations regarding the in vitro and in vivo properties of block copolymer micelle products and their evaluation.

*J Control Release.* 2015;210:76-83.

Block copolymer micelles are nanoparticles formed from block copolymers that comprise a hydrophilic polymer such as poly(ethylene glycol) and a poorly soluble polymer such as poly(amino acids). The design of block copolymer micelles is intended to regulate the in vivo pharmacokinetics, stability, and distribution profiles of an entrapped or block copolymer-linked active substance. Several block copolymer micelle products are currently undergoing clinical development; however, a major challenge in the development and evaluation of such products is identification of the physicochemical properties that affect the properties of the drug product in vivo. Here we review the overall in vitro and in vivo characteristics of block copolymer micelle products with a focus on the products currently under clinical investigation. We present examples of methods suitable

for the evaluation of the physicochemical properties, non-clinical pharmacokinetics, and safety of block copolymer micelle products.

Keywords: Block copolymer micelle, Nanotechnology, Regulatory affairs

<sup>\*1</sup> Chemical Resources Laboratory, Tokyo Institute of Technology

<sup>\*2</sup> Kowa Co., Ltd.

<sup>\*3</sup> Nippon Kayaku Co., Ltd.

<sup>\*4</sup> Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

<sup>\*5</sup> NanoCarrier Co., Ltd.

<sup>\*6</sup> ASKA Pharmaceutical Co., Ltd.

<sup>\*7</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University

<sup>\*8</sup> Division of Developmental Therapeutics, Research Center for Innovative Oncology

<sup>\*9</sup> Graduate School of Medicine, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

Sakai-Kato K, Nanjo K, Kawanishi T, Okuda H, Goda Y: Effects of lipid composition on the properties of doxorubicin-loaded liposomes.

*Ther Deliv.* 2015;6:785-94.

The liposomal lipid composition of doxorubicin-loaded liposome likely will influence its pharmacological activity. We prepared 18 formulations of doxorubicin-loaded liposomes in which the lipid composition was varied. It was indicated that the intracellular uptake of doxorubicin is the primary property of doxorubicin-loaded liposome that affects its cytotoxicity in vitro. Furthermore, the release rate of doxorubicin from liposome and the biological activity of the lipid itself also affected the cytotoxicity. These findings provide an insight into how lipid composition influences the cytotoxicity of the doxorubicin-loaded liposomes. Our results provide valuable information that should help to enhance the therapeutic efficacy of liposomal anticancer drug products by optimizing their formulations.

Keywords: liposome, lipid composition, Physicochemical properties

Sakai-Kato K, Nanjo K, Kawanishi T, Okuda H, Goda Y: Size Exclusion Chromatography Coupled with Multi-Angle Light Scattering Analysis of Physicochemical Properties of Block Copolymer

Micelles.

*Chromatography* 2015;36:29-32.

In this study, we report the physicochemical properties of three types of block copolymer micelles as measured by means of size exclusion chromatography coupled with multi-angle light scattering (SEC-MALS). Micelles were prepared from doxorubicin (Dox)-, Nile Red-, and 4-(N,N-dimethylsulfamoyl)-2,1,3-benzoxadiazole (DBD)-conjugated block copolymers. The molar mass and radius of gyration of the block copolymer micelles were measured, and the association number of the polymers was calculated from the measured molar mass. When the chemical structure of the block copolymers was varied (i.e., by varying the poly(ethylene glycol) chain length or by varying the polymerization degree of poly(aspartic acid)), the physicochemical properties of the resultant micelles differed markedly. The association number of the Dox-conjugated polymeric micelles was about 2.3 and 2.7 times as high as those of DBD- and Nile Red-conjugated polymeric micelles, respectively. The radius calculated from SEC-MALS was compared with that calculated from dynamic light scattering, and the ratio of the two radii provided information about the conformation of the resultant micelles.

Keywords: SEC-MALS, Block copolymer micelle, Physicochemical properties

Nagano K<sup>\*1</sup>, Imai S<sup>\*1</sup>, Zhao X<sup>\*1</sup>, Yamashita T<sup>\*1</sup>, Yoshioka Y<sup>\*2</sup>, Abe Y, Mukai Y<sup>\*1</sup>, Kamada H<sup>\*1,2</sup>, Nakagawa S<sup>\*2</sup>, Tsutsumi Y<sup>\*1,2</sup>, Tsunoda S<sup>\*1,2</sup>: Identification and evaluation of metastasis-related proteins, oxysterol binding protein-like 5 and calumenin, in lung tumors.

*Int J Oncol.* 2015;47:195-203.

Metastasis is an important prognosis factor in lung cancer, therefore, it is imperative to identify target molecules and elucidate molecular mechanism of metastasis for developing new therapeutics and diagnosis methods. We searched for metastasis-related proteins by utilizing a novel antibody proteome technology developed in our laboratory that facilitated efficient screening of useful target proteins. Two-dimensional differential in-gel electrophoresis analysis identified sixteen proteins, which were highly expressed in metastatic lung cancer cells, as protein candidates. Monoclonal single-chain variable fragments

(scFvs) binding to candidates were isolated from a scFv-displaying phage library by affinity selection. Tissue microarray analysis of scFvs binding to candidates revealed that oxysterol binding protein-like 5 (OSBPL5) and calumenin (CALU) were expressed at a significantly higher levels in the lung tissues of metastasis-positive cases than that in the metastasis-negative cases. Furthermore, 80% of OSBPL5 and CALU double-positive cases were positive for lymph node metastasis. Consistent with these observations, overexpression of OSBPL5 and CALU promoted invasiveness of lung cancer cells. Conversely, knockdown of these proteins using respective siRNAs reversed the invasiveness of the lung cancer cells. Moreover, these proteins were expressed in lung tumor tissues, but not in normal lung tissues. In conclusion, OSBPL5 and CALU are related to metastatic potential of lung cancer cells, and they could be useful targets for cancer diagnosis and also for development of drugs against metastasis.

Keywords: metastasis, lung cancer, antibody proteomics

<sup>\*1</sup> National Institute of Biomedical Innovation and Nutrition

<sup>\*2</sup> Osaka University

Takechi-Haraya Y<sup>\*1</sup>, Nadai R<sup>\*2,3</sup>, Kimura H<sup>\*2,3</sup>, Nishitsuji K<sup>\*2</sup>, Uchimura K<sup>\*4</sup>, Sakai-Kato K, Kawakami K<sup>\*5</sup>, Shigenaga A<sup>\*2</sup>, Kawakami T<sup>\*6</sup>, Otaka A<sup>\*2</sup>, Hojo H<sup>\*6</sup>, Sakashita N<sup>\*2</sup>, Saito H<sup>\*3</sup>: Enthalpy-driven interactions with sulfated glycosaminoglycans promote cell membrane penetration of arginine peptides.

*Biochim Biophys Acta.* 2016;1858:1339-49.

Cell membrane penetration of arginine peptides is thought to occur via electrostatic interactions with glycosaminoglycans (GAGs) on the cell surface. However, the molecular interaction in relation to the cell membrane penetration still remains unclear. We demonstrated that the cell penetration efficiency of arginine peptides is correlated with the favorable enthalpy of binding to heparin of GAG.

Keywords: Arginine peptide, Lysine peptide, Heparin

<sup>\*1</sup> Japan Agency for Medical Research and Development

\*<sup>2</sup> Tokushima University

\*<sup>3</sup> Kyoto Pharmaceutical University

\*<sup>4</sup> Nagoya University

\*<sup>5</sup> National Institute for Materials Science

\*<sup>6</sup> Osaka University

Yabuno K<sup>\*1</sup>, Morise J<sup>\*1</sup>, Kizuka Y<sup>\*1</sup>, Hashii N, Kawasaki N, Takahashi S<sup>\*2</sup>, Miyata S<sup>\*3</sup>, Izumikawa T<sup>\*3</sup>, Kitagawa H<sup>\*3</sup>, Takematsu H<sup>\*1</sup>, Oka S<sup>\*1</sup>: A Sulfated Glycosaminoglycan Linkage Region Is a Novel Type of Human Natural Killer-1 (HNK-1) Epitope Expressed on Aggrecan in Perineuronal Nets.

*PLoS One* 2015;10:e0144560.

Human natural killer-1 (HNK-1) carbohydrate (HSO3-3GlcA $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-R) is highly expressed in the brain and required for learning and neural plasticity. We previously demonstrated that expression of the HNK-1 epitope is mostly abolished in knockout mice for GlcAT-P (B3gat1), a major glucuronyltransferase required for HNK-1 biosynthesis, but remained in specific regions such as perineuronal nets (PNNs) in these mutant mice. Considering PNNs are mainly composed of chondroitin sulfate proteoglycans (CSPGs) and regulate neural plasticity, GlcAT-P-independent expression of HNK-1 in PNNs is suggested to play a role in neural plasticity. However, the function, structure, carrier glycoprotein and biosynthetic pathway for GlcAT-P-irrelevant HNK-1 epitope remain unclear. In this study, we identified a unique HNK-1 structure on aggrecan in PNNs. To determine the biosynthetic pathway for the novel HNK-1, we generated knockout mice for GlcAT-S (B3gat2), the other glucuronyltransferase required for HNK-1 biosynthesis. However, GlcAT-P and GlcAT-S double-knockout mice did not exhibit reduced HNK-1 expression compared with single GlcAT-P-knockout mice, indicating an unusual biosynthetic pathway for the HNK-1 epitope in PNNs. Aggrecan was purified from cultured cells in which GlcAT-P and -S are not expressed and we determined the structure of the novel HNK-1 epitope using liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) as a sulfated linkage region of glycosaminoglycans (GAGs), HSO3-GlcA-Gal-Gal-Xyl-R. Taken together, we propose a hypothetical model where GlcAT-I, the sole glucuronyltransferase required for synthesis of the GAG linkage, is also

responsible for biosynthesis of the novel HNK-1 on aggrecan. These results could lead to discovery of new roles of the HNK-1 epitope in neural plasticity.

Keywords : Glycosaminoglycan, Human Natural Killer-1, Aggrecan

\*<sup>1</sup> Kyoto University

\*<sup>2</sup> University of Tsukuba

\*<sup>3</sup> Kobe Pharmaceutical University

Miura Y<sup>\*1</sup>, Hashii N, Tsumoto H<sup>\*1</sup>, Takakura D, Ohta Y, Abe Y<sup>\*2</sup>, Arai Y<sup>\*2</sup>, Kawasaki N, Hirose N<sup>\*2</sup>, Endo T<sup>\*1</sup>: Change in N-Glycosylation of Plasma Proteins in Japanese Semisupercentenarians.

*PLoS One* 2015;10:e0142645.

An N-glycomic analysis of plasma proteins was performed in Japanese semisupercentenarians (SSCs) (mean 106.7 years), aged controls (mean 71.6 years), and young controls (mean 30.2 years) by liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) using a graphitized carbon column. Characteristic N-glycans in SSCs were discriminated using a multivariate analysis; orthogonal projections to latent structures (O-PLS). The results obtained showed that multi-branched and highly sialylated N-glycans as well as agalacto- and/or bisecting N-glycans were increased in SSCs, while biantennary N-glycans were decreased. Since multi-branched and highly sialylated N-glycans have been implicated in anti-inflammatory activities, these changes may play a role in the enhanced chronic inflammation observed in SSCs. The levels of inflammatory proteins, such as CRP, adiponectin, IL-6, and TNF- $\alpha$ , were elevated in SSCs. These results suggested that responses to inflammation may play an important role in extreme longevity and healthy aging in humans. This is the first study to show that the N-glycans of plasma proteins were associated with extreme longevity and healthy aging in humans.

Keywords: N-glycosylation, Plasma Proteins, Semisupercentenarians

\*<sup>1</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

\*<sup>2</sup> Keio University

Yoshitake H<sup>\*1</sup>, Hashii N, Kawasaki N, Endo S<sup>\*1</sup>, Takamori K<sup>\*1</sup>, Hasegawa A<sup>\*2</sup>, Fujiwara H<sup>\*3</sup>, Araki Y<sup>\*1</sup>: Chemical Characterization of N-Linked

Oligosaccharide As the Antigen Epitope Recognized by an Anti-Sperm Auto-Monoclonal Antibody, Ts4.

*PLOS One* 2015;62:1844-50.

Ts4, an anti-sperm auto-monoclonal antibody, possesses immunoreactivity to the acrosomal region of mouse epididymal spermatozoa. In addition, the mAb shows specific immunoreactivity to reproduction-related regions such as testicular germ cells and early embryo. Our qualitative study previously showed that the antigen epitope for Ts4 contained a N-linked common oligosaccharide (OS) chain on testicular glycoproteins as determined by Western blotting for testicular glycoproteins after treatment with several glycohydrolases. Since the distribution of the Ts4-epitope is unique, the OS chain in Ts4-epitope may have role(s) in the reproductive process. The aim of this study was to clarify the molecular structure of the Ts4-epitope, particularly its OS moiety. Using Ts4 immunoprecipitation combined with liquid chromatography and multiple-stage mass spectrometry, the candidate carbohydrate structure in the Ts4-epitope is proposed to be N-linked fucosylated agalactobiantennary with bisecting N-acetylglucosamine (GlcNAc) or with N-acetylgalactosamine-GlcNAc motif. Further binding analyses using various lectins against the mouse testicular Ts4-immunoprecipitants revealed that *Phaseolus vulgaris* erythroagglutinin and *Pisum sativum* agglutinin showed positive staining of the bands corresponding to Ts4 reactive proteins. Moreover, the immunoreactivity of Ts4 against the testicular extract was completely abrogated after digestion with  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase. These results show that the Ts4-epitope contains agalactobiantennary N-glycan with bisecting GlcNAc carrying fucose residues.

Keywords: N-linked oligosaccharide, Anti-Sperm Auto-Monoclonal Antibody, Ts4-epitope

\*<sup>1</sup> Juntendo University

\*<sup>2</sup> Hyogo College of Medicine

\*<sup>3</sup> Kanazawa University

Tsumoto H<sup>\*1</sup>, Ogasawara D<sup>\*2</sup>, Hashii N, Suzuki T<sup>\*2</sup>, Akimoto Y<sup>\*3</sup>, Endo T<sup>\*1</sup>, Miura Y<sup>\*1</sup>: Enrichment of O-GlcNAc-modified peptides using novel thiol-alkyne and thiol-disulfide exchange.

*Bioorg Med Chem Lett.* 2015;25:2645-9.

We have developed a selective method for the enrichment of O-linked  $\beta$ -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc)-modified peptides, which uses a newly synthesized thiol-alkyne and a thiol-disulfide exchange. First, O-GlcNAc-modified peptides were enzymatically labeled with an azide-containing GalNAc analog. Then, the azide moiety was reacted with thiol-alkyne through a copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. The thiol-modified peptides were enriched with thiol-reactive resin through a thiol-disulfide exchange. At least 500fmol of O-GlcNAc-modified peptides was selectively isolated from  $\alpha$ -crystallin tryptic peptides and detected by mass spectrometry. This novel enrichment strategy could be used for O-GlcNAc analysis of biological samples.

Keywords: O-GlcNAc, Thiol-alkyne, Thiol-disulfide exchange

\*<sup>1</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

\*<sup>2</sup> Kyoto Prefectural University of Medicine

\*<sup>3</sup> Kyorin University

Yagi H<sup>\*1</sup>, Nakamura M<sup>\*2</sup>, Yokoyama J<sup>\*3</sup>, Zhang Y<sup>\*4</sup>, Yamaguchi T<sup>\*4</sup>, Kondo S<sup>\*1,5</sup>, Kobayashi J<sup>\*6</sup>, Kato T<sup>\*7</sup>, Park EY<sup>\*7</sup>, Nakazawa S<sup>\*8</sup>, Hashii N, Kawasaki N, Kato K<sup>\*1,4,5</sup>: Stable isotope labeling of glycoprotein expressed in silkworms using immunoglobulin G as a test molecule.

*J Biomol NMR.* 2015;62:157-67.

Silkworms serve as promising bioreactors for the production of recombinant proteins, including glycoproteins and membrane proteins, for structural and functional protein analyses. However, lack of methodology for stable isotope labeling has been a major deterrent to using this expression system for nuclear magnetic resonance (NMR) structural biology. Here we developed a metabolic isotope labeling technique using commercially available silkworm larvae. The fifth instar larvae were infected with baculoviruses for co-expression of recombinant human immunoglobulin G (IgG) as a test molecule, with calnexin as a chaperone. They were subsequently reared on an artificial diet containing (15)N-labeled yeast crude protein extract. We harvested 0.1 mg of IgG from larva with a (15)N-enrichment ratio of approximately 80%. This allowed us to compare NMR spectral data of the Fc fragment cleaved from the



silkworm-produced IgG with those of an authentic Fc glycoprotein derived from mammalian cells. Therefore, we successfully demonstrated that our method enables production of isotopically labeled glycoproteins for NMR studies.

Keywords: Silkworms, recombinant human immunoglobulin G, Stable isotope labeling

---

\*<sup>1</sup> Nagoya City University

\*<sup>2</sup> National Institute of Agrobiological Sciences

\*<sup>3</sup> Taiyo Nippon Sanso Corporation

\*<sup>4</sup> Okazaki Institute for Integrative Bioscience

\*<sup>5</sup> Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.

\*<sup>6</sup> Yamaguchi University

\*<sup>7</sup> Research Institute of Green Science and Technology

\*<sup>8</sup> Nagoya University

Yagi H<sup>\*1</sup>, Fukuzawa N<sup>\*2</sup>, Tasaka Y<sup>\*2</sup>, Matsuo K<sup>\*2</sup>, Zhang Y<sup>\*1,3</sup>, Yamaguchi T<sup>\*1</sup>, Kondo S<sup>\*1,4</sup>, Nakazawa S<sup>\*5</sup>, Hashii N, Kawasaki N, Matsumura T<sup>\*2</sup>, Kato K<sup>\*1,3,4,6</sup>: NMR-based structural validation of therapeutic antibody produced in *Nicotiana benthamiana*.

*Plant Cell Rep.* 2015;34:959-68.

We successfully developed a method for metabolic isotope labeling of recombinant proteins produced in transgenic tobacco. This enabled assessment of structural integrity of plant-derived therapeutic antibodies by NMR analysis. A variety of expression vehicles have been developed for the production of promising biologics, including plants, fungi, bacteria, insects, and mammals. Glycoprotein biologics often experience altered folding and post-translational modifications that are typified by variant glycosylation patterns. These differences can dramatically affect their efficacy, as exemplified by therapeutic antibodies. However, it is generally difficult to validate the structural integrity of biologics produced using different expression vehicles. To address this issue, we have developed and applied a stable-isotope-assisted nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy method for the conformational characterization of recombinant antibodies produced in plants. *Nicotiana benthamiana* used as a vehicle for the production of recombinant immunoglobulin G (IgG) was grown in a (15)N-enriched plant growth medium. The Fc fragment derived from the (15)N-labeled antibody thus prepared

was subjected to heteronuclear two-dimensional (2D) NMR measurements. This approach enabled assessment of the structural integrity of the plant-derived therapeutic antibodies by comparing their NMR spectral properties with those of an authentic IgG-Fc derived from mammalian cells.

Keywords: stable-isotope-assisted nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, *Nicotiana benthamiana*, therapeutic antibody

---

\*<sup>1</sup> Nagoya City University

\*<sup>2</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

\*<sup>3</sup> Okazaki Institute for Integrative Bioscience

\*<sup>4</sup> Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.

\*<sup>5</sup> Nagoya University

\*<sup>6</sup> Ochanomizu University

Suzuki T, Miyazaki C, Ishii-Watabe A, Tada M, Sakai-Kato K, Kawanishi T, Kawasaki N: A fluorescent imaging method for analyzing the biodistribution of therapeutic monoclonal antibodies that can distinguish intact antibodies from their breakdown products.

*mAbs* 2015;7:759-76.

Many monoclonal antibodies have been developed for therapy over the last two decades. In the development of therapeutic antibodies, the preclinical assessment of an antibody's biodistribution is important for the prediction of the antibody's efficacy and safety. For imaging analyses of such biodistributions, radioisotope (RI) labeling and fluorescence labeling methods are typically used, but the resulting data are limited because these methods cannot distinguish breakdown products from intact antibodies. To resolve this problem, we developed a novel method using fluorescent resonance energy transfer (FRET)-type labeling and a spectral unmixing tool. With FRET-type labeling (labeling with two species of fluorophore), different fluorescence properties of labeled intact antibodies and their breakdown products (the hydrolyzed/digested type of breakdown products) are made visible. With the spectral unmixing tool, the fluorescence of a solution containing the intact antibody and its breakdown products could be unmixed in proportion to their contents. Moreover, when labeled antibodies that targeted either human epidermal

growth factor receptor-2 or epidermal growth factor receptor were injected into nude mice implanted subcutaneously with tumor cells, the accumulation of the injected labeled antibodies and their breakdown products in the tumor could be separately analyzed by both whole-mouse imaging and a tumor homogenate analysis. These results suggest that our method using FRET-type labeling and a spectral unmixing tool could be useful in distinguishing breakdown products from intact antibodies.

Keywords: Fluorescence imaging, Biodistribution, Antibody

Ishii-Watabe A, Hirose A, Katori N, Hashii N, Arai S<sup>\*1</sup>, Awatsu H<sup>\*2</sup>, Eiza A<sup>\*3</sup>, Hara Y<sup>\*4</sup>, Hattori H<sup>\*5</sup>, Inoue T<sup>\*6</sup>, Isono T<sup>\*7</sup>, Iwakura M<sup>\*8</sup>, Kajihara D<sup>\*9</sup>, Kasahara N<sup>\*10</sup>, Matsuda H<sup>\*11</sup>, Murakami S<sup>\*12</sup>, Nakagawa T<sup>\*13</sup>, Okumura T<sup>\*14</sup>, Omasa T<sup>\*15</sup>, Takuma S<sup>\*7</sup>, Terashima I<sup>\*16</sup>, Tsukahara M<sup>\*13</sup>, Tsutsui M<sup>\*17</sup>, Yano T<sup>\*18</sup>, Kawasaki N<sup>\*19</sup>: Approaches to Quality Risk Management When Using Single-Use Systems in the Manufacture of Biologics.

*AAPS Pharm Sci Tech.* 2015;16:993-1001.

Biologics manufacturing technology has made great progress in the last decade. One of the most promising new technologies is the single-use system, which has improved the efficiency of biologics manufacturing processes. To ensure safety of biologics when employing such single-use systems in the manufacturing process, various issues need to be considered including possible extractables/leachables and particles arising from the components used in single-use systems. Japanese pharmaceutical manufacturers, together with single-use suppliers, members of the academia and regulatory authorities have discussed the risks of using single-use systems and established control strategies for the quality assurance of biologics. In this study, we describe approaches for quality risk management when employing single-use systems in the manufacturing of biologics. We consider the potential impact of impurities related to single-use components on drug safety and the potential impact of the single-use system on other critical quality attributes as well as the stable supply of biologics. We also suggest a risk-mitigating strategy combining multiple control methods which includes the selection of appropriate

single-use components, their inspections upon receipt and before releasing for use and qualification of single-use systems. Communication between suppliers of single-use systems and the users, as well as change controls in the facilities both of suppliers and users, are also important in risk-mitigating strategies. Implementing these control strategies can mitigate the risks attributed to the use of single-use systems. This study will be useful in promoting the development of biologics as well as in ensuring their safety, quality and stable supply.

Keywords: Biologics, Single-use system, Risk management

- 
- \*1 住友ベークライト (株)
  - \*2 日本ボール (株)
  - \*3 積水成型工業 (株)
  - \*4 ザルトリウス・ステディム・ジャパン (株)
  - \*5 大日本印刷 (株)
  - \*6 MSD (株)
  - \*7 中外製薬 (株)
  - \*8 次世代バイオ医薬品製造技術研究組合
  - \*9 GEヘルスケア・ジャパン (株)
  - \*10 アステラス製薬 (株)
  - \*11 藤森工業 (株)
  - \*12 (株) 日立製作所
  - \*13 協和発酵キリン (株)
  - \*14 武田薬品工業 (株)
  - \*15 大阪大学
  - \*16 メルクミリポア事業本部
  - \*17 大日本住友製薬 (株)
  - \*18 第一三共 (株)
  - \*19 横浜市立大学

Jose M. M. Caaveiro\*, Kiyoshi M, Tsumoto K\*: Structural analysis of Fc/FcγR complexes: a blueprint for antibody design

*Immunological Reviews* 2015;268:201-21.

The number of studies and the quality of the structural data of Fcγ receptors (FcγRs) has rapidly increased in the last few years. Upon critical examination of the literature, we have extracted general conclusions that could explain differences in affinity and selectivity of FcγRs for immunoglobulin G (IgG) based on structural considerations. FcγRs employ a little conserved asymmetric surface of domain D2 composed of two distinct subsites to recognize the well-

conserved lower hinge region of IgG1-Fc. The extent of the contact interface with the antibody in subsite 1 of the receptor (but not in subsite 2), the geometrical complementarity between antibody and receptor, and the number of polar interactions contribute decisively toward strengthening the binding affinity of the antibody for the receptor. In addition, the uncertain role of the N-linked glycan of IgG for the binding and effector responses elicited by FcγRs is discussed. The available data suggest that not only the non-covalent interactions between IgG and FcγRs but also their dynamic features are essential for the immune response elicited through these receptors. We believe that the integration of structural, thermodynamic, and kinetic data will be critical for the design and validation of the next generation of therapeutic antibodies with enhanced effector capabilities.

Keywords: immunoglobulin G gamma receptor, X-ray crystallography, therapeutic antibodies

---

\* 東京大学

Yamashita M<sup>\*1</sup>, Iida M<sup>\*1</sup>, Tada M, Shirasago Y<sup>\*2</sup>, Fukasawa M<sup>\*2</sup>, Nagase S<sup>\*1</sup>, Watari A<sup>\*1</sup>, Ishii-Watabe A, Yagi K<sup>\*1</sup>, Kondoh M<sup>\*1</sup>: Discovery of anti-claudin-1 antibodies as candidate therapeutics against hepatitis C virus.

*J Pharmacol Exp Ther.* 2015;353:112-8.

Claudin-1 (CLDN1), a known host factor for hepatitis C virus (HCV) entry and cell-to-cell transmission, is a target molecule for inhibiting HCV infection. We previously developed four clones of mouse anti-CLDN1 monoclonal antibody (mAb) that prevented HCV infection in vitro. Two of these mAbs showed the highest antiviral activity. Here, we optimized the anti-CLDN1 mAbs as candidates for therapeutics by protein engineering. Although Fab fragments of the mAbs prevented in vitro HCV infection, their inhibitory effects were much weaker than those of the whole mAbs. In contrast, human chimeric IgG1 mAbs generated by grafting the variable domains of the mouse mAb light and heavy chains inhibited in vitro HCV infection as efficiently as the parental mouse mAbs. However, the chimeric IgG1 mAbs activated Fcγ receptor, suggesting that cytotoxicity against mAb-bound CLDN1-expressing cells occurred through the induction of antibody-dependent cellular

cytotoxicity (ADCC). To avoid ADCC-induced side effects, we prepared human chimeric IgG4 mAbs. The chimeric IgG4 mAbs did not activate Fcγ receptor or induce ADCC, but they prevented in vitro HCV infection as efficiently as did the parental mouse mAbs. These findings indicate that the IgG4 form of human chimeric anti-CLDN1 mAb may be a candidate molecule for clinically applicable HCV therapy.

Keywords: Claudin-1, monoclonal antibody, HCV

---

\*<sup>1</sup> 大阪大学

\*<sup>2</sup> 国立感染症研究所

Tada M, Tatematsu K<sup>\*</sup>, Ishii-Watabe A, Harazono A, Takakura D, Hashii N, Sezutsu H<sup>\*</sup>, Kawasaki N: Characterization of anti-CD20 monoclonal antibody produced by transgenic silkworms (*Bombyx mori*). *mAbs* 2015;7:1138-50.

In response to the successful use of monoclonal antibodies (mAbs) in the treatment of various diseases, systems for expressing recombinant mAbs using transgenic animals or plants have been widely developed. The silkworm (*Bombyx mori*) is a highly domesticated insect that has recently been used for the production of recombinant proteins. Because of their cost-effective breeding and relatively easy production scale-up, transgenic silkworms show great promise as a novel production system for mAbs. In this study, we established a transgenic silkworm stably expressing a human-mouse chimeric anti-CD20 mAb having the same amino acid sequence as rituximab, and compared its characteristics with rituximab produced by Chinese hamster ovary (CHO) cells (MabThera®). The anti-CD20 mAb produced in the transgenic silkworm showed a similar antigen-binding property, but stronger antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) and weaker complement-dependent cytotoxicity (CDC) compared to MabThera. Post-translational modification analysis was performed by peptide mapping using liquid chromatography/mass spectrometry. There was a significant difference in the N-glycosylation profile between the CHO- and the silkworm-derived mAbs, but not in other post-translational modifications including oxidation and deamidation. The mass spectra of the N-glycosylated peptide revealed that the observed biological properties were attributable to the characteristic

N-glycan structures of the anti-CD20 mAbs produced in the transgenic silkworms, i.e., the lack of the core-fucose and galactose at the non-reducing terminal. These results suggest that the transgenic silkworm may be a promising expression system for the tumor-targeting mAbs with higher ADCC activity.

Keywords: monoclonal antibody, ADCC, transgenic silkworm

---

\* 農業生物資源研究所

Takakura D\*, Tada M, Kawasaki N\*: Membrane glycoproteomics of fetal lung fibroblasts using LC/MS.

*Proteomics* 2016;16:47-59.

Some aberrant N-glycosylations are being used as tumor markers, and glycoproteomics is expected to provide novel diagnosis markers and targets of drug developments. However, one has trouble in mass spectrometric glycoproteomics of membrane fraction because of lower intensity of glycopeptides in the existence of surfactants. Previously, we developed a glycopeptide enrichment method by acetone precipitation, and it was successfully applied to human serum glycoproteomics. In this study, we confirmed that this method is useful to remove the surfactants and applicable to membrane glycoproteomics. The glycoproteomic approach to the human fetal lung fibroblasts membrane fraction resulted in the identification of over 272 glycoforms on 63 sites of the 44 glycoproteins. According to the existing databases, the structural features on 41 sites are previously unreported. The most frequently occurring forms at N-glycosylation site were high-mannose type containing nine mannose residues (M9) and monosialo-fucosylated biantennary oligosaccharides. Several unexpected N-glycans, such as fucosylated complex-type and fucosylated high-mannose and/or fucosylated pauci-mannose types were found in ER and lysosome proteins. Our method provides new insights into transport, biosynthesis, and degradation of glycoproteins.

Keywords: Glycoproteomics, LC/MS, Membrane glycoproteins

---

\* 横浜市立大学

Nishimura Y<sup>\*1</sup>, Hyuga S<sup>\*2</sup>, Takiguchi S<sup>\*3</sup>, Hyuga M, Itoh K<sup>\*4</sup>, Hanawa T<sup>\*2</sup>: Ephedrae herba stimulates hepatocyte growth factor-induced MET endocytosis and downregulation via early/late endocytic pathways in gefitinib-resistant human lung cancer cells.

*Int J Oncol.* 2016;48:1895-906.

The MET tyrosine kinase receptor and its ligand, hepatocyte growth factor (HGF), are known to be overexpressed in a variety of malignant tumor cells, and are implicated in the development of gefitinib-resistance in human non-small cell lung cancer (NSCLC) cells. Ephedrae herba was previously reported to prevent HGF-induced cancer cell motility by directly suppressing HGF/MET signaling through the inhibition of MET tyrosine kinase, and treatment with its extract also considerably reduced MET protein levels. To further investigate the mechanism underlying the Ephedrae herba-induced inhibition of MET phosphorylation as well as its degradation and subsequent disappearance, we examined the effect of Ephedrae herba on HGF-stimulated MET endocytosis and downregulation via early/late endocytic pathways in an NSCLC cell line. Using immunofluorescence microscopy, we found that pretreatment of cells with Ephedrae herba extract dramatically changed the intracellular distribution of plasma membrane-associated MET, and that the resultant MET staining was distributed throughout the cytoplasm. Pretreatment of the cells with Ephedrae herba extract also led to the rapid loss of MET and phosphorylated (p)-MET in HGF-stimulated cells. In contrast, inefficient endocytic delivery of MET and p-MET from early to late endosomes was observed in the absence of Ephedrae herba extract, since considerable amounts of the internalized MET accumulated in the early endosomes and were not delivered to lysosomes up to 1 h after HGF-stimulation. Furthermore, large amounts of MET and p-MET that had accumulated in late endosomes of Ephedrae herba-pretreated cells after HGF stimulation were observed along with bafilomycin A1. Therefore, we inferred that degradation of MET occurred in the late endosome/lysosome pathway. Moreover, western blot analysis revealed the accelerated degradation of MET and p-MET proceeds in cells pretreated with Ephedrae herba extract. Collectively, our results suggest that some components

of Ephedrae herba have a novel role in promoting HGF-stimulated MET and p-MET endocytosis followed by its downregulation, likely mediated by the early/late endocytic pathways.

Keywords: Ephedrae herba, hepatocyte growth factor, MET

\*<sup>1</sup> 九州大学

\*<sup>2</sup> 北里大学東洋医学総合研究所

\*<sup>3</sup> 九州がんセンター

\*<sup>4</sup> 大阪府立成人病センター

Kammoto T<sup>\*1,2</sup>, Yomura K<sup>\*2</sup>, Nakamura Y<sup>\*2</sup>, Kikuchi Y<sup>\*2</sup>, Hirakura K<sup>\*2</sup>, Nishimura H<sup>\*2</sup>, Hakamatsuka T, Goda Y, Kawahara N<sup>\*3</sup>, Kiuchi F<sup>\*1</sup>: Discrimination between Kan-jio and Juku-jio by TLC.

*Shoyakugaku Zasshi* 2015;69:41-7.

Rehmannia Root is an important crude drug used in Kampo products. The Japanese Pharmacopoeia (JP) defines Rehmannia root as the root of *Rehmannia glutinosa* Liboschitz var. *purpurea* Makino or *Rehmannia glutinosa* Liboschitz (Scrophulariaceae), with the application of steaming (prepared one: Juku-jio) or without it (non-prepared one: Kan-jio). Aiming at establishing identification tests to distinguish these two types (Juku-jio and Kan-jio) distributed in the Japanese market, we compared the constituents of Juku-jio and those of Kan-jio by TLC and found differences in the sugar components between them. Based on this finding, we established identification tests for Kan-jio and Juku-jio, which are adopted in the monograph of JP from supplement I to JP16.

Keywords: Rehmannia Root, identification test, TLC

\*<sup>1</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Keio University

\*<sup>2</sup> Tsumura & Co.

\*<sup>3</sup> Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institute of Biomedical Innovation

Horii H<sup>\*</sup>, Okonogi R<sup>\*</sup>, Kamakura H, Hakamatsuka T, Goda Y: Studies on Bioequivalence of Kakkonto Decoction and Its Extract Preparation (II).

*Shoyakugaku Zasshi* 2015;69:59-65.

In a previous report (Horii, C. *et al.*, *Shoyakugaku Zasshi*, 68(1), 9-12, 2014), a crossover study was performed in order to obtain basic information about

the bio-equivalence between the Kakkonto decoction and its extract product. The result suggested that ephedrine and pseudoephedrine may be used as the marker compounds for the bio-equivalence judgment between preparations. In this study, we selected 3 components of the Kakkonto formula, *Puerariae Radix*, *Glycyrrhizae Radix* and *Paenoniae Radix*. The change in concentration of the five marker compounds, puerarin, daidzein, glycyrrhizic acid, liquiritin and paeoniflorin, in human blood plasma was observed after their oral administration. As a result, the dispersion of those plasma levels in the decoction and the product were observed at various sampling times. Variance analysis of the maximum plasma concentration ( $C_{max}$ ) and the area under the plasma concentration-time curve ( $AUC_{0-4}$ ) for the five marker compounds revealed no significant differences between the decoction and the product or between the administration days. The statistical power ( $1-\beta$ ) was determined to be insufficient (less than 80%) for both  $C_{max}$  and  $AUC_{0-4}$  on the five marker compounds. However, assuming that the standard deviation was the same as our result for puerarin and daidzein, when the number of the study participants is increased to 8 and 16 it is revealed that the statistical power become sufficient (more than 80%) for both  $C_{max}$  and  $AUC_{0-4}$  on puerarin and daidzein. Since puerarin and daidzein are known to be important biological active components in the Kakkonto formula, these results suggest that both compounds may be used as markers for a bio-equivalence judgment between preparations, although further study is needed to clarify this issue.

Keywords: bio-equivalence, Kakkonto, blood plasma level

\* クラシエ製薬 (株) 漢方研究所

Oshima N, Masada S, Suzuki R, Yagi H, Matsufuji Y<sup>\*1</sup>, Takahashi Y<sup>\*2</sup>, Yahagi T<sup>\*3</sup>, Watanabe M<sup>\*4</sup>, Yahara S<sup>\*4</sup>, Iida O<sup>\*5</sup>, Kawahara N<sup>\*5</sup>, Maruyama T, Goda Y, Hakamatsuka T: Identification of new diterpenes as marker compounds distinguishing *Agnus Castus* Fruit (Chaste Tree) from Shrub Chaste Tree Fruit (*Viticis Fructus*).

*Planta Medica* 2016;82:147-53.

We tried to identify putative marker compounds that distinguish between *Agnus Castus* Fruit

(ACF) and Shrub Chaste Tree Fruit (SCTF). We analyzed extracts of each crude drug by LC-MS, and performed differential analysis by comparison of each chromatogram to find one or more peaks characteristic of ACF. A peak was isolated and identified as an equilibrium mixture of new compounds named chastol (**1**) and epichastol (**1a**). The planar structures of **1** and **1a** were determined spectroscopically.

Keywords: Vitex products, Western herb, marker compound

---

\*<sup>1</sup> 日本大学生物資源学部

\*<sup>2</sup> エムエス・ソリューションズ (株)

\*<sup>3</sup> 国際医療福祉大学薬学部

\*<sup>4</sup> 熊本大学薬学部

\*<sup>5</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

Yahagi T<sup>\*1</sup>, Masada S, Oshima N, Suzuki R, Matsufuji Y<sup>\*2</sup>, Takahashi Y<sup>\*3</sup>, Watanabe M<sup>\*4</sup>, Yahara S<sup>\*4</sup>, Iida O<sup>\*5</sup>, Kawahara N<sup>\*5</sup>, Maruyama T, Goda Y, Hakamatsuka T: Determination and identification of specific marker compound for discriminating Shrub Chaste Tree Fruit from Agnus Castus Fruit based on the LC/MS metabolic analysis. *Chem Pharm Bull.* 2016;64:1-6.

To ensure the efficacy and safety of both Shrub Chaste Tree Fruit (SCTF) and Agnus Castus Fruit (ACF) products, it is important to authenticate their botanical origins precisely and to distinguish between SCTF and ACF clearly. Therefore, we tried to identify SCTF-specific marker compounds based on LC/MS metabolic analysis. The multivariate analysis of LC/MS data from SCTF and ACF samples furnished the candidate marker compounds of SCTF. An SCTF-specific marker was isolated from SCTF crude drugs and identified as 3-*O*-*trans*-feruloyl tormentic acid on the basis of spectroscopic data from NMR and MS.

Keywords: Vitex products, Western herb, multivariate analysis

---

\*<sup>1</sup> 国際医療福祉大学薬学部

\*<sup>2</sup> 日本大学生物資源学部

\*<sup>3</sup> エムエス・ソリューションズ (株)

\*<sup>4</sup> 熊本大学薬学部

\*<sup>5</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

Sato-Masumoto N, Masada S, Takahashi S\*, Terasaki S\*, Yokota Y\*, Hakamatsuka T, Goda Y: Disintegration test of health food products containing *Ginkgo Biloba* L. or *Vitex Agnus-Castus* L. in the Japanese market.

*Medicines* 2015;2:47-54.

For many years now, a number of Western herbs have been widely used in health food products in Japan and as pharmaceuticals in Europe. There are few or no mandated criteria concerning the quality of these herbal health food products, thus clarification is warranted. Here, we performed disintegration tests of 26 pharmaceutical and health food products containing the Western herbs ginkgo leaf and chaste tree fruit, in accord with the Japanese Pharmacopoeia. All eight pharmaceutical herbal products found in the European market completely disintegrated within the defined test time, and 11 of the 18 tested herbal products distributed as health foods in Japan disintegrated. Among the incompatible products identified in the Pharmacopoeia test, some products remained intact after incubation in water for 60 min. To ensure the efficacy of Western herbal products sold as health food in Japan, quality control, including disintegration, is therefore recommended, even though these products are not regulated under the Pharmaceutical Affairs Law.

Keywords: OTC crude drug product, health food, disintegration test

---

\* Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research

Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Hakamatsuka T: A phenethylamine derivative 2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-*N*-[(3,4-methylenedioxyphenyl)methyl]ethanamine (25I-NB34MD) and a piperazine derivative 1-(3,4-difluoromethylenedioxybenzyl)piperazine (DF-MDBP), newly detected in illicit products.

*Forensic Toxicol.* 2016;34:166-73.

Two new psychoactive substances (NPSs), a phenethylamine derivative 2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-*N*-[(3,4-methylenedioxyphenyl)methyl]ethanamine (25I-NB34MD, **1**) and a piperazine derivative 1-(3,4-difluoromethylenedioxybenzyl)piperazine (DF-MDBP, **2**), were identified in illicit

products distributed from January to March 2015 in Japan. The identification was based on LC-MS, GC-MS, high-resolution MS and NMR analyses. Compound **1** has a 3,4-methylenedioxy benzyl moiety which is an analog of *N*-benzylmethoxy derivatives of 2,5-dimethoxyphenethylamines ("NBOMe"-compounds), e.g. 25I-NBOMe. Compound **2** is a difluoromethylenedioxy analog of a known designer drug 1-(3,4-methylenedioxybenzyl)piperazine (MDBP). To our knowledge, this is the first report on compounds **1** and **2** detected as NPSs in illicit products. Although there is no chemical or pharmaceutical information for compound **1**, a 2,3-methylenedioxy isomer of **1**, 25I-NBMD, is reported to have a binding affinity for 5-HT<sub>2A</sub> receptor. In the GC-MS and LC-MS analyses, compound **1** (25I-NB34MD) showed spectra that are very similar to those of the isomer 25I-NBMD. The structure of compound **1** was determined here by an NMR analysis. Considering these results, we should be careful when analyzing NPSs in illicit products to prevent their misidentification as isomers of other NPSs. It is important to directly compare an unknown substance with an authentic substance by using multiple instruments such as GC-MS and LC-MS.

Keywords: 2-(4-Iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-*N*-[(3,4-methylenedioxyphenyl)methyl]ethanamine (25I-NB34MD), 1-(3,4-Difluoromethylenedioxybenzyl)piperazine (DF-MDBP), New psychoactive substance

Uchiyama N, Asakawa K\*, Kikura-Hanajiri R, Tsutsumi T\*, Hakamatsuka T: A new pyrazole-carboxamide type synthetic cannabinoid AB-CHFUPYCA [*N*-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(cyclohexylmethyl)-3-(4-fluorophenyl)-1*H*-pyrazole-5-carboxamide] identified in illegal products.

*Forensic Toxicol.* 2015;33:367-73.

A new pyrazole-carboxamide type synthetic cannabinoid, AB-CHFUPYCA (**1**), was detected in illegal herbal products by our ongoing survey in Japan. The structure of **1** was identified by GC-MS, LC-MS, HR-LC-MS and NMR analyses. Compound **1** showed a molecular weight of 400, and accurate mass measurement using HR-LC-MS revealed its molecular formula to be C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>F. The MS and NMR spectrometric data revealed that the structure of **1** is *N*-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(cyclohexylmethyl)-3-(4-fluorophenyl)-1*H*pyrazole-5-

carboxamide. Compound **1**, which is a new type of synthetic cannabinoid, has a 3-(4-fluorophenyl)-1*H*-pyrazole group in place of a 1*H*-indazole group of AB-CHMINACA. To our knowledge, data on the chemistry and pharmacology of compound **1** have never been reported, and we therefore named compound **1** "AB-CHFUPYCA."

Keywords: AB-CHFUPYCA [*N*-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(cyclohexylmethyl)-3-(4-fluorophenyl)-1*H*-pyrazole-5-carboxamide], Pyrazole-carboxamide derivative, synthetic cannabinoid

\* 徳島県立保健製薬環境センター

Uchiyama N, Shimokawa Y, Kikura-Hanajiri R, Demizu Y, Goda Y, Hakamatsuka T: A synthetic cannabinoid FDU-NNEI, two 2*H*-indazole isomers of synthetic cannabinoids AB-CHMINACA and NNEI indazole analog (MN-18), a phenethylamine derivative *N*-OH-EDMA, and a cathinone derivative dimethoxy- $\alpha$ -PHP, newly identified in illegal products.

*Forensic Toxicol.* 2015;33:244-59.

Our continuous survey of illegal products in Japan revealed the new distribution of 15 designer drugs. We identified four synthetic cannabinoids, i.e., NNEI (**1**), 5-fluoro-NNEI (**2**), 5-chloro-NNEI (**3**) and NNEI indazole analog (**4**), and seven cathinone derivatives, i.e., MPHP (**5**),  $\alpha$ -PHPP (**6**),  $\alpha$ -POP (**7**), 3,4-dimethoxy- $\alpha$ -PVP (**8**), 4-fluoro- $\alpha$ -PVP (**9**),  $\alpha$ -ethylaminopentiophenone (**10**) and *N*-ethyl-4-methylpentadronone (**11**). We also determined LY-2183240 (**12**) and its 2'-isomer (**13**), which were reported to inhibit endocannabinoid uptake, a methylphenidate analog, 3,4-dichloromethylphenidate (**14**), and an MDA analog, 5-APDB (**15**). No chemical and pharmaceutical data for compounds **3**, **4**, **6** and **7** had been reported, making this the first report on these compounds.

Keywords: NNEI indazole analog, 5-Chloro-NNEI, 3,4-Dichloromethylphenidate

Sato M<sup>\*1</sup>, Yagishita F<sup>\*2</sup>, Mino T<sup>\*2</sup>, Uchiyama N, Patel A<sup>\*3</sup>, Chooi Y-H<sup>\*4</sup>, Goda Y, Xu W<sup>\*4</sup>, Noguchi H<sup>\*1</sup>, Yamamoto T<sup>\*1</sup>, Hotta K<sup>\*5</sup>, Houk KN<sup>\*3</sup>, Tang Y<sup>\*4</sup>, Watanabe K<sup>\*1</sup>: Involvement of Lipocalin-like CghA in Decalin-Forming Stereoselective Intramolecular [4+2] Cycloaddition.

*Chem Bio Chem.* 2015;16:2294-8.

Understanding enzymatic Diels–Alder (DA) reactions that can form complex natural product scaffolds is of considerable interest. Sch210972 **1**, a potential anti-HIV fungal natural product, contains a decalin core that is proposed to form through a DA reaction. We identified the gene cluster responsible for the biosynthesis of **1** and heterologously reconstituted the biosynthetic pathway in *Aspergillus nidulans* to characterize the enzymes involved. Most notably, deletion of *cghA* resulted in a loss of stereoselective decalin core formation, yielding both an endo (**1**) and a diastereomeric exo adduct of the proposed DA reaction. Complementation with *cghA* restored the sole formation of **1**. Density functional theory computation of the proposed DA reaction provided a plausible explanation of the observed pattern of product formation. Based on our study, we propose that lipocalin-like CghA is responsible for the stereoselective intramolecular [4+2] cycloaddition that forms the decalin core of **1**.

Keywords: cycloaddition, decalin, density functional calculations

<sup>\*1</sup> Department of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

<sup>\*2</sup> Department of Applied Chemistry and Biotechnology, Graduate School of Engineering, Chiba University

<sup>\*3</sup> Department of Chemistry and Biochemistry, University of California

<sup>\*4</sup> Department of Chemical and Biomolecular Engineering and, Department of Chemistry and Biochemistry, University of California

<sup>\*5</sup> School of Biosciences, The University of Nottingham Malaysia Campus

Toyo'oka T\*, Kikura-Hanajiri R: A Reliable Method for the separation and detection of synthetic cannabinoids by supercritical fluid chromatography with mass spectrometry and its application to plant products.

*Chem Pharm Bull.* 2015;63:762-9.

A reliable method using supercritical fluid chromatography with mass spectrometry (SFC-MS) was developed for cannabinoids using compressed carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and methanol as the mobile-

phase. The cannabinoids, i.e., cannabicyclohexanol (CCH: cis-isomer), trans-CCH, 5-(1,1-dimethylheptyl)-2-[(1*R*,3*S*)-3-hydroxycyclohexyl]-phenol (CP-47497), 5-(1,1-dimethylheptyl)-2-[(1*R*,2*R*,5*R*)-5-hydroxy-2-(3-hydroxypropyl)cyclohexyl]-phenol (CP-55940), 3-(1,1'-dimethylheptyl)-6*aR*,7,10,10*aR*-tetrahydro-1-hydroxy-6,6-dimethyl-6*H*-dibenzo[*b,d*]pyran-9-methanol (HU-210), 2-[1*R*-3-methyl-6*R*-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-yl]-5-pentyl-1,3-benzenediol (CBD), (1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone (JWH-018), (1-butyl-1*H*-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone (JWH-073) and 1-(1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)-2-(2-methoxyphenyl)-ethanone (JWH-250), were determined within 12 min using a conventional column (2-EP) for SFC. Furthermore, two optical isomers of CCH and trans-CCH were completely and rapidly separated by a chiral stationary phase column (AMY1). A highly sensitive detection (0.002-3.75 ppb) was also obtained by these methods using 2-EP and AMY1 columns. These methods were applied to the qualitative and quantitative determination of cannabinoids in dried plant products. Although the concentration and species were different in the products, JWH-018, JWH-073 and CCH, including the cis-isomer, trans-isomer and the optical isomers, were detected in the products. Therefore, the proposed SFC-MS method seems to be useful as an alternative method to GC-MS and LC-MS for illegal drugs, such as cannabinoids.

Keywords: cannabinoid, supercritical fluid chromatography, mass spectrometry

<sup>\*</sup> School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

Fuchigami Y\*, Fu X\*, Ikeda R\*, Kawakami S\*, Wada M\*, Kikura-Hanajiri R, Kuroda N\*, Nakashima K\*: Evaluation of the neurochemical effects of methoxetamine using brain microdialysis in mice.

*Forensic Toxicol.* 2015;33:374-9.

The ketamine analogue, 2-(3-methoxyphenyl)-2-(ethylamino)cyclohexanone (methoxetamine) has emerged as a drug of abuse. Both methoxetamine and ketamine are antagonists of glutamate *N*-methyl-*D*-aspartate receptors, and several case reports show that methoxetamine produces similar schizophrenia-like symptoms and hallucinations to ketamine. Although methoxetamine is believed to change levels



of dopamine, glutamate, and serotonin in the brain, few studies thus far have examined these effects. We investigated the influence of methoxetamine on dopamine and serotonin concentrations using microdialysis and high performance liquid chromatography with electrochemical detection. To reveal the effects of methoxetamine, we monitored dopamine and serotonin concentrations in several brain areas [striatum, nucleus accumbens, and prefrontal cortex (mPFC)] after an administration of 20 mg/kg of methoxetamine. We compared the effects of methoxetamine with those of ketamine using two ketamine doses. Methoxetamine increased dopamine and serotonin concentrations most robustly in the mPFC. In addition, its effects were stronger than those of ketamine at the same molar dose, suggesting that methoxetamine causes schizophrenia-like symptoms and hallucinations by increasing the dopamine and serotonin concentrations. We conclude that consumption of methoxetamine may be more dangerous than consumption of ketamine.

Keywords: methoxetamine, ketamine, NMDA receptor antagonist

---

\* School of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki University

Kudo K\*, Usumoto Y\*, Kikura-Hanajiri R, Sameshima N\*, Tsuji A\*, Ikeda N\*: A fatal case of poisoning related to new cathinone designer drugs, 4-methoxy PV8, PV9 and 4-methoxy PV9, and a dissociative agent, diphenidine.

*Legal Medicine* 2015;17:421-6.

A woman in her thirties was found dead on a bed. Considerable amounts of "aroma liquid" and "bath salt" products and hypnotic drug tablets were scattered beside the bed. Autopsy showed pulmonary congestion and edema. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analyses of "aroma liquid" and "bath salt" products showed the presence of new cathinone designer drugs, 4-methoxy PV8 (4-methoxy PHPP), PV9 ( $\alpha$ -POP), and 4-methoxy PV9 (4-methoxy  $\alpha$ -POP), and a dissociative agent, diphenidine. Drug screening in stomach contents, blood and hydrolyzed urine of the woman by GC-MS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-

MS/MS) revealed the presence of the above 4 types of drugs and 3 types of benzodiazepines, triazolam, flunitrazepam, and nitrazepam, and their metabolites. The above 7 drugs and 3 benzodiazepine metabolites were simultaneously determined by LC-MS/MS after modified QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) extraction using diazepam-d5 as the internal standard. The concentrations of 4-methoxy PV8, PV9, 4-methoxy PV9, and diphenidine in the femoral blood were 2.69, 0.743, 0.261, and 1.38 $\mu$ g/ml, respectively, which were significantly higher than concentrations reported in previous cases. Alcohol concentration in the femoral blood was 1.52 mg/ml. Based on the pathological and toxicological findings, the cause of death was determined to be 3 types of cathinone drugs, 4-methoxy PV8, PV9 and 4-methoxy PV9, and diphenidine poisoning under the influence of 3 benzodiazepines and alcohol.

Keywords: synthetic cathinones, GC-MS, LC-MS/MS

---

\* Faculty of Medical Sciences, Kyushu University

Piao YS<sup>\*1,2</sup>, Hall FS<sup>\*3</sup>, Moriya Y<sup>\*1</sup>, Ito M<sup>\*1</sup>, Ohara A<sup>\*1</sup>, Kikura-Hanajiri R, Goda Y, Lesch KP<sup>\*4</sup>, Murphy DL<sup>\*5</sup>, Uhl GR<sup>\*6</sup>, Sora I<sup>\*1,7</sup>: Methylone-induced hyperthermia and lethal toxicity: role of the dopamine and serotonin transporters.

*Behavioural Pharmacology* 2015;26:345-52.

Methylone (2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxyphenyl]propan-1-one), an amphetamine analog, has emerged as a popular drug of abuse worldwide. Methylone induces hyperthermia, which is thought to contribute toward the lethal consequences of methylone overdose. Methylone has been assumed to induce hyperthermic effects through inhibition of serotonin and/or dopamine transporters (SERT and DAT, respectively). To examine the roles of each of these proteins in methylone-induced toxic effects, we used SERT and DAT knockout (KO) mice and assessed the hyperthermic and lethal effects caused by a single administration of methylone. Methylone produced higher rates of lethal toxicity compared with other amphetamine analogs in wild-type mice. Compared with wild-type mice, lethality was significantly lower in DAT KO mice, but not in SERT KO mice. By contrast, only a slight diminution in the hyperthermic effects of methylone was observed in DAT KO mice, whereas

a slight enhancement of these effects was observed in SERT KO mice. Administration of the selective D1 receptor antagonist SCH 23390 and the D2 receptor antagonist raclopride reduced methylone-induced hyperthermia, but these drugs also had hypothermic effects in saline-treated mice, albeit to a smaller extent than the effects observed in methylone-treated mice. In contradistinction to 3,4-methylenedioxymethamphetamine, which induces its toxicity through SERT and DAT, these data indicate that DAT, but not SERT, is strongly associated with the lethal toxicity produced by methylone, which did not seem to be dependent on the hyperthermic effects of methylone. DAT is therefore a strong candidate molecule for interventions aimed at preventing acute neurotoxic and lethal effects of methylone.

Keywords: methylone, serotonin and/or dopamine transporters, knockout mice

\*<sup>1</sup> Tohoku University Graduate School of Medicine

\*<sup>2</sup> Capital Medical University

\*<sup>3</sup> University of Toledo

\*<sup>4</sup> University of Wurzburg

\*<sup>5</sup> National Institute of Mental Health

\*<sup>6</sup> National Institute on Drug Abuse, Intramural Research Program

\*<sup>7</sup> Kobe University Graduate School of Medicine

Takatori Y<sup>\*1,2</sup>, Shimizu K<sup>\*1</sup>, Ogata J, Endo H<sup>\*1</sup>, Ishimaru K<sup>\*3</sup>, Okamoto S<sup>\*1</sup>, Hashimoto F<sup>\*1</sup>: Cloning of the Flavonoid 3'-hydroxylase gene of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. (*EgF3'H*) and complementation of an F3'H-deficient mutant of *Ipomoea nil* (L.) Roth. by heterologous expression of *EgF3'H*.

*The Horticulture Journal* 2015;84:131-9

A full-length cDNA of a putative flavonoid 3'-hydroxylase (*F3'H*) gene encoding a key enzyme in the production of cyanidin was cloned from a lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) petal. Overexpression of lisianthus *F3'H* cDNA altered flower color from red to blue in the *I. nil* cultivar 'Violet', which lacks a functional *F3'H* gene. In addition, the transgenic 'Violet' plants accumulated cyanidin and peonidin at similar levels to wild-type *I. nil*. Taking these findings together, this study demonstrates that *EgF3'H* functions as a flavonoid 3'-hydroxylase with a role in the synthesis of

cyanidin and peonidin pigments.

Keywords: anthocyanin, flower color, transformation

\*<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Kagoshima University

\*<sup>2</sup> Saga Prefectural Agriculture Research Center

\*<sup>3</sup> Faculty of Agriculture, Saga University

Maeda Y\*, Terasawa H\*, Tanaka Y\*, Mitsuura C\*, Nakashima K\*, Yusa K, Harada S\*: Separate cellular localizations of human T-lymphotropic virus 1 (HTLV-1) Env and glucose transporter type 1 (GLUT1) are required for HTLV-1 Env-mediated fusion and infection.

*J Virol.* 2015;89:502-11.

Interaction of the envelope glycoprotein (Env) of human T-lymphotropic virus 1 (HTLV-1) with the glucose transporter type 1 (GLUT1) expressed in target cells is essential for viral entry. This study found that the expression level of GLUT1 in virus-producing 293T cells was inversely correlated with HTLV-1 Env-mediated fusion activity and infectivity. Chimeric studies between GLUT1 and GLUT3 indicated that the extracellular loop 6 (ECL6) of GLUT1 is important for the inhibition of cell-cell fusion mediated by Env. When GLUT1 was translocated into the plasma membrane from intracellular storage sites by bafilomycin A1 (BFLA1) treatment in 293T cells, HTLV-1 Env-mediated cell fusion and infection also were inhibited without the overexpression of GLUT1, indicating that the localization of GLUT1 in intracellular compartments rather than in the plasma membrane is crucial for the fusion activity of HTLV-1 Env. Immunoprecipitation and laser scanning confocal microscopic analyses indicated that under normal conditions, HTLV-1 Env and GLUT1 do not colocalize or interact. BFLA1 treatment induced this colocalization and interaction, indicating that GLUT1 normally accumulates in intracellular compartments separate from that of Env. Western blot analyses of FLAG-tagged HTLV-1 Env in virus-producing cells and the incorporation of HTLV-1 Env in virus-like particles (VLPs) indicate that the processing of Env is inhibited by either overexpression of GLUT1 or BFLA1 treatment in virus-producing 293T cells. This inhibition probably is due to the interaction of the Env with GLUT1 in intracellular compartments. Taken together, separate intracellular localizations of GLUT1

and HTLV-1 Env are required for the fusion activity and infectivity of HTLV-1 Env.

Keywords: HTLV-1, Env, GLUT1

---

\* Kumamoto University

Kusakawa S, Yasuda S, Kuroda T, Kawamata S\*, Sato Y: Ultra-sensitive detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products by digital analysis of soft agar colony formation.

*Sci Rep.* 2015;5:17892.

Contamination with tumorigenic cellular impurities is one of the most pressing concerns for human cell-processed therapeutic products (hCTPs). The soft agar colony formation (SACF) assay, which is a well-known in vitro assay for the detection of malignant transformed cells, is applicable for the quality assessment of hCTPs. Here we established an image-based screening system for the SACF assay using a high-content cell analyzer termed the digital SACF assay. Dual fluorescence staining of formed colonies and the dissolution of soft agar led to accurate detection of transformed cells with the imaging cytometer. Partitioning a cell sample into multiple wells of culture plates enabled digital readout of the presence of colonies and elevated the sensitivity for their detection. In practice, the digital SACF assay detected impurity levels as low as 0.00001% of the hCTPs, i.e. only one HeLa cell contained in 10,000,000 human mesenchymal stem cells, within 30 days. The digital SACF assay saves time, is more sensitive than in vivo tumorigenicity tests, and would be useful for the quality control of hCTPs in the manufacturing process.

Keywords: Tumorigenicity test, soft agar colony formation assay, quality control

---

\* 先端医療振興財団

Kuroda T, Yasuda S, Matsuyama S, Tano K, Kusakawa S, Sawa Y\*<sup>1</sup>, Kawamata S\*<sup>2</sup>, Sato Y: Highly sensitive droplet digital PCR method for detection of residual undifferentiated cells in cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells.

*Regenerative Therapy* 2015;2:17-23.

Human pluripotent stem cells (hPSCs), such as human embryonic stem cells (hESCs) and human induced pluripotent stem cells (hiPSCs), are leading candidate cells as raw materials for cell therapy products, because of their capacity for pluripotent differentiation and unlimited self-renewal. hPSC-derived products have already entered the scope of clinical application. However, the assessment and control of their tumorigenicity remains to be a critical challenge. Sensitive detection of the pluripotent cellular impurities is necessary for the safety and quality control of the hPSC-derived products. In the present study, we established a sensitive assay for detection of the residual undifferentiated hiPSCs in cardiomyocytes, using droplet digital PCR (ddPCR). The ddPCR method with a probe and primers for LIN28 significantly detected as low as 0.001% undifferentiated hiPSCs in primary cardiomyocytes, which is equivalent to the ratio of a single hiPSC to  $1 \times 10^5$  cardiomyocytes. The ddPCR also showed that LIN28 expression is extremely low in human tissues including liver, heart, pancreas, kidney, spinal cord, corneal epithelium and lung. These results suggest that the ddPCR method targeting LIN28 transcripts is highly sensitive and useful for the quality assessment of various cell therapy products derived from hPSCs.

Keywords : 再生医療, iPS細胞, 造腫瘍性

---

\*<sup>1</sup> 大阪大学

\*<sup>2</sup> 先端医療振興財団

Hayakawa T\*<sup>1</sup>, Aoi T\*<sup>2</sup>, Umezawa A\*<sup>3</sup>, Ozawa K\*<sup>4</sup>, Sato Y, Sawa Y\*<sup>5</sup>, Matsuyama A\*<sup>6</sup>, Yamanaka S\*<sup>7</sup>, Yamato M\*<sup>8</sup>: A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from the processing of autologous human somatic stem cells.

*Regenerative Therapy* 2015;2:57-69.

To make sure that novel human cell-based products contribute to human health care, it is essential that, based on sound science at present, suitable measures be taken by the manufacturers and regulatory authorities on applying these products to the treatment of patients by taking into account specificity of starting cell lines, the manufacturing process, products, administration procedures, diseases in question, and patient population. As part of such an

endeavor, we studied scientific principles, concepts, and basic technical elements to ensure the quality and safety of therapeutic products derived from autologous human somatic stem cells, taking into consideration scientific and technological advances, ethics, regulatory rationale, and international trends in human stem cell-derived products. This led to the development of the Japanese official Notification No. 0907-2, "Guideline on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Autologous Human Somatic Stem Cells," issued by Pharmaceuticals and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan on September 7, 2012. The present paper describes the background information and the development of our study and the resulting guidance. For products derived from autologous somatic stem cells, major points to consider include 1) multipotency and self-replication ability of autologous human somatic stem cells and differences in cell characteristics of the final products from those of the starting cells; 2) a donor's infectious status; 3) the risk of proliferation/reactivation of viruses during the manufacturing processes; 4) robust process control to minimize unevenness of "custom-made" products; 5) a limited amount of samples for quality evaluation of products; and 6) robust application and function of the final products in a cell environment different from where the original cells were localized and were performing their natural endogenous functions. The ultimate goal of this guidance is to provide suitable medical opportunities as soon as possible to the patients.

Keywords: Guideline, Autologous Human Somatic Stem Cells, human cell-based products

\*1 近畿大学薬学総合研究所

\*2 神戸大学

\*3 国立成育医療研究センター

\*4 東京大学医科学研究所

\*5 大阪大学

\*6 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*7 京都大学iPS細胞研究所

\*8 東京女子医科大学

Hayakawa T<sup>\*1</sup>, Aoi T<sup>\*2</sup>, Umezawa A<sup>\*3</sup>, Ozawa K<sup>\*4</sup>, Sato Y, Sawa Y<sup>\*5</sup>, Matsuyama A<sup>\*6</sup>, Yamanaka S<sup>\*7</sup>, Yamato M<sup>\*8</sup>: A study on ensuring the quality

and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from the processing of allogeneic human somatic stem cells.

*Regenerative Therapy* 2015;2:70-80.

As a series of endeavors to establish suitable measures for the sound development of regenerative medicine using human stem cell-based products, we studied scientific principles, concepts, and basic technical elements to ensure the quality and safety of therapeutic products derived from allogeneic human somatic stem cells, taking into consideration scientific and technological advances, ethics, regulatory rationale, and international trends in human stem cell-derived products. This led to the development of the Japanese official Notification No. 0907-3, "Guideline on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Allogeneic Human Somatic Stem Cells," issued by Pharmaceuticals and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, on September 7, 2012. The present paper describes the background information and development of our study and the resulting guidance. For products derived from allogeneic somatic stem cells, major points to consider include 1) history, the source, and derivation of starting cells; 2) donor screening/testing and donor eligibility, especially in relation to the presence of adventitious agents, potential occurrence of donor-derived diseases, and immunocompatibility; 3) clinical records of a donor; 4) multipotency and self-replication ability of allogeneic human somatic stem cells; 5) cell banking; 6) potential presence of viruses in the final product; 7) extensive characterization of the cells at critical stage(s) of manufacture; 8) robustness of the manufacturing process; 9) quality consistency of the products such as the final products and critical intermediate(s) if any; and 10) robust application and function of the final products in a cell environment different from where the original cells were localized and were performing their natural endogenous function. The ultimate goal of this guidance is to provide suitable medical opportunities as soon as possible to the patients with severe diseases that are difficult to treat with conventional modalities.

Keywords: Guideline, Allogeneic Human Somatic Stem Cells, human stem cell-based products

\*<sup>1</sup> 近畿大学薬学総合研究所

\*<sup>2</sup> 神戸大学

\*<sup>3</sup> 国立成育医療研究センター

\*<sup>4</sup> 東京大学医科学研究所

\*<sup>5</sup> 大阪大学

\*<sup>6</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*<sup>7</sup> 京都大学iPS細胞研究所

\*<sup>8</sup> 東京女子医科大学

Hayakawa T<sup>\*1</sup>, Aoi T<sup>\*2</sup>, Umezawa A<sup>\*3</sup>, Ozawa K<sup>\*4</sup>, Sato Y, Sawa Y<sup>\*5</sup>, Matsuyama A<sup>\*6</sup>, Yamanaka S<sup>\*7</sup>, Yamato M<sup>\*8</sup>: A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of autologous human induced pluripotent stem(-like) cells.

*Regenerative Therapy* 2015;2:81-94.

As a series of endeavors to establish suitable measures for the sound development of regenerative medicine using human stem cell-based products, we studied scientific principles, concepts, and basic technical elements to ensure the quality and safety of therapeutic products derived from autologous human iPS cells or iPS cell-like cells, taking into consideration scientific and technological advances, ethics, regulatory rationale, and international trends in human stem cell-derived products. This led to the development of the Japanese official Notification No. 0907-4, "Guideline on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Autologous Human Induced Pluripotent Stem(-Like) Cells," issued by Pharmaceuticals and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, on September 7, 2012. The present paper addresses various aspects of products derived from autologous human iPS cells (or iPS cell-like cells), in addition to similar points to consider that are described previously for autologous human stem cell-based products. Major additional points include (1) possible existence of autologous human iPS cell-like cells that are different from iPS cells in terms of specific biological features; (2) the use of autologous human iPS(-like) cells as appropriate starting materials for regenerative medicine, where necessary and significant; (3) establishment of autologous human iPS(-like) cell lines and their characterization; (4) cell banking and/or possible establishment of intermediate cell lines derived from autologous human iPS(-like)

cells at appropriate stage(s) of a manufacturing process, if necessary; and (5) concerns about the presence of undifferentiated cells in the final product; such cells may cause ectopic tissue formation and/or tumorigenesis. The ultimate goal of this guidance is to provide suitable medical opportunities as soon as possible to the patients with severe diseases that are difficult to treat with conventional modalities.

Keywords: Guideline, Autologous Human Induced Pluripotent Stem(-Like) Cells

\*<sup>1</sup> 近畿大学薬学総合研究所

\*<sup>2</sup> 神戸大学

\*<sup>3</sup> 国立成育医療研究センター

\*<sup>4</sup> 東京大学医科学研究所

\*<sup>5</sup> 大阪大学

\*<sup>6</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*<sup>7</sup> 京都大学iPS細胞研究所

\*<sup>8</sup> 東京女子医科大学

Hayakawa T<sup>\*1</sup>, Aoi T<sup>\*2</sup>, Umezawa A<sup>\*3</sup>, Ozawa K<sup>\*4</sup>, Sato Y, Sawa Y<sup>\*5</sup>, Matsuyama A<sup>\*6</sup>, Yamanaka S<sup>\*7</sup>, Yamato M<sup>\*8</sup>: A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of allogeneic human induced pluripotent stem(-Like) cells.

*Regenerative Therapy* 2015;2:95-108.

As a series of endeavors to establish suitable measures for the sound development of regenerative medicine using human stem cell-based products, we studied scientific principles, concepts and basic technical elements to ensure the quality and safety of therapeutic products derived from allogeneic human induced pluripotent stem cells (iPS cells) or iPS cell-like cells, taking into consideration scientific and technological advances, ethics, regulatory rationale, and international trends in human stem cell-derived products. This led to the development of the Japanese official Notification No. 0907-5, "Guideline on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Allogeneic Human Induced Pluripotent Stem(-Like) Cells," issued by Pharmaceuticals and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, on September 7, 2012. The present paper addresses various aspects of products derived from allogeneic human iPS cells (or iPS cell-like cells), in addition to similar points to

consider that are described previously for allogeneic human stem cell-based products. Major additional points include 1) possible existence of allogeneic human iPS cell-like cells that are different from iPS cells in specific biological features; 2) the use of allogeneic human iPS(-like) cells as appropriate starting materials for regenerative medicine, where necessary and significant; 3) establishment of an allogeneic human iPS(-like) cell line and its characterization; 4) establishment of well-characterized stable cell banks and relevant intermediate cell products, if necessary; 5) concerns about the presence of undifferentiated cells in final products; such cells may cause ectopic tissue formation and/or tumorigenesis; and 6) concerns about undesirable immunological reactions that may be caused by the final products. The ultimate goal of this guidance is to provide suitable medical opportunities as soon as possible to the patients with severe diseases that are difficult to treat with conventional modalities.

Keywords: Guideline, Allogeneic Human Induced Pluripotent Stem(-Like) Cells

\*1 近畿大学薬学総合研究所

\*2 神戸大学

\*3 国立成育医療研究センター

\*4 東京大学医科学研究所

\*5 大阪大学

\*6 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*7 京都大学iPS細胞研究所

\*8 東京女子医科大学

Hayakawa T<sup>\*1</sup>, Aoi T<sup>\*2</sup>, Umezawa A<sup>\*3</sup>, Ozawa K<sup>\*4</sup>, Sato Y, Sawa Y<sup>\*5</sup>, Matsuyama A<sup>\*6</sup>, Yamanaka S<sup>\*7</sup>, Yamato M<sup>\*8</sup>: A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from the processing of human embryonic stem cells.

*Regenerative Therapy* 2015;2:109-22.

As a series of endeavors to establish suitable measures for the sound development of regenerative medicine using human stem cell-based products, we studied scientific principles, concepts, and basic technical elements to ensure the quality and safety of therapeutic products derived from the processing of human embryonic stem cells (hESCs), taking into consideration scientific and technological advances, ethics, regulatory rationale, and international trends

in human stem cell-derived products. This led to the development of the Japanese official Notification No. 0907-6, "Guideline on Ensuring the Quality and Safety of Pharmaceuticals and Medical Devices Derived from the Processing of Human Embryonic Stem Cells," issued by Pharmaceuticals and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, on September 7, 2012. The present paper addresses various aspects of products derived from hESCs, in addition to similar points to consider that are described previously for allogeneic human stem cell-based products. Major additional points include 1) establishment of hESCs; 2) establishment of stable and well-characterized cell banks of hESCs and relevant intermediate cell products; 3) concerns about the presence of undifferentiated cells in final products, which may result in ectopic tissue formation and/or tumorigenesis; and 4) concerns about undesirable immunological reactions caused by the final products. The ultimate goal of this series of guidelines on regenerative medicine is to provide suitable medical opportunities as soon as possible to the patients with severe diseases that are difficult to treat with conventional modalities. If these guidelines are interpreted and employed in a flexible and meaningful way in this context, they should serve as a useful means to achieve their goals.

Keywords: Guideline, human embryonic stem cells, human stem cell-derived products

\*1 近畿大学薬学総合研究所

\*2 神戸大学

\*3 国立成育医療研究センター

\*4 東京大学医科学研究所

\*5 大阪大学

\*6 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*7 京都大学iPS細胞研究所

\*8 東京女子医科大学

Yoshida T, Yoshioka Y<sup>\*1</sup>, Morishita Y<sup>\*1</sup>, Aoyama M<sup>\*1</sup>, Tochigi S<sup>\*1</sup>, Hirai T<sup>\*1</sup>, Tanaka K<sup>\*1</sup>, Nagano K<sup>\*1</sup>, Kanada H<sup>\*2</sup>, Tsunoda S<sup>\*2</sup>, Nabeshi H, Yoshikawa T<sup>\*1</sup>, Higashisaka K<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y<sup>\*1</sup>: Protein corona changes mediated by surface modification of amorphous silica nanoparticles suppress acute toxicity and activation of intrinsic coagulation cascade in mice.

*Nanotechnology* 2015;26:245101.

Recently, nanomaterial-mediated biological effects have been shown to be governed by the interaction of nanomaterials with some kinds of proteins in biological fluids, and the physical characteristics of the nanomaterials determine the extent and type of their interactions with proteins. Here, we examined the relationships between the surface properties of amorphous silica nanoparticles with diameters of 70 nm (nSP70), their interactions with some proteins in biological fluids, and their toxicity in mice after intravenous administration. The surface modification of nSP70 with amino groups (nSP70-N) prevented acute lethality and abnormal activation of the coagulation cascade found in the nSP70-treated group of mice. Since our previous study showed that coagulation factor XII played a role in the nSP70-mediated abnormal activation of the coagulation cascade, we examined the interaction of nSP70 and nSP70-N with coagulation factor XII. Coagulation factor XII bonded to the surface of nSP70 to a greater extent than that observed for nSP70-N, and consequently more activation of coagulation factor XII was observed for nSP70 than for nSP70-N. Collectively, our results suggest that controlling the interaction of nSP70 with blood coagulation factor XII by modifying the surface properties would help to inhibit the nSP70-mediated abnormal activation of the blood coagulation cascade.

Keywords: Coagulation, Nanoparticles, Protein adsorption

\*<sup>1</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

\*<sup>2</sup> 医薬基盤・健康・栄養研究所

Hattori T, Watanabe-Takahashi M<sup>\*1</sup>, Ohoka N, Hamabata T<sup>\*2</sup>, Furukawa K<sup>\*3</sup>, Nishikawa K<sup>\*1</sup>, Naito M: Proteasome inhibitors prevent cell death and prolong survival of mice challenged by Shiga toxin.

*FEBS Open Bio.* 2015;5:605-14.

Shiga toxin (Stx) causes fatal systemic complications. Stx induces apoptosis, but the mechanism of which is unclear. We report that Stx induced rapid reduction of short-lived anti-apoptotic proteins followed by activation of caspase 9 and the progression of apoptosis. Proteasome inhibitors prevented the reduction of anti-apoptotic proteins, and inhibited caspase activation and apoptosis, suggesting that the reduction of anti-

apoptotic proteins is a prerequisite for Stx-induced apoptosis. A clinically approved proteasome inhibitor, bortezomib, prolonged the survival of mice challenged by Stx. These results imply that proteasome inhibition may be a novel approach to prevent the fatal effects of Stx.

Keywords: Shiga toxin, Apoptosis, Proteasome

\*<sup>1</sup> 同志社大学生命医科学部

\*<sup>2</sup> 国際医療研究センター研究所

\*<sup>3</sup> 名古屋大学大学院医学研究科

Tomoshige S<sup>\*</sup>, Naito M, Hashimoto Y<sup>\*</sup>, Ishikawa M<sup>\*</sup>: Degradation of HaloTag-fused nuclear proteins using bestatin-HaloTag ligand hybrid molecules.

*Org Biomol Chem.* 2015;16:9746-50.

We have developed a protein knockdown technology using hybrid small molecules designed as conjugates of a ligand for the target protein and a ligand for ubiquitin ligase cellular inhibitor of apoptosis protein 1 (cIAP1). However, this technology has several limitations. Here, we report the development of a novel protein knockdown system to address these limitations. In this system, target proteins are fused with HaloTag to provide a common binding site for a degradation inducer. We designed and synthesized small molecules consisting of alkyl chloride as the HaloTag-binding degradation inducer, which binds to HaloTag, linked to BE04 (2), which binds to cIAP1. Using this system, we successfully knocked down HaloTag-fused cAMP responsive element binding protein 1 (HaloTag-CREB1) and HaloTag-fused c-jun (HaloTag-c-jun), which are ligand-unknown nuclear proteins, in living cells. HaloTag-binding degradation inducers can be synthesized easily, and are expected to be useful as biological tools for pan-degradation of HaloTag-fused proteins.

Keywords: Ubiquitin-proteasome system, cIAP1, HaloTag

\* 東京大学分子細胞生物学研究所

Shibata N, Ohoka N, Sugaki Y<sup>\*1</sup>, Onodera C<sup>\*1</sup>, Inoue M<sup>\*2</sup>, Sakuraba Y<sup>\*3</sup>, Takakura D, Hashii N, Kawasaki N, Gondo Y<sup>\*3</sup>, Naito M: Degradation of Stop Codon Read-through Mutant Proteins via the Ubiquitin-Proteasome System Causes Hereditary Disorders.

*J Biol Chem.* 2015;290:28428-37.

During translation, stop codon read-through occasionally happens when the stop codon is misread, skipped, or mutated, resulting in the production of aberrant proteins with C-terminal extension. These extended proteins are potentially deleterious, but their regulation is poorly understood. Here we show in vitro and in vivo evidence that mouse cFLIP-L with a 46-amino acid extension encoded by a read-through mutant gene is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system, causing hepatocyte apoptosis during embryogenesis. The extended peptide interacts with an E3 ubiquitin ligase, TRIM21, to induce ubiquitylation of the mutant protein. In humans, 20 read-through mutations are related to hereditary disorders, and extended peptides found in human PNPO and HSD3B2 similarly destabilize these proteins, involving TRIM21 for PNPO degradation.

Our findings indicate that degradation of aberrant proteins with C-terminal extension encoded by read-through mutant genes is a mechanism for loss of function resulting in hereditary disorders.

Keywords: Read-through mutation, Ubiquitin-proteasome system, cFLIP-L

\*1 東京大学大学院新領域創成科学研究科

\*2 東京大学薬学部

\*3 理化学研究所バイオリソースセンター

Nishikawa K<sup>\*1</sup>, Iwaya K<sup>\*2</sup>, Kinoshita M<sup>\*2</sup>, Fujiwara Y<sup>\*3</sup>, Akao M<sup>\*3</sup>, Sonoda M<sup>\*3</sup>, Thirupathi S, Suzuki T, Hiroi S<sup>\*2</sup>, Seki S<sup>\*2</sup>, Sakamoto T<sup>\*2</sup>: Resveratrol increases CD68(+) Kupffer cells colocalized with adipose differentiation-related protein and ameliorates high-fat-diet-induced fatty liver in mice.

*Mol Nutr Food Res.* 2015;59:1155-70.

This study purposed to elucidate the effect of resveratrol on fatty liver in mice fed a high-fat (HF) diet, and to investigate the role of liver macrophages (Kupffer cells).

C57BL/6 mice were fed with either a control diet, HF diet (50% fat), or HF supplemented with 0.2% resveratrol (HF + res) diet, for 8 weeks. Compared with the HF group, the HF + res group exhibited markedly attenuated fatty liver, and reduced lipid droplets (LDs) in hepatocytes. Proteomic analysis demonstrated that the most downregulated protein

in the livers of the HF + res group was adipose differentiation-related protein (ADFP), which is a major constituent of LDs and reflects lipid accumulation in cells. The HF + res group exhibited greatly increased numbers of CD68(+) Kupffer cells with phagocytic activity. *situ* hybridization analysis, compared with the HF group.

Keywords: Resveratrol, Fatty liver

\*1 中央大学商学部

\*2 防衛医科大学

\*3 御茶ノ水大学大学院人間文化創成科学研究科

Kondo J<sup>\*1</sup>, Nomura Y, Kitahara Y<sup>\*1</sup>, Obika S<sup>\*3</sup>, Torigoe H<sup>\*2</sup>: Crystal structure of 2',4'-BNANC[N-Me]-modified antisense gapmer in complex with the target RNA.

*Chemical Communications* 2016;52:2354-7.

It has been confirmed by our previous studies that a 20,40-BNANC[N-Me]-modified antisense gapmer displays high affinity and selectivity to the target RNA strand, promising mRNA inhibitory activity and excellent nuclease resistance. Herein, we have obtained a crystal structure that provides insights into these excellent antisense properties.

Keywords: Antisense, BNA, Crystal structure

\*1 Sophia University

\*2 Tokyo University of Science

\*3 Osaka University

Haishima Y, Kawakami T, Fukui C, Tanoue A<sup>\*1</sup>, Yuba T<sup>\*2</sup>, Ozono S, Kumada H<sup>\*3</sup>, Inoue K, Morikawa T, Takahashi M, Fujisawa A<sup>\*4</sup>, Yamasaki K<sup>\*5</sup>, Nomura Y, Isama K, Chung U<sup>\*4</sup>, Ogawa K, Niimi S, Yoshida M: Characterization of alternative plasticizers in polyvinyl chloride sheets for blood containers.

*J Vinyl Add Technol.* 2015;doi:10.1002/vnl.21472.

This study aimed to optimize the ratio of dioctyl 4-cyclohexene-1,2-dicarboxylate (DOTH) and diisononyl-cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH<sup>®</sup>) for use as plasticizers in poly(vinyl chloride) (PVC) sheets. We also evaluated the biological safety of DOTH for its potential to be part of a safe PVC-based blood container. The suppression of hemolysis in mannitol-adenine-phosphate / red cell concentrates (MAP/



RCC) with DOTH/(DINCH<sup>®</sup>-PVC) sheets and the elution of plasticizers from the sheets increased with higher DOTH compositions. The properties of the PVC sheet containing DOTH and DINCH<sup>®</sup> in the ratio of 25:33 parts against PVC 100 parts as a weight were almost identical to the PVC sheet made of di(2-ethylhexyl) phthalate. From a subchronic toxicity test, DOTH did not show any adverse effects on all organs, including the testes, epididymis, liver, and kidneys. The no-observed-adverse-effect level was 300 mg/kg body weight/day in a rat. These results suggest that DOTH/DINCH<sup>®</sup> (25:33) is a promising candidate for the replacement of di(2-ethylhexyl) phthalate in blood containers.

Keywords: PVC medical device, blood containers, hemolysis

\*<sup>1</sup> National Center for Child Health and Development

\*<sup>2</sup> Kawasumi Laboratories

\*<sup>3</sup> Kanagawa Dental University

\*<sup>4</sup> The University of Tokyo

\*<sup>5</sup> Public Welfare Institute of Scientific Research Foundation

追田秀行, 新見伸吾: 疲労き裂進展特性による人工関節用高度架橋超高分子量ポリエチレンの耐久性評価. *臨床バイオメカニクス* 2015;36:197-200.

Ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) has been widely used as an articulating surface of artificial joints. Recent advancements of materials such as improved wear resistance by cross-linking and improved stability by the addition of an anti-oxidant are expected to reduce aseptic loosening, leading to the longer life of artificial joints. On the other hand, there is still a possibility of fatigue failure at sites under a large load, such as a post of artificial knee joints and a rim of artificial hip joints. In this study, we investigated the fatigue characteristics of highly cross-linked UHMWPE, which is now commonly used clinically, using fatigue crack propagation tests, and compared them with the results of our previous study using highly cross-linked UHMWPE by delamination tests to evaluate the clinical relevance of the tests.

It was found that the fatigue crack propagation characteristics of remelted highly cross-linked UHMWPE were significantly lower compared to

virgin UHMWPE. These results were consistent with reports of rim cracking found in retrieved acetabular liners made of remelted highly cross-linked UHMWPE. On the other hand, the results were not consistent with our previous study showing the improved fatigue characteristics of highly cross-linked UHMWPE by delamination tests. Therefore, it was indicated that the mechanisms of failure are different between delamination and cracking. It was considered necessary to assess both delamination resistance and fatigue crack propagation properties in order to evaluate the durability of UHMWPE components.

Keywords: artificial joint, cross-linking, fatigue crack propagation

Sakoda H, Niimi S: Impact of lipid-induced degradation on the mechanical properties of ultra-high molecular weight polyethylene for joint replacements.

*Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2016;53:218-25.

Gamma or electron beam irradiation of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) used in artificial joints for sterilization and/or crosslinking purposes generates free radicals in the material, which causes long-term oxidative degradation of UHMWPE. Recently, another mechanism for the degradation of UHMWPE by the absorption of lipids during in vivo clinical use was proposed. However, knowledge on lipid-induced degradation is quite limited, compared with that on radical-induced degradation. In this study, lipid-induced degradation was simulated using squalene absorption and subsequent accelerated aging, and its impact on the mechanical properties of UHMWPE was evaluated. The simulated lipid-induced degradation caused an increased elastic modulus and decreased elongation with maximum degradation at the surfaces. These results imply that degradation of UHMWPE may occur during in vivo long-term use, even if free radicals are completely eliminated. Therefore, further investigation is required to clarify the impact of lipid-induced degradation on clinical outcomes, such as the wear and fatigue characteristics of UHMWPE components.

Keywords: UHMWPE, lipids, degradation

Abdi R\*, Moore R\*, Sakai S, Donnelly CB\*,

Mounayar M\*, Sackstein R\*: HCELL expression on murine MSC licenses pancreatotropism and confers durable reversal of autoimmune diabetes in NOD mice.

*Stem Cells* 2015;33:1523-31.

Type 1 diabetes (T1D) is an immune-mediated disease resulting in destruction of insulin-producing pancreatic beta cells. Mesenchymal stem cells (MSCs) possess potent immunomodulatory properties, garnering increasing attention as cellular therapy for T1D and other immunologic diseases. However, MSCs generally lack homing molecules, hindering their colonization at inflammatory sites following intravenous (IV) administration. Here, we analyzed whether enforced E-selectin ligand expression on murine MSCs could impact their effect in reversing hyperglycemia in nonobese diabetic (NOD) mice. Although murine MSCs natively do not express the E-selectin-binding determinant sialyl Lewis<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>), we found that fucosyltransferase-mediated  $\alpha(1,3)$ -exofucosylation of murine MSCs resulted in sLe<sup>x</sup> display uniquely on cell surface CD44 thereby creating hematopoietic cell E-/L-selectin ligand (HCELL), the E-selectin-binding glycoform of CD44. Following IV infusion into diabetic NOD mice, allogeneic HCELL<sup>+</sup> MSCs showed 3-fold greater peri-islet infiltrates compared to buffer-treated (i.e., HCELL<sup>-</sup>) MSCs, with distribution in proximity to E-selectin-expressing microvessels. Exofucosylation had no effect on MSC immunosuppressive capacity in *in vitro* assays; however, although engraftment was temporary for both HCELL<sup>+</sup> and HCELL<sup>-</sup> MSCs, administration of HCELL<sup>+</sup> MSCs resulted in durable reversal of hyperglycemia, whereas only transient reversal was observed following administration of HCELL<sup>-</sup> MSCs. Notably, exofucosylation of MSCs generated from CD44<sup>-/-</sup> mice induced prominent membrane expression of sLe<sup>x</sup>, but IV administration of these MSCs into hyperglycemic NOD mice showed no enhanced pancreatotropism or reversal of hyperglycemia. These findings provide evidence that glycan engineering to enforce HCELL expression boosts trafficking of infused MSCs to pancreatic islets of NOD mice and substantially improves their efficacy in reversing autoimmune diabetes.

Keywords: HCELL, glycan engineering, mesenchymal stem cell

\* Harvard Medical School

Kikuchihara Y\*<sup>1</sup>, Abe H\*<sup>1,2</sup>, Tanaka T\*<sup>1,2</sup>, Kato M\*<sup>1</sup>, Wang L\*<sup>1</sup>, Ikarashi Y, Yoshida T\*<sup>1</sup>, Shibutani M\*<sup>1</sup>: Relationship between brain accumulation of manganese and aberration of hippocampal adult neurogenesis after oral exposure to manganese chloride in mice.

*Toxicology* 2015;331:24-34.

We previously found persistent aberration of hippocampal adult neurogenesis, along with brain manganese (Mn) accumulation, in mouse offspring after developmental exposure to 800-ppm dietary Mn. Reduction of parvalbumin (Pvalb)<sup>+</sup> $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-ergic interneurons in the hilus of the dentate gyrus along with promoter region hypermethylation are thought to be responsible for this aberrant neurogenesis. The present study was conducted to examine the relationship between the induction of aberrant neurogenesis and brain Mn accumulation after oral Mn exposure as well as the responsible mechanism in young adult animals. We used two groups of mice with 28- or 56-day exposure periods to oral MnCl<sub>2</sub>·xH<sub>2</sub>O at 800 ppm as Mn, a dose sufficient to lead to aberrant neurogenesis after developmental exposure. A third group of mice received intravenous injections of Mn at 5-mg/kg body weight once weekly for 28 days. The 28-day oral Mn exposure did not cause aberrations in neurogenesis. In contrast, 56-day oral exposure caused aberrations in neurogenesis suggestive of reductions in type 2b and type 3 progenitor cells and immature granule cells in the dentate subgranular zone. Brain Mn accumulation in 56-day exposed cases, as well as in directly Mn-injected cases occurred in parallel with reduction of Pvalb<sup>+</sup> GABAergic interneurons in the dentate hilus, suggesting that this may be responsible for aberrant neurogenesis. For reduction of Pvalb<sup>+</sup> interneurons, suppression of brain-derived neurotrophic factor-mediated signaling of mature granule cells may occur via suppression of c-Fos-mediated neuronal plasticity due to direct Mn-toxicity rather than promoter region hypermethylation of *Pvalb*.

Keywords: Manganese, Hippocampal adult neurogenesis, GABAergic interneuron

\*<sup>1</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

\*<sup>2</sup> Gifu University

Simazaki D<sup>\*1</sup>, Kubota R, Suzuki T<sup>\*2</sup>, Akiba M<sup>\*1</sup>, Nishimura T<sup>\*3</sup>, Kunikane S<sup>\*1</sup>: Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health.

*Water Res.* 2015;76:187-200.

The present study was performed to determine the occurrence of 64 pharmaceuticals and metabolites in source water and finished water at 6 drinking water purification plants and 2 industrial water purification plants across Japan. The analytical methods employed were sample concentration using solid-phase extraction cartridges and instrumental analysis by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LCeMS/MS), liquid chromatography with mass spectrometry (LC/MS), or trimethylsilyl derivatization followed by gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS). Thirty-seven of the 64 target substances were detected in the source water samples. The maximum concentrations in the source water were mostly below 50 ng/L except for 13 substances. In particular, residual concentrations of iopamidol (contrast agent) exceeded 1000 ng/L at most facilities. Most of the residual pharmaceuticals and metabolites in the source water samples were removed in the course of conventional and/or advanced drinking water treatments, except for 7 pharmaceuticals and 1 metabolite, i.e., amantadine, carbamazepine, diclofenac, epinastine, fenofibrate, ibuprofen, iopamidol, and oseltamivir acid. The removal ratios of the advanced water treatment processes including ozonation and granular activated carbon filtration were typically much higher than those of the conventional treatment processes. The margins of exposure estimated by the ratio of daily minimum therapeutic dose to daily intake via drinking water were substantial, and therefore the pharmacological and physiological impacts of ingesting those residual substances via drinking water would be negligible.

Keywords: Drinking water, Pharmaceutical, Water treatment

\*<sup>1</sup> National Institute of Public Health

\*<sup>2</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

\*<sup>3</sup> Teikyo Heisei University

久保田領志, 小林憲弘, 齋藤信裕<sup>\*1</sup>, 鈴木俊也<sup>\*2</sup>, 小杉有希<sup>\*2</sup>, 田中美奈子<sup>\*3</sup>, 塚本多矩<sup>\*4</sup>, 平林達也<sup>\*5</sup>, 五十嵐良明: 固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析計による水道水中フェノール類の検査法の開発とその妥当性評価.

*水道協会雑誌* 2015;84(7):2-15.

水道水中フェノール類の標準検査法を迅速・簡便化するため, 固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析法を検討した. その結果, 全15化合物のピーク分離が良好なLC条件を確立し, また, 固相カラムの乾燥時間の短縮化や溶出溶媒量の少量化等により, 前処理時間を現行法の1/2以下に大幅に短縮できる方法を開発した. 開発した検査法について, 多施設共同試験による妥当性評価試験を実施した. 水道水を用いて添加回収試験を行い, 妥当性評価ガイドラインの性能パラメータが目標を満たすか評価した結果, 真度 (回収率), 併行精度及び室間精度から外挿して評価した室内精度も目標を満たしたことから, 本検査法は妥当であると判断した.

Keywords: Drinking water, Phenols, SPE-LC-MS

\*<sup>1</sup> 仙台市水道局

\*<sup>2</sup> 東京都健康安全研究センター

\*<sup>3</sup> 千葉県水道局

\*<sup>4</sup> 特別会員

\*<sup>5</sup> 大阪市水道局

Nishi I<sup>\*1</sup>, Kawakami T, Onodera S<sup>\*2</sup>: Monitoring the concentrations of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-inhibiting activities in the surface waters of the Tone Canal and Edo River Basin.

*J Environ Sci Health Part A.* 2015;50:1108-15.

Environmental pollution by pharmaceuticals has become a major problem in many countries worldwide. However, little is known about the concentrations of pharmaceuticals in water sources in Japan. The objective of this study was to clarify variations in the concentrations of seven nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and in cyclooxygenase(COX)-inhibiting activities in river water and domestic wastewater collected from the Tone Canal and the Edo River Basin in Japan. Total NSAID concentrations were higher in the Tone Canal than in the Edo River, and the highest concentration was observed at the domestic wastewater inflow point located in the Tone Canal (concentration averages of salicylic acid, ibuprofen, felbinac, naproxen, mefenamic acid, diclofenac, and

ketoprofen in wastewater samples were 55.3, 162.9, 39.7, 11.8, 30.8, 259.7, and 48.3 ng/L, respectively). Gas chromatography-tandem mass spectrometry showed that wastewater samples collected during cooler seasons contained higher levels of COX-inhibiting activity. COX-inhibiting activities were highly correlated with NSAID concentrations (particularly for ketoprofen and diclofenac); however, other COX inhibitors, such as NSAIDs that were not examined in this study and/or other chemicals with COX-inhibiting activity, could exist in the water samples because the concentrations of NSAIDs obtained from the water samples did not account for the total COX-inhibiting activities observed. Therefore, COX inhibition assays may be helpful for evaluating the aquatic toxicity of COX inhibitors. In this study, we demonstrated that COX inhibitors in surface water may influence aquatic organisms more than was expected based on NSAID concentrations. Thus, further studies examining other COX inhibitors in the aquatic environment are necessary.

Keywords: cyclooxygenase, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, river water

\*1 Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

\*2 Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

Nakanishi J<sup>\*1</sup>, Morimoto Y<sup>\*2</sup>, Ogura I<sup>\*1</sup>, Kobayashi N, Naya M<sup>\*3</sup>, Ema M<sup>\*1</sup>, Endoh S<sup>\*1</sup>, Shimada M<sup>\*4</sup>, Ogami A<sup>\*2</sup>, Myojyo T<sup>\*2</sup>, Oyabu T<sup>\*2</sup>, Gamo M<sup>\*1</sup>, Kishimoto A<sup>\*5</sup>, Igarashi T<sup>\*1</sup>, Hanai S<sup>\*1</sup>: Risk Assessment of the Carbon Nanotube Group.

*Risk Analysis* 2015;35:1940-56.

This study assessed the health risks via inhalation and derived the occupational exposure limit (OEL) for the carbon nanotube (CNT) group rather than individual CNT material. We devised two methods: the integration of the intratracheal instillation (IT) data with the inhalation (IH) data, and the "biaxial approach."

Keywords: CNT toxicity, OEL, risk assessment

\*1 National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

\*2 University of Occupational and Environmental Health

\*3 BioSafety Research Center

\*4 Hiroshima University

\*5 The Tokyo University

Matsunaga K<sup>\*1</sup>, Kuroda Y<sup>\*2</sup>, Sakai S, Adachi R, Teshima R, Yagami A<sup>\*1</sup>, Itagaki H<sup>\*2</sup>: Anaphylactic augmentation by epicutaneous sensitization to acid-hydrolyzed wheat protein in a guinea pig model.

*J Toxicol Sci.* 2015;40:745-52.

Recent reports suggest that hydrolyzed wheat protein (HWP) variants such as Glupearl® 19S (GP19S) induce immediate-type hypersensitivity via epicutaneous (EC) sensitization. The identification of strong allergens is a key step in product assessment before commercial launch. However, few reports have described the estimation of actual and potential anaphylactic sensitizing capacity. In this study we assessed the strength of both the actual and potential anaphylactic sensitizing capacity by investigating the immediate-type hypersensitivity inducing potential of HWP compared with gluten. We assessed these strengths via the EC route using an EC or intradermal (ID) sensitization method. We quantified the strength of immediate-type hypersensitivity by evaluating the titer of serum antibodies isolated from sensitized subjects using passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reactions. We also evaluated the cross-reactivity between GP19S and gluten. GP19S and gluten applied by both the sensitization methods induced obvious IgG1-mediated PCA reactions. GP19S had stronger sensitizing potential than gluten, according to the serum titers and dye spot diameters. The difference in antibody titers between GP19S and gluten was 16-fold for the EC method versus 2-fold for the ID method. GP19S cross-reacted with gluten. Acid hydrolysis of gluten increased anaphylactic sensitizing capacity in the EC method. To our knowledge, our study is the first to quantitatively confirm that HWP and gluten can induce immediate-type hypersensitivity through an intact skin. These findings suggest that acid-HWP imposes a higher risk of EC sensitization than gluten because of the ease with which the former confers a sensitizing effect through the intact skin.

Keywords: acid-hydrolyzed wheat protein, cross-reactivity, epicutaneous sensitization

\*1 Fujita Health University

\*2 Yokohama National University

久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水道水質検査精度管理のための統一試料調査に関する経年分析 (平成17~22年度): 無機物.

水道協会雑誌 2015;84(12):15-22.

厚生労働省が水道水質検査機関を対象に実施している水道水質検査精度管理のための統一試料調査において, 平成17~22年度の6か年分の無機物の調査結果について経年分析を行った. 検査法の使用機関割合の推移は, 多くの年度でICP-MSが主であり, ICP-AES, FL-AASの順であった. 棄却機関の割合については, FL-AAS, ICP-MS及びICP-AESの3群間で有意差が認められ, ICP-MSが他の2検査法に比べて低割合を示した. 複数年度で対象となったアルミニウムについては,  $|Z| \geq 3$ の機関の割合は減少し,  $|Z| \leq 2$ や $2 < |Z| < 3$ では増加傾向となった. また, 棄却機関数は増加となったが増加機関数は数機関であり, 検査回数を重ねることで分析精度が向上していると評価できた.

Keywords: External quality assessment, Water quality standard, Inorganic substances

Kawakami T, Isama K, Ikarashi Y: Survey of isothiazolinones and other preservatives in household wet tissue products in Japan.

*J Environ Chem.* 2015;25:207-14.

Recently, many cases of contact dermatitis due to isothiazolinone preservatives in several types of household products used for cooling the body have been reported. As a result, the concentrations of isothiazolinone preservatives in these products were investigated. However, concentrations of isothiazolinone preservatives in other types of household products have not been studied adequately. In this study, 19 preservatives (including isothiazolinones) in 32 wet tissue products were investigated because these products come in direct contact with the skin. 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one (MI), 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CMI), and benzisothiazolin-3-one (BIT) were detected in 19 samples (0.46-48  $\mu\text{g/g-wet}$ ), 17 samples (trace amount [tr.]-52  $\mu\text{g/g-wet}$ ), and one sample (67  $\mu\text{g/g-wet}$ ), respectively. Five types of parabens were detected in 21 samples (tr.-834  $\mu\text{g/g-wet}$ ). 2-Bromo-2-nitropropane-1,3-diol (Bronopol), 3-iodo-2-propynyl N-butylcarbamate (IPBC), and phenoxyethanol were detected in 12 samples (4.7-254  $\mu\text{g/g-wet}$ ), 11 samples (tr.-62  $\mu\text{g/g-wet}$ ), and 4 samples

(65-1159  $\mu\text{g/g-wet}$ ), respectively. The concentration levels of isothiazolinone preservatives detected in this study perhaps induce allergic contact dermatitis in patients who are already sensitive to these preservatives. However, only 3 products described the use of isothiazolinone preservatives and a cautionary note about the possibility of contact dermatitis due to isothiazolinone preservatives was not provided. We also found that preservatives detected in the samples were different from those indicated on the product (in some cases, name of preservatives were not indicated at all). The use of such products may expose consumers to the risk of contact dermatitis; moreover, when contact dermatitis occurs, the identification of the substance that causes it may be delayed. Therefore, it is desirable that manufacturers provide information about the components of wet tissue products on the product labels.

Keywords: contact dermatitis, isothiazolinone preservatives, wet tissue

小林憲弘, 久保田領志, 齋藤信裕\*1, 木村謙治\*2, 宮崎悦子\*2, 平林達也\*3, 水田裕進\*4, 木村慎一\*4, 宮本紫織\*5, 大倉敏裕\*5, 中村弘揮\*6, 粕谷智浩\*7, 古川浩司\*8, 塚本多矩\*9, 市川千種\*9, 高原玲華\*10, 林田寛司\*10, 京野完\*11, 佐久井徳広\*11, 山本五秋\*12, 齋藤香織\*12, 五十嵐良明: 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコートLC/MS/MS一斉分析法の妥当性評価.

環境科学会誌 2016;29:3-16.

著者らが開発した水道水中のイミノクタジン, ジクワットおよびパラコートLC/MS/MS一斉分析法を水道水質検査に適用できるかどうかを評価するため, 12機関 (水道事業体4機関, 衛生研究所1機関, 登録検査機関3機関および分析機器メーカー4機関) において, 分析法の妥当性を評価した.

Keywords: validation, drinking water, agricultural chemicals

\*1 仙台市水道局浄水部水質検査課

\*2 福岡地区水道企業団 施設部水質センター

\*3 大阪市水道局 工務部水質試験所

\*4 東京都水道局 水質センター検査課

\*5 愛媛県立衛生環境研究所

\*6 (一財) 岐阜県公衆衛生検査センター

\*7 (一財) 千葉県薬剤師会検査センター

\*8 (一財) 三重県環境保全事業団

\*<sup>9</sup> (株) 島津製作所

\*<sup>10</sup> ジーエルサイエンス (株)

\*<sup>11</sup> アジレント・テクノロジー (株)

\*<sup>12</sup> サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)

久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水道水質検査精度管理のための統一試料調査に関する経年分析 (平成17~22年度): 有機物.

水道協会雑誌 2016;85(2):9-15.

厚生労働省が実施している水道水質検査精度管理のための統一試料調査において, 平成17~22年度の6か年分の有機物の調査結果の経年分析を行った. Zスコア3以上 ( $|Z| \geq 3$ ) となった機関の参加総数に対する割合は, 平成19年度のフェノール類で高く, 唯一10%を超えた. 検査法別に見ると, 棄却された機関の割合は, SPE-GC/MSを使った場合がPT-GC/MSやHS-GC/MSに比べて有意に高割合であった. 複数回調査対象項目として選定されたジクロロフェノール類について, Zスコア区分ごとの機関の割合を比較すると,  $|Z| \geq 3$ の機関の割合の減少とともに  $|Z| \leq 2$ 及び  $2 < |Z| < 3$ の機関の割合が増加した. 同一項目の調査回数を重ねることで, 分析精度が改善できると評価できた.

Keywords: External quality assessment, Water quality standard, Organic substances

植草義徳, 鍋師裕美, 中村里香, 堤智昭, 蜂須賀暁子, 松田りえ子, 手島玲子: 市販流通食品中の放射性セシウム調査 (平成24年度および平成25年度).

食品衛生学雑誌 2015;56:49-56.

We surveyed the concentration of radioactive cesium in foods purchased at markets in areas where possible contamination has been a concern after the Fukushima accident. In fiscal years 2012 and 2013, we surveyed 1,735 and 1,674 foods, respectively, using a NaI (Tl) scintillation spectrometer for the screening test and a  $\gamma$ -ray spectrometer with a germanium semiconductor detector for the final test. Only 3 and 4 samples (0.2% of our total samples) exceeded the regulatory limit (100 Bq/kg) for radioactive cesium in fiscal years 2012 and 2013, respectively. Our surveillance indicates that the pre-shipment monitoring of foods by local governments has been working effectively.

Keywords: radioactive cesium, scintillation spectrometer, germanium semiconductor detector

Uekusa Y, Takatsuki S, Tsutsumi T, Matsuda R, Akiyama H, Hachisuka A, Teshima R, Watanabe T:

Follow-up investigation of polychlorinated biphenyl concentrations in fish from tsunami-stricken areas of Japan.

*Organohalogen Compounds* 2015;77:432-5.

We quantified PCBs and the concentrations of 209 congeners as percentages of the total PCB concentration in 80 follow-up fish samples obtained not only from tsunami-stricken areas but also from an area unlikely to have been affected by the tsunami after the Great East Japan Earthquake in 2011. Total PCB concentrations in the samples from the tsunami-stricken areas ranged from 0.32 to 223 ng/g, whereas those in samples from the negative control area ranged from 0.75 to 128 ng/g. The maximum PCB concentration found was lower than the provisional regulatory limit (oceans, 500 ng/g) in Japan. The percentage of each chlorinated congener appeared similar among the samples; tetra- to hepta-chlorinated congeners dominated. Our results support our previous findings that fish samples from markets in tsunami-stricken areas were unlikely to have been contaminated with PCBs at high concentrations.

Keywords: PCBs, fish, HRGC-HRMS

植草義徳, 鍋師裕美, 片岡洋平, 渡邊敬浩, 蜂須賀暁子, 穂山浩, 堤智昭, 松田りえ子, 手島玲子: 福島第一原子力発電所事故に由来した放射性セシウムが検出された食品のウラン濃度の調査.

日本食品化学学会誌 2016;23:43-8.

The concentration of uranium (U-238) in various foods containing radioactive cesium (Cs-134 and Cs-137) derived from the Fukushima Daiichi nuclear power plant accident was determined using inductively coupled plasma mass spectroscopy. U-238 concentration in the foods that Cs-134 concentration was below the limits of detection and that was obtained before the accident, were also investigated. U-238 was detected in all 87 samples investigated and the concentration ranged from 0.038 to 130 mBq/kg. In addition, no correlation was observed between the concentration of radioactive cesium and U-238. The range of U-238 concentration observed in the post-accident food samples was similar to that in the food samples that Cs-134 concentration was below the limits of detection and that in the pre-accident food samples, and to the literature values in foods previously reported. These results suggest that the U-238 concentration was not

significantly different in the foods between before and after the accident.

Keywords: uranium, ICP-MS

片岡洋平, 渡邊敬浩, 林智子, 手島玲子, 松田りえ子:  
清涼飲料水中の鉛, 総ヒ素, カドミウムの一斉定量を  
目的としたICP-OES法, ICP-MS法, 電気加熱式原子  
吸光法の開発.

*食品衛生学雑誌* 2015;56:88-95.

In this study, we developed methods to quantify lead, total arsenic and cadmium contained in various kinds of soft drinks, and we evaluated their performance. The samples were digested by common methods to prepare solutions for measurement by ICP-OES, ICP-MS and graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS). After digestion, internal standard was added to the digestion solutions for measurements by ICP-OES and ICP-MS. For measurement by GF-AAS, additional purification of the digestion solution was conducted by back-extraction of the three metals into nitric acid solution after extraction into an organic solvent with ammonium pyrrolidine dithiocarbamate. Performance of the developed methods were evaluated for eight kinds of soft drinks.

Keywords: lead, total arsenic, cadmium

Watanabe T, Kikuchi H, Matsuda R, Hayashi T, Akaki K\*, Teshima R: Performance evaluation of an improved GC-MS method to quantify methylmercury in fish.

*Food Hyg Saf Sci.* 2015;56:69-76.

Here, we set out to improve our previously developed methylmercury analytical method, involving phenyl derivatization and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In the improved method, phenylation of methylmercury with sodium tetraphenylborate was carried out in a toluene/water two-phase system, instead of in water alone. The modification enabled derivatization at optimum pH, and the formation of by-products was dramatically reduced. In addition, adsorption of methyl phenyl mercury in the GC system was suppressed by co-injection of PEG200, enabling continuous analysis without loss of sensitivity. The performance of the improved analytical method was independently evaluated by three analysts using certified reference materials and methylmercury-spiked fresh fish samples. The present analytical

method was validated as suitable for determination of compliance with the provisional regulation value for methylmercury in fish, set in the Food Sanitation law.

Keywords: methylmercury, GC-MS, fresh fish

---

\* Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

Ito A<sup>\*1</sup>, Taguchi T<sup>\*1</sup>, Mogi T<sup>\*1</sup>, Wake H<sup>\*1</sup>, Tanaami T<sup>\*1</sup>, Hada S<sup>\*1</sup>, Akiyama H, Teshima R, Sasaki N<sup>\*2</sup>, Yamada A<sup>\*2</sup>, Ozeki Y<sup>\*2</sup>: Identification of genetically modified organisms by detection of target gene pattern using DNA microarrays.

*Jpn J Food Chem Safety.* 2015;22:133-8.

For the identification and quantification of genetically modified organisms (GMOs), one possible simple alternative method relies on the detection of DNA fragments synthesized using random primers without the need for nucleic acid amplification (for example, PCR) on DNA microarrays. Here, we tested simple detection protocols with a DNA microarray, and consequently, we were able to identify five selected GM maize lines by the pattern of spots detected on the DNA microarray. Our protocol requires no specific primers in the target DNA synthesis steps; all target DNA is synthesized by random 9-mer primers in one tube. This study suggests the possibility of detecting transgenes in GMOs and identifying GMO lines by the pattern of independently detected spots, irrespective of the position of the target gene sequences in the genomic DNA of each GMO line.

Keywords: DNA microarray, genetically modified organism (GMO), screening detection

---

<sup>\*1</sup> Yokogawa Electric Corporation

<sup>\*2</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

Nabeshi H, Tsutsumi T, Uekusa Y, Hachisuka A, Matsuda R, Teshima R: Surveillance of Strontium-90 in Foods after the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident.

*Food Hyg Saf Sci.* 2015;56:133-43.

As a result of the Fukushima Daiichi nuclear power plant (NPP) accident, various radionuclides were released into the environment. In this study, we surveyed strontium-90 (<sup>90</sup>Sr) concentrations in several foodstuffs. Strontium-90 is thought to be the third most

important residual radionuclide in food collected after the Fukushima Daiichi, NPP accident after following cesium-137 ( $^{137}\text{Cs}$ ) and cesium-134 ( $^{134}\text{Cs}$ ). Results of  $^{90}\text{Sr}$  analyses indicated that  $^{90}\text{Sr}$  was detected in 25 of the 40 radioactive cesium (r-Cs) positive samples collected in areas around the Fukushima Daiichi NPP, ranging in distance from 50 to 250 km. R-Cs positive samples were defined as containing both  $^{134}\text{Cs}$  and  $^{137}\text{Cs}$  which are considered to be indicators of the after-effects of the Fukushima Daiichi NPP accident. We also detected  $^{90}\text{Sr}$  in 8 of 13 r-Cs negative samples, in which  $^{134}\text{Cs}$  was not detected. Strontium-90 concentrations in the r-Cs positive samples did not significantly exceed the  $^{90}\text{Sr}$  concentrations in r-Cs negative samples or the  $^{90}\text{Sr}$  concentration ranges in comparable food groups found in previous surveys before the Fukushima Daiichi NPP accident. Thus,  $^{90}\text{Sr}$  concentrations in r-Cs positive samples were indistinguishable from the background  $^{90}\text{Sr}$  concentrations arising from global fallout prior to the Fukushima accident, suggesting that no marked increase of  $^{90}\text{Sr}$  concentrations has occurred in r-Cs positive samples as a result of the Fukushima Daiichi NPP accident.

Keywords: the Fukushima Daiichi nuclear power plant (NPP) accident, strontium-90 ( $^{90}\text{Sr}$ ), surveillance

Brennan JC<sup>\*1</sup>, He G<sup>\*1</sup>, Tsutsumi T, Zhao J<sup>\*1</sup>, Wirth E<sup>\*2</sup>, Fulton MH<sup>\*2</sup>, Denison MS<sup>\*1</sup>: Development of species-specific Ah receptor-responsive third generation CALUX cell lines with enhanced responsiveness and improved detection limits.

*Environ Sci Technol.* 2015;49:11903-12.

The Ah receptor (AhR)-responsive CALUX (chemically activated luciferase expression) cell bioassay is commonly used for rapid screening of samples for the presence of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD, dioxin), dioxin-like compounds, and AhR agonists/antagonists. By increasing the number of AhR DNA recognition sites (dioxin responsive elements), we previously generated a novel third generation (G3) recombinant AhR-responsive mouse CALUX cell line (H1L7.5c3) with a significantly enhanced response to DLCs compared to existing AhR-CALUX cell bioassays. However, the elevated background luciferase activity of these cells and the absence of comparable G3 cell lines derived from other species have limited their utility for screening purposes. Here, we describe the

development and characterization of species-specific G3 recombinant AhR-responsive CALUX cell lines (rat, human, and guinea pig) that exhibit significantly improved limit of detection and dramatically increased TCDD induction response. The low background luciferase activity, low minimal detection limit (0.1 pM TCDD) and enhanced induction response of the rat G3 cell line (H4L7.5c2) over the H1L7.5c3 mouse G3 cells, identifies them as a more optimal cell line for screening purposes. The utility of the new G3 CALUX cell lines were demonstrated by screening sediment extracts and a small chemical compound library for the presence of AhR agonists. The improved limit of detection and increased response of these new G3 CALUX cell lines will facilitate species-specific analysis of DLCs and AhR agonists in samples with low levels of contamination and/or in small sample volumes.

Keywords: Ah receptor, CALUX, AhR agonists

<sup>\*1</sup> University of California, Davis

<sup>\*2</sup> Center for Coastal Environmental Health and Biomolecular Research

Hirai T<sup>\*1</sup>, Yoshioka Y<sup>\*1,2,3</sup>, Takahashi H<sup>\*1,2</sup>, Ichihashi K<sup>\*1</sup>, Uda A<sup>\*1</sup>, Mori T<sup>\*4</sup>, Nishijima N<sup>\*1</sup>, Yoshida T<sup>\*1</sup>, Nagano K<sup>\*5</sup>, Kamada H<sup>\*5,6</sup>, Tsunoda S<sup>\*5,6</sup>, Takagi T<sup>\*7,8</sup>, Ishii K<sup>\*9,10</sup>, Nabeshi H, Yoshikawa T<sup>\*1</sup>, Higashisaka K<sup>\*1,5</sup>, Tsutsumi Y<sup>\*1,4,6</sup>: Cutaneous exposure to agglomerates of silica nanoparticles and allergen results in IgE-biased immune response and increased sensitivity to anaphylaxis in mice.

*Part Fibre Toxicol.* 2015;12:16.

BACKGROUND:

The skin is a key route of human exposure to nanomaterials, which typically occurs simultaneously with exposure to other chemical and environmental allergen. However, little is known about the hazards of nanomaterial exposure via the skin, particularly when accompanied by exposure to other substances.

RESULTS:

Repeated topical treatment of both ears and the shaved upper back of NC/Nga mice, which are models for human atopic dermatitis (AD), with a mixture of mite extract and silica nanoparticles induced AD-like skin lesions. Measurements of ear thickness and histologic analyses revealed that cutaneous exposure to silica nanoparticles did not aggravate AD-like skin



lesions. Instead, concurrent cutaneous exposure to mite allergens and silica nanoparticles resulted in the low-level production of allergen-specific IgGs, including both the Th2-related IgG1 and Th1-related IgG2a subtypes, with few changes in allergen-specific IgE concentrations and in Th1 and Th2 immune responses. In addition, these changes in immune responses increased the sensitivity to anaphylaxis. Low-level IgG production was induced when the mice were exposed to allergen-silica nanoparticle agglomerates but not when the mice exposed to nanoparticles applied separately from the allergen or to well-dispersed nanoparticles.

#### CONCLUSIONS:

Our data suggest that silica nanoparticles themselves do not directly affect the allergen-specific immune response after concurrent topical application of nanoparticles and allergen. However, when present in allergen-adsorbed agglomerates, silica nanoparticles led to a low IgG/IgE ratio, a key risk factor of human atopic allergies. We suggest that minimizing interactions between nanomaterials and allergens will increase the safety of nanomaterials applied to skin.

Keywords: atopic dermatitis, agglomerate, nanomaterials

\*1 Laboratory of Toxicology and Safety Science, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

\*2 Vaccine Creation Project, BIKEN Innovative Vaccine Research Alliance Laboratories, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

\*3 BIKEN Center for Innovative Vaccine Research and Development, The Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University

\*4 Laboratory of Innovative Antibody Engineering and Design, Center for Drug Innovation and Screening, National Institute of Biomedical Innovation

\*5 Laboratory of Biopharmaceutical Research, National Institute of Biomedical Innovation

\*6 The Center for Advanced Medical Engineering and Informatics, Osaka University

\*7 Laboratory of Environmental Pharmacometrics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

\*8 Genome Information Research Center, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

\*9 Laboratory of Adjuvant Innovation, National Institute of Biomedical Innovation

\*10 Laboratory of Vaccine Science, Immunology Frontier Research Center, World Premier International Research Center, Osaka University

Saito-Shida S, Nemoto S, Teshima R: Multiresidue determination of pesticides in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry.

*J Environ Sci Health B*. 2015;50:760-76.

An efficient and reliable GC-MS/MS method for the multiresidue determination of pesticides in tea was developed by modifying the Japanese official multiresidue method. Sample preparation was carefully optimized for the efficient removal of coextracted matrix components. The optimal sample preparation procedure involved swelling of the sample in water; extraction with acetonitrile; removal of water by salting-out; and sequential cleanup by ODS, graphitized carbon black/primary secondary amine (GCB/PSA) and silica gel cartridges prior to GC-MS/MS analysis. The recoveries of 162 pesticides from fortified (at 0.01 mg kg<sup>-1</sup>) green tea, oolong tea, black tea and matcha (powdered green tea) were mostly (95–98% of the tested pesticides) within the range of 70–120%, with relative standard deviations of <20%. Poor recovery of triazole pesticides was considered to be due to low recovery from the silica gel cartridges. The test solutions obtained by the modified method contained relatively small amounts of pigments, caffeine and other matrix components and were cleaner than those obtained by the original Japanese official multiresidue method. No interfering peaks were observed in the blank chromatograms, indicating the high selectivity of the modified method. The overall results suggest that the developed method is suitable for the quantitative analysis of GC-amenable pesticide residues in tea.

Keywords: GC-MS/MS, pesticides, tea

今井浩一\*, 尾上恵子\*, 石井里枝\*, 高野真理子\*, 根本了, 手島玲子: LC-MS/MSによる農産物および畜水産物中のイプフェンカルバゾン分析法の開発.  
*食品衛生学雑誌* 2015;56:205-10.

A method for the determination of ipfencarbazone in agricultural products, livestock products and seafood by LC-MS/MS was developed. Agricultural samples were extracted with acetone. An aliquot of crude

extract was partitioned with n-hexane and sat. sodium chloride solution. Cleanup was performed using GC/PSA and C18 cartridges. In the case of livestock products and seafood, samples were extracted with a mixture of acetone and n-hexane, and the organic layer was collected. After acetonitrile-hexane partitioning, the extract was cleaned up using PAS and C18 cartridges. The gradient LC separation was performed on a C18 column with acetonitrile-water containing acetic acid as a mobile phase, and MS with positive ion electrospray ionization was used for detection. The average recoveries (n=5) of ipfencarbazone from 16 kinds of agricultural products, livestock products and seafood spiked at the MRLs or at the uniform limits (0.01 ppm) were 73–101%, and the relative standard deviations were 1.3–5.1%. The limit of quantitation of the developed method was 0.01 mg/kg for ipfencarbazone.

Keywords: ipfencarbazone, agricultural product, LC-MS/MS

\* 埼玉県衛生研究所

福田優作\*, 片岡洋平, 佐野勇氣\*, 滝澤和宏\*, 渡邊敬浩, 手島玲子: ミネラルウォーター類中のシアンおよび臭素酸を対象とした分析法の開発と適用性の検証.

食品衛生学雑誌 2015;56:256-62.

We developed and evaluated methods of quantifying cyanide (cyanide ion and cyanogen chloride) and bromic acid in mineral waters (MW). After performance evaluation, recovery studies were performed on 110 kinds of MW products to examine the applicability of the methods. The approximate proportion of the MW samples, in which the recovery rate of these anionic compounds was within 90 to 110%, was 95% in the cyanide ion and bromic acid analysis and 45% in the cyanogen chloride analysis. We observed low rates of recovery of cyanogen chloride from some MW products with pH values around neutral. To increase the recovery rate, we propose adding phosphoric acid buffer to adjust the pH of these MW samples. The retention times for bromic acid in some MW products differed from that in standard solution. We concluded that carbonic acid influences the retention times. It may be necessary to exclude carbon dioxide from the MW samples by degassing to synchronize the

retention times of bromic acid in the MW samples and the standard solution.

Keywords: cyanide ion, cyanogen chloride, bromic acid

\* (一財) 日本冷凍食品検査協会

南谷臣昭\*, 永井宏幸\*, 多田裕之\*, 後藤黄太郎\*, 根本了: LC-MSによる農産物中のブトロキシジムの分析.

食品衛生学雑誌 2015;56:233-9.

An analytical method for the determination of butoxydim in agricultural products by LC-MS was developed. Butoxydim was extracted with acetonitrile and an aliquot of the crude extract was cleaned up on an octadecyl silanized silica gel (C18) cartridge column (1,000 mg), followed by a salting-out step to remove water. Before purification on a silica gel (SI) cartridge column (690 mg), polar matrices were precipitated by adding ethyl acetate, n-hexane and anhydrous sodium sulfate successively. This process effectively removed caffeine and catechins and improved recovery when analyzing residual butoxydim in tea leaves. Recovery and repeatability were good; the relative standard deviations were less than 5% for all 12 tested agricultural products (brown rice, soybean, potato, spinach, cabbage, apple, orange, grapefruit, lemon, tomato, peas with pods, and tea). Average recoveries for 11 agricultural products, except for lemon, were 74–92%.

Keywords: butoxydim, agricultural product, LC-MS

\* 岐阜県保健環境研究所

Saito-Shida S, Nemoto S, Teshima R, Akiyama H: Quantitative analysis of pesticide residues in vegetables and fruits by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry.

Food Addit Contam Part A. 2016;33:119-27.

The applicability of liquid chromatography coupled to hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS) for the quantitative analysis of pesticide residues in vegetables and fruits was demonstrated. The LC-QTOF-MS parameters, such as cone voltage, capillary voltage, collision energy and mass extraction window, were carefully optimized for the analysis of pesticide residues. The LC-QTOF-MS method was validated for 149 pesticides in four

vegetables and fruits, i.e. apple, potato, cabbage and spinach, at a spiking level of 0.01 mg kg<sup>-1</sup>. The samples were prepared according to the Japanese official multi-residue method with a modification to the column clean-up procedure. Of the 149 pesticides, recoveries in the range of 70–120% were achieved for 147 pesticides in apple, 145 in potato, 141 in cabbage and 131 in spinach, with intra-day precisions (RSDs) of < 25% and inter-day precisions (RSDs) of < 30%, which are within the acceptable range given in the Japanese method validation guideline. Matrix effects were negligible for the majority of the target pesticides. Except for spiroxamine in spinach, no interfering peaks were observed in the blank samples. The target pesticides, except those with low sensitivity, achieved calibration curves with satisfactory linearity, with correlation coefficients (*r*) greater than 0.995 in the concentration range of 0.002–0.1 µg ml<sup>-1</sup>. Furthermore, the majority of the target pesticides provided more than one fragment ion or isotope ion that could be used for confirmation. The overall results suggest that LC-QTOF-MS is a powerful tool for the quantification of pesticide residues in vegetables and fruits at the level of 0.01 mg kg<sup>-1</sup>.

Keywords: pesticide, multi-residue method, liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry

鍋師裕美, 堤智昭, 植草義徳, 松田りえ子, 穂山浩, 手島玲子, 蜂須賀暁子: 調理による牛肉・山菜類・果実類の放射性セシウム濃度及び総量の変化.

*RADIOISOTOPES* 2016;65:45-58.

牛肉, 山菜類, 果実類, キノコを用いて調理前後の放射性セシウム濃度を測定し, 除去効果を検討した結果, 調味液へ浸漬してから牛肉を乾燥させた場合や山菜類をあく抜きした場合は, 調理前の80%以上の放射性セシウムが除去され, 調味液への浸漬やゆで調理, 及びこれらの工程後の水さらしが放射性セシウム除去に有効であることが示された. しかし, 牛肉及び果実の単純な乾燥, 果実類のジャム, 焼きシイタケ, 山菜類のてんぷらでは, 放射性セシウムはほとんど食品から除去されなかった. 調理法によっては, 放射性セシウムの総量に変化はないものの, 水分除去等により濃度が上昇することがあるため注意が必要である.

Keywords: radioactive cesium, removal effect, cooking

Amakura Y<sup>\*1</sup>, Tsutsumi T, Yoshimura M<sup>\*1</sup>,

Nakamura M<sup>\*2</sup>, Handa H<sup>\*2</sup>, Matsuda R, Watanabe T: Detection of Aryl Hydrocarbon Receptor Activation by Some Chemicals Related in Food Hygiene by Using a Reporter Gene Assay.

*Foods* 2016;5:doi:10.3390/foods5010015.

The purpose of this study was to examine whether a simple bioassay used for the detection of dioxins (DXNs) could be applied to detect trace amounts of harmful DXN-like substances in food products. To identify substances with possible DXN-like activity, we assessed the ability of various compounds in the environment to bind the aryl hydrocarbon receptor (AhR) that binds specifically to DXNs. The compounds tested included 19 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), 20 PAH derivatives (nitrated, halogenated, and aminated derivatives), 23 pesticides, six amino acids, and eight amino acid metabolites. The AhR binding activities (AhR activity) of these compounds were measured using the chemical activated luciferase gene expression (CALUX) reporter gene assay system. The majority of the PAHs exhibited marked AhR activity that increased in a concentration-dependent manner. Furthermore, there was a positive link between AhR activity and the number of aromatic rings in the PAH derivatives. Conversely, there appeared to be a negative correlation between AhR activity and the number of chlorine residues present on halogenated PAH derivatives. However, there was no correlation between AhR activity and the number and position of substituents among nitrated and aminated derivatives. Among the pesticides tested, the indole-type compounds carbendazim and thiabendazole showed high levels of activity. Similarly, the indole compound tryptamine was the only amino acid metabolite to induce AhR activity. The results are useful in understanding the identification and characterization of AhR ligands in the CALUX assay.

Keywords: aryl hydrocarbon receptor, reporter gene assay, food hygiene

<sup>\*1</sup> College of Pharmaceutical Sciences, Matsuyama University, Matsuyama

<sup>\*2</sup> Hiyoshi Corporation

Sato K, Ohtsuki T, Tatebe C, Takiguchi H, Nakamura R<sup>\*</sup>, Otabe A<sup>\*</sup>, Oobayashi Y<sup>\*</sup>, Akiyama H: Determination method of 2-(5-benzyl-3,6-

dioxopiperazin-2-yl)acetic acid in aspartame using high performance liquid chromatography.

*Jpn J Food Chem Safety*. 2015;22:170-4.

2-(5-Benzyl-3,6-dioxopiperazin-2-yl)acetic acid (DKP) is one of the degradation products of aspartame (APM). The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), USA, EU, and Japan has set 1.5 wt% as the maximum level of DKP in APM. In this study, we developed and validated a high-performance liquid chromatography (HPLC) method to determine the content of DKP in APM, based on the approach recommended in the Food Chemical Codex (FCC) from USA. For the separation of analyte, the column was investigated with 5 and 10  $\mu\text{m}$  particle size. In the recovery test, the developed method gave satisfactory recoveries (99.1% and 99.5%) and repeatabilities (0.4%) from APM spiked with two concentrations (viz. 0.15 and 1.5 wt%). The limits of detection and quantification for DKP are estimated to be 0.0005 and 0.002 wt%, respectively. In the analyses of ten commercial APM samples, the DKP contents determined using the developed method are all in good agreement with those obtained using the conventional FCC method. This developed method is therefore applicable for the determination of DKP contents in commercial-grade APM.

Keywords: 5-benzyl-3,6-dioxo-2-piperazineacetic acid, aspartame, HPLC

\* Ajinomoto Co., Inc.

多田敦子, 杉本直樹, 小林義和<sup>\*1</sup>, 濱田ひかり<sup>\*1</sup>, 石附京子, 秋山卓美, 伊藤裕才<sup>\*2</sup>, 川原信夫<sup>\*3</sup>, 山崎壮<sup>\*4</sup>, 穂山浩: 味認識装置による既存添加物苦味料及び関連苦味化合物の品質評価.

*日本食品化学学会誌* 2015;22:25-31.

天然由来の食品添加物苦味料9種, 苦味試薬22種及び渋味試薬3種を用いて, 味認識装置の適用性について調べた. 味認識装置の6種の脂質膜センサから得られるデータを元に, 試料毎に味要素10項目の味強度値を算出した. 各試料につき, 味要素10項目の内絶対値が最も高かった値を100とし, 同じ試料の他の味要素項目の味強度値を相対的に変換した%換算値を算出した. %換算値を試料毎にレーダーグラフにプロットし, 各試料の味質をレーダーグラフのパターンを元に比較した. その結果, 試料の味質は大きく5つのタイプに分類された. 含有苦味成分が類似する試料は味質のパターンも類似しているた

め, 味質のタイプは, 苦味物質の化学構造の種類により特徴的であることが分かった. さらに, 各試料の味要素10項目の%換算値を用いて, 主成分分析 (多変量解析の1つ) を行ったところ, 苦味物質の味質を明確に5つのタイプに分類できた. 本研究により, 味認識装置が天然由来の食品添加物苦味料及び苦味試薬の味質の評価に適用可能であることが明らかとなった. 本研究の結果から, 苦味物質中の苦味成分が未解明であっても, 味認識装置による味質の評価を行うことで, 苦味成分の化学構造タイプを推定できるものと示唆された. 本研究により得られた結果は, 他の市販苦味製品の味質の評価にも役に立つものと期待される.

Keywords: 食品添加物, 苦味料, 味認識装置

<sup>\*1</sup> (株) インテリジェントセンサーテクノロジー

<sup>\*2</sup> 共立女子大学

<sup>\*3</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

<sup>\*4</sup> 実践女子大学

多田敦子, 石附京子, 杉本直樹, 吉松嘉代<sup>\*1</sup>, 川原信夫<sup>\*1</sup>, 末松孝子<sup>\*2</sup>, 有福和紀<sup>\*3</sup>, 深井俊夫<sup>\*4</sup>, 田村幸吉<sup>\*5</sup>, 大槻崇, 田原麻衣子, 山崎壮<sup>\*6</sup>, 穂山浩: 既存添加物カンゾウ油性抽出物の成分組成の多変量解析に基づく基原植物種の検討.

*食品衛生学雑誌* 2015;56:217-27.

既存添加物製品の基原植物の確認は品質や安全性確保の上から重要である. 既存添加物カンゾウ油性抽出物 (酸化防止剤) の基原として, 既存添加物名簿収載品目リストにはカンゾウ属植物の *Glycyrrhiza uralensis*, *G. inflata* 又は *G. glabra* の根又は根茎と記されているが, カンゾウ油性抽出物流通製品がどのカンゾウ属植物種の油性抽出物の成分組成に類似するかは確認されていない. 本研究で, カンゾウ油性抽出物流通製品8検体をLC/MSにより分析した結果, 7製品では *G. glabra* に特徴的な glabridin が, 1製品では *G. inflata* に特徴的な licochalcone A が検出された. さらにこれら流通製品に加え, 各カンゾウ属植物種の乾燥試料や市販のカンゾウ由来製品のエタノール抽出物等, 計31検体をLC/MS (SIR) およびNMRで測定し, 主成分分析 (多変量解析) を行った結果, カンゾウ油性抽出物製品の基原種は主に *G. glabra* であると確認された. またNMR測定結果を用いる多変量解析が, 既存添加物製品の基原種推定に有用かつ簡便な方法であることが示唆された.

Keywords: カンゾウ油性抽出物, NMR, 主成分分析

<sup>\*1</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

<sup>\*2</sup> (株) JEOL RESONANCE

\*<sup>3</sup> 日本電子 (株)

\*<sup>4</sup> 横浜薬科大学

\*<sup>5</sup> 丸善製薬 (株)

\*<sup>6</sup> 実践女子大学

Ohtsuki T, Nakamura R<sup>\*1</sup>, Kubo S<sup>\*1</sup>, Otabe A<sup>\*1</sup>, Oobayashi Y<sup>\*1</sup>, Suzuki S<sup>\*1</sup>, Yoshida Mika<sup>\*2</sup>, Yoshida Mitsuya<sup>\*2</sup>, Tatebe C, Sato K, Akiyama H: Development of an HPLC Method with an ODS Column to Determine Low Levels of Aspartame Diastereomers in Aspartame.

*PLoS One* 2016;11:e0152174.

$\alpha$ -L-Aspartyl-D-phenylalanine methyl ester (L, D-APM) and  $\alpha$ -D-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester (D, L-APM) are diastereomers of aspartame (*N*-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-phenylalanine-1-methyl ester, L, L-APM). The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives has set 0.04 wt% as the maximum permitted level of the sum of L, D-APM and D, L-APM in commercially available L, L-APM. In this study, we developed and validated a simple high-performance liquid chromatography (HPLC) method using an ODS column to determine L, D-APM and D, L-APM in L, L-APM. The limits of detection and quantification, respectively, of L, D-APM and D, L-APM were found to be 0.0012 wt% and 0.004 wt%. This method gave excellent accuracy, repeatability, and reproducibility in a recovery test performed on five different days. Moreover, the method was successfully applied to the determination of these diastereomers in commercial L, L-APM samples. Thus, the developed method is a simple, useful, and practical tool for determining L, D-APM and D, L-APM levels in L, L-APM.

Keywords: Aspartame, diastereomers, HPLC

\*<sup>1</sup> Ajinomoto Co., Inc.

\*<sup>2</sup> Japan Food Research Laboratories

熊井康人, 河崎裕美, 酒井昌昭<sup>\*1</sup>, 浦嶋幸雄<sup>\*1</sup>, 山田信之<sup>\*2</sup>, 関根百合子<sup>\*2</sup>, 工藤礼佳<sup>\*2</sup>, 中里光男<sup>\*3</sup>, 早藤知恵子<sup>\*3</sup>, 宮川弘之<sup>\*3</sup>, 山嶋裕季子<sup>\*3</sup>, 西岡千鶴<sup>\*4</sup>, 酒井國嘉<sup>\*5</sup>, 玉城宏幸<sup>\*6</sup>, 古謝あゆ子<sup>\*6</sup>, 建部千絵, 大槻崇, 久保田浩樹, 佐藤恭子, 穂山浩: マーケットバスケット方式による小児の食品添加物一日摂取量の推定 (2009年度).

*日本食品化学学会誌* 2015;22:181-7.

マーケットバスケット方式による小児 (1~6歳) の

食品添加物 (色素及び保存料, 甘味料, 製造用剤) の一日摂取量の推定を行った. 対象とする加工食品の喫食量リストは, 国民健康・栄養調査 (2001-2002年) 及び国民健康・栄養研究所の調査結果 (2003年) に基づき作成した.

最も高い一日摂取量を示したのはオルトリン酸 (9.4 mg/kg体重/日, リンとして) あり, 次いで, 縮合リン酸 (0.76 mg/kg 体重/日, リンとして), プロピレングリコール (0.47 mg/kg 体重/日) であった. 小児の食品添加物推定一日摂取量をJECFAの一日摂取許容量 (ADI) 及び最大耐用一日摂取量 (MTDI) と比較した. ADIに対する推定一日摂取量の割合は, 色素及び保存料, 甘味料, プロピレングリコールでは0~1.9%であり, MTDIに対するリン化合物の一日摂取量割合は15%であった.

Keywords: マーケットバスケット方式, 食品添加物, 一日摂取量

\*<sup>1</sup> 札幌市衛生研究所

\*<sup>2</sup> 仙台市衛生研究所

\*<sup>3</sup> 東京都健康安全研究センター

\*<sup>4</sup> 香川県環境保健研究センター

\*<sup>5</sup> 長崎市保健環境試験所

\*<sup>6</sup> 沖縄県衛生環境研究所

熊井康人, 細木伸泰<sup>\*1</sup>, 川島綾<sup>\*2</sup>, 関根百合子<sup>\*2</sup>, 林千恵子<sup>\*3</sup>, 本郷猛<sup>\*3</sup>, 安永恵<sup>\*4</sup>, 氏家あけみ<sup>\*4</sup>, 中島安基江<sup>\*5</sup>, 小川尚考<sup>\*6</sup>, 川原るみ子<sup>\*6</sup>, 仲間幸俊<sup>\*7</sup>, 古謝あゆ子<sup>\*7</sup>, 建部千絵, 大槻崇, 久保田浩樹, 佐藤恭子, 穂山浩: マーケットバスケット方式による小児の食品添加物一日摂取量の推定 (2014年度).

*日本食品化学学会誌* 2015;22:188-94.

2014年度におけるマーケットバスケット方式による日本の小児 (1~6歳) の食品添加物 (色素及び保存料, 甘味料, 製造用剤) の一日摂取量の推定を行った. 対象とする加工食品の喫食量リストは, 国民健康・栄養研究所の調査結果 (2003年) に基づき作成した. 対象とする加工食品の喫食量リストは, 国民健康・栄養研究所が2003年に実施した特別集計業務の調査結果に基づき作成した. 最も高い一日摂取量を示したのはオルトリン酸 (11 mg/kg 体重/日, リンとして) であり, 次いで, 縮合リン酸 (1.0 mg/kg 体重/日, リンとして), プロピレングリコール (0.73 mg/kg 体重/日) であった.

小児の食品添加物推定一日摂取量をJECFAまたは食品安全委員会が設定する一日摂取許容量 (ADI) 及び最大耐用一日摂取量 (MTDI) と比較した. ADIに対する推定一日摂取量の割合は, 色素及び保存料, 甘味料, プ

ロピレングリコールでは0～2.9%であり、MTDIに対するリン化合物の一日摂取量割合は18%であった。

Keywords: マーケットバスケット方式, 食品添加物, 一日摂取量

\*<sup>1</sup> 札幌市衛生研究所

\*<sup>2</sup> 仙台市衛生研究所

\*<sup>3</sup> 千葉県衛生研究所

\*<sup>4</sup> 香川県環境保健研究センター

\*<sup>5</sup> 広島県立総合技術研究所保健環境センター

\*<sup>6</sup> 長崎市保健環境試験所

\*<sup>7</sup> 沖縄県衛生環境研究所

Amakura Y<sup>\*1</sup>, Yoshimura M<sup>\*1</sup>, Yoshida T<sup>\*1</sup>, Tada A, Ito Y<sup>\*2</sup>, Yamazaki T<sup>\*3</sup>, Sugimoto N, Akiyama H: Chromatographic evaluation of the components of grape skin extract used as food additives.

*Jpn J Food Chem Safety*. 2015;22:108-14.

Grape skin extract, a food manufacturing agent registered in the List of Existing Food Additives in Japan, was evaluated by high performance liquid chromatographic (HPLC) method. Chemical constituents of these extracts were separated by repeated column chromatography, and 12 compounds were isolated and characterized as tryptamine, syringic acid, vanillic acid, ethyl gallate, (+)-catechin, (-)-epicatechin, luteoliflavan, quercetin, quercetin 3-*O*-glucuronide, myricetin 3-*O*-glucoside, procyanidin B-1, and procyanidin B-2 by spectroscopic methods. The presence of malvidin 3-*O*-glucoside as the major anthocyanin was confirmed by HPLC. A broad peak forming a swollen base line was attributed to a B type of proanthocyanidins, i.e., a condensed tannin oligomer, the number and weight averaged molecular weights of which were estimated, by gel permeation chromatography (GPC), to be 5999.6 and 21287.7, respectively. The proanthocyanidin content in commercial grape skin extract products was determined by colorimetric analysis with vanillin-sulfuric acid to be around 60% (catechin equivalent value).

Keywords: grape skin extract, anthocyanin, proanthocyanidin

\*<sup>1</sup> Matsuyama University

\*<sup>2</sup> Kyoritsu Women's University

\*<sup>3</sup> Jissen Women's University

Amakura Y<sup>\*1</sup>, Yoshimura M<sup>\*1</sup>, Morimoto S<sup>\*1</sup>, Yoshida T<sup>\*1</sup>, Tada A, Ito Y<sup>\*2</sup>, Yamazaki T<sup>\*3</sup>, Sugimoto N, Akiyama H: Chromatographic evaluation and characterization of components of gentiana root extract used as food additives.

*Chem Pharm Bull*. 2016;64:78-82.

Gentian root extract is used as a bitter food additive in Japan. We investigated the constituents of this extract to acquire the chemical data needed for standardized specifications. Fourteen known compounds were isolated in addition to a mixture of gentisin and isogentisin: anofinic acid, 2-methoxyanofinic acid, furan-2-carboxylic acid, 5-hydroxymethyl-2-furfural, 2,3-dihydroxybenzoic acid, isovitexin, gentiopicroside, loganic acid, sweroside, vanillic acid, gentisin 7-*O*-primeveroside, isogentisin 3-*O*-primeveroside, 6'-*O*-glucosylgentiopicroside, and swertiajaposide D. Moreover, a new compound, loganic acid 7-(2'-hydroxy-3'-*O*-β-D-glucopyranosyl)benzoate (1), was also isolated. HPLC was used to analyze gentiopicroside and amarogentin, defined as the main constituents of gentian root extract in the List of Existing Food Additives in Japan.

Keywords: gentian root extract, *Gentiana lutea*, bittering agent

\*<sup>1</sup> Matsuyama University

\*<sup>2</sup> Kyoritsu Women's University

\*<sup>3</sup> Jissen Women's University

西崎雄三, 多田敦子, 石附京子, 伊藤裕才<sup>\*1</sup>, 小野田 絢<sup>\*2</sup>, 杉本直樹, 穂山浩: モル吸光係数比を利用した ジャマイカカussia抽出物中のクアシン及びネオクア シンの新規定量法の開発.

*食品衛生学雑誌* 2015;56:185-93.

既存添加物ジャマイカカussia抽出物中のクアシンおよびネオクアシンを, 4-ヒドロキシ安息香酸 (4HBA) とのモル吸光係数比 (S/M) を利用し, HPLCを用いる新規定量法を開発した. 4HBAとクアシンおよびネオクアシンの混合液を, 定量NMR (qNMR) を用いてモル比 (M) を, HPLCを用いて吸光度比 (S) を算出し, 4HBAに対するクアシンおよびネオクアシンのS/M, 0.84 および0.85を求めた. 添加物製品中のクアシンおよびネオクアシンを直接qNMRを用いて定量した値と, 純度既知の4HBAを内標準物質として, S/MとHPLCを用いた定量値との差は, 1.2%以下で有意な差異はなかった. 本分析法は, 添加物や加工食品中のクアシンおよびネオク

アシンの定量に適用可能であることが示された。

Keywords: モル吸光係数比, 定量NMR, 4-ヒドロキシ安息香酸

\*<sup>1</sup> 共立女子大学

\*<sup>2</sup> 名古屋市衛生研究所

Kawasaki H, Akiyama T, Tada A, Sekiguchi W, Nishizaki Y, Ito Y\*, Sugimoto N, Akiyama H: Development of HILIC-LC/MS method for direct quantitation of 2-acetyl-4-tetrahydroxybutylimidazole in caramel III with the qNMR certified standard.

*Jpn J Food Chem Safety*. 2015;22:115-22.

A method LC/MS with HILIC column (HILIC-LC/MS) was developed for direct quantitation of 2-acetyl-4-tetrahydroxybutylimidazole (THI), an undesired polar byproduct in caramel III colorants. To verify the reliability of the proposed analytical method for the quantification of THI in caramel III commercial products, we determined the absolute purity of a THI analytical standard using quantitative NMR (qNMR) and then performed absolute calibration and standard addition procedures using the analytical standard. The correlation coefficients were >0.99 and >0.97 for the absolute calibration and standard addition procedures, indicating satisfactory linearity of the respective calibration curves. The procedures also returned identical quantitation values in a sample. The THI content in six samples of caramel III commercial products in Japan was determined using the HILIC-LC/MS method. The THI content in each of these samples was lower than officially stipulated limits. The current JECFA standard method for determination of THI in caramel III by HPLC/UV using a 10- $\mu$ m particle size C8 column with derivatization of THI-2,4-dinitrophenylhydrazone gave lower THI values than the proposed HILIC-LC/MS method due to sub-optimal peak separation by the column recommended in the JECFA standard method. Our data suggest that the analytical conditions of the current JECFA standard method should be improved.

Keywords: qNMR, HILIC, caramel

\* Kyoritsu Women's University

Ito Y\*, Ishizuki K, Sugimoto N, Tada A, Akiyama T, Sato K, Akiyama H, Goda Y: Confirmation of

the configuration of two glucuronic acid units in glycyrrhizic acid.

*Jpn J Food Chem Safety*. 2015;22:32-7.

Glycyrrhizic acid (GA), a triterpenoid saponin containing two glucuronic acid (GlcA1 and GlcA2) units, is found in the roots of Glycyrrhiza plants, and has been widely used as a natural sweetener for foods as well as a natural medicine. Purified GA is commercially available from various manufacturers as an analytical standard or a biochemical reagent. While producers describe the configurations of GlcA1 and GlcA2 as  $\alpha$  and  $\beta$ -forms, respectively, reports of the structural elucidation of GA have proposed that both GlcA units are  $\beta$ -form. To clarify this point, commercial GA from various sources was analyzed by 1D and 2D NMR studies. Results confirmed that the actual configuration of both GlcA units in GA is  $\beta$ -form.

Keywords: glycyrrhizic acid, glucuronic acid, natural sweetener

\* Kyoritsu Women's University

村上亮\*<sup>1</sup>, 六鹿元雄, 阿部孝\*<sup>2</sup>, 阿部裕, 大坂郁恵\*<sup>3</sup>, 大野春香\*<sup>4</sup>, 大野浩之\*<sup>5</sup>, 大野雄一郎\*<sup>6</sup>, 尾崎麻子\*<sup>7</sup>, 柿原芳輝\*<sup>8</sup>, 河崎裕美, 小林尚\*<sup>9</sup>, 柴田博\*<sup>10</sup>, 城野克広\*<sup>11</sup>, 関戸晴子\*<sup>12</sup>, 藺部博則\*<sup>13</sup>, 高坂典子\*<sup>14</sup>, 但馬吉保\*<sup>15</sup>, 田中葵\*<sup>16</sup>, 田中秀幸\*<sup>11</sup>, 野村千枝\*<sup>17</sup>, 羽石奈穂子\*<sup>18</sup>, 疋田晃典\*<sup>19</sup>, 三浦俊彦\*<sup>20</sup>, 渡辺一成\*<sup>21</sup>, 穂山浩: ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装におけるアンチモンおよびゲルマニウム溶出試験の試験室間共同試験.

*食品衛生学雑誌* 2015;56:57-67.

ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装のアンチモン (Sb) およびゲルマニウム (Ge) 溶出試験における各測定法の性能を評価するため, 試験室間共同試験を行った. 当試験には18機関が参加し, 濃度非明示の3検体 (各2測定) について電気加熱方式原子吸光光度法 (GF-AAS), 誘導結合プラズマ発光強度測定法 (ICP-OES) および誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) によりSbおよびGeの定量を行った. その結果, GF-AAS およびICP-OESでは, 真度が98~107%, 併行精度 (RSDr) が1.7~7.5%, 室間再現精度 (RSDR) が2.0~18.8%であり, これらの性能は規格試験法として十分であった. また, ICP-MSでは, 真度が99~106%, RSDrが0.7~2.2%, RSDRが2.2~10.5%であり, 代替法として適用可能であった. しかし, 一部の試験機関ではSbの定量値

が添加量よりも高かった。その一因として、検量線溶液中のSbがガラス器具に吸着したためと考えられた。そのため、Sbの試験を行う場合には、検量線溶液の濃度について細心の注意を払う必要があると考えられた。

Keywords: アンチモン, ゲルマニウム, 試験室間共同試験

- \*1 (公社) 日本食品衛生協会
- \*2 (一財) 日本食品分析センター
- \*3 埼玉県衛生研究所
- \*4 愛知県衛生研究所
- \*5 名古屋市衛生研究所
- \*6 (一財) 千葉県薬剤師会検査センター
- \*7 大阪市立環境科学研究所
- \*8 日本穀物検定協会
- \*9 (一財) 食品分析開発センター SUNATEC
- \*10 (一財) 東京顕微鏡院
- \*11 (国研) 産業技術総合研究所
- \*12 神奈川県衛生研究所
- \*13 (一財) 日本文化用品安全試験所
- \*14 (一財) 食品薬品安全センター
- \*15 (一財) 食品環境検査協会
- \*16 (一社) 日本海事検定協会
- \*17 大阪府立公衆衛生研究所
- \*18 東京都健康安全研究センター
- \*19 長野県環境保全研究所
- \*20 (一財) 日本冷凍食品検査協会
- \*21 (一財) 化学研究評価機構

柴田博<sup>\*1</sup>, 六鹿元雄, 阿部裕, 伊藤禎啓<sup>\*2</sup>, 大坂郁恵<sup>\*3</sup>, 大野春香<sup>\*4</sup>, 大野浩之<sup>\*5</sup>, 大野雄一郎<sup>\*6</sup>, 尾崎麻子<sup>\*7</sup>, 柿原芳輝<sup>\*8</sup>, 小林尚<sup>\*9</sup>, 城野克広<sup>\*10</sup>, 関戸晴子<sup>\*11</sup>, 藪部博則<sup>\*12</sup>, 高坂典子<sup>\*13</sup>, 但馬吉保<sup>\*14</sup>, 田中葵<sup>\*15</sup>, 田中秀幸<sup>\*10</sup>, 中西徹<sup>\*16</sup>, 野村千枝<sup>\*17</sup>, 羽石奈穂子<sup>\*18</sup>, 疋田晃典<sup>\*19</sup>, 三浦俊彦<sup>\*20</sup>, 山口未来, 渡辺一成<sup>\*21</sup>, 穂山浩: ゴム製器具・容器包装における亜鉛溶出試験の試験室間共同試験。

食品衛生学雑誌 2015;56:123-31.

食品衛生法におけるゴム製器具・容器包装の亜鉛 (Zn) 試験法の性能を評価するため、水または4%酢酸による亜鉛溶液6種を検体として用いた試験室間共同試験を行った。当試験には18機関が参加し、濃度非明示の6検体 (各2測定) についてフレーム方式原子吸光光度法、誘導結合プラズマ発光強度測定法および誘導結合プラズマ質量分析法によりZnの定量を行った。その結果、いずれの測定法においても真度が97~103%、併行精度 (RSDr) が0.7~4.9%、室間再現精度 (RSDR) が1.7~

8.9%であり、性能パラメーターの値は目標値 (真度: 80~110%, RSDr: 10%以下, RSDR: 25%以下) を満たしており、規格試験法として十分な性能を有していることが判明した。

Keywords: 亜鉛, 溶出試験, 試験室間共同試験

- \*1 (一財) 東京顕微鏡院
- \*2 (公社) 日本食品衛生協会
- \*3 埼玉県衛生研究所
- \*4 愛知県衛生研究所
- \*5 名古屋市衛生研究所
- \*6 (一財) 千葉県薬剤師会検査センター
- \*7 大阪市立環境科学研究所
- \*8 日本穀物検定協会
- \*9 (一財) 食品分析開発センター SUNATEC
- \*10 (国研) 産業技術総合研究所
- \*11 神奈川県衛生研究所
- \*12 (一財) 日本文化用品安全試験所
- \*13 (一財) 食品薬品安全センター
- \*14 (一財) 食品環境検査協会
- \*15 (一社) 日本海事検定協会
- \*16 (一財) 日本食品分析センター
- \*17 大阪府立公衆衛生研究所
- \*18 東京都健康安全研究センター
- \*19 長野県環境保全研究所
- \*20 (一財) 日本冷凍食品検査協会
- \*21 (一財) 化学研究評価機構

Syaka A<sup>\*</sup>, Kusumoto A<sup>\*</sup>, Asakura H, Kawamoto K<sup>\*</sup>: Whole genome sequences of eight *Campylobacter jejuni* isolates from wild birds.

*Genome Announc.* 2015;3:e00315-15.

We present here the draft genome sequences of 8 *Campylobacter jejuni* strains isolated from wild birds. The strains were initially isolated from swabs taken from resident wild birds in the Tokachi area of Japan. The genome sizes range from 1.65 to 1.77 Mbp.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, wild birds, draft genome sequence

\* Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

Pascoe B<sup>\*1</sup>, Meric G, Murray S<sup>\*1</sup>, Yahara K<sup>\*1</sup>, Mageiros L<sup>\*1</sup>, Bowen R<sup>\*1</sup>, Jones NH<sup>\*1</sup>, Jeeves RE<sup>\*1</sup>, Lappin-Scott HM<sup>\*1</sup>, Asakura H, Sheppard SK<sup>\*1,2</sup>: Enhanced biofilm formation and multi-host



transmission evolve from divergent genetic backgrounds in *Campylobacter jejuni*.

*Environ Microbiol.* 2015;17:4779-89.

In microaerophilic organisms such as *Campylobacter*, biofilms play a key role in transmission to humans as the bacteria are exposed to atmospheric oxygen concentrations when leaving the reservoir host gut. Our approach combines genome-wide association studies with traditional microbiology techniques to investigate the genetic basis of biofilm formation in 102 *Campylobacter jejuni* isolates. 30 genes exhibited statistically robust association with biofilm formation, which showed strain-to-strain diversity in host generalist ST-21 and ST-45 clonal complexes, suggesting the evolution of enhanced biofilm from different genetic backgrounds and a possible role in colonization of multiple hosts and transmission to humans.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, biofilm formation, genome-wide association study (GWAS)

\*1 Swansea University

\*2 Oxford University

Asakura H, Kawamoto K<sup>\*1</sup>, Murakami S<sup>\*2</sup>, Tachibana M, Kurazono H<sup>\*1</sup>, Makino S<sup>\*3</sup>, Yamamoto S<sup>\*4</sup>, Igimi S: Ex vivo proteomics of *Campylobacter jejuni* 81-176 reveal that FabG affects fatty acid composition to alter bacterial growth fitness in the chicken gut.

*Res Microbiol.* 2016;167:63-71.

Here we performed ex vivo proteomic analysis of *C. jejuni* 81-176 in chicken. At 0, 1 and 4 weeks p.i., inocula were recovered from chicken ceca by cell sorting using flow cytometry. iTRAQ-coupled 2D-LC-MS/MS analyses that detected 55 bacterial proteins, among which either 3 or 7 proteins exhibited >1.4-fold-increased expression at 1 or 4 weeks p.i. compared with those at 0 weeks p.i., respectively. Deletion of the fabG gene clearly decreased the proportion of bacterial unsaturated fatty acids (UFAs) and chicken colonization. These findings suggest a pivotal role of the fabG in UFA production, linked to bacterial adaptation in the poultry host.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, chicken, proteomics

\*1 Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

\*2 Tokyo University of Agriculture

\*3 Kyoto Seibo College

\*4 Tokai University

Masuda K, Yamamoto S, Kubota K, Kurazono H<sup>\*1</sup>, Makino S<sup>\*2</sup>, Kasuga F, Igimi S, Asakura H: Evaluation of the dynamics of microbiological quality in lightly pickled napa cabbages during manufacture. *J Food Safety.* 2015;35:458-65.

We examined indicator bacterial counts, prevalence of STEC and *Salmonella* spp., and bacterial community structure in intermediate products and the related facilities at a collaborative plant in which lightly pickled vegetables were manufactured. Plate counts showed a significant reduction in coliform during processing, whereas the reduction in total viable counts was relatively less than that of coliforms. No STEC and *Salmonella* spp. were recovered. 16S rRNA pyrosequencing analysis revealed process-by-process alteration of bacterial community composition in which the yields of *Pseudomonas* spp. were drastically affected by soaking in high concentration of NaCl. In summary, we demonstrate that the revised prerequisite program is indeed functional to reduce the microbial risks.

Keywords: Light pickles, microbiome, hygienic practice

\*1 Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

\*2 Kyoto Seibo College

朝倉宏, 山本詩織, 橋理人, 吉村昌徳<sup>\*1</sup>, 山本茂貴<sup>\*2</sup>, 五十君静信: 冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討.

*日本食品微生物学会雑誌* 2015;32:159-62.

鶏肉におけるカンピロバクター汚染を流通段階で制御するための一手法として, 冷凍処理の有効性を評価した. 添加回収試験を通じ, -20℃での2週間の冷凍処理により, 最大で約1.9-2.3対数個の減少を認めた. 40%の自然汚染率を示す鶏挽肉を用いた検討では, 1週間の冷凍処理により汚染率は約1/4にまで低減した. 急速冷凍処理を行った食鳥部分肉の本菌汚染菌数は, チルド検体に比べ総じて低値を示した. 以上より, 冷凍処理は鶏肉におけるカンピロバクター汚染を低減する一手法であることが示された.

Keywords: カンピロバクター, 冷凍, 鶏肉汚染

\*<sup>1</sup> 日本冷凍食品検査協会

\*<sup>2</sup> 東海大学

杉山広<sup>\*1</sup>, 荒川京子<sup>\*1</sup>, 柴田勝優<sup>\*1</sup>, 川上泰<sup>\*2</sup>, 森嶋康之<sup>\*1</sup>, 山崎浩<sup>\*1</sup>, 荒木潤<sup>\*1,3</sup>, 生野博<sup>\*4</sup>, 朝倉宏:わが国における土壌媒介寄生虫症, 特に回虫症の発生とその汚染源の文献的および検査期間データに基づく調査.

食品衛生研究 2015;65:37-41.

土壌媒介性の回虫症に関する発生動向を調査した。2004年以降の発生数は大きく減少していたが, 現在でも少数ながらも発生が継続していることが明らかとなった。また, 症例の発生原因については不明ながら, 輸入野菜の回虫卵汚染については一部明らかにされており, 今回の調査でも1検体からの検出事例を認めた。一方で, 国内で生産される野菜の汚染実態については検査数も少ないこと等から, 今後感染源の調査にあたっては検討を継続する必要性が示唆された。

Keywords: 回虫症, 野菜, 発生動向

\*<sup>1</sup> 国立感染症研究所

\*<sup>2</sup> 麻布大学

\*<sup>3</sup> (公財) 目黒寄生虫館

\*<sup>4</sup> ビー・エム・エル細菌検査部

堀内朗子<sup>\*1</sup>, 荒川京子<sup>\*2</sup>, 秋葉達也<sup>\*1</sup>, 吉田建介<sup>\*1</sup>, 平田史子<sup>\*1</sup>, 松本奈保子<sup>\*1</sup>, 丸山弓美<sup>\*1</sup>, 奥津敬右<sup>\*1</sup>, 朝倉宏, 杉山広<sup>\*2</sup>: ストマッカーを利用した野菜等の回虫卵検査法の検討.

食品衛生研究 2015;65:45-50.

野菜からの回虫卵検査法として, 細菌検査に汎用されるストマッカーを用いた方法について, 従来法(沈殿・浮遊法)との比較を行い, その有用性について評価した。鶏肉におけるカンピロバクター汚染を流通段階で制御するための一手法として, 冷凍処理の有効性を評価した。検出感度については, ストマッカー法と従来法の間では有意な差異を認めなかった一方で, 前者の方法では, 虫卵分離に要する時間を大きく短縮することができ, その有効性が示された。

Keywords: 回虫卵検査法, 野菜, ストマッカー処理法

\*<sup>1</sup> (公財) 日本食品衛生協会食品衛生研究所

\*<sup>2</sup> 国立感染症研究所

Suzuki H, Okada Y: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and beef consumption in Japan. *Proceeding of 2nd AFSSA*. 2015;79-82.

In 2004 and 2005, importing U.S. beef was almost stopped. And then, the amounts of U.S. beef were gradually increased but were not recovered to those before the ban. The amounts of the total imported beef and domestic beef were almost constant during this period. On the other hand, the number of food-borne EHEC patients and cases, and the total number of EHEC patients (not only food-borne cases) were fluctuated but relatively constant from 2000 to 2012. It is thought that the U.S. beef might not have a great effect on the situation of EHEC infection in Japan, and it is too short to estimate whether the new standard for raw beef preparation or the ban of raw beef liver is effective or not.

Keywords: EHEC, beef, Japan

Okada Y, Monden S, Suzuki H, Nakama A\*, Ida M\*, Igimi S: Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated from the imported and the domestic foods in Japan.

*J Food Nutr Sci*. 2015;3:70-3.

In vitro antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from the imported and the domestic foods in Japan was determined by plate dilution method. Eleven isolates from domestic meat, meat products, liver, seafood and environment, and 16 isolates from imported meat and meat products were examined their susceptibilities against ampicillin, chloramphenicol, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, penicillin and tetracycline. All of the isolates except the one isolate from domestic scallop were susceptible to all the antibiotics tested. Only 1 isolate showed resistance to kanamycin and gentamicin. The minimum inhibitory concentration (MIC) for 50% of the strains and the MIC for 90% of the strains were comparable between the imported and the domestic food origins. These results suggest there were less differences of antimicrobial susceptibility between the two origins of *Listeria* isolates.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Antibiotic Susceptibility

\* 東京都健康安全研究センター

Ogawa T\*, Okada Y, Kuse H\*, Kemi M\*, Suzuki H: Swelling of eyeball accompanied with lens luxation in four mongolian gerbils.

比較眼科研究 2015;34:21-7.

The Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) are one of the experimental animal models which were established in Japan<sup>1</sup>). Abnormally larger eyes were found unilaterally, either right or left, in five out of 686 post-weaning Mongolian gerbils, in our breeding colony, which was started from four pairs of MGW inbred albino strain gerbils and maintained for around one year. Ophthalmological and histopathological examinations were conducted on the eyeballs from four out of these five animals. The affected eyeballs were swollen and showed anterior synechia in all four cases. The lens with opacity of one animal moved freely in the intraocular space depending on the direction of animal's head and those of the other three animals were unevenly located near the Ciliary body or posterior position, and these ocular lesions were diagnosed as lens luxation. Histopathological examination revealed imperfect formation of the ciliary body and zonula ciliaris (Zinn's zonule), suggesting lens luxation due to abnormal formation of the zonula ciliaris that plays a role as a supporting system of the lens. However, these ocular lesions were accompanied by phenomena indicating elevated intraocular pressure, such as enlarged eyeball, edematous cornea, thinning of the cornea and retina, atrophy of the optic nerve, and cupping of the optic disk, and glaucoma was suggested. Thus, such abnormal zonula ciliaris (and its consequent lens luxation) might have occurred following glaucoma. It is suggested that genetic background might be involved in these ocular lesions because all four cases were occurred in the colony, although the prevalence was low.

Keywords : スナネズミ, 眼球腫大, 水晶体脱臼

\* ボゾリサーチセンター

Kumagai Y<sup>\*1</sup>, Gilmour S<sup>\*1</sup>, Ota E<sup>\*2</sup>, Momose Y, Onishi T<sup>\*3</sup>, Bilano VL<sup>\*1</sup>, Kasuga F, Sekizaki T<sup>\*1</sup>, Shibuya K<sup>\*1</sup>: Estimating the burden of foodborne diseases in Japan.

*Bull World Health Organ.* 2015;93:540-9C.

When assessing the burden posed by foodborne diseases using methods developed by the WHO's Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group (FERG), foodborne disease caused by *Campylobacter*, *Salmonella* and EHEC led to an

estimated loss of 6099, 3145 and 463 DALYs in Japan, respectively, in 2011. These estimated burdens are based on the pyramid reconstruction method, and are much higher than those indicated by routine surveillance data. Most of the burden posed by foodborne disease in Japan comes from secondary complications. The tools developed by FERG appear useful in estimating disease burdens and setting priorities in the field of food safety.

Keywords: DALYs, FERG, foodborne diseases

<sup>\*1</sup> The University of Tokyo

<sup>\*2</sup> National Centre for Child Health and Development

<sup>\*3</sup> Kyushu University

Saito H<sup>\*1</sup>, Toho M<sup>\*2</sup>, Tanaka T<sup>\*3</sup>, Noda M: Development of a practical method to detect noroviruses contamination in composite meals. *Food Environ Virol.* 2015;7:239-48

Various methods to detect foodborne viruses including norovirus (NoV) in contaminated food have been developed. However, a practical method suitable for routine examination that can be applied for the detection of NoVs in oily, fatty, or emulsive food has not been established. In this study, we developed a new extraction and concentration method for detecting NoVs in contaminated composite meals. We spiked NoV-GI.4 or -GII.4 stool suspension into potato salad and stir-fried noodles. The food samples were suspended in homogenizing buffer and centrifuged to obtain a food emulsion. Then, anti-NoV-GI.4 or anti-NoV-GII.4 rabbit serum raised against recombinant virus-like particles or commercially available human gamma globulin and *Staphylococcus aureus* fixed with formalin as a source of protein A were added to the food emulsion. NoV-IgG-protein A-containing bacterial complexes were collected by centrifugation, and viral RNA was extracted. The detection limits of NoV RNA were 10-35 copies/g food for spiked NoVs in potato salad and stir-fried noodles. Human gamma globulin could also concentrate other NoV genotypes as well as other foodborne viruses, including sapovirus, hepatitis A virus, and adenovirus. This newly developed method can be used as to identify NoV contamination in composite foods and is also possibly applicable to other foodborne viruses.

Keywords: norovirus, food, detection

\*1 Akita Prefectural Research Center for Public Health and Environment Science

\*2 Fukui Prefectural Institute of Public Health and Environment Science

\*3 Sakai City Institute of Public Health

入谷展弘<sup>\*1</sup>, 山元誠司<sup>\*1,2</sup>, 改田厚<sup>\*1</sup>, 阿部仁一郎<sup>\*1</sup>, 久保英幸<sup>\*1</sup>, 平井有紀<sup>\*1</sup>, 上林大起<sup>\*1,2</sup>, 野田衛, 西尾孝之<sup>\*1</sup>: 2014-2015シーズンに大阪府で認められたノロウイルス流行.

大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報 2015;77:13-6

2014-2015シーズンのノロウイルス (NoV) 検出状況は2014年9月～12月にGII.3, 2015年1月～3月にGII.17が主に検出され, 時期によって流行するNoVの遺伝子型が異なっていた. NoV GII.3は主に低年齢層におけるヒトからヒトへの感染拡大であった. NoV GII.17の流行は大阪府において初めて認められ, 主に成人層で流行していた.

Keywords: norovirus, GII.17, 2014-2015 season

\*1 大阪市立環境科学研究所

\*2 大阪府立公衆衛生研究所

楠原一<sup>\*1</sup>, 赤地重宏<sup>\*1</sup>, 小林隆司<sup>\*1</sup>, 西中隆道<sup>\*1</sup>, 小林真美<sup>\*2</sup>, 山口江里<sup>\*2</sup>, 岩出義人<sup>\*2</sup>, 田沼正路<sup>\*2</sup>, 野田衛: ノロウイルスGII.17型の流行とその特徴について-三重県.

病原微生物検出情報 2015;36:91-2

2014/15シーズンのノロウイルスを原因とする食中毒などの健康被害事例と小児の感染性胃腸炎では, 検出される遺伝子型に明らかな違いがみられた. 健康被害事例からは, これまで検出例の少ない遺伝子型 (GII.17) のノロウイルスが相次いで検出され, GII.17陽性検体には, 市販のノロウイルス簡易検査キットでは陽性を示さないものもあった.

Keywords: norovirus, GII.17, commercial kits

\*1 三重県保健環境研究所

\*2 三重県津保健所総合検査室

Yahata Y<sup>\*1</sup>, Misaki T<sup>\*1</sup>, Ishida Y<sup>\*2</sup>, Nagira M<sup>\*1</sup>, Watahiki M<sup>\*3</sup>, Isobe J<sup>\*3</sup>, Terajima J, Iyoda S<sup>\*1</sup>, Mitobe J<sup>\*1</sup>, Ohnishi M<sup>\*1</sup>, Sata T<sup>\*3</sup>, Taniguchi K<sup>\*1</sup>, Tada Y<sup>\*1</sup>, Okabe N<sup>\*1</sup>, E. coli O111 Outbreak Investigation Team: Epidemiological analysis of a

large enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy.

*Epidemiol Infect.* 2015;143:2721-32.

A large outbreak of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O111 and O157 occurred in Japan in April 2011. We conducted an unmatched case-control study and trace-back investigation to determine the source of EHEC O111 infection and risk factors for severe complications. Pulsed-field gel electrophoresis was performed to help define cases. A total of 86 individuals met the case definition. Of these, 40% experienced haemolytic uraemic syndrome (HUS), 24% acute encephalopathy, and 6% died. Illness was significantly associated with eating the raw beef dish yukhoe (odds ratio 19.64, 95% confidence interval 7.03-54.83), the likely food vehicle. EHEC O111 and its closely related stx-negative variants were found in the beef. HUS occurred most frequently in individuals aged 5-9 years, and this age group was significantly associated with acute encephalopathy. The prevalence of HUS and acute encephalopathy was higher than in previous non-O157-related outbreaks, indicating a high risk of severe complications.

Keywords: EHEC, HUS, O111

\*1 National Institute of Infectious Diseases

\*2 Toyama City Hospital

\*3 Toyama Institute of Health

Ban E<sup>\*1</sup>, Yoshida Y<sup>\*1</sup>, Wakushima M<sup>\*1</sup>, Wajima T<sup>\*2</sup>, Hamabata T<sup>\*3</sup>, Ichikawa N<sup>\*1</sup>, Abe H<sup>\*4</sup>, Horiguchi Y<sup>\*4</sup>, Hara-Kudo Y, Kage-Nakadai E<sup>\*1</sup>, Yamamoto T<sup>\*5</sup>, Wada T<sup>\*5</sup>, Nishikawa Y<sup>\*1</sup>: Characterization of unstable pEntYN10 from enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) O169:H41.

*Virulence.* 2015;6:735-44.

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) serotype O169:H41 has been an extremely destructive epidemic ETEC type worldwide. The strain harbors a large unstable plasmid that is regarded as responsible for its virulence, although its etiology has remained unknown. To examine its genetic background specifically on the unstable retention and responsibility in the unique adherence to epithelial cells and enterotoxin production, the complete sequence of a plasmid, pEntYN10, purified from the serotype strain was

determined. The length is 145,082 bp; its GC content is 46.15%. It contains 182 CDSs, which include three colonization factors (CFs), an enterotoxin, and large number of insertion sequences. The repertoire of plasmid stability genes was extraordinarily scant. Uniquely, results showed that three CFs, CS6, CS8 (CFA/III)-like, and K88 (F4)-like were encoded redundantly in the plasmid with unique variations among previously known subtypes. These three CFs preserved their respective gene structures similarly to those of other ETEC strains reported previously with unique sequence variations respectively. It is particularly interesting that the K88-like gene cluster of pEntYN10 had two paralogous copies of faeG, which encodes the major component of fimbrial structure. It remains to be verified how the unique variations found in the CFs respectively affect the affinity to infected cells, host range, and virulence of the ETEC strain.

Keywords: ETEC, plasmid, genetic diversity

\*1 Osaka City University

\*2 Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

\*3 National Center for Global Health and Medicine

\*4 Osaka University

\*5 Nagasaki University

西尾智裕<sup>\*1</sup>, 大塚佳代子<sup>\*2</sup>, 小田みどり<sup>\*1</sup>, 杉山寛治<sup>\*1</sup>, 工藤由起子: 魚介類からの腸炎ビブリオ検出における遺伝子検出法の検討.

感染症学雑誌 2015;89:445-51.

魚介類からの腸炎ビブリオの効率的な検出を目的として, 2種類のDNA抽出法(熱抽出法およびアルカリ熱抽出法)を腸炎ビブリオ種特異的遺伝子(易熱性溶血毒遺伝子tlhまたはrpoD遺伝子)および病原因子遺伝子(耐熱性溶血毒素TDH遺伝子tdh またはTDH類似性溶血毒素遺伝子trh)を対象とした3種類の遺伝子増幅法(PCR法, リアルタイムPCR法およびloop-mediated isothermal amplification (LAMP)法)と組み合わせて検出感度を検討した. 腸炎ビブリオ種特異的遺伝子検出においては, アルカリ熱抽出法でDNAを抽出しtlh-リアルタイムPCR法およびrpoD-LAMP法にて検出することによって, 供試した2菌株(tdh・trh1陽性株およびtrh2陽性株)および食品検体(カキおよびアカガイ)のいずれの組み合わせにおいて85-145 cfu/testの低菌数レベルで対象遺伝子が検出された. また, tdh検出においては, 熱抽出法ではリアルタイムPCR法にて検出することによって85 cfu/testの菌数レベルでも両食品種で検

出された. アルカリ熱抽出法では, LAMP法およびリアルタイムPCR法で85 cfu/testの菌数レベルでも検出された. さらに, trh検出においては, trh2の検出に限定すればアルカリ熱抽出法でのLAMP法で145 cfu/testの菌数レベルでも検出されたが, trh1およびtrh2の両方ではアルカリ熱抽出法でのPCR法が比較的高感度であった. しかし, 今後さらにtrh検出法の検討が必要と考えられた. 本研究では, アルカリ熱抽出法によってDNAを抽出し, tlh-リアルタイムPCR法またはrpoD-LAMP法, tdh-リアルタイムPCR法またはtdh-LAMP法, trh-PCR法およびtrh-LAMP法を行うことによって魚介類から腸炎ビブリオを比較的高感度に検出できることが示された.

Keywords: 腸炎ビブリオ, リアルタイムPCR法, LAMP法

\*1 静岡県環境衛生科学研究所

\*2 埼玉県衛生研究所

森哲也<sup>\*1</sup>, 吉田信一郎<sup>\*2</sup>, 池本尚人<sup>\*3</sup>, 加藤一郎<sup>\*4</sup>, 林伸之<sup>\*5</sup>, 齋藤明美<sup>\*2</sup>, 市川希美<sup>\*1</sup>, 伊藤武<sup>\*1</sup>, 工藤由起子: ゼリー飲料および固形化成分を含有する粉末清涼飲料の細菌試験法の問題点とその改善法の検討. 日本食品微生物学会雑誌 2016;33:19-25.

ゼリー飲料における大腸菌群試験法, およびゲル状となる粉末清涼飲料における大腸菌群試験法および細菌数(生菌数)試験法について検討した. 現行の大腸菌群試験法に従い2倍濃度のLB 10 mlにゼリー飲料検体10 mlを加えて培養する場合, ガス産生が正しく判定されない場合があることが判明した. そこで, LB 100 mlに検体10 mlを加えて培養する方法を検討した結果, ガス産生が確認された. また, コンニャクグルコマンナン等が含まれる粉末清涼飲料の試験では, 10倍乳剤ではゲル強度が高いために, 試験の操作が困難となるため, 100倍乳剤を用いて検討した. 大腸菌群の検査では, 2倍濃度のLB 100 mlに100倍乳剤を加えて培養することによってガスの産生が確認され, 現行の試験法と同等の検出感度での大腸菌群の検査が実施できた. 一方, 細菌数(生菌数)測定に関しては, 混濁培養法でのコロニー数測定が困難であったため, 今後さらに検討が必要である.

Keywords: ゼリー飲料, 大腸菌群試験法, 細菌数(生菌数)試験法

\*1 (一財) 東京顕微鏡院

\*2 (一財) 日本食品分析センター

\*3 サントリービジネスエキスパート(株)

\*4 (株) 伊藤園

\*5 キリン (株)

Kobayashi N, Maeda E<sup>\*1</sup>, Saito S<sup>\*2</sup>, Furukawa I<sup>\*3</sup>, Ohnishi T, Watanabe M, Terajima J, Hara-Kudo Y: Association of cell-adhesion activities with virulence in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O103:H2. *Biocontrol Science* 2016;21:57-61.

The characteristics of 11 strains of Stx1-producing and Stx2-non-producing STEC O103:H2 were analyzed to investigate the differences in virulence in a single serotype of Shiga toxin (Stx)-producing *Escherichia coli* (STEC). Differences in the cell-adhesion activity to Caco-2 cells were observed among the strains. The activity of the one strain, isolated from a patient with hemolytic uremic syndrome was 4-20-fold higher than those of the other strains. Although the strains with high cell-adhesion activity showed high expressions of *eae*, *espB*, *espD*, and *tir* in the locus of enterocyte effacement related with cell-adhesion, those were not specific for this strain. In addition, the Stx1 production level of the strain was not particularly high. It was indicated that the high adhesion activity might be a potential factor to associate serious symptom.

Keywords: Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Virulence, Adhesion activity

\*1 Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

\*2 Akita Research Center for Public Health and Environment

\*3 Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

渡辺麻衣子, 菊池裕: 核酸増幅検査 (NAT) を利用した真菌否定試験および迅速同定法の開発に関する研究.

*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2016;47:150-7.

第十六改正日本薬局方 (日局16) 一般試験法の無菌試験は, 無菌であることが求められている原薬又は製剤の出荷判定試験に適用される. 培養開始から14日間後に細菌又は真菌の増殖を肉眼的に判定し, 増殖が観察された場合には, 培養法で微生物を検出する. 真菌の場合, 特徴を見出すための特別な熟練技術や, 結果の判定のための専門知識が求められることに加え, 培養が必要で時間がかかる. また, 時に判定に対して客観性に乏しくなる場合がある. 真菌についてもNATを利用した微生物迅速法による無菌試験法を開発する必要性が高い. 本研究

では, 再生医療等製品にも適用可能な医薬品の出荷判定試験に用いる微生物迅速法による無菌試験法の導入を見据え, 日局16の無菌試験法で規定された試験用菌株 *Aspergillus brasiliensis* および *Candida albicans* を含む合計10菌種を供試して, NATによる真菌の検出および検出された真菌の同定に用いるプライマーセットの比較検討を行った. 日局16収載のプライマーセットを中心に, 各プライマーセット間で検出力や同定精度を比較した. その結果, 菌種を絞らず網羅的に真菌汚染の有無を検出できるプライマーセットおよび塩基配列相同率を指標として明瞭に菌種を同定できる可能性が最も高いプライマーセットを明らかにした. さらに, 今後NATを真菌検査の迅速法として導入するにあたっての問題点を明らかにした.

Keywords: 真菌, 核酸増幅検査, 無菌試験法

Ohnishi T, Furusawa H, Oyama R, Koike S<sup>\*1</sup>, Yoshinari T, Kamata Y<sup>\*2</sup>, Sugita-Konishi Y<sup>\*3</sup>: Molecular epidemiological analysis of *Kudoa septempunctata* by random amplified polymorphic DNA analysis.

*JJID*. 2015;68:235-8.

Molecular epidemiological analysis of *Kudoa septempunctata* isolates from 34 olive flounders associated with foodborne disease outbreaks and from 6 reference samples was performed using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. The *K. septempunctata* isolates analyzed in this study were divided into 8 groups. Eight isolates obtained from the large Ehime Prefecture outbreak in Japan that had occurred on October 8, 2010, were further divided into 4 groups. Eight isolates obtained from Korean samples were divided into 3 groups. These groups included isolates that had been identified from the large Ehime Prefecture outbreak. These results indicated that the Korean isolates had similar genetic backgrounds to those involved in the Ehime Prefecture outbreak. Isolates associated with outbreaks with similar dates of onset tended to be classified in the same group, suggesting that the strains involved in these incidents were genetically related. These results demonstrated that RAPD analysis is a useful molecular epidemiological analysis method for *K. septempunctata*.

Keywords: *Kudoa*, Parasite, Food-borne disease

\*1 Kyoritsu Women's University

\*2 Iwate University

\*<sup>3</sup> Azabu University

Takeuchi F<sup>\*1</sup>, Ogasawara Y<sup>\*1</sup>, Kato K<sup>\*1</sup>, Sekizuka T<sup>\*1</sup>, Nozaki T<sup>\*1,2</sup>, Sugita-Konishi Y<sup>\*3</sup>, Ohnishi T, Kuroda M<sup>\*1</sup>: Genetic variants of *Kudoa septempunctata* (Myxozoa: Multivalvulida), a flounder parasite causing foodborne disease.

*J Fish Dis.* 2016;39:667-72.

Foodborne disease outbreaks caused by raw olive flounders (*Paralichthys olivaceus*) parasitized with *Kudoa septempunctata* have been reported in Japan. Origins of olive flounders consumed in Japan vary, being either domestic or imported, and aquaculture-raised or natural. Although it is unknown whether different sources are associated with different outcomes, it is desirable to identify whether this is the case by determining whether unique *K. septempunctata* strains occur and if so, whether some are associated with foodborne illness. We here developed an intraspecific genotyping method, using the sequence variation of mitochondrial genes. We collected olive flounder samples from foodborne disease outbreaks, domestic fish farms or quarantine offices and investigated whether *K. septempunctata* genotype is associated with pathogenicity or geographic origin. The 104 samples were classified into three genotypes, ST1, ST2 and ST3. Frequency of symptomatic cases differed by genotypes, but the association was not statistically significant. Whereas *K. septempunctata* detected from aquaculture-raised and natural fish from Japan were either ST1 or ST2, those from fish inspected at quarantine from Korea to Japan were ST3. Our method can be applied to phylogeographic analysis of *K. septempunctata* and contribute to containing the foodborne disease.

Keywords: *Kudoa*, Parasite, Food-borne disease

\*<sup>1</sup> National Institute of Infectious Diseases

\*<sup>2</sup> University of Tsukuba

\*<sup>3</sup> Azabu University

Takeuchi F<sup>\*1</sup>, Ogasawara Y<sup>\*1</sup>, Sekizuka T<sup>\*1</sup>, Yokoyama H<sup>\*2</sup>, Kamikawa R<sup>\*3</sup>, Inagaki Y<sup>\*4</sup>, Nozaki T<sup>\*1,4</sup>, Sugita-Konishi Y<sup>\*5</sup>, Ohnishi T, Kuroda M<sup>\*1</sup>: The Mitochondrial Genomes of a Myxozoan Genus *Kudoa* Are Extremely Divergent in Metazoa. *PLOS One* 2015;10:e0132030.

The Myxozoa are oligo-cellular parasites with alternate hosts--fish and annelid worms--and some myxozoan species harm farmed fish. The phylum Myxozoa, comprising 2,100 species, was difficult to position in the tree of life, due to its fast evolutionary rate. Recent phylogenomic studies utilizing an extensive number of nuclear-encoded genes have confirmed that Myxozoans belong to Cnidaria. Nevertheless, the evolution of parasitism and extreme body simplification in Myxozoa is not well understood, and no myxozoan mitochondrial DNA sequence has been reported to date. To further elucidate the evolution of Myxozoa, we sequenced the mitochondrial genomes of the myxozoan species *Kudoa septempunctata*, *K. hexapunctata* and *K. iwatai* and compared them with those of other metazoans. The *Kudoa* mitochondrial genomes code for ribosomal RNAs, transfer RNAs, eight proteins for oxidative phosphorylation and three proteins of unknown function, and they are among the metazoan mitochondrial genomes coding the fewest proteins. The mitochondrial-encoded proteins were extremely divergent, exhibiting the fastest evolutionary rate in Metazoa. Nevertheless, the dN/dS ratios of the protein genes in genus *Kudoa* were approximately 0.1 and similar to other cnidarians, indicating that the genes are under negative selection. Despite the divergent genetic content, active oxidative phosphorylation was indicated by the transcriptome, metabolism and structure of mitochondria in *K. septempunctata*. As possible causes, we attributed the divergence to the population genetic characteristics shared between the two most divergent clades, Ctenophora and Myxozoa, and to the parasitic lifestyle of Myxozoa. The fast-evolving, functional mitochondria of the genus *Kudoa* expanded our understanding of metazoan mitochondrial evolution.

Keywords: *Kudoa*, Parasite, Food-borne disease

\*<sup>1</sup> National Institute of Infectious Diseases

\*<sup>2</sup> The University of Tokyo

\*<sup>3</sup> Kyoto University

\*<sup>4</sup> University of Tsukuba

\*<sup>5</sup> Azabu University

Lim CW<sup>\*1</sup>, Yoshinari T, Layne J<sup>\*2</sup>, Chan SH<sup>\*1</sup>: Multimycotoxin screening reveals separate occurrence of aflatoxins and ochratoxin a in asian rice.

*Journal of Agricultural Food Chemistry* 2015;63:3104-13.

The determination of important regulated mycotoxins in rice has been reported previously but not in the individual matrix of white, brown, red, and basmati rice with respect to the matrix effect, recovery, and stability. A total of 190 Asian rices were examined for regulated mycotoxin contamination by the LC-ESI-MS/MS method. Mean recovery ranged from 70 to 120%. RSD values were lower than 15% for all analytes.

Keywords: mycotoxin, LC-ESI-MS/MS, rice

---

\*<sup>1</sup> Health Sciences Authority

\*<sup>2</sup> Phenomenex

Yoshinari T, Ohashi H<sup>\*1</sup>, Abe R<sup>\*1</sup>, Kaigome R<sup>\*1</sup>, Ohkawa H<sup>\*2</sup>, Sugita-Konishi Y<sup>\*3</sup>: Development of a rapid method for the quantitative determination of deoxynivalenol using Quenchbody.

*Analytica chimica acta* 2015;888:126-30.

Quenchbody (Q-body) is a novel fluorescent biosensor based on the antigen-dependent removal of a quenching effect on a fluorophore attached to antibody domains. In order to develop a method using Q-body for the quantitative determination of deoxynivalenol (DON), a trichothecene mycotoxin produced by some *Fusarium* species, anti-DON Q-body was synthesized from the sequence information of a monoclonal antibody specific to DON. To validate the analytical method using Q-body, a spike-and-recovery experiment was performed using four spiked wheat samples. The recoveries were in the range of 94.9-100.2%. This data indicate that the Q-body system for the determination of DON in wheat samples was successfully developed and Q-body is expected to have a range of applications in the field of food safety.

Keywords: Q-body, wheat, deoxynivalenol

---

\*<sup>1</sup> ウシオ電機 (株)

\*<sup>2</sup> 神戸大学

\*<sup>3</sup> 麻布大学

Sakuda S<sup>\*</sup>, Yoshinari T, Furukawa T<sup>\*</sup>, Jermnak U<sup>\*</sup>, Takagi K.<sup>\*</sup>, Iimura K<sup>\*</sup>, Yamamoto T<sup>\*</sup>, Suzuki M<sup>\*</sup>, Nagasawa H<sup>\*</sup>: Search for aflatoxin and trichothecene production inhibitors and analysis of their modes of

action.

*Biosci Biotechnol Biochem.* 2015;17:1-12.

Mycotoxin contamination of crops is a serious problem throughout the world because of its impact on human and animal health as well as economy. Inhibitors of mycotoxin production are useful not only for developing effective methods to prevent mycotoxin contamination, but also for investigating the molecular mechanisms of secondary metabolite production by fungi. We have been searching for mycotoxin production inhibitors among natural products and investigating their modes of action. In this article, we review aflatoxin and trichothecene production inhibitors, including our works on blasticidin S, methyl syringate, cyclo(l-Ala-l-Pro), respiration inhibitors, and precocene II.

Keywords: aflatoxin, trichothecene, inhibitor

---

\* 東京大学

Tanda K<sup>\*1</sup>, Eto R<sup>\*2</sup>, Kato K<sup>\*2</sup>, Oba M<sup>\*2</sup>, Ueda A<sup>\*2</sup>, Suemune H<sup>\*1</sup>, Doi M<sup>\*3</sup>, Demizu Y, Kurihara M, Tanaka M<sup>\*2</sup>: Peptide foldamers composed of six-membered ring  $\alpha,\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid with two changeable chiral acetal moieties.

*Tetrahedron* 2015;71:3909-14.

Chiral cyclic  $\alpha,\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acids with four chiral centers at their acetal moieties were synthesized. An X-ray crystallographic analysis of homo-chiral tripeptide with (2R,3R)-butane-2,3-diol acetal moieties revealed that the tripeptide formed both (P) and (M) helical structures, and all peptide main-chain N(i)-H were intramolecularly hydrogen-bonded with the side-chain acetal -O- of the same amino acid residues (i). The effect of the four chiral centers in the amino acid residue on the peptide backbone helical-screw control was very weak.

Keywords: conformation, peptide,  $\alpha,\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid

---

\*<sup>1</sup> 九州大学大学院薬学研究科

\*<sup>2</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

\*<sup>3</sup> 大阪薬科大学

Gautam S<sup>\*1</sup>, Kim T<sup>\*1</sup>, Shoda T, Sen S<sup>\*1</sup>, Deep D<sup>\*1</sup>, Luthra R<sup>\*1</sup>, Ferreira MT<sup>\*2</sup>, Pinho MG<sup>\*2</sup>, Spiegel DA<sup>\*1</sup>: An activity-based probe for studying



crosslinking in live bacteria.

*Angew Chem Int Ed.* 2015;54:10492-6.

Penicillin-binding proteins (PBPs) catalyze the crosslinking of peptidoglycan (PG), an essential process for bacterial growth and survival, and a common antibiotic target. Yet, despite its importance, little is known about the spatiotemporal aspects of crosslinking—largely because of a lack of experimental tools for studying the reaction in live bacteria. Here we introduce such a tool: an activity-based probe that enables visualization and relative quantitation of crosslinking in vivo. In *Staphylococcus aureus*, we show that fluorescent mimics of the natural substrate of PBPs (PG stem peptide) are covalently incorporated into the cell wall, installing fluorophores in place of natural crosslinks. These fluorescent stem peptide mimics (FSPMs) are selectively recognized by a single PBP in *S. aureus*: PBP4. Thus, we were able to use FSPM pulse-labeling to localize PBP4 activity in live cells, showing that it is recruited to the septum in a manner dependent on wall teichoic acid.

Keywords: bacteria, biosensors, crosslinking

\*<sup>1</sup> Yale University

\*<sup>2</sup> Universidade Nova de Lisboa

Demizu Y, Oba M<sup>\*1</sup>, Okitsu K, Yamashita H, Misawa T, Tanaka M<sup>\*1</sup>, Kurihara M, Gellman SH<sup>\*2</sup>: A preorganized  $\beta$ -amino acid bearing a guanidinium side chain and its use in cell-penetrating peptides.

*Org Biomol Chem.* 2015;13:5617-20.

A cyclic  $\beta$ -amino acid (APCGu) bearing a side-chain guanidinium group has been developed. The APCGu residue was incorporated into an  $\alpha/\beta$ -peptide based on the Tat(47-57) fragment, leading to an oligomer with substantial helicity in methanol that enters HeLa cells much more readily than does the corresponding Tat  $\alpha$ -peptide.

Keywords: foldamer, peptide, cell-penetrating peptide

\*<sup>1</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

\*<sup>2</sup> University of Wisconsin

Shoda T, Kato M, Fujisato T, Okuhira K, Demizu Y, Inoue H<sup>\*</sup>, Naito M, Kurihara M: Synthesis and evaluation of tamoxifen derivatives with a long alkyl side chain as selective estrogen receptor down-

regulators.

*Bioorg Med Chem.* 2015;23:3091-6.

Estrogen receptors (ERs) play a major role in the growth of human breast cancer cells. An antagonist that acts as not only an inhibitor of ligand binding but also an inducer of the down-regulation of ER would be useful for the treatment for ER-positive breast cancer. We previously reported the design and synthesis of a selective estrogen receptor down-regulator (SERD), (E/Z)-4-(1-[4-[2-(dodecylamino)ethoxy]phenyl]-2-phenylbut-1-en-1-yl)phenol (C12), which is a tamoxifen derivative having a long alkyl chain on the amine moiety. This compound induced degradation of ER $\alpha$  via a proteasome-dependent pathway and showed an antagonistic effect in MCF-7 cells. With the aim of increasing the potency of SERDs, we designed and synthesized various tamoxifen derivatives that have various lengths and terminal groups of the long alkyl side chain. During the course of our investigation, C10F having a 10-fluorodecyl group on the amine moiety of 4-OHT was shown to be the most potent compound among the tamoxifen derivatives. Moreover, computational docking analysis suggested that the long alkyl chain interacted with the hydrophobic region on the surface of the ER, which is a binding site of helix 12 and coactivator. These results provide useful information to develop promising candidates as SERDs.

Keywords: breast cancer, estrogen receptor, SERD

\* 東京薬科大学

Usui K<sup>\*</sup>, Yamamoto K<sup>\*</sup>, Shimizu T<sup>\*</sup>, Biao M<sup>\*</sup>, Okazumi M<sup>\*</sup>, Demizu Y, Kurihara M, Suemune H<sup>\*</sup>: Synthesis and resolution of substituted [5]carbohelicenes.

*J Org Chem.* 2015;80:6502-8.

Three types of racemic [5]helicenyl acetates

(1a, 2, and 3a) were synthesized. The synthesis of 2 was achieved by regioselective oxidation using o-iodoxybenzoic acid. The enzymatic kinetic resolution of 1a–3a was studied. The conversion with the highest rate and ee was obtained using 1a as the substrate and lipase Amano PS-IM as the enzyme. The two enantiomers of 1-[5]helicenol 3b were separated using (1S)-10-camphorsulfonyl chloride as the chiral resolving agent.

Keywords: helicene, kinetic resolution, X-ray diffraction

---

\* 九州大学薬学部

Demizu Y, Misawa T, Nagakubo T, Kanda Y, Okuhira K, Sekino Y, Naito M, Kurihara M: Structural development of stabilized helical peptides as inhibitors of estrogen receptor (ER)-mediated transcription.

*Bioorg Med Chem.* 2015;23:4132-8.

Three types of stabilized helical peptides containing disulfide bonds, C-C cross-linked side chains, or  $\alpha,\alpha$ -disubstituted amino acids (2-aminoisobutyric acid (Aib)) were designed and synthesized as inhibitors of estrogen receptor (ER)-coactivator interactions. Furthermore, heptaarginine (R7)-conjugated versions of the peptides were prepared, and their effects on ER-mediated transcription were evaluated at the cellular level (in ER-positive T47D cells). Among them, the R7-conjugated peptides 11 and 12 downregulated the mRNA expression of pS2 (an ER-mediated gene whose expression is upregulated by 17 $\beta$ -estradiol) by 95% (at a dose of 10  $\mu$ M) and 87% (at a dose of 3  $\mu$ M), respectively.

Keywords: estrogen receptor, protein-protein interaction, transcriptional inhibitor

Oba M\*, Demizu Y, Yamashita H, Kurihara M, Tanaka M\*: Plasmid DNA delivery using fluorescein-labeled arginine-rich peptides.

*Bioorg Med Chem.* 2015;23:4911-8.

Arginine (Arg)-rich peptides exhibit an effective cell-penetrating ability and deliver membrane-impermeable compounds into cells. In the present study, three types of Arg-rich peptides, R9 containing nine Arg residues, (RRG)3 containing six Arg and three glycine (Gly) residues, and (RRU)3 containing six Arg and three  $\alpha$ -aminoisobutyric acid (Aib) residues, were evaluated for their plasmid DNA (pDNA) delivery and cell-penetrating abilities. The transfection efficiency of R9/pDNA complexes was much higher than those of (RRG)3 and (RRU)3/pDNA complexes, and was derived from the enhanced cellular uptake of R9/pDNA complexes. The replacement of three Arg residues with the neutral amino acid Gly and hydrophobic amino acid Aib drastically changed the cell-penetrating ability and physicochemical properties of peptide/pDNA complexes, resulting in markedly reduced

transfection efficiency. A comparison of the R9 peptide administration forms between a peptide alone and peptide/pDNA complex revealed that the uptake of R9 peptides was more efficient for the complex than the peptide alone, but occurred through the same internalization mechanism. The results of the present study will contribute to the design of novel Arg-rich cell-penetrating peptides for pDNA delivery.

Keywords: cell-penetrating peptide, gene transfer, drug delivery system

---

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

Sakakibara N<sup>\*1</sup>, Balboni G<sup>\*2</sup>, Congiu C<sup>\*2</sup>, Onnis V<sup>\*2</sup>, Demizu Y, Misawa T, Kurihara M, Kato Y<sup>\*1</sup>, Maruyama T<sup>\*1</sup>, Toyama M<sup>\*3</sup>, Okamoto M<sup>\*3</sup>, Baba M<sup>\*3</sup>: Design, synthesis, and anti-HIV-1 activity of 1-substituted 3-(3,5-dimethylbenzyl)triazine derivatives.

*Antiviral Chem Chemother.* 2015;24:62-71.

The reverse transcriptase (RT) of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is an attractive target for the development of drugs used in the treatment of HIV-1 infection and acquired immune deficiency syndrome (AIDS). We have continued the search for novel anti-HIV-1 agents using the structure-activity relationships of the successful 1,3-disubstituted and 1,3,6-trisubstituted uracil-type HIV-1 RT inhibitors. A series of new triazine analogs were synthesized using an established method. The anti-HIV-1 activities of these compounds were determined based on the inhibition of virus-induced cytopathogenicity in MT-4 cells. The cytotoxicity of the compounds was evaluated by assessing the viability of mock-infected cells. Some of the compounds showed good-to-moderate activities against HIV-1, with half-maximal effective concentrations (EC50) in the submicromolar range. In particular, a dihydro-1-(4-aminobenzyl)triazine analog showed satisfactory anti-HIV-1 activity with an EC50 of 0.110  $\mu$ M and a selectivity index (SI) of 909. Furthermore, molecular modeling analyses were performed to explore the major interactions between HIV-1 RT and potent inhibitors. These results may be important for further development of this class of compounds as anti-HIV-1 agents. The satisfactory anti-HIV-1 activity of triazine analogs may serve as the basis for further investigations of the behavior of this

class of compounds against drug-resistant mutants.

Keywords: AIDS, HIV, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors

\*<sup>1</sup> 徳島文理大学香川薬学部

\*<sup>2</sup> University of Cagliari

\*<sup>3</sup> 鹿児島大学医学部

Sakakibara N<sup>\*1</sup>, Igarashi J<sup>\*2</sup>, Takata M<sup>\*2</sup>, Demizu Y, Misawa T, Kurihara M, Konishi R<sup>\*2</sup>, Kato Y<sup>\*1</sup>, Maruyama T<sup>\*1</sup>, Tsukamoto I<sup>\*2</sup>: Synthesis, evaluation, and molecular docking studies of novel carbocyclic oxetanocin A (COA-Cl) derivatives as potential tube formation agents.

*Chem Pharm Bull.* 2015;63:701-9.

Six novel carbocyclic oxetanocin A analogs (2-chloro-C.OXT-A; COA-Cl) with various hydroxymethylated or spiro-conjugated cyclobutane rings at the N9-position of the 2-chloropurine moiety were synthesized and evaluated using human umbilical vein endothelial cells. All prepared compounds (2a-f) showed good to moderate activity with angiogenic potency. Among these compounds, 100  $\mu$ M cis- trans-2',3'-bis(hydroxymethyl)cyclobutyl derivative (2b), trans-3'-hydroxymethylcyclobutyl analog (2d), and 3',3'-bis(hydroxymethyl)cyclobutyl derivative (2e) had greater angiogenic activity, with relative tube areas of  $3.43 \pm 0.44$ ,  $3.32 \pm 0.53$ , and  $3.59 \pm 0.83$  (mean  $\pm$  standard deviation (S.D.)), respectively, which was comparable to COA-Cl ( $3.91 \pm 0.78$ ). These data may be important for further development of this class of compounds as potential tube formation agents.

Keywords: 2-chloro-carbocyclic oxetanocin A, 2-chloro-C.OXT-A, nucleoside derivative

\*<sup>1</sup> 徳島文理大学香川薬学部

\*<sup>2</sup> 香川大学医学部

Demizu Y, Yamashita H, Doi M<sup>\*1</sup>, Misawa T, Oba M<sup>\*2</sup>, Tanaka M<sup>\*2</sup>, Kurihara M: Topological study of the structures of heterochiral peptides with equal amounts of L-Leu and D-Leu.

*J Org Chem.* 2015;80:8597-603.

We designed and synthesized two dodecapeptides, Boc-(L-Leu-L-Leu-Aib-D-Leu-D-Leu-Aib)2-OMe (5) and Boc-L-Leu-L-Leu-Aib-(D-Leu-D-Leu-Aib)2-L-Leu-L-Leu-Aib-OMe (6), that contain equal amounts of L-Leu,

D-Leu, and achiral Aib residues. The conformations of peptides 5 and 6 in the crystalline state were studied using X-ray crystallographic analysis. Peptide 5 formed a left-handed (M)  $\alpha$ -helical structure, whereas peptide 6 was composed of a combination of fused (M)  $\alpha$ -helical and right-handed (P) 310-helical structures. In solution, roughly equivalent amounts of (P) and (M) helices were present in 5, whereas the (M)  $\alpha$ -helix was present in 6 as its dominant conformation.

Keywords: amino acid, peptide, helix

\*<sup>1</sup> 大阪薬科大学

\*<sup>2</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

Misawa T, Yorioka M, Demizu Y, Noguchi-Yachide T<sup>\*1</sup>, Ohoka N, Kurashima-Kinoshita M, Motoyoshi H, Nojiri H<sup>\*2</sup>, Kittaka A<sup>\*2</sup>, Makishima M<sup>\*3</sup>, Naito M, Kurihara M: Effects of alkyl side chains and terminal hydrophilicity on vitamin D receptor (VDR) agonistic activity based on the diphenylpentane skeleton.

*Bioorg Med Chem Lett.* 2015;25:5362-6.

Vitamin D receptor (VDR) is a family of nuclear receptors (NR) that regulates physiological effects such as the immune system, calcium homeostasis, and cell proliferation. We synthesized non-secosteroidal VDR ligands bearing a long alkyl chain based on the diphenylpentane skeleton. The VDR-mediated transcriptional activities of the synthesized compounds were evaluated using a reporter gene assay and HL-60 cell differentiation-inducing assay. We herein described the structure-activity relationship and effects of alkyl-chain length on VDR-mediated transcriptional activity.

Keywords: vitamin D receptor, non-secosteroidal VDR ligands, long alkyl chain

\*<sup>1</sup> 東京大学分子細胞生物学研究所

\*<sup>2</sup> 帝京大学薬学部

\*<sup>3</sup> 日本大学医学部

Yamashita H, Oba M<sup>\*</sup>, Misawa T, Tanaka M<sup>\*</sup>, Hattori T, Naito M, Kurihara M, Demizu Y: A helix-stabilized cell-penetrating peptide as an intracellular-delivery tool.

*ChemBioChem.* 2016;17:137-40.

Two types of cationic cyclic  $\alpha,\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acids: ApiC2Gu (which possesses a lysine mimic side chain) and ApiC2Gu (which possesses an

arginine mimic side chain), were developed. These amino acids were incorporated into an arginine-based peptide sequence [(L-Arg-L-Arg-dAA)<sub>3</sub>: dAA = ApiC2NH<sub>2</sub> or ApiC2Gu], and the relationship between the secondary structures of the resulting peptides and their ability to pass through cell membranes was investigated. The peptide containing ApiC2Gu formed a stable  $\alpha$ -helical structure and was more effective at penetrating cells than the nonhelical Arg nonapeptide (R9). Furthermore, the peptide was able to deliver plasmid DNA into various types of cells in a highly efficient manner.

Keywords: cell-penetrating peptides, non-proteinogenic amino acids, plasmid DNA delivery

---

\*<sup>1</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

Demizu Y, Yamashita H, Misawa T, Doi M<sup>\*1</sup>, Oba M<sup>\*2</sup>, Tanaka M<sup>\*2</sup>, Kurihara M: Handedness preferences of heterochiral helical peptides containing homochiral peptide segments.

*Eur J Org Chem.* 2016;840-6.

A homochiral L-Leu-L-Leu-Aib segment was incorporated into the N- or C-termini of left-handed (M) helical peptides (D-Leu-L-Leu-Aib)<sub>n</sub>. We then investigated the preferred conformations of two sets of three peptides; i.e., Boc-L-Leu-L-Leu-Aib- (D-Leu-L-Leu-Aib)<sub>n</sub>-OMe (n = 1; 2; 3) and Boc-(D-Leu-L-Leu-Aib)<sub>n</sub>-L-Leu-L-Leu-Aib-OMe (n = 1; 4; 2; 5; 3; 6), in solution and in the crystalline state. Nonapeptide 2 and dodecapeptide 3, each containing an N-terminal L-Leu-L-Leu-Aib segment, formed left-handed (M) helices as the preferred secondary structures in solution. In the crystalline state, nonapeptide 2 folded into an (M)  $\alpha$ -helical structure. Peptides 4-6, each containing a C-terminal L-Leu-L-Leu-Aib segment, formed roughly equivalent amounts of right-handed (P) and (M) helices.

Keywords: amino acid, peptide, helix

---

\*<sup>1</sup> 大阪薬科大学

\*<sup>2</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

Demizu Y, Tsutsui K, Misawa T, Kurihara M: 1,4-Bis[(N-acetyl-L-phenylalanyl-glycyl-L-alanyl)aminomethyl]benzene.

*Molbank* 2016;doi:10.3390/M893.

The title compound was prepared by inducing amide

bond formation between 1,4-bis(aminomethyl)benzene and tripeptide Ac-Phe-Gly-Ala-OH. The structure of the synthesized compound was determined on the basis of its <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance (NMR), <sup>13</sup>C-NMR, and mass spectral data. Furthermore, the compound's preferred structure in solution and calculated conformation are also reported.

Keywords: peptide, foldamer, NMR analysis

Soga K, Abo H<sup>\*1</sup>, Qin SY<sup>\*1</sup>, Kyoutou T<sup>\*1</sup>, Hiemori K<sup>\*1</sup>, Tateno H<sup>\*2</sup>, Matsumoto N<sup>\*1</sup>, Hirabayashi J<sup>\*2</sup>, Yamamoto K<sup>\*1</sup>: Mammalian cell surface display as a novel method for developing engineered lectins with novel characteristics.

*Biomolecules* 2015;5:1540-62.

Leguminous lectins have a conserved carbohydrate recognition site comprising four loops (A-D). Here, we randomly mutated the sequence and length of loops C and D of peanut agglutinin (PNA) and expressed the proteins on the surface of mouse green fluorescent protein (GFP)-reporter cells. Flow cytometry, limiting dilution, and cDNA cloning were used to screen for several mutated PNAs with distinct properties. The mutated PNA clones obtained using NeuAc $\alpha$ -2-6(Gal $\beta$ 1-3)GalNAc as a ligand showed preference for NeuAc $\alpha$ -2-6(Gal $\beta$ 1-3)GalNAc rather than non-sialylated Gal $\beta$ 1-3GlcNAc, whereas wild-type PNA binds to Gal $\beta$ 1-3GlcNAc but not sialylated Gal $\beta$ 1-3GalNAc. Sequence analyses revealed that for all of the glycan-reactive mutated PNA clones, (i) loop C was eight amino acids in length, (ii) loop D was identical to that of wild-type PNA, (iii) residue 127 was asparagine, (iv) residue 125 was tryptophan, and (v) residue 130 was hydrophobic tyrosine, phenylalanine, or histidine. The sugar-binding ability of wild-type PNA was increased nine-fold when Tyr125 was mutated to tryptophan, and that of mutated clone C was increased more than 30-fold after His130 was changed to tyrosine. These results provide an insight into the relationship between the amino acid sequences of the carbohydrate recognition site and sugar-binding abilities of leguminous lectins.

Keywords: Carbohydrate-binding specificity, Cell surface display, Leguminous lectin

---

\*<sup>1</sup> The University of Tokyo

\*<sup>2</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

Abo H<sup>\*1</sup>, Soga K, Tanaka A<sup>\*1</sup>, Tateno H<sup>\*2</sup>, Hirabayashi J<sup>\*2</sup>, Yamamoto K<sup>\*1</sup>: Mutated leguminous lectin containing a heparin-binding like motif in a carbohydrate-binding loop specifically binds to heparin.

*PLOS One* 2015;10:e0145834.

We previously introduced random mutations in the sugar-binding loops of a leguminous lectin and screened the resulting mutated lectins for novel specificities using cell surface display. Screening of a mutated peanut agglutinin (PNA), revealed a mutated PNA with a distinct preference for heparin. Glycan microarray analyses using the mutated lectin fused to the Fc region of human immunoglobulin, revealed that a particular sulfated glycosaminoglycan (GAG), heparin, had the highest binding affinity for mutated PNA among 97 glycans tested, although wild-type PNA showed affinity towards Gal $\beta$ 1-3GalNAc and similar galactosylated glycans. Further analyses of binding specificity using an enzyme-linked immunoadsorbent assay demonstrated that the mutated PNA specifically binds to heparin, and weakly to de-2-O-sulfated heparin, but not to other GAG chains including de-6-O-sulfated and de-N-sulfated heparins. The mutated PNA had six amino acid substitutions within the eight amino acid-long sugar-binding loop. In this loop, the heparin-binding like motif comprised three arginine residues at positions 124, 128, and 129, and a histidine at position 125 was present. Substitution of each arginine or histidine residue to alanine reduced heparin-binding ability, indicating that all of these basic amino acid residues contributed to heparin binding. Inhibition assay demonstrated that heparin and dextran sulfate strongly inhibited mutated PNA binding to heparin in dose-dependent manner. The mutated PNA could distinguish between CHO cells and proteoglycan-deficient mutant cells. This is the first report establishing a novel leguminous lectin that preferentially binds to highly sulfated heparin and may provide novel GAG-binding probes to distinguish between heterogeneous GAG repeating units.

Keywords: Leguminous lectin, Heparin-binding motif, Specificity

Nakamura K, Matsuoka H, Nakashima S<sup>\*</sup>, Kanda T<sup>\*</sup>, Nishimaki-Mogami T, Akiyama H: Oral administration of apple condensed tannins delays rheumatoid arthritis development in mice via down-regulation of T helper 17 (Th17) cell responses.

*Mol Nutr Food Res*. 2015;59:1406-10.

Apples are known to contain high concentrations of phenolic compounds such as condensed tannins. Consumption of condensed tannins has been reported to reduce the risk of many types of chronic diseases including allergies. However, their therapeutic effectiveness and potential in treating autoimmune disease remain controversial. Here, the effect of oral administration of apple condensed tannins (ACT) prepared from apples (*Malus pumila* cv. Fuji) on bovine type II collagen (CII)-induced arthritis in DBA1/J mice, a well-established murine model of human rheumatoid arthritis (RA), was evaluated. As compared to the control (without ACT administration) group, RA development was delayed and a significant reduction in the RA clinical score was observed in the ACT-administered group. Using cultured splenocytes isolated from CII-immunized mice, ACT-administration was shown to decrease the CII-induced increases in IL-17 expression and production in vitro. We propose that downregulation of T helper (Th) 17 cells is responsible for the ACT-induced RA suppression.

Keywords: Apple condensed tannins, Phytochemical, Rheumatoid arthritis

\* アサヒグループホールディングス

Takabatake R<sup>\*1</sup>, Masubuchi T<sup>\*1</sup>, Futo S<sup>\*2</sup>, Minegishi Y<sup>\*3</sup>, Noguchi A, Kondo K, Teshima R, Kurashima T<sup>\*1</sup>, Mano J<sup>\*1</sup>, Kitta K<sup>\*1</sup>: Selection of suitable DNA extraction methods for genetically modified maize 3272, and development and evaluation of an event-specific quantitative PCR method for 3272.

*Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 2016;57:1-6.

A novel real-time PCR-based analytical method was developed for the event-specific quantification of a genetically modified (GM) maize, 3272. We first attempted to obtain genome DNA from this maize using a DNeasy Plant Maxi kit and a DNeasy Plant Mini kit, which have been widely utilized in our previous studies, but DNA extraction yields from 3272 were markedly lower than those from non-GM maize

<sup>\*1</sup> The University of Tokyo

<sup>\*2</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

seeds. However, lowering of DNA extraction yields was not observed with GM quicker or Genomic-tip 20/G. We chose GM quicker for evaluation of the quantitative method. We prepared a standard plasmid for 3272 quantification. The conversion factor (Cf), which is required to calculate the amount of a genetically modified organism (GMO), was experimentally determined for two real-time PCR instruments, the Applied Biosystems 7900HT (the ABI 7900) and the Applied Biosystems 7500 (the ABI7500). The determined Cf values were 0.60 and 0.59 for the ABI 7900 and the ABI 7500, respectively. To evaluate the developed method, a blind test was conducted as part of an interlaboratory study. The trueness and precision were evaluated as the bias and reproducibility of the relative standard deviation (RSDr). The determined values were similar to those in our previous validation studies. The limit of quantitation for the method was estimated to be 0.5% or less, and we concluded that the developed method would be suitable and practical for detection and quantification of 3272.

Keywords: 3272, Genetically modified, Real-time PCR

\*<sup>1</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*<sup>2</sup> (株) ファスマック

\*<sup>3</sup> (株) ニッポンジーン

Obara T<sup>\*1,2</sup>, Yamaguchi H<sup>\*1</sup>, Satoh M<sup>\*1</sup>, Iida Y<sup>\*1</sup>, Sakai T<sup>\*3</sup>, Aoki Y, Murai Y<sup>\*4</sup>, Matsuura M<sup>\*1</sup>, Sato M<sup>\*1</sup>, Ohkubo T<sup>\*5</sup>, Iseki K<sup>\*6</sup>, Mano N<sup>\*1</sup>: Prevalence, Determinants, and Reasons for the Non-Reporting of Adverse Drug Reactions by Pharmacists in the Miyagi and Hokkaido Regions of Japan.

*Advances in Pharmacoepidemiology & Drug Safety* 2015;4:191.

Little is known about the potential of adverse drug reaction (ADR) non-reporting by Japanese pharmacists. The aim of the present study was to clarify the prevalence, determinants, and reasons for ADR non-reporting by pharmacists in the Miyagi and Hokkaido regions of Japan. In this cross-sectional, self-administered questionnaire-based study, we contacted 3,164 pharmacists who belonged to the Miyagi Prefecture Hospital Pharmacists Association or the Hokkaido Society of Hospital Pharmacists during the 3-month period between January to March 2013. Of

the 1,795 respondents 22.4% were <30 years of age, 25.6% were ≥ 50 years of age, and 42.1% were female. A total of 77.6% of the respondents did not have a personal history of ADR reporting. The multivariate logistic regression analysis showed that female sex (odds ratio, 1.52; 95% confidence interval, 1.17-1.97), having <10 years of practical experience (2.59, 1.39-4.82 for 5-9 years; 7.03, 2.94-16.83 for <5 years), working at a community pharmacy or drugstore (1.90, 1.16-3.12), having <5 pharmacists in the workplace (2.01, 1.48-2.75), and not understanding the ADR reporting system (5.93, 4.23-8.33) were significantly and independently associated with not having a personal history of ADR reporting. The most common reason for ADR non-reporting was "It was a well-known adverse drug reaction" (43.0%) followed by "Association between the drug and adverse reaction was not clear" (38.0%), "It was a minor adverse drug reaction" (29.0%), "Did not know how to make a report" (17.4%), and "Never been consulted about ADRs" (17.2%). As an understanding the ADR reporting system was strongly associated with ADR reporting, a more aggressive promotion of the ADR reporting system among pharmacists is warranted.

Keywords: Adverse drug reaction, Pharmacist, Questionnaire

\*<sup>1</sup> Tohoku University Hospital

\*<sup>2</sup> Tohoku University

\*<sup>3</sup> Meijo University

\*<sup>4</sup> Tohoku University Graduate School of Pharmaceutical Sciences

\*<sup>5</sup> Teikyo University School of Medicine

\*<sup>6</sup> Hokkaido University Hospital

Obara T<sup>\*1,2</sup>, Yamaguchi H<sup>\*1</sup>, Iida Y<sup>\*7</sup>, Satoh M<sup>\*1</sup>, Sakai T<sup>\*3</sup>, Aoki Y, Murai Y<sup>\*4</sup>, Matsuura M<sup>\*1</sup>, Sato M<sup>\*1</sup>, Ohkubo T<sup>\*5</sup>, Iseki K<sup>\*6</sup>, Mano N<sup>\*1</sup>: Knowledge of and Perspectives on Pharmacovigilance among Pharmacists in the Miyagi and Hokkaido Regions of Japan.

*Journal of Pharmacovigilance* 2016;4:192

The aim of the present study was to clarify the knowledge of and perspectives on pharmacovigilance among pharmacists in the Miyagi and Hokkaido regions of Japan. In this cross-sectional, self-administered questionnaire-based study, we contacted

3,164 pharmacists who belonged to the Miyagi Prefecture Hospital Pharmacists Association or the Hokkaido Society of Hospital Pharmacists during the 3-month period between January and March 2013. Of the 1,851 respondents (<30 years, 22.2%; ≥ 50 years, 25.8%; women, 41.9%), 6.9%, 22.1%, and 71.0% answered “I understand what it is”, “I have heard of it, but I do not understand what it is”, and “I do not know what it is”, respectively, to the question “Have you ever heard of the term ‘pharmacovigilance?’”. Multivariate logistic regression analysis revealed that being ≥ 50 years old (odds ratio [OR]: 6.10, 95% confidence interval [CI]: 1.99-18.72), having a doctoral degree (OR: 6.33; 95%CI: 3.19-12.57), and having ≥ 10 pharmacists in the workplace (OR: 2.08; 95%CI: 1.20-3.60) were significantly and independently associated with understanding “pharmacovigilance.” Pharmacists who understood “pharmacovigilance” also tended to know more related terms and actions. Furthermore, 76.2% of the respondents thought that pharmacists should be responsible for pharmacovigilance in the clinical setting, and even though most of the pharmacists in Japan had insufficient knowledge of pharmacovigilance, 71.9% wished to acquire more.

Keywords: Pharmacovigilance, Pharmacist, Questionnaire

\*<sup>1</sup> Tohoku University Hospital

\*<sup>2</sup> Tohoku University

\*<sup>3</sup> Meijo University

\*<sup>4</sup> Tohoku University Graduate School of Pharmaceutical Sciences

\*<sup>5</sup> Teikyo University School of Medicine

\*<sup>6</sup> Hokkaido University Hospital

\*<sup>7</sup> Iwakiri Hospital

Hanatani T, Sai K, Tohkin M\*, Segawa K, Saito Y: Impact of Japanese regulatory action on metformin-associated lactic acidosis in type II diabetes patients. *Int J Clin Pharm.* 2015;37:537-45.

The impact of a regulatory action issued by the Japanese government in March 2012 regarding the risk of lactic acidosis in metformin treatment, including the high dose formulation (h-metformin), especially in the elderly, was assessed using a medical information database. The frequency of blood lactate measurements, and the rate of metformin prescriptions

to the elderly were compared between the periods 1 year before and 1 year after the implementation of the regulatory action. The results showed that the regulatory action led to increased lactate measurement in the overall metformin users, but did not affect metformin prescription rate in the elderly patients. Our findings probably reflect the doctors' judgement that the benefits of metformin use outweigh the risk of lactic acidosis if lactate testing is performed regularly. Keywords: Japanese regulatory action, Metformin, Lactic acidosis

\* Nagoya City University

Takahashi H\*<sup>1</sup>, Kaniwa N, Saito Y, Sai K, Hamaguchi T\*<sup>2</sup>, Shirao K\*<sup>2</sup>, Shimada Y\*<sup>2</sup>, Matsumura Y\*<sup>3</sup>, Ohtsu A\*<sup>3</sup>, Yoshino T\*<sup>3</sup>, Doi T\*<sup>3</sup>, Takahashi A\*<sup>4</sup>, Odaka Y\*<sup>5</sup>, Okuyama M\*<sup>5</sup>, Sawada J, Sakamoto H\*<sup>5</sup>, Yoshida T\*<sup>5</sup>: Construction of possible integrated predictive index based on EGFR and ANXA3 polymorphisms for chemotherapy response in fluoropyrimidine-treated Japanese gastric cancer patients using a bioinformatic method.

*BMC Cancer.* 2015;15:718.

We previously identified the SNP rs2293347 in the human epidermal growth factor receptor (EGFR) gene as a novel genetic factor related to fluoropyrimidine-chemotherapeutic response using a knowledge-based bioinformatic approach in which 119 fluoropyrimidine-treated gastric cancer patients were genotyped at 109,365 SNPs. In the present study, we reanalyzed the hypothesis-free genomic data using extended knowledge. We identified rs2867461 in annexin A3 (ANXA3) gene as another candidate. Logistic regression analysis showed that the performance of the rs2867461+rs2293347 model was superior to those of the single factor models. The p value for a novel integrated predictive index (iEA) based on these two polymorphisms in EGFR and ANXA3 was  $1.47 \times 10^{-8}$  by Fisher's exact test. These results suggest that the iEA index or a combination of polymorphisms in EGFR and ANXA3 may serve as predictive factors of drug response, and therefore could be useful for optimal selection of chemotherapy regimens.

Keywords: Single nucleotide polymorphisms, Genome-wide association study, Fluoropyrimidine

\*<sup>1</sup> Chiba University

\*<sup>2</sup> National Cancer Center Hospital

\*<sup>3</sup> National Cancer Center Hospital East

\*<sup>4</sup> Chubu University

\*<sup>5</sup> National Cancer Center Research Institute

Maekawa K, Nakamura R, Kaniwa N, Mizusawa S<sup>\*1</sup>, Kitamoto A<sup>\*1</sup>, Kitamoto T<sup>\*1</sup>, Ukaji M, Matsuzawa Y, Sugiyama E, Uchida Y, Kurose K<sup>\*2</sup>, Ueta M<sup>\*3</sup>, Sotozono C<sup>\*3</sup>, Ikeda H<sup>\*4</sup>, Yagami A<sup>\*5</sup>, Matsukura S<sup>\*6</sup>, Kinoshita S<sup>\*3</sup>, Muramatsu M<sup>\*7</sup>, Ikezawa Z<sup>\*6</sup>, Sekine A<sup>\*1</sup>, Furuya H<sup>\*8</sup>, Takahashi Y<sup>\*4</sup>, Matsunaga K<sup>\*5</sup>, Aihara M<sup>\*6</sup>, Saito Y, JPDSC<sup>\*9</sup>: Development of a simple genotyping method for the HLA-A\*31:01-tagging SNP in Japanese.

*Pharmacogenomics* 2015;16:1689-99.

The aim of this study is to construct a simple, low-cost typing method for the surrogate marker of HLA-A\*31:01, a risk factor for carbamazepine (CBZ)-related Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis (SJS/TEN). DNAs from Japanese SJS/TEN patients was used for genotyping and developing the assay. HLA-A\*31:01 was confirmed to be significantly associated with definite/probable cases of CBZ-related SJS/TEN ( $P = 0.0040$ ). Three single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs1150738, rs3869066 and rs259945, were in absolute linkage disequilibrium with HLA-A\*31:01 in 210 Japanese SJS/TEN patients. Robust genotyping of rs3869066 in ZNRD1-AS1 was developed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assays. SNP genotyping is less time-consuming and cheaper than conventional HLA typing, and would be useful for identifying Japanese patients at risk of CBZ-related SJS/TEN.

Keywords: Carbamazepine, Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis

\*<sup>1</sup> Kyoto University Graduate School of Medicine

\*<sup>2</sup> Tokyo University of Marine Science and Technology

\*<sup>3</sup> Kyoto Prefectural University of Medicine

\*<sup>4</sup> National Epilepsy Center

\*<sup>5</sup> Fujita Health University School of Medicine

\*<sup>6</sup> Yokohama City University Graduate School of Medicine

\*<sup>7</sup> Tokyo Medical and Dental University

\*<sup>8</sup> Kochi Medical School

\*<sup>9</sup> The Japan Pharmacogenomics Data Science

Consortium

Ishikawa M, Saito K, Urata M, Kumagai Y\*, Maekawa K, Saito Y: Comparison of circulating lipid profiles between fasting humans and three animal species used in preclinical studies: mice, rats and rabbits.

*Lipids Health Dis.* 2015;14:104.

Background: Circulating lipid metabolites are associated with many physiological and biological processes in the body, and therefore could be used as biomarkers for evaluating drug efficacy and safety in preclinical studies. However, differences in circulating lipid profiles among humans and animals often used in preclinical studies have not been fully investigated.

Methods: We performed lipidomic analysis to obtain circulating lipid profiles of fasted humans (Caucasian,  $n = 15$ ) and three animal species used in preclinical studies (mice [BALB/c,  $n = 5$ ], rats [Sprague-Dawley,  $n = 5$ ], and rabbits [New Zealand White,  $n = 5$ ]) by using liquid chromatography-mass spectrometry.

Results: Our data showed marked differences in lipid profiles among humans and these animal species. Furthermore, we observed that the levels of many lipid metabolites, such as poly-unsaturated fatty acid-containing cholesteryl esters, ether-type phosphoglycerolipids, and sulfatides, were significantly different ( $p < 0.05$ ) by more than 10-fold in these animals (depending on the animal species) from humans.

Conclusion: Our data could be useful while extrapolating the data on the biomarker candidates identified in preclinical studies into clinical studies.

Keywords: Preclinical studies, LC-MS, Circulating lipid metabolites

\* Kitasato University School of Medicine

Saito K, Uebanso T<sup>\*1</sup>, Maekawa K, Ishikawa M, Taguchi R, Nammo T<sup>\*1</sup>, Nishimaki-Mogami T, Udagawa H<sup>\*1</sup>, Fujii M<sup>\*2</sup>, Shibazaki Y<sup>\*2</sup>, Yoneyama H<sup>\*2</sup>, Yasuda K<sup>\*1</sup>, Saito Y: Characterization of hepatic lipid profiles in a mouse model with nonalcoholic steatohepatitis and subsequent fibrosis.

*Sci Rep.* 2015;5:12466.

Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is a major health problem since it often leads to hepatocellular carcinoma. However, the underlying mechanisms of



NASH development and subsequent fibrosis have yet to be clarified. We compared comprehensive lipidomic profiles between mice with high fat diet (HFD)-induced steatosis and STAM mice with NASH and subsequent fibrosis. The STAM mouse is a model that demonstrates NASH progression resembling the disease in humans: STAM mice manifest NASH at 8 weeks, which progresses to fibrosis at 12 weeks, and finally develop hepatocellular carcinoma. Overall, 250 lipid molecules were detected in the liver using liquid chromatography-mass spectrometry. We found that STAM mice with NASH presented a significantly higher abundance of sphingolipids and lower levels of triacylglycerols than the HFD-fed control mice. The abundance of certain fatty acids in phospholipid side chains was also significantly different between STAM and control mice, although global levels of phosphatidylcholines and phosphatidylethanolamines were comparable. Finally, increase in levels of acylcarnitines and some diacylglycerols was observed in STAM mice toward the fibrosis stage, but not in age-matched control mice. Our study provides insights into the lipid status of the steatotic, NASH, and fibrotic liver that would help elucidate the molecular pathophysiology of NASH progression.

Keywords: Metabolomics, Lipid profile, Nonalcoholic fatty liver diseases

\*1 National Center for Global Health and Medicine

\*2 Stelic Institute & Co., Inc.

Kaniwa N, Ueta M<sup>\*1</sup>, Nakamura R, Okamoto-Uchida Y, Sugiyama E, Maekawa K, Takahashi Y<sup>\*2</sup>, Furuya H<sup>\*3</sup>, Yagami A<sup>\*4</sup>, Matsukura S<sup>\*5</sup>, Ikezawa Z<sup>\*5</sup>, Matsunaga K<sup>\*4</sup>, Sotozono C<sup>\*1</sup>, Aihara M<sup>\*5</sup>, Kinoshita S<sup>\*1</sup>, Saito Y: Drugs causing severe ocular surface involvements in Japanese patients with Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis.

*Allergol Int.* 2015;64:379-81.

Stevens-Johnson syndrome (SJS) and toxic epidermal necrolysis (TEN) are severe cutaneous adverse drug reactions often affecting mucosal tissues like ocular surface. Drugs causing severe ocular surface involvements in Japanese patients with SJS/TEN were investigated. A total of 197 patients with SJS/TEN were enrolled. SJS/TEN patients who take acetaminophen show a significantly higher frequency

of severe ocular surface disorders than patients taking other SJS/TEN frequently causative drugs such as carbamazepine, allopurinol, and quinolones. Patients taking antipyretic-analgesic medication, including acetaminophen and/or nonsteroidal anti-inflammatory drugs, for the treatment of common cold have a high frequency of SJS/TEN with severe ocular surface involvements compared with such medication taken for the treatment of other diseases. Our results suggest that not only cold medicines but also viral infections causing cold-like symptoms play some important roles in the development of severe ocular surface involvements.

Keywords: Drug-induced liver injury, Medical information database, Drug safety

\*1 Kyoto Prefectural University of Medicine

\*2 Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders

\*3 Kochi Medical School

\*4 Fujita Health University

\*5 Yokohama City University

Saito Y, Stamp LK<sup>\*1</sup>, Caudle KE<sup>\*2</sup>, Hershfield MS<sup>\*3</sup>, McDonagh EM<sup>\*4</sup>, Callaghan JT<sup>\*5</sup>, Tassaneeyakul W<sup>\*6</sup>, Mushiroda T<sup>\*7</sup>, Kamatani N<sup>\*8</sup>, Goldspiel BR<sup>\*9</sup>, Phillips EJ<sup>\*10</sup>, Klein TE<sup>\*4</sup>, Lee MT<sup>\*7</sup>: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for human leukocyte antigen B (HLA-B) genotype and allopurinol dosing: 2015 update.

*Clin Pharmacol Ther.* 2016;99:36-7

The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for HLA-B<sup>\*58:01</sup> Genotype and Allopurinol Dosing was originally published in February 2013. We reviewed the recent literature and concluded that none of the evidence would change the therapeutic recommendations in the original guideline; therefore, the original publication remains clinically current. However, we have updated the Supplemental Material and included additional resources for applying CPIC guidelines into the electronic health record. Up-to-date information can be found at PharmGKB (<http://www.pharmgkb.org>).

Keywords: Allopurinol, HLA, Severe cutaneous adverse reaction

- \*<sup>1</sup> University of Otago, Christchurch  
 \*<sup>2</sup> St. Jude Children's Research Hospital  
 \*<sup>3</sup> Duke University School of Medicine  
 \*<sup>4</sup> Stanford University Medical Center  
 \*<sup>5</sup> Indiana University School of Medicine  
 \*<sup>6</sup> Khon Kaen University  
 \*<sup>7</sup> RIKEN  
 \*<sup>8</sup> StaGen  
 \*<sup>9</sup> National Institutes of Health Clinical Center  
 \*<sup>10</sup> Vanderbilt University Medical Center

Juliandi B<sup>\*1</sup>, Tanemura K<sup>\*2</sup>, Igarashi K<sup>\*3</sup>, Tominaga T<sup>\*4</sup>, Furukawa Y, Otsuka M<sup>\*2</sup>, Moriyama N, Ikegami D<sup>\*3</sup>, Abematsu M<sup>\*1</sup>, Sanosaka T<sup>\*1</sup>, Tsujimura K<sup>\*1</sup>, Narita M<sup>\*3</sup>, Kanno J, Nakashima K<sup>\*1</sup>: Reduced Adult Hippocampal Neurogenesis and Cognitive Impairments following Prenatal Treatment of the Antiepileptic Drug Valproic Acid. *Stem Cell Reports*. 2015;5:996-1009.

Prenatal exposure to valproic acid (VPA), an established antiepileptic drug, has been reported to impair postnatal cognitive function in children born to VPA-treated epileptic mothers. However, how these defects arise and how they can be overcome remain unknown. Using mice, we found that comparable postnatal cognitive functional impairment is very likely correlated to the untimely enhancement of embryonic neurogenesis, which led to depletion of the neural precursor cell pool and consequently a decreased level of adult neurogenesis in the hippocampus. Moreover, hippocampal neurons in the offspring of VPA-treated mice showed abnormal morphology and activity. Surprisingly, these impairments could be ameliorated by voluntary running. Our study suggests that although prenatal exposure to antiepileptic drugs such as VPA may have detrimental effects that persist until adulthood, these effects may be offset by a simple physical activity such as running.

Keywords: valproic acid, hippocampal neurons, Embryonic Neurogenesis

- \*<sup>1</sup> Kyusyu University  
 \*<sup>2</sup> Tohoku University  
 \*<sup>3</sup> Hoshi University  
 \*<sup>4</sup> Tokushima Bunri University

Ono R, Ishii M, Fujihara Y, Kitazawa M, Usami T,

Kaneko-Ishino T, Kanno J, Ikawa M, Ishino F: Double strand break repair by capture of retrotransposon sequences and reverse-transcribed spliced mRNA sequences in mouse zygotes. *Sci Rep*. 2015;5:12281.

The CRISPR/Cas system efficiently introduces double strand breaks (DSBs) at a genomic locus specified by a single guide RNA (sgRNA). The DSBs are subsequently repaired through non-homologous end joining (NHEJ) or homologous recombination (HR). Here, we demonstrate that DSBs introduced into mouse zygotes by the CRISPR/Cas system are repaired by the capture of DNA sequences deriving from retrotransposons, genomic DNA, mRNA and sgRNA. Among 93 mice analysed, 57 carried mutant alleles and 22 of them had long de novo insertion(s) at DSB-introduced sites; two were spliced mRNAs of *Pcnt* and *Inadl* without introns, indicating the involvement of reverse transcription (RT). Fifteen alleles included retrotransposons, mRNAs, and other sequences without evidence of RT. Two others were sgRNAs with one containing T7 promoter-derived sequence suggestive of a PCR product as its origin. In conclusion, RT-product-mediated DSB repair (RMDR) and non-RMDR repair were identified in the mouse zygote. We also confirmed that both RMDR and non-RMDR take place in CRISPR/Cas transfected NIH-3T3 cells. Finally, as two de novo MuERV-L insertions in C57BL/6 mice were shown to have characteristic features of RMDR in natural conditions, we hypothesize that RMDR contributes to the emergence of novel DNA sequences in the course of evolution.

Keywords: DSB, CRISPR/Cas, retrotransposon

Xu J<sup>\*1,2</sup>, Alexander DB<sup>\*1</sup>, Iigo M<sup>\*1</sup>, Hamano H<sup>\*3</sup>, Takahashi S<sup>\*4</sup>, Yokoyama T<sup>\*5</sup>, Kato M<sup>\*5</sup>, Usami I<sup>\*5</sup>, Tokuyama T<sup>\*6</sup>, Tsutsumi M<sup>\*7</sup>, Tamura M<sup>\*8</sup>, Oguri T<sup>\*9</sup>, Niimi A<sup>\*9</sup>, Hayashi Y<sup>\*10</sup>, Yokoyama Y<sup>\*10</sup>, Tonegawa K<sup>\*11</sup>, Fukamachi K<sup>\*12</sup>, Futakuchi M<sup>\*12</sup>, Sakai Y<sup>\*12</sup>, Suzui M<sup>\*12</sup>, Kamijima M<sup>\*13</sup>, Hisanaga N<sup>\*14</sup>, Omori T<sup>\*15</sup>, Nakae D<sup>\*16</sup>, Hirose A, Kanno J, Tsuda H<sup>\*1</sup>: Chemokine (C-C motif) ligand 3 detection in the serum of persons exposed to asbestos.

*A patient-based study. Cancer Sci*. 2015;106:825-32.

Exposure to asbestos results in serious risk of developing lung and mesothelial diseases. Currently,

there are no biomarkers that can be used to diagnose asbestos exposure. The purpose of the present study was to determine whether the levels or detection rate of chemokine (C-C motif) ligand 3 (CCL3) in the serum are elevated in persons exposed to asbestos. The primary study group consisted of 76 healthy subjects not exposed to asbestos and 172 healthy subjects possibly exposed to asbestos. The secondary study group consisted of 535 subjects possibly exposed to asbestos and diagnosed with pleural plaque (412), benign hydrothorax (10), asbestosis (86), lung cancer (17), and malignant mesothelioma (10). All study subjects who were possibly exposed to asbestos had a certificate of asbestos exposure issued by the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare. For the primary study group, levels of serum CCL3 did not differ between the two groups. However, the detection rate of CCL3 in the serum of healthy subjects possibly exposed to asbestos (30.2%) was significantly higher ( $P < 0.001$ ) than for the control group (6.6%). The pleural plaque, benign hydrothorax, asbestosis, and lung cancer groups had serum CCL3 levels and detection rates similar to that of healthy subjects possibly exposed to asbestos. The CCL3 chemokine was detected in the serum of 9 of the 10 patients diagnosed with malignant mesothelioma. Three of the patients with malignant mesothelioma had exceptionally high CCL3 levels. Malignant mesothelioma cells from four biopsy cases and an autopsy case were positive for CCL3, possibly identifying the source of the CCL3 in the three malignant mesothelioma patients with exceptionally high serum CCL3 levels. In conclusion, a significantly higher percentage of healthy persons possibly exposed to asbestos had detectable levels of serum CCL3 compared to healthy unexposed control subjects.

Keywords: asbestos, chemokine CCL3, mesothelioma

\*1 Nanotoxicology Project, Nagoya City University

\*2 Department of Immunology, College of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University

\*3 Nutritional Science Institute, Morinaga Milk Industry Co., Ltd.

\*4 Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

\*5 Department of Respiratory Medicine, Asahi Rosai

Hospital

\*6 Departments of Internal Medicine; Saiseikai Chuwa Hospital

\*7 Departments of Pathology; Saiseikai Chuwa Hospital

\*8 Department of Internal Medicine, Nara Medical Center, National Hospital Organization

\*9 Division of Respiratory Medicine, Allergy and Rheumatology, Nagoya City University Hospital

\*10 Medicine, Nagoya-Shi Koseiin Medical Welfare Center

\*11 Physical Medicine and Rehabilitation, Nagoya-Shi Koseiin Medical Welfare Center

\*12 Departments of Molecular Toxicology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

\*13 Occupational and Environmental Health, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

\*14 Center for Campus Health and Environment, Aichi University of Education

\*15 Department of Health Care Policy and Management, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

\*16 Department of Nutritional Science and Food Safety, Faculty of Applied Biosciences, Tokyo University of Agriculture

Hirabayashi Y, Tsuboi I<sup>\*1</sup>, Kuramoto K<sup>\*2</sup>, Kusunoki Y<sup>\*3</sup>, Inoue T: Cell cycle of primitive hematopoietic progenitors decelerated in senescent mice is reactively accelerated after 2-Gy whole-body irradiation.

*Exp Biol Med (Maywood)*. 2016;241:485-92.

Aging is considered to be a functional retardation of continuous xenobiotic responses over a lifetime after the developmental period; thus, the effects of ionizing radiation over a lifetime may be somewhat accounted for by a modifier of aging effects. This study was conducted to evaluate the possible/synergic effects of radiation during aging by determining cell-cycle parameters of hematopoietic stem cells/hematopoietic progenitor cells (HSCs/HPCs), such as the percent of cells in cycling, the generation doubling time, and the cumulative cycling-cell fraction, by bromodeoxyuridine-ultraviolet assay, which enables the determination of their cycling capacity in vivo. Colony-forming progenitor cells, such as colony-forming unit (CFU)-granulocyte/macrophage (GM), CFU in the spleen on

day 9 (CFU-S9), and CFU-S on day 13 (CFU-S13) for mature, less mature, and immature HPCs, respectively, were evaluated in young and old mice (6 weeks and 21 months of age, respectively) with or without 2-Gy whole-body irradiation and a 4-week recovery period. Then, cell-cycle parameters were evaluated and compared. As a result, the generation doubling time of all types of HPC was prolonged by the irradiation in both young and old mouse groups, except that of CFU-S13 in old mice, which showed acceleration of the cell cycle following the irradiation. In addition, only CFU-S13 in irradiated old mice showed a significant increase in the cumulative cycling-cell-fraction ratio. Significant changes due to the effects of aging and irradiation on HPCs were observed only in the immature HPCs, i.e., the cell cycle of immature HPCs was suppressed by aging without irradiation and was, in contrast, accelerated as the cells recovered from radiation-induced damage. This suggests that the mechanisms of peripheral blood recovery after 2-Gy whole-body irradiation are markedly different between young and old mice, although 21-month-old mice showed almost the same level of recovery as the young mice.

Keywords: Whole-body irradiation, cell cycle, senescence

\*<sup>1</sup> Nihon University

\*<sup>2</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

\*<sup>3</sup> Radiation Effects Research Foundation

Seed TM<sup>\*1</sup>, Xiao S<sup>\*2</sup>, Manley N<sup>\*2</sup>, Nikolich-Zugich J<sup>\*3</sup>, Pugh J<sup>\*3</sup>, Van den Brink M<sup>\*4</sup>, Hirabayashi Y, Yasutomo K<sup>\*5</sup>, Iwama A<sup>\*6</sup>, Koyasu S<sup>\*7</sup>, Shterev I<sup>\*8</sup>, Sempowski G<sup>\*8</sup>, Macchiarini F<sup>\*9</sup>, Nakachi K<sup>\*10</sup>, Kunugi KC<sup>\*11</sup>, Hammer CG<sup>\*11</sup>, Dewerd LA<sup>\*11</sup>: An interlaboratory comparison of dosimetry for a multi-institutional radiobiological research project: Observations, problems, solutions and lessons learned. *Int J Radiat Biol.* 2016;92:59-70

PURPOSE: An interlaboratory comparison of radiation dosimetry was conducted to determine the accuracy of doses being used experimentally for animal exposures within a large multi-institutional research project. The background and approach to this effort are described and discussed in terms of basic findings, problems and solutions. METHODS: Dosimetry

tests were carried out utilizing optically stimulated luminescence (OSL) dosimeters embedded midline into mouse carcasses and thermal luminescence dosimeters (TLD) embedded midline into acrylic phantoms. RESULTS: The effort demonstrated that the majority (4/7) of the laboratories was able to deliver sufficiently accurate exposures having maximum dosing errors of  $\leq 5\%$ . Comparable rates of 'dosimetric compliance' were noted between OSL- and TLD-based tests. Data analysis showed a highly linear relationship between 'measured' and 'target' doses, with errors falling largely between 0 and 20%. Outliers were most notable for OSL-based tests, while multiple tests by 'non-compliant' laboratories using orthovoltage X-rays contributed heavily to the wide variation in dosing errors. CONCLUSIONS: For the dosimetrically non-compliant laboratories, the relatively high rates of dosing errors were problematic, potentially compromising the quality of ongoing radiobiological research. This dosimetry effort proved to be instructive in establishing rigorous reviews of basic dosimetry protocols ensuring that dosing errors were minimized.

Keywords: Dosimetry, dose-response curve, ionizing radiation

\*<sup>1</sup> Tech Micro Services Co.

\*<sup>2</sup> University of Georgia

\*<sup>3</sup> University of Arizona

\*<sup>4</sup> Memorial Sloan Kettering Cancer Center

\*<sup>5</sup> University of Tokushima

\*<sup>6</sup> Chiba University

\*<sup>7</sup> Keio University

\*<sup>8</sup> Duke University

\*<sup>9</sup> National Institute of Allergy and Infectious Diseases

\*<sup>10</sup> Radiation Effects Research Foundation

\*<sup>11</sup> University of Wisconsin

Fujimoto N\*, Kanno J: Increase in prostate stem cell antigen expression in prostatic hyperplasia induced by testosterone and 17 $\beta$ -estradiol in C57BL mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;158:56-62.

Estradiol (E2) is known to act synergistically with testosterone (T) for the development of prostatic hyperplasia in rats and dogs, but murine prostate is less responsive to hormonal stimulation. However, a recent study revealed that the combined administration of E2 and T induced prostatic hyperplasia with bladder

outlet obstruction in C57BL mice. To understand the mechanisms underlying the hormonal induction of prostatic hyperplasia, the expression of growth factors and their receptors, androgen receptor, estrogen receptor (ER), and prostatic secretory proteins was investigated. Ten-week-old male C57BL mice were treated with T (30mg) or T+E2 (0.5mg) for 10 weeks, and prostatic lobes were dissected and subjected to quantitative RT-PCR and immunoblotting analysis. T administration appeared to induce glandular prostatic growth, while with T+E2 administration this growth was greater and accompanied by extreme bladder enlargement. The expression of prostate stem cell antigen (PSCA) mRNA and protein was increased in prostate tissue in the T group. The combined administration of E2 with T prominently enhanced PSCA expression, along with increased insulin growth factor 1 mRNA levels and decreased estrogen receptor  $\beta$  mRNA expression. The synergistic effect of E2 on the expression of PSCA suggests that this protein may play an important role in the hormone-induced development of prostatic hyperplasia.

Keywords: Estradiol, Prostate stem cell antigen, Testosterone

---

\* Institute for Radiation Biology and Medicine (RIRBM), Hiroshima University

Nakamura H<sup>\*1</sup>, Yamashita N<sup>\*1</sup>, Kanamaru Y<sup>\*2</sup>, Tachibana T<sup>\*1</sup>, Sekino Y, Chen S<sup>\*1</sup>, Gotoh T<sup>\*2</sup>, Tanaka F<sup>\*1</sup>, Goshima Y<sup>\*1</sup>: Quantitative analysis of intraneuronal transport in human iPS neurons.

*J Pharmacol Sci.* 2015;128:170-8.

Induced pluripotent stem (iPS) cells are promising tools to investigate disease mechanism and develop new drugs. Intraneuronal transport, which is fundamental for neuronal survival and function, is vulnerable to various pharmacological and chemical agents and is disrupted in some neurodegenerative disorders. We applied a quantification method for axonal transport by counting CM-DiI-labeled particles traveling along the neurite, which allowed us to monitor and quantitate, for the first time, intraneuronal transport in human neurons differentiated from iPS cells (iCell neurons). We evaluated the acute effects of several anti-neoplastic agents that have been previously shown to affect intraneuronal transport.

Vincristine, paclitaxel and oxaliplatin decreased the number of moving particle along neurites. Cisplatin, however, produced no effect on intraneuronal transport, which is in contrast to our previous report indicating that it inhibits transport in chick dorsal root ganglion neurons. Our system may be a useful method for assessing intraneuronal transport and neurotoxicity in human iPS neurons.

Keywords: Anti-neoplastic agents, Neurotoxicity, iPS cell

---

<sup>\*1</sup> Yokohama City University

<sup>\*2</sup> Yokohama National University

Matsuo J<sup>\*</sup>, Nakamura Y<sup>\*</sup>, Izumi-Nakaseko H<sup>\*</sup>, Ando K<sup>\*</sup>, Sekino Y, Sugiyama A<sup>\*</sup>: Possible effects of inhibition of IKr and IKs on field-potential waveforms in the human iPS cell-derived cardiomyocytes sheet. *J Pharmacol Sci.* 2015;128:92-5.

In order to investigate how IKr and IKs inhibitions affect waveforms of the field potential in the human iPS cell-derived cardiomyocytes sheet, we analyzed the effects of E-4031 and chromanol 293B on the maximum upslope and peak amplitude of its second wave (n = 7 for each drug). E-4031 in 10-100 nM as well as chromanol 293B in 3-30  $\mu$ M prolonged the field-potential duration, whereas E-4031 decreased the upslope in 10-100 nM and amplitude at 100 nM, which was not observed by chromanol 293B. Thus, the decrease of the upslope can be used as a supplemental marker of drug-induced IKr inhibition.

Keywords: Field potential, IKr, iPS-derived cardiomyocytes

---

\* Toho University

Irie T, Kikura-Hanajiri R, Usami M, Uchiyama N, Goda Y, Sekino Y: MAM-2201, a synthetic cannabinoid drug of abuse, suppresses the synaptic input to cerebellar Purkinje cells via activation of presynaptic CB1 receptors. *Neuropharmacology* 2015;95:479-91.

Herbal products containing synthetic cannabinoids-initially sold as legal alternatives to marijuana-have become major drugs of abuse. Among the synthetic cannabinoids, [1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl](4-methyl-1-naphthalenyl)-methanone (MAM-2201)

has been recently detected in herbal products and has psychoactive and intoxicating effects in humans, suggesting that MAM-2201 alters brain function. Nevertheless, the pharmacological actions of MAM-2201 on cannabinoid receptor type 1 (CB1R) and neuronal functions have not been elucidated. We found that MAM-2201 acted as an agonist of human CB1Rs expressed in AtT-20 cells. In whole-cell patch-clamp recordings made from Purkinje cells (PCs) in slice preparations of the mouse cerebellum, we also found that MAM-2201 inhibited glutamate release at parallel fiber-PC synapses via activation of presynaptic CB1Rs. MAM-2201 inhibited neurotransmitter release with an inhibitory concentration 50% of 0.36  $\mu$ M. MAM-2201 caused greater inhibition of neurotransmitter release than  $\Delta$ (9)-tetrahydrocannabinol within the range of 0.1-30  $\mu$ M and JWH-018, one of the most popular and potent synthetic cannabinoids detected in the herbal products, within the range of 0.03-3  $\mu$ M. MAM-2201 caused a concentration-dependent suppression of GABA release onto PCs. Furthermore, MAM-2201 induced suppression of glutamate release at climbing fiber-PC synapses, leading to reduced dendritic Ca(2+) transients in PCs. These results suggest that MAM-2201 is likely to suppress neurotransmitter release at CB1R-expressing synapses in humans. The reduction of neurotransmitter release from CB1R-containing synapses could contribute to some of the symptoms of synthetic cannabinoid intoxication including impairments in cerebellum-dependent motor coordination and motor learning.

Keywords: Cannabinoid receptor type 1, Cerebellum, Neurotransmitter release

Ohara Y, Koganezawa N\*, Yamazaki H\*, Roppongi RT\*, Sato K, Sekino Y, Shirao T\*: Early-stage development of human induced pluripotent stem cell (hiPSC)-derived neurons.

*J Neurosci Res.* 2015;93:1804-13.

Recent advances in human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) offer new possibilities for biomedical research and clinical applications. Differentiated neurons from hiPSCs are expected to be useful for developing novel methods of treatment for various neurological diseases. However, the detailed process of functional maturation of hiPSC-derived neurons (hiPS neurons) remains poorly understood. This study

analyzes development of hiPS neurons, focusing specifically on early developmental stages through 48 hr after cell seeding; development was compared with that of primary cultured neurons derived from the rat hippocampus. At 5 hr after cell seeding, neurite formation occurs in a similar manner in both neuronal populations. However, very few neurons with axonal polarization were observed in the hiPS neurons even after 48 hr, indicating that hiPS neurons differentiate more slowly than rat neurons. We further investigated the elongation speed of axons and found that hiPS neuronal axons were slower. In addition, we characterized the growth cones. The localization patterns of skeletal proteins F-actin, microtubule, and drebrin were similar to those of rat neurons, and actin depolymerization by cytochalasin D induced similar changes in cytoskeletal distribution in the growth cones between hiPS neurons and rat neurons. These results indicate that, during the very early developmental stage, hiPS neurons develop comparably to rat hippocampal neurons with regard to axonal differentiation, but the growth of axons is slower.

Keywords: axonal development, cytoskeletal proteins, growth cones

\* Gunma University

Gyobu S<sup>\*1</sup>, Miyata H<sup>\*1</sup>, Ikawa M<sup>\*1</sup>, Yamazaki D, Takeshima H<sup>\*2</sup>, Suzuki J<sup>\*1</sup>, Nagata S<sup>\*1</sup>: A Role of TMEM16E Carrying a Scrambling Domain in Sperm Motility.

*Mol Cell Biol.* 2015;36:645-59.

Transmembrane protein 16E (TMEM16E) belongs to the TMEM16 family of proteins that have 10 transmembrane regions and appears to localize intracellularly. Although TMEM16E mutations cause bone fragility and muscular dystrophy in humans, its biochemical function is unknown. In the TMEM16 family, TMEM16A and -16B serve as Ca(2+)-dependent Cl(-) channels, while TMEM16C, -16D, -16F, -16G, and -16J support Ca(2+)-dependent phospholipid scrambling. Here, we show that TMEM16E carries a segment composed of 35 amino acids homologous to the scrambling domain in TMEM16F. When the corresponding segment of TMEM16A was replaced by this 35-amino-acid segment of TMEM16E, the chimeric molecule localized to the plasma membrane

and supported Ca(2+)-dependent scrambling. We next established TMEM16E-deficient mice, which appeared to have normal skeletal muscle. However, fertility was decreased in the males. We found that TMEM16E was expressed in germ cells in early spermatogenesis and thereafter and localized to sperm tail. TMEM16E(-/-) sperm showed no apparent defect in morphology, beating, mitochondrial function, capacitation, or binding to zona pellucida. However, they showed reduced motility and inefficient fertilization of cumulus-free but zona-intact eggs in vitro. Our results suggest that TMEM16E may function as a phospholipid scramblase at inner membranes and that its defect affects sperm motility.

Keywords: TMEM16E, Scramble, Sperm

\*<sup>1</sup> Osaka University

\*<sup>2</sup> Kyoto University

Hirata N, Yamada S, Asanagi M, Sekino Y, Kanda Y: Nicotine induces mitochondrial fission through mitofusins degradation in human multipotent embryonic carcinoma cells.

*Biochem Biophys Res Commun.* 2016;470:300-5.

Nicotine is considered to contribute to the health risks associated with cigarette smoking. Nicotine exerts its cellular functions by acting on nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), and adversely affects normal embryonic development. However, nicotine toxicity has not been elucidated in human embryonic stage. In the present study, we examined the cytotoxic effects of nicotine in human multipotent embryonic carcinoma cell line NT2/D1. We found that exposure to 10  $\mu$ M nicotine decreased intracellular ATP levels and inhibited proliferation of NT2/D1 cells. Because nicotine suppressed energy production, which is a critical mitochondrial function, we further assessed the effects of nicotine on mitochondrial dynamics. Staining with MitoTracker revealed that 10  $\mu$ M nicotine induced mitochondrial fragmentation. The levels of the mitochondrial fusion proteins, mitofusins 1 and 2, were also reduced in cells exposed to nicotine. These nicotine effects were blocked by treatment with mecamylamine, a nonselective nAChR antagonist. These data suggest that nicotine degrades mitofusins in NT2/D1 cells and thus induces mitochondrial dysfunction and cell growth inhibition in a nAChR-dependent manner. Thus,

mitochondrial function in embryonic cells could be used to assess the developmental toxicity of chemicals. Keywords: Embryonic cells, Mitochondrial fission, Mitofusins

Asakura K<sup>\*1</sup>, Hayashi S<sup>\*2</sup>, Ojima A<sup>\*3</sup>, Taniguchi T<sup>\*4</sup>, Miyamoto N<sup>\*4</sup>, Nakamori C<sup>\*5</sup>, Nagasawa C<sup>\*5</sup>, Kitamura T<sup>\*6</sup>, Osada T<sup>\*7</sup>, Honnda Y<sup>\*8</sup>, Kasai C<sup>\*9</sup>, Ando H<sup>\*10</sup>, Kanda Y, Sekino Y, Sawada K<sup>\*11</sup>: Improvement of acquisition and analysis methods in multi-electrode array experiments with iPS cell-derived cardiomyocyte.

*J Pharmacol Toxicol Methods.* 2015;75:17-26.

INTRODUCTION: Multi-electrode array (MEA) systems and human induced pluripotent stem (iPS) cell-derived cardiomyocytes are frequently used to characterize the electrophysiological effects of drug candidates for the prediction of QT prolongation and proarrhythmic potential. However, the optimal experimental conditions for obtaining reliable experimental data, such as high-pass filter (HPF) frequency and cell plating density, remain to be determined.

METHODS: Extracellular field potentials (FPs) were recorded from iPS cell-derived cardiomyocyte sheets by using the MED64 and MEA2100 multi-electrode array systems. Effects of HPF frequency (0.1 or 1 Hz) on FP duration (FPD) were assessed in the presence and absence of moxifloxacin, terfenadine, and aspirin. The influence of cell density on FP characteristics recorded through a 0.1-Hz HPF was examined. The relationship between FP and action potential (AP) was elucidated by simultaneous recording of FP and AP using a membrane potential dye.

RESULTS: Many of the FP waveforms recorded through a 1-Hz HPF were markedly deformed and appeared differentiated compared with those recorded through a 0.1-Hz HPF. The concentration-response curves for FPD in the presence of terfenadine reached a steady state at concentrations of 0.1 and 0.3  $\mu$ M when a 0.1-Hz HPF was used. In contrast, FPD decreased at a concentration of 0.3  $\mu$ M with a characteristic bell-shaped concentration-response curve when a 1-Hz HPF was used. The amplitude of the first and second peaks in the FP waveform increased with increasing cell plating density. The second peak of the FP waveform roughly coincided with AP signal at 50% repolarization,

and the negative deflection at the second peak of the FP waveform in the presence of E-4031 corresponded to early afterdepolarization and triggered activity.

DISCUSSION: FP can be used to assess the QT prolongation and proarrhythmic potential of drug candidates; however, experimental conditions such as HPF frequency are important for obtaining reliable data. Keyword : Field potential, Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, Membrane potential dye.

Keywords: Field potential, Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, Multi-electrode array

\*<sup>1</sup> Japanese Safety Pharmacology Society (JSPS), Japan iPS Cardiac Safety Assessment (JiCSA), Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA), Consortium for Safety Assessment using Human iPS Cells (CSAHi) and Nippon Shinyaku Co., Ltd.

\*<sup>2</sup> JSPS, JiCSA and Nippon Shinyaku Co., Ltd.

\*<sup>3</sup> JiCSA and Eisai Co., Ltd.

\*<sup>4</sup> JiCSA, JPMA, CSAHi and Eisai Co., Ltd.

\*<sup>5</sup> CSAHi and Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.

\*<sup>6</sup> CSAHi and LSI Medience Corporation

\*<sup>7</sup> JSPS, JiCSA and LSI Medience Corporation

\*<sup>8</sup> CSAHi and Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

\*<sup>9</sup> JSPS, JiCSA and Astellas Pharma Inc.

\*<sup>10</sup> JSPS, JiCSA, CSAHi and Ono Pharmaceutical Co., Ltd.

\*<sup>11</sup> JSPS, JiCSA and Eisai Co., Ltd.

Yamada S, Kotake Y, Nakano M, Sekino Y, Kanda Y: Tributyltin induces mitochondrial fission through NAD-IDH dependent mitofusin degradation in human embryonic carcinoma cells.

*Metalomics* 2015;7:1240-6.

Organotin compounds, such as tributyltin (TBT), are well-known endocrine disruptors. TBT acts at the nanomolar level through genomic pathways via the peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)/retinoid X receptor (RXR). We recently reported that TBT inhibits cell growth and the ATP content in the human embryonic carcinoma cell line NT2/D1 via a non-genomic pathway involving NAD(+)-dependent isocitrate dehydrogenase (NAD-IDH), which metabolizes isocitrate to  $\alpha$ -ketoglutarate. However, the molecular mechanisms by which NAD-

IDH mediates TBT toxicity remain unclear. In the present study, we evaluated the effects of TBT on mitochondrial NAD-IDH and energy production. Staining with MitoTracker revealed that nanomolar TBT levels induced mitochondrial fragmentation. TBT also degraded the mitochondrial fusion proteins, mitofusins 1 and 2. Interestingly, apigenin, an inhibitor of NAD-IDH, mimicked the effects of TBT. Incubation with an  $\alpha$ -ketoglutarate analogue partially recovered TBT-induced mitochondrial dysfunction, supporting the involvement of NAD-IDH. Our data suggest that nanomolar TBT levels impair mitochondrial quality control via NAD-IDH in NT2/D1 cells. Thus, mitochondrial function in embryonic cells could be used to assess cytotoxicity associated with metal exposure.

Keywords: TBT, Mitochondrial dynamics, Embryonic carcinoma

Kubo T, Kuroda Y, Horiuchi S, Kim SR, Sekino Y, Ishida S: Upregulations of metallothionein gene expressions and tolerance to heavy metal toxicity by three dimensional cultivation of HepG2 cells on VECCELL 3-D inserts.

*J Toxicol Sci*. 2016;41:147-53.

The VECCELL 3-D insert is a new culture scaffold consisting of collagen-coated ePTFE (expanded polytetrafluoroethylene) mesh. We analyzed the effects of VECCELL 3-D inserts on the functionality of HepG2, a human hepatocellular carcinoma cell line. HepG2 cells cultured on VECCELL 3-D inserts maintained a round shape, while those cultured on a standard culture plate or collagen-coated cell culture plate showed a flattened and cubic epithelial-like shape. HepG2 cells cultured on VECCELL 3-D inserts had showed upregulated expression of metallothionein genes and in turn a higher tolerance to toxicity induced by heavy metals. These results suggest that HepG2 cell functions were changed by the cell morphology that is induced by culturing on a VECCELL 3-D insert.

Keywords: VECCELL 3-D insert, cell function change, metallothionein

Usami M, Mitsunaga K<sup>\*1</sup>, Miyajima A, Takamatu M<sup>\*2</sup>, Kazama S<sup>\*2</sup>, Irie T, Doi O<sup>\*3</sup>, Takizawa T<sup>\*2</sup>: Effects of 13 developmentally toxic chemicals on the migration of rat cephalic neural crest cells in vitro. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2016;56:52-9.



The inhibition of neural crest cell (NCC) migration has been considered as a possible pathogenic mechanism underlying chemical developmental toxicity. In this study, we examined the effects of 13 developmentally toxic chemicals on the migration of rat cephalic NCCs (cNCCs) by using a simple *in vitro* assay. cNCCs were cultured for 48 h as emigrants from rhombencephalic neural tubes explanted from rat embryos at day 10.5 of gestation. The chemicals were added to the culture medium at 24 h of culture. Migration of cNCCs was measured as the change in the radius (radius ratio) calculated from the circular spread of cNCCs between 24 and 48 h of culture. Of the chemicals examined, 13-*cis*-retinoic acid, ethanol, ibuprofen, lead acetate, salicylic acid, and selenate inhibited the migration of cNCCs at their embryotoxic concentrations; no effects were observed for acetaminophen, caffeine, indium, phenytoin, selenite, tributyltin, and valproic acid. In a cNCC proliferation assay, ethanol, ibuprofen, salicylic acid, selenate, and tributyltin inhibited cell proliferation, suggesting the contribution of the reduced cell number to the inhibited migration of cNCCs. It was determined that several developmentally toxic chemicals inhibited the migration of cNCCs, the effects of which were manifested as various craniofacial abnormalities.

Keywords: Developmental toxicity, Migration assay, Neural crest cell

\*<sup>1</sup> Toho University

\*<sup>2</sup> Azabu University

\*<sup>3</sup> Gifu University

Kijima A, Ishii Y, Takasu S, Matsushita K, Kuroda K, Hibi D, Suzuki Y, Nohmi T, Umemura T: Chemical structure-related mechanisms underlying *in vivo* genotoxicity induced by nitrofurantoin and its constituent moieties in *gpt* delta rats.

*Toxicology* 2015;331:125-35.

Nitrofurans are antimicrobial compounds containing a nitro group at the 5-position of the furan ring and an amine or hydrazide side chain derivative. One member of the nitrofurans, nitrofurantoin (NFT), is a renal carcinogen in male rats despite its still controversial genotoxicity. We investigated chemical structure-related modes of action of NFT, and reporter gene mutation assays for NFT and its constituent moieties

were performed. NFT, 5-nitro-2-furaldehyde (NFA), or 1-aminohydantoin (AHD) was administered to male F344 *gpt* delta rats by gavage for 4 or 13 weeks at a carcinogenic or the maximum tolerated dose. NFT caused a significant increase in *gpt* mutant frequency (MF) at 13 weeks with G-base substitution mutations. An increase in *gpt* MF was also observed in the NFA-treated group at 13 weeks, but not in the AHD-treated group. 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) levels in the kidney DNA of NFT-treated rats were significantly increased after 4 weeks. NFT caused accumulation of hyaline droplets indicated by positive immunostaining and western blot analysis for  $\alpha$ 2u-globulin in the proximal tubules. An additional study, in which female *gpt* delta rats were given NFT at the same dose used for males, was performed to mitigate the effect of  $\alpha$ 2u-globulin. NFT exerted the same effects on female rat kidneys to the same extent as males in terms of *gpt* MF and 8-OHdG level. Thus, it is highly probable that the structure of the nitro furan plays a key role in NFT-induced genotoxicity and genotoxic mechanisms including oxidative DNA damage are involved in NFT-induced renal carcinogenesis.  $\alpha$ 2u-globulin-mediated nephropathy may be a prerequisite for NFT-induced renal carcinogenesis in male rats, and additionally NFT could be a latent carcinogen in female rats and other animal species.

Keywords: *in vivo* mutagenicity, nitrofurantoin, *gpt* delta rat

Akagi J, Toyoda T, Cho YM, Mizuta Y, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K: Validation study of the combined repeated-dose toxicity and genotoxicity assay using *gpt* delta rats.

*Cancer Sci.* 2015;106:529-41.

Transgenic rodents carrying reporter genes to detect organ-specific *in vivo* genetic alterations are useful for risk assessment of genotoxicity that causes cancer. Thus, the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) has established the guideline for genotoxicity tests using transgenic animals, which may be combined with repeated-dose toxicity studies. Here, we provide evidence to support equivalence of *gpt* delta and wild-type (WT) rats in terms of toxicological responses to a genotoxic hepatocarcinogen, diethylnitrosamine (DEN), and a nongenotoxic hepatocarcinogen, di(2-ethylhexyl)

phthalate (DEHP). DEHP-treated *gpt* delta rats showed similar increases in liver and kidney weights, serum albumin, albumin/globulin (A/G) ratios, and incidence of diffuse hepatocyte hypertrophy compared to WT F344 and SD rats. DEN-treated *gpt* delta rats showed equivalent increases in the number and area of precancerous GST-P-positive foci in the liver compared to WT rats. The livers of DEN-treated *gpt* delta rats also showed increased frequencies of *gpt* and Spi mutations; such changes were not observed in DEHP-treated *gpt* delta rats. These results indicated that *gpt* delta rats (both F344 and SD backgrounds) displayed comparable DEHP-induced toxicity and DEN-induced genotoxicity as those observed in WT rats. With regard to the administration period, the general toxicity of 1.2% DEHP was evident throughout the experimental period, and the genotoxicity of 10 ppm DEN could be detected a 2-week of administration and further increased at 4-week. These results suggested that combined assays using *gpt* delta rats could detect both general toxicity and genotoxicity by canonical 4-week administration protocol; therefore it would be applicable for risk assessment and then ultimately serve to reduce cancer risks of human being from environmental chemicals.

Keywords: genotoxicity, *gpt* delta rat, reduction of animal use

Onami S, Cho YM, Toyoda T, Akagi J, Fujiwara S\*, Ochiai R\*, Tsujino K\*, Nishikawa A, Ogawa K: Orally administered glycidol and its fatty acid esters as well as 3-MCPD fatty acid esters are metabolized to 3-MCPD in the F344 rat.

*Regul Toxicol Pharmacol.* 2015;73:726-31.

IARC has classified glycidol and 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) as group 2A and 2B, respectively. Their esters are generated in foodstuffs during processing and there are concerns that they may be hydrolyzed to the carcinogenic forms *in vivo*. Thus, we conducted two studies. In the first, we administered glycidol and 3-MCPD and associated esters (glycidol oleate: GO, glycidol linoleate: GL, 3-MCPD dipalmitate: CDP, 3-MCPD monopalmitate: CMP, 3-MCPD dioleate: CDO) to male F344 rats by single oral gavage. After 30 minutes, 3-MCPD was detected in serum from all groups. Glycidol was detected in serum from the rats given glycidol or GL

and CDP and CDO in serum from rats given these compounds. In the second, we examined if metabolism occurs on simple reaction with rat intestinal contents (gastric, duodenal and cecal contents) from male F344 *gpt* delta rats. Newly produced 3-MCPD was detected in all gut contents incubated with the three 3-MCPD fatty acid esters and in gastric and duodenal contents incubated with glycidol and in duodenal and cecal contents incubated with GO. Although our observation was performed at 1 time point, the results showed that not only 3-MCPD esters but also glycidol and glycidol esters are metabolized into 3-MCPD in the rat.

Keywords: glycidol, 3-MCPD, fatty acid ester

---

\* Shimadzu Techno-Research

Goto K\*, Ogawa K: Lanthanum deposition is frequently observed in the gastric mucosa of dialysis patients with lanthanum carbonate therapy: a clinicopathologic study of 13 cases, including 1 case of lanthanum granuloma in the colon and 2 nongranulomatous gastric cases.

*Int J Surg Pathol.* 2016;24:89-92.

Lanthanum carbonate (LC) has been used as a phosphate binder agent for treating hyperphosphatemia in dialysis patients since 2005 in the United States and 2009 in Japan. Owing to its reported safety profile and tolerability, the use of LC is increasing. However, 4 articles regarding lanthanum deposition in the gastroduodenal mucosa have recently been published, 2-5 including 1 study wherein abdominal computed tomography revealed a high-density area corresponding to lanthanum deposition in the gastric mucosa in 42 (60%) of 70 patients treated with LC. To obtain a more precise incidence rate of lanthanum deposition based on pathologic investigation, we surveyed 153 pathological specimens of the digestive tract, which were biopsied or resected from 103 dialysis patients, including 19 patients treated with LC, from May 2009 to May 2015 in a single institute (Kainan Hospital, Japan). In this article, we present our clinicopathologic survey data in these patients, including 1 case with lanthanum deposition in the colon and 2 nongranulomatous cases.

Keywords: lanthanum, granuloma, dialysis

---

\* Kainan Hospital

Toyoda T, Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Hirata T, Nishikawa A, Ogawa K: Early detection of genotoxic urinary bladder carcinogens by immunohistochemistry for  $\gamma$ -H2AX.

*Toxicol Sci.* 2015;148:400-8.

DNA double-strand breaks (DSBs) induced by exposure to genotoxic agents are known to cause genome instability and cancer development. To evaluate the applicability of  $\gamma$ -H2AX, a sensitive marker of DSBs, in the early detection of genotoxicity and carcinogenicity of chemicals using animal models, we examined  $\gamma$ -H2AX expression in urinary bladders of rats. Six-week-old male F344 rats were orally treated for 4 weeks with a total of 12 chemicals divided into 4 categories based on genotoxicity and carcinogenicity in the urinary bladder. Animals were sacrificed at the end of administration or after 2 weeks of recovery, and immunohistochemistry for  $\gamma$ -H2AX was performed. At week 4,  $\gamma$ -H2AX expression in bladder epithelial cells was significantly increased by all 4 genotoxic bladder carcinogens as compared with the controls, while the three chemicals that were genotoxic but not carcinogenic in the bladders did not cause upregulation of  $\gamma$ -H2AX. After the recovery period,  $\gamma$ -H2AX expression was markedly reduced in all groups but remained significantly elevated in rats treated with 3 of the 4 genotoxic bladder carcinogens. Although slight increases in  $\gamma$ -H2AX expression were induced by a weak bladder carcinogen with equivocal genotoxicity (phenethyl isothiocyanate) and 2 nongenotoxic bladder carcinogens (melamine and uracil) at week 4, these differences were not significant and were thought to be associated with activated proliferation by urothelial hyperplasia, as demonstrated by increased Ki67-positive cells. These results suggested that  $\gamma$ -H2AX may be a potential biomarker for the early detection of genotoxic bladder carcinogens.

Keywords: urinary bladder,  $\gamma$ -H2AX, genotoxicity

Tsaalbi-Shtylik A<sup>\*1</sup>, Ferrás C<sup>\*1</sup>, Pauw B<sup>\*1</sup>, Hendriks G<sup>\*1</sup>, Temviriyankul P<sup>\*1</sup>, Carlée L<sup>\*1</sup>, Calléja F<sup>\*1</sup>, van Hees S<sup>\*1</sup>, Akagi J, Iwai S<sup>\*2</sup>, Hanaoka F<sup>\*3</sup>, Jansen JG<sup>\*1</sup>, de Wind N<sup>\*1</sup>: Excision of translesion synthesis errors orchestrates responses to helix-distorting DNA lesions.

*J Cell Biol.* 2015;209:33-46.

In addition to correcting mispaired nucleotides, DNA

mismatch repair (MMR) proteins have been implicated in mutagenic, cell cycle, and apoptotic responses to agents that induce structurally aberrant nucleotide lesions. Here, we investigated the mechanistic basis for these responses by exposing cell lines with single or combined genetic defects in nucleotide excision repair (NER), postreplicative translesion synthesis (TLS), and MMR to low-dose ultraviolet light during S phase. Our data reveal that the MMR heterodimer Msh2/Msh6 mediates the excision of incorrect nucleotides that are incorporated by TLS opposite helix-distorting, noninstructive DNA photolesions. The resulting single-stranded DNA patches induce canonical Rpa-Atr-Chk1-mediated checkpoints and, in the next cell cycle, collapse to double-stranded DNA breaks that trigger apoptosis. In conclusion, a novel MMR-related DNA excision repair pathway controls TLS a posteriori, while initiating cellular responses to environmentally relevant densities of genotoxic lesions. These results may provide a rationale for the colorectal cancer tropism in Lynch syndrome, which is caused by inherited MMR gene defects.

Keywords: DNA repair, translesion synthesis, DNA mismatch repair

<sup>\*1</sup> Leiden University Medical Center

<sup>\*2</sup> Osaka University

<sup>\*3</sup> Gakushuin University

Inoue K, Morikawa T, Takahashi M, Yoshida M, Ogawa K: Obstructive nephropathy induced with DL-potassium hydrogen tartrate in F344 rats. *J Toxicol Pathol.* 2015;28:89-97.

We experienced obstructive nephropathy in F344 rats treated with DL-potassium hydrogen tartrate (PHT) in a 13-week oral repeated dose toxicity study. Six-week-old male and female F344/DuCrj rats were fed a diet containing up to 2.0% PHT for 13 weeks. Microscopical findings including irregular dilation of the distal tubule lumen, foreign body giant cells, inflammatory cell infiltration, and regeneration of renal tubules were observed focally or multifocally in the renal cortex and/or medulla in the 0.5% and higher dosage groups of both sexes. The severity of these lesions increased in a dose-dependent manner. In the urinalysis, an increase in protein and white blood cells or the concentration of tartaric acid was detected in

the 0.5% PHT and higher dosage groups of both sexes or males, respectively, though conventional blood biochemical analysis did not indicate failure of renal function. These results indicate that the PHT induces obstructive nephropathy in rats. There were no other treatment-related changes in other organs.

Keywords: obstructive nephropathy, kidney, DL-potassium hydrogen tartrate

Yoshida M, Inoue K, Takahashi M: Predictive modes of action of pesticides in uterine adenocarcinoma development in rats.

*J Toxicol Pathol.* 2015;28:207-16.

Endometrial adenocarcinoma in the uterine corpus is a malignant cancer that occurs in menopausal women and aged rodents. Because of the similarities in pathogenesis and morphology of endometrial adenocarcinoma in rodents and humans, prediction of the modes of action (MOA) in uterine carcinogenesis is important for extrapolation of rodent data to humans. Three MOAs have been accepted as major pathways for uterine carcinogenesis in rodents: 1) estrogenic activity, 2) increased serum 17 $\beta$ -estradiol (E2) to progesterone (P4) ratio and 3) modulation of estrogen metabolism to produce 4-hydroxyestradiol via P450 induction. Inhibition of estrogen excretion and increased aromatase in situ in the tumor are also a potential pathway. Here, chemicals showing uterine carcinogenicity were chosen from approximately 300 pesticides evaluated in Japan within the past decade, and their mechanisms were predicted using parameters from mechanistic and toxicity studies. Seven pesticides increased uterine tumor formation in rats, and the pathways of 4 pesticides could be predicted based on various mechanistic studies. The MOAs of cyenopyrafen and benthialvalicarb-isopropyl were predicted to be modulation of estrogen metabolism, while those of pyriminobac-methyl and spirodiclofen were predicted to be increased E2 to P4 ratio. The driven pathways of metazosulfuron and isopyrazam could not be predicted using several mechanistic studies. No mechanistic studies have been reported for sedaxane, which has a chemical structure and toxicological profile similar to isopyrazam. Our results indicated that appropriate mechanistic studies are useful for mechanism prediction in risk assessment. From this analysis, a flowchart showing a decision tree

for predictive MOAs in uterine carcinogenesis was proposed.

Keywords: uterine carcinogenesis, prediction, pesticide

Shirota M\*, Kawashima J\*, Nakamura T\*, Kamiie J\*, Shirota K\*, Yoshida M: Dose-dependent acceleration in the delayed effects of neonatal oral exposure to low-dose 17 $\alpha$ -ethynylestradiol on reproductive functions in female Sprague-Dawley rats.

*J Toxicol Sci.* 2015;40:727-38.

Xenoestrogen exposure during the critical period of sexual differentiation of the brain causes delayed effects on female reproduction. We investigated the internal dose of orally administered ethynylestradiol (EE) during the critical period and its delayed effects by administering 0 (vehicle control), 0.4, or 2  $\mu$ g/kg EE to female Sprague-Dawley rats for 5 days from postnatal day (PND) 1. Determination of serum EE level 24 hr after the initial dosing and 6 and 24 hr after the final dosing of 2  $\mu$ g/kg indicated that the administered EE entered the circulation and cleared after every administration. Although the treatment did not affect physical development, including growth, eyelid opening, and vaginal opening, the estrous cycle was arrested from postnatal week (PNW) 12 even with 0.4  $\mu$ g/kg EE, with an inverse correlation between doses and arresting ages. Although ovarian morphology at PNW 22-23 indicated that the treatment caused long-term anovulation and cystic follicle formation, the number of primordial follicles at PNW 22-23 was similar among the groups. Because this number was lower than that at PND 10 in all groups, primordial follicles may have been consumed under long-term anovulation. The treatment also caused other abnormalities, including mammary gland hyperplasia, increase in pituitary and liver weights, and decrease in the uterine weight. Because the highest circulating EE level in the 2  $\mu$ g/kg-treated neonates is considered to be comparable to the physiological range of estradiol-17 $\beta$ , we concluded that a slight increase in the circulating estrogens during the neonatal period exerts irreversible delayed effects.

Keywords: 17 $\alpha$ -ethynylestradiol, sexual differentiation, estrous cycle

\* Azabu University

Sakamoto Y, Yoshida M, Tamura K, Takahashi M, Kodama Y, Inoue K: Dose-dependent difference of nuclear receptors involved in murine liver hypertrophy by piperonyl butoxide.

*J Toxicol Sci.* 2015;40:787-96.

Nuclear receptors play important roles in chemically induced liver hypertrophy in rodents. To clarify the involvement of constitutive androstane receptor (CAR) and other nuclear receptors in mouse liver hypertrophy induced by different doses of piperonyl butoxide (PBO), wild-type and CAR-knockout mice were administered PBO (200, 1,000, or 5,000 ppm) in the basal diet for 1 week. Increased liver weight and diffuse hepatocellular hypertrophy were observed at 5,000 ppm for both genotypes, accompanied by increased Cyp3a11 mRNA and CYP3A protein expression, suggesting that CAR-independent pathway, possibly pregnane X receptor (PXR), plays a major role in the induction of hypertrophy. Moreover, wild-type mice at 5,000 ppm showed enhanced hepatocellular hypertrophy and strong positive staining for CYP2B in the centrilobular area, suggesting the localized contribution of CAR. At 1,000 ppm, only wild-type mice showed liver weight increase and centrilobular hepatocellular hypertrophy concurrent with elevated Cyp2b10 mRNA expression and strong CYP2B staining, indicating that CAR was essential at 1,000 ppm. We concluded that high-dose PBO induced hypertrophy via CAR and another pathway, while lower dose of PBO induced a pathway mediated predominantly by CAR. The dose-responsiveness on liver hypertrophy is important for understanding the involvement of nuclear receptors.

Keywords: constitutive androstane receptor, liver hypertrophy, piperonyl butoxide

Maeda J, Inoue K, Ichimura R, Takahashi M, Kodama Y, Saito N\*, Yoshida M: Essential role of constitutive androstane receptor in *Ginkgo biloba* extract induced liver hypertrophy and hepatocarcinogenesis.

*Food Chem Toxicol.* 2015;83:201-9.

*Ginkgo biloba* extract (GBE) is commonly used as a herbal supplement. The National Toxicology Program (NTP) study of GBE reported clear evidence of hepatocarcinogenicity in mice. To clarify the mode of action (MOA) for hepatocarcinogenesis by GBE, we investigated the involvement of the constitutive androstane receptor (CAR) in hepatocarcinogenesis

induced by GBE using CAR-knockout (CARKO) and wild type (WT) mice. We used the same lot of GBE that was used for the NTP study. In 1-week GBE dietary treatment, hepatocellular DNA replication was increased in WT mice but not in CARKO mice. In 4- or 13-week treatment, greater hepatic Cyp2b10 induction and hepatocellular hypertrophy were observed in WT mice, whereas these effects of GBE were much smaller in CARKO mice. In a two-stage hepatocarcinogenesis model initiated by diethylnitrosamine, 27-week treatment with GBE resulted in an increase of eosinophilic altered foci and adenomas in WT mice. By contrast, foci and adenomas were clearly less evident in CARKO mice. These results indicate that GBE-induced hepatocarcinogenesis is mainly CAR-mediated. Since CAR-mediated MOA for hepatocarcinogenesis in rodents is considered to be qualitatively implausible for humans, our findings would be helpful to evaluate the carcinogenic characterization of GBE to humans.

Keywords: constitutive androstane receptor, *Ginkgo biloba* extract, hepatocarcinogenesis

\* Kobe University

Kuwata K, Inoue K, Ichimura R, Takahashi M, Kodama Y, Yoshida M: Constitutive active/androstane receptor, peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , and cytotoxicity are involved in oxadiazon-induced liver tumor development in mice. *Food Chem Toxicol.* 2016;88:75-86.

Oxadiazon (OX) is a protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicide that induces porphyria and liver tumors in rodents. Although porphyria is generally considered to be a risk factor for liver tumor development, the mechanisms through which OX mediates tumor development are unclear. Therefore, in this study, we investigated the mechanisms of tumor development by focusing on constitutive active/androstane receptor (CAR), which is essential for the development of tumors in response to several chemicals. After 1, 4, or 13 weeks of dietary treatment with 1000 ppm OX, hepatic Cyp2b10 expression was induced in wild-type (WT) mice. However, this effect was blocked in CAR-knockout (CARKO) mice. Hepatic Cyp4a10 expression, indicative of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) activation, and cytotoxic changes in hepatocytes were also

observed in both groups of mice. After initiation by diethylnitrosamine, 26-week treatment with OX resulted in an increase in proliferative lesions, including foci and adenomas, in both genotypes, and the incidence and multiplicity of proliferative lesions in CARKO mice were higher than those in control mice but lower than those in WT mice. These results suggested that CAR, PPAR $\alpha$  activation, and cytotoxicity were involved in the development of liver tumors. Moreover, porphyrin was not apparently involved in OX-induced tumor development.

Keywords: oxadiazon, constitutive androstane receptor, hepatocarcinogenesis

Ichimura R, Takahashi M, Morikawa T, Inoue K, Kuwata K, Usuda K<sup>\*1</sup>, Yokosuka M<sup>\*2</sup>, Watanabe G<sup>\*1</sup>, Yoshida M: The critical hormone-sensitive window for the development of delayed effects extends to 10 days after birth in female rats postnatally exposed to 17 $\alpha$ -ethynylestradiol.

*Biol Reprod.* 2015;93:32.

Neonatal exposure to estrogens is known to cause delayed effects, a late-occurring adverse effect on adult female reproductive functions, such as early onset of age-matched abnormal estrous cycling. However, the critical period in which neonates are sensitive to delayed effects inducible exogenous estrogen exposure has not been clearly identified. To clarify this window, we examined the intensity and timing of delayed effects using rats exposed to ethynylestradiol (EE) at various postnatal ages. After subcutaneous administration of a single dose of EE (20  $\mu$ g/kg, which induces delayed effects) on Postnatal Day (PND) 0, 5, 10 or 14 in Wistar rats, hypothalamic and hormonal alterations in young adults and long-term estrous cycling status were investigated as indicators of delayed effects. In young adults, peak luteinizing hormone concentrations at the time of the luteinizing hormone surge showed decreasing trend, and KiSS1 mRNA expression of the anterior hypothalamus and number of KiSS1-positive cells in the anteroventral periventricular nucleus were significantly decreased in the PND 0, 5, and 10 groups. The reduction in KiSS1 mRNA and KiSS1-positive cells was inversely correlated with age at time of exposure. These groups also exhibited early onset of abnormal estrous cycling, starting from 17 wk of age in the PND0 group and 19 wk of age in the PND5 and PND10

groups. These indicators were not apparent in the PND14 group. Our results suggest that PND0-PND10 is the critical window of susceptibility for delayed effects, and PND14 is presumed to be the provisional endpoint of the window.

Keywords: early development, estrous cycle, kisspeptin

<sup>\*1</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

<sup>\*2</sup> Nippon Veterinary and Life Science University

Yoshida M, Suzuki S<sup>\*</sup>, Takahashi M, Ichimura R, Inoue K, Taya K<sup>\*</sup>, Watanabe G<sup>\*</sup>: Predominant role of the hypothalamic-pituitary axis, not the ovary, in different types of abnormal cycle induction by postnatal exposure to high dose p-tert-octylphenol in rats.

*Reprod Toxicol.* 2015;57:21-8.

To determine whether it is the hypothalamic-pituitary axis or the ovary that plays the predominant role in abnormal estrous cycling induction by postnatal exposure to estrogenic compounds, female rats were subcutaneously injected with 100 mg/kg p-tert-octylphenol or vehicle for 5 or 15 days after birth (OP-PND5, OP-PND15 or control). Ovaries were exchanged between control and treated groups on PND28. Controls receiving control or OP-PND5 ovaries showed normal cycles within 4 weeks after the exchange, and corpora lutea were detected in transplanted ovaries. Controls receiving OP-PND15 ovaries consistently increased persistent estrus (PE). OP-PND15 rats receiving control or OP-PND15 ovaries immediately descended into PE, and transplanted ovaries were atrophic with cystic follicles, indicating anovulation. OP-PND5 rats receiving control or OP-PND5 ovaries showed early onset of PE after normal cycling. The hypothalamic-pituitary axis is predominant in abnormal cycling induction by postnatal exposure to OP. OP-PND15 ovaries were impaired compared to other groups.

Keywords: hypothalamic-pituitary axis, postnatal exposure, p-tert-octylphenol

<sup>\*</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

Abbasi A<sup>\*1</sup>, Khalaj M<sup>\*1</sup>, Akiyama K<sup>\*1</sup>, Mukai Y<sup>\*1</sup>, Matsumoto H<sup>\*1</sup>, Acosta TA<sup>\*1</sup>, Said N<sup>\*2</sup>, Yoshida M, Kunieda T<sup>\*1</sup>: Lack of Rev7 function results in

development of tubulostromal adenomas in mouse ovary.

*Mol Cell Endocrinol.* 2015;412:19-25.

Rev7 is a subunit of Pol  $\zeta$ , one of the translesion DNA synthesis (TLS) polymerases involved in DNA damage repair. We recently found that Rev7 is also essential for germ cell development in mouse. In the present study, we found the development of ovarian tumors in Rev7 mutant mouse, suggesting the involvement of TLS deficiency in the etiology of ovarian tumor. The Rev7 mutant mice showed complete lack of oocytes and follicles in the ovary. The lack of follicles causes a significant increase of gonadotropin level and an increase in the proliferation of ovarian cells. As a result, the weight of the ovaries of Rev7 mutant mice increased with age and they developed tubulostromal adenomas. However, the remarkable overgrowth of ovaries occurred after gonadotropin level decreases at older ages, suggesting gonadotropin-independent progression of the ovarian tumors. In addition, the Rev7 mutant fibroblasts and ovarian cells showed significant accumulation of DNA damage. These findings suggest that not only increased gonadotropin levels but also lack of DNA damage repair function could be responsible for the development of ovarian tumors in the Rev7 mutant mouse.

Keywords: ovarian tumor, Rev7, translesion DNA polymerase

---

\*1 Okayama University

\*2 University of Virginia

Shiga T<sup>\*1</sup>, Nakamura TJ<sup>\*1</sup>, Komine C<sup>\*1</sup>, Goto Y<sup>\*2</sup>, Mizoguchi Y<sup>\*1</sup>, Yoshida M, Kondo Y<sup>\*3</sup>, Kawaguchi M<sup>\*1</sup>: A single neonatal injection of ethinyl estradiol impairs passive avoidance learning and reduces expression of estrogen receptor  $\alpha$  in the hippocampus and cortex of adult female rats.

*PLOS One* 2016;11:e0146136.

Although perinatal exposure of female rats to estrogenic compounds produces irreversible changes in brain function, it is still unclear how the amount and timing of exposure to those substances affect learning function, or if exposure alters estrogen receptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) expression in the hippocampus and cortex. In adult female rats, we investigated the effects of neonatal

exposure to a model estrogenic compound, ethinyl estradiol (EE), on passive avoidance learning and ER $\alpha$  expression. Female Wistar-Imamichi rats were subcutaneously injected with oil, 0.02 mg/kg EE, 2 mg/kg EE, or 20 mg/kg 17 $\beta$ -estradiol within 24 h after birth. All females were tested for passive avoidance learning at the age of 6 weeks. Neonatal 0.02 mg/kg EE administration significantly disrupted passive avoidance compared with oil treatment in gonadally intact females. In a second experiment, another set of experimental females, treated as described above, was ovariectomized under pentobarbital anesthesia at 10 weeks of age. At 15-17 weeks of age, half of each group received a subcutaneous injection of 5  $\mu$ g estradiol benzoate a day before the passive avoidance learning test. Passive avoidance learning behavior was impaired by the 0.02 mg/kg EE dose, but notably only in the estradiol benzoate-injected group. At 17-19 weeks of age, hippocampal and cortical samples were collected from rats with or without the 5  $\mu$ g estradiol benzoate injection, and western blots used to determine ER $\alpha$  expression. A significant decrease in ER $\alpha$  expression was observed in the hippocampus of the estradiol-injected, neonatal EE-treated females. The results demonstrated that exposure to EE immediately after birth decreased learning ability in adult female rats, and that this may be at least partly mediated by the decreased expression of ER $\alpha$  in the hippocampus.

Keywords: ethinyl estradiol, estrogen receptor  $\alpha$ , hippocampus

---

\*1 Meiji University

\*2 Teikyo Heisei University

\*3 Teikyo University of Science

Honma M: Evaluation of the *in vivo* genotoxicity of Allura Red AC (Food Red No. 40).

*Food and Chemical Toxicology* 2015;84:270-5.

Allura Red AC (Food Red No. 40) is a red azo dye that is used for food coloring in beverage and confectionary products. To clarify the *in vivo* genotoxicity, we treated mice with Allura Red AC and investigated the induction of DNA damage, clastogenicity, and mutagenicity using Comet assays, micronucleus tests, and transgenic gene mutation assays, respectively. No genotoxic effect was observed in any of the genotoxic endpoints. These data clearly

show no evidence of *in vivo* genotoxic potential of Allura Red AC administered up to the maximum doses in mice.

Keywords: Allura Red AC, red azo dye, *in vivo* genotoxicity

Barber C<sup>\*1</sup>, Amberg A<sup>\*2</sup>, Custer L<sup>\*3</sup>, Dobo KL<sup>\*4</sup>, Glowienke S<sup>\*5</sup>, Van Gompel J<sup>\*6</sup>, Gutsell S<sup>\*7</sup>, Harvey J<sup>\*8</sup>, Honma M, Kenyon MO<sup>\*4</sup>, Kruhlak N<sup>\*9</sup>, Muster W<sup>\*10</sup>, Stavitskaya L<sup>\*9</sup>, Teasdale A<sup>\*11</sup>, Vessey J<sup>\*1</sup>, Wichard J<sup>\*12</sup>: Establishing best practise in the application of expert review of mutagenicity under ICH M7.

*Regul Toxicol Pharmacol.* 2015;73:367-77.

The ICH M7 guidelines for the assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals allows for the consideration of *in silico* predictions in place of *in vitro* studies. This represents a significant advance in the acceptance of (Q)SAR models and has resulted from positive interactions between modellers, regulatory agencies and industry with a shared purpose of developing effective processes to minimise risk. This paper discusses key scientific principles that should be applied when evaluating *in silico* predictions with a focus on accuracy and scientific rigour that will support a consistent and practical route to regulatory submission.

Keywords: ICH M7 guideline, impurities, (Q)SAR

\*1 Lhasa Limited

\*2 Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

\*3 Bristol-Myers Squibb

\*4 Pfizer

\*5 Novartis Institutes for Biomedical Research

\*6 Janssen

\*7 Unilever

\*8 GlaxoSmithkline

\*9 FDA Center for Drug Evaluation and Research

\*10 F. Hoffmann-La Roche Ltd.

\*11 AstraZeneca

\*12 Bayer

Canipa S<sup>\*1</sup>, Cayley A<sup>\*1</sup>, Drewe WC<sup>\*1</sup>, Williams RV<sup>\*1</sup>, Hamada S<sup>\*2</sup>, Hirose A, Honma M, Morita T: Using *in vitro* structural alerts for chromosome damage to predict *in vivo* activity and direct future testing. *Mutagenesis* 2016;31:17-25.

While the *in vivo* genotoxicity of a compound may not always correlate well with its activity in *in vitro* test systems, for certain compound classes a good overlap may exist between the two endpoints. The difficulty, however, lies in establishing the cases where this relationship holds true and selecting the most appropriate protocol to highlight any potential *in vivo* hazard. With this in mind, a project was initiated in which existing structural alerts for *in vitro* chromosome damage in the expert system Derek Nexus were assessed for their relevance to *in vivo* activity by assessing their predictivity against an *in vivo* chromosome damage data set. An expert assessment was then made of selected alerts. Information regarding the findings from specific *in vivo* tests was added to the alert along with any significant correlations between activity and test protocol or mechanism. A total of 32 *in vitro* alerts were updated using this method resulting in a significant improvement in the coverage of *in vivo* chromosome damage in Derek Nexus against a data set compiled by the mammalian mutagenicity study group of Japan. The detailed information relating to *in vivo* activity and protocol added to the alerts in combination with the mechanistic information provided will prove useful in directing the further testing of compounds of interest.

Keywords: genotoxicity, hazard, predictivity

\*1 Lhasa Limited

\*2 LSI Medience Corporation

Kanemaru Y<sup>\*1</sup>, Suzuki T, Niimi N, Grúz P, Matsumoto K<sup>\*2</sup>, Adachi N<sup>\*3</sup>, Honma M, Nohmi T: Catalytic and non-catalytic roles of DNA polymerase  $\kappa$  in the protection of human cells against genotoxic stresses.

*Environ Mol Mutagen.* 2015;56:650-62.

DNA polymerase  $\kappa$  (Pol  $\kappa$ ) is a specialized DNA polymerase involved in translesion DNA synthesis. Although its bypass activities across lesions are well characterized in biochemistry, its cellular protective roles against genotoxic insults are still elusive. To better understand the *in vivo* protective roles, we have established a human cell line deficient in the expression of Pol  $\kappa$  (KO) and another expressing catalytically dead Pol  $\kappa$  (CD), to examine the cytotoxic



sensitivity to 11 genotoxins including ultraviolet C light (UV). These cell lines were established in a genetic background of Nalm-6-MSH+, a human lymphoblastic cell line that has high efficiency for gene targeting, and functional p53 and mismatch repair activities. We classified the genotoxins into four groups. Group 1 includes benzo[a]pyrene diol-epoxide, mitomycin C, and bleomycin, where the sensitivity was equally higher in KO and CD than in the cell line expressing wild-type Pol  $\kappa$  (WT). Group 2 includes hydrogen peroxide and menadione, where hypersensitivity was observed only in KO. Group 3 includes methyl methanesulfonate and ethyl methanesulfonate, where hypersensitivity was observed only in CD. Group 4 includes UV and three chemicals, where the chemicals exhibited similar cytotoxicity to all three cell lines. The results suggest that Pol  $\kappa$  not only protects cells from genotoxic DNA lesions via DNA polymerase activities, but also contributes to genome integrity by acting as a non-catalytic protein against oxidative damage caused by hydrogen peroxide and menadione. The non-catalytic roles of Pol  $\kappa$  in protection against oxidative damage by hydrogen peroxide are discussed.

Keywords: translesion DNA synthesis, genotoxic stresses, DNA polymerase  $\kappa$

\*1 Showa University School of Pharmacy

\*2 The Institute of Environmental Toxicology

\*3 Yokohama City University

Keka IS<sup>\*1</sup>, Mohiuddin<sup>\*1</sup>, Maede Y<sup>\*1</sup>, Rahman MM<sup>\*1</sup>, Sakuma T<sup>\*2</sup>, Honma M, Yamamoto T<sup>\*2</sup>, Takeda S<sup>\*1</sup>, Sasanuma H<sup>\*1</sup>: Smarccall promotes double-strand-break repair by nonhomologous end-joining.

*Nucleic Acids Res.* 2015;43:6359-72.

Smarccall is a SWI/SNF-family protein with an ATPase domain involved in DNA-annealing activities and a binding site for the RPA single-strand-DNA-binding protein. Although the role played by Smarccall in the maintenance of replication forks has been established, it remains unknown whether Smarccall contributes to genomic DNA maintenance outside of the S phase. We disrupted the SMARCCAL1 gene in both the chicken DT40 and the human TK6 B cell lines. The resulting SMARCCAL1(-/-) clones exhibited sensitivity to chemotherapeutic topoisomerase 2 inhibitors, just as nonhomologous end-joining

(NHEJ) null-deficient cells do. SMARCCAL1(-/-) cells also exhibited an increase in radiosensitivity in the G1 phase. Moreover, the loss of Smarccall in NHEJ null-deficient cells does not further increase their radiosensitivity. These results demonstrate that Smarccall is required for efficient NHEJ-mediated DSB repair. Both inactivation of the ATPase domain and deletion of the RPA-binding site cause the same phenotype as does null-mutation of Smarccall, suggesting that Smarccall enhances NHEJ, presumably by interacting with RPA at unwound single-strand sequences and then facilitating annealing at DSB ends. SMARCCAL1(-/-) cells showed a poor accumulation of Ku70/DNA-PKcs and XRCC4 at DNA-damage sites. We propose that Smarccall maintains the duplex status of DSBs to ensure proper recruitment of NHEJ factors to DSB sites.

Keywords: SWI/SNF-family, nonhomologous end-joining, DSB repair

\*1 Kyoto University

\*2 Hiroshima University

Petkov PI<sup>\*1</sup>, Patlewicz G<sup>\*2</sup>, Schultz TW<sup>\*3</sup>, Honma M, Todorov M<sup>\*1</sup>, Kotov S<sup>\*1</sup>, Dimitrov SD<sup>\*1</sup>, Donner EM<sup>\*2</sup>, Mekenyan OG<sup>\*1</sup>: A feasibility study: Can information collected to classify for mutagenicity be informative in predicting carcinogenicity?.

*Regul Tox Pharm.* 2015;72:17-25.

Carcinogenicity is a complex endpoint of high concern yet the rodent bioassay still used is costly to run in terms of time, money and animals. Therefore carcinogenicity has been the subject of many different efforts to both develop short-term tests and non-testing approaches capable of predicting genotoxic carcinogenic potential. In our previous publication (Mekenyan et al., 2012) we presented an *in vitro-in vivo* extrapolation workflow to help investigate the differences between *in vitro* and *in vivo* genotoxicity tests. The outcomes facilitated the development of new (Q)SAR models and for directing testing. Here we have refined this workflow by grouping specific tests together on the basis of their ability to detect DNA and/or protein damage at different levels of biological organization. This revised workflow, akin to an Integrated Approach to Testing and Assessment (IATA) informed by mechanistic understanding

was helpful in rationalizing inconsistent study outcomes and categorizing a test set of carcinogens with mutagenicity data on the basis of regulatory mutagenicity classifications. Rodent genotoxic carcinogens were found to be correctly predicted with a high sensitivity (90-100%) and a low rate of false positives (3-10%). The insights derived are useful to consider when developing future (non-)testing approaches to address regulatory purposes.

Keywords: Carcinogenicity classification, Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA), (Q) SAR

\*<sup>1</sup> As. Zlatarov University

\*<sup>2</sup> DuPont Haskell Global Centers for Health and Environmental Sciences

\*<sup>3</sup> The University of Tennessee

Masumura K, Sakamoto Y, Kumita W, Honma M, Nishikawa A, Nohmi T: Genomic integration of lambda EG10 transgene in *gpt* delta transgenic rodents.

*Genes and Environment* 2015;37:24.

Transgenic *gpt* delta mouse and rat models were developed to perform *gpt* and Spi<sup>-</sup> assays for *in vivo* mutagenicity tests. The animals were established by integration of lambda EG10 phage DNA as a transgene into the genome. To identify the site and pattern of genomic integration of the transgene copies, genomic DNAs extracted from C57BL/6J *gpt* delta mice and F344 *gpt* delta rats were applied to whole genome sequencing and mate-pair analysis. The result confirmed that multi-copy lambda EG10 transgenes are inserted at a single position in the mouse chromosome 17. The junction contains 70 bp of overlapped genomic sequences, and it has short homology at both ends. A copy number analysis suggested that the inserted transgenes may contain 41 head-to-tail junctions and 16 junctions of other types such as rearranged abnormal junctions. It suggested that the number of intact copies could be approximately 40 at maximum. In the F344 *gpt* delta rats, transgenes are inserted at a single position in the rat chromosome 4. The junction contains no overlapped sequence but 72-kb genomic sequence including one gene was deleted. The inserted transgenes may contain 15 head-to-tail junctions and two rearranged junctions. It suggested that the

number of intact copies could be 14 at maximum. One germline base substitution in the *gpt* gene rescued from *gpt* delta rats was characterized. PCR primers for quick genotyping of *gpt* delta mice and rats have been designed.

Keywords: *gpt* delta transgenic rodents, transgene, whole genome sequencing

Aoki Y<sup>\*1</sup>, Hashimoto A<sup>\*1</sup>, Sugawara Y<sup>\*1</sup>, Hiyoshi-Arai K<sup>\*1</sup>, Goto S<sup>\*2</sup>, Masumura K, Nohmi T: Alterations in the mutagenicity and mutation spectrum induced by benzo[a]pyrene instilled in the lungs of *gpt* delta mice of various ages.

*Genes and Environment* 2015;37:7.

To examine whether the mutagenic potential of lung exposure to air-borne environmental mutagens is age dependent, we administered 1 mg of benzo[a]pyrene intratracheally to 11- and 24-month old (middle-aged and old, respectively) *gpt* delta transgenic mice and then analyzed the benzo[a]pyrene-induced and spontaneous *in vivo* mutations and mutation spectrum in the lungs. The mutant frequencies in the lungs of the 11- and 24-month-old control (vehicle-treated) *gpt* delta mice were  $1.14 \pm 0.22 \times 10^{-5}$  and  $1.00 \pm 0.20 \times 10^{-5}$ , respectively, which are significantly higher than that observed for the control 3-month-old (young) mice ( $0.59 \pm 0.13 \times 10^{-5}$ ) in our previous studies, indicating that spontaneous mutation in the lung increases with age. The mutant frequencies in 11- and 24-month-old mice treated with benzo [a] pyrene were 1.5- and 2.3-fold, respectively, that of the age-matched control mice, and 4.3-fold that of the 3-month-old mice in our previous studies. Analysis of mutation spectra showed that both G:C to A:T transitions and G:C to T:A transversions were predominant in the lungs of control mice at all ages. In benzo [a] pyrene-treated mice in our previous studies, G:C to T:A transversions were the predominant type of mutation (55 %) at 3 months. Here we found that their frequency was dramatically reduced to 18 % by 24 months, and the G:C to A:T transitions became the predominant type of mutation in 24-month-old mice (41 % [16 % at CpG sites]). Our findings suggest that susceptibility to benzo[a]pyrene is highest in young mice and is elevated again in old age. The elevation of G:C to A:T transitions was observed following benzo [a] pyrene administration in the lungs of aged mice, and accelerated cytidine deamination is

speculated to contribute to this elevation.

Keywords: benzo [a] pyrene, mutation spectrum, age

---

\*<sup>1</sup> National Institute for Environmental Studies

\*<sup>2</sup> Juntendo University

Sugiyama K, Yamada M, Awogi T\*<sup>1</sup>, Hakura A\*<sup>2</sup>:  
The strains recommended for use in the bacterial reverse mutation test (OECD guideline 471) can be certified as non-genetically modified organisms.

*Genes and Environment* 2016;38:1.

The bacterial reverse mutation test, called Ames test, is used worldwide. In Japan, the genetically modified organisms (GMOs) are regulated under the Cartagena Domestic Law, and organisms obtained by self-cloning and/or natural occurrence would be exempted from the law case by case. The strains recommended for use in the bacterial reverse mutation test (OECD guideline 471), have been considered as non-GMOs because they can be constructed by self-cloning or naturally occurring bacterial strains, or do not disturb the biological diversity. The present article explains the reasons why these strains should be classified as non-GMOs.

Keywords: Ames test, genetically modified organisms, Cartagena Domestic Law

---

\*<sup>1</sup> Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

\*<sup>2</sup> Eisai Co., Ltd.

Matsuda T\*, Matsuda S\*, Yamada M: Mutation assay using single-molecule real-time (SMRT) sequencing technology.

*Genes and Environment* 2015;37:15.

Introduction: We present here a simple, phenotype-independent mutation assay using a PacBio RSII DNA sequencer employing single-molecule real-time (SMRT) sequencing technology. *Salmonella typhimurium* YG7108 was treated with the alkylating agent *N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU) and grown through several generations to fix the induced mutations, the DNA was extracted and the mutations were analyzed by using the SMRT DNA sequencer. Results: The ENU-induced base-substitution frequency was 15.4 per megabase pair, which is highly consistent with our previous results based on colony isolation and next-generation sequencing. The induced mutation spectrum (95%

G:C to A:T, 5% A:T to G:C) is also consistent with the known ENU signature. The base-substitution frequency of the control was calculated to be less than 0.12 per megabase pair. Conclusions: Ultra-low frequency base-substitution mutations can be detected directly by using the SMRT DNA sequencer, and this technology provides a phenotype-independent mutation assay.

Keywords: PacBio RSII DNA sequencer, Single-molecule real-time (SMRT) sequencing technology, Mutation assay

---

\* Kyoto University

Yasui M, Kamoshita N, Nishimura T\*, Honma M: Mechanism of induction of binucleated cells by multiwalled carbon nanotubes as revealed by live-cell imaging analysis.

*Genes and Environment* 2015;37:6.

Introduction: Asbestos-induced formation of mesothelioma has been attributed to phenotypic and morphological changes in cells caused by polyploidization and aneuploidization, and multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) are suspected to have similar adverse effects due to the similarity in their physical form. MWCNTs and crocidolite, a kind of asbestos, show similar genotoxicity characteristics *in vitro*, including induction of binucleated cells. We here focused on the mechanisms underlying polyploidization during cell division on exposure to MWCNTs and conducted confocal live-cell imaging analysis using MDA-435 human breast cancer cells in which chromosomes and centromeres were visualized using fluorescent proteins. Findings: During anaphase, relatively short MWCNT fibers (approximately 5  $\mu$ m) migrated rapidly to either of the daughter cells, whereas some long MWCNT fibers (approximately 20  $\mu$ m) remained inside the contractile ring and induced the formation of binucleated cells through impairment of cytokinesis. This toxicity mechanism has also been observed with crocidolite. Conclusions: Our findings indicate that the mechanism of polyploidization by MWCNTs is very similar to that observed with crocidolite.

Keywords: Polyploidization, Crocidolite, Cytokinesis

---

\* Teikyo Heisei University

Sassa A, Kamoshita N, Kanemaru Y, Honma M, Yasui M: Nucleotide excision repair suppresses mutagenesis caused by clustered oxidative DNA adducts in human genome.

*PLOS One* 2015;10:e0142218.

Clustered DNA damage is defined as multiple sites of DNA damage within one or two helical turns of the duplex DNA. This complex damage is often formed by exposure of the genome to ionizing radiation and is difficult to repair. The mutagenic potential and repair mechanisms of clustered DNA damage in human cells remain to be elucidated. In this study, we investigated the involvement of nucleotide excision repair (NER) in clustered oxidative DNA adducts. To identify the *in vivo* protective roles of NER, we established a human cell line lacking the NER gene xeroderma pigmentosum group A (*XPA*). *XPA* knockout (KO) cells were generated from TSCER122 cells derived from the human lymphoblastoid TK6 cell line. To analyze the mutagenic events in DNA adducts *in vivo*, we previously employed a system of tracing DNA adducts in the targeted mutagenesis (TATAM), in which DNA adducts were site-specifically introduced into intron 4 of thymidine kinase genes. Using the TATAM system, one or two tandem 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG) adducts were introduced into the genomes of TSCER122 or *XPA* KO cells. In *XPA* KO cells, the proportion of mutants induced by a single 8-oxoG (7.6%) was comparable with that in TSCER122 cells (8.1%). In contrast, the lack of *XPA* significantly enhanced the mutant proportion of tandem 8-oxoG in the transcribed strand (12%) compared with that in TSCER122 cells (7.4%) but not in the non-transcribed strand (12% and 11% in *XPA* KO and TSCER122 cells, respectively). By sequencing the tandem 8-oxoG-integrated loci in the transcribed strand, we found that the proportion of tandem mutations was markedly increased in *XPA* KO cells. These results indicate that NER is involved in repairing clustered DNA adducts in the transcribed strand *in vivo*.

Keywords: clustered DNA damage, ionizing radiation, xeroderma pigmentosum group A

Horibata K, Kono S<sup>\*1</sup>, Ishigami C<sup>\*1</sup>, Zhang X<sup>\*1</sup>, Aizawa M<sup>\*2</sup>, Kako Y<sup>\*2</sup>, Ishii T<sup>\*3</sup>, Kosaki R<sup>\*4</sup>, Saijo M<sup>\*1</sup>, Tanaka K<sup>\*1</sup>: Constructive rescue of TFIID instability by an alternative isoform of XPD derived

from a mutated XPD allele in mild but not severe XP-D/CS.

*J Hum Genet.* 2015;60:259-65.

Mutations in XPD cause xeroderma pigmentosum (XP), XP and Cockayne syndrome (CS) crossover syndrome (XP/CS), trichothiodystrophy and cerebro-oculo-facio-skeletal syndrome (COFS). COFS represents the most severe end of the CS spectrum. This study reports two Japanese patients, COFS-05-135 and COFS-Chiba1, who died at ages of <1 year and exhibited typical COFS manifestations caused by XPD mutations p.[I619del];[R666W] and p.[G47R];[I619del], respectively. Two other cases of severe XP-D/CS (XP group D/CS), XP1JI (p.[G47R];[0]) and XPCS1PV (p.[R666W];[0]), died at ages <2 years. On the other hand, two cases of mild XP-D/CS, XP1NE (p.[G47R];[L461V;V716\_R730del]) and XPCS118LV (p.[L461V;V716\_R730del];[R666W]), lived beyond 37 years of age. p.I619Del and p.[L461V;V716\_R730del] are functionally null; therefore, despite the differences in clinical manifestations, the functional protein in all of these patients was either p.G47R or p.R666W. To resolve the discrepancies in these XPD genotype-phenotype relationships, the p.[L461V;V716\_R730del] allele was analyzed and we found that p.[L461V;A717G] was expressed from the same allele as p.[L461V;V716\_R730del] by authentic splicing. Additionally, p.[L461V;A717G] could partially rescue the loss of XPD function, resulting in the milder manifestations observed in XP1NE and XPCS118LV.

Keywords: Cockayne syndrome, cerebro-oculo-facio-skeletal syndrome, xeroderma pigmentosum

\*<sup>1</sup> Osaka University

\*<sup>2</sup> Chiba Children's Hospital

\*<sup>3</sup> Kawaguchi Kogyo General Hospital

\*<sup>4</sup> National Center for Child Health and Development

Kato H, Fujii S<sup>\*</sup>, Takahashi M, Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Ono A, Hirose A: Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats.

*Environ Toxicol.* 2015;30:1235-43.

Perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCA) are a series of environmental contaminants that have received attention because of their possible adverse effects on wildlife and human health. Although many toxicological studies have been performed on perfluorooctanoic

acid with carbon chain length C8, available toxicity data on PFCAs with longer chains are still insufficient to evaluate their hazard. A combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening study for perfluorododecanoic acid (PFDoA; C12) was conducted in accordance with OECD guideline 422 to fill these toxicity data gaps. PFDoA was administered by gavage to male and female rats at 0.1, 0.5, or 2.5 mg/kg/day. The administration of PFDoA at 0.5 and 2.5 mg/kg/day for 42–47 days mainly affected the liver, in which hypertrophy, necrosis, and inflammatory cholestasis were noted. Body weight gain was markedly inhibited in the 2.5 mg/kg/day group, and a decrease in hematopoiesis in the bone marrow and atrophic changes in the spleen, thymus, and adrenal gland were also observed. Regarding reproductive/developmental toxicity, various histopathological changes, including decreased spermatid and spermatozoa counts, were observed in the male reproductive organs, while continuous diestrus was observed in the females of the 2.5 mg/kg/day group. Seven of twelve females receiving 2.5 mg/kg/day died during late pregnancy while four other females in this group did not deliver live pups. No reproductive or developmental parameters changed at 0.1 or 0.5 mg/kg/day. Based on these results, the NOAELs of PFDoA were concluded to be 0.1 mg/kg/day for repeated dose toxicity and 0.5 mg/kg/day for reproductive/developmental toxicity.

Keywords: perfluorododecanoic acid, repeated dose toxicity, reproductive toxicity

---

\* Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.

Morita T, Uno Y<sup>\*1</sup>, Honma M, Kojima H, Hayashi M<sup>\*2</sup>, Tice RC<sup>\*3</sup>, Corvi R<sup>\*4</sup>, Schechtman L<sup>\*5</sup>: The JaCVAM International Validation Study on the *in vivo* Comet Assay: Selection of Test Chemicals. *Mutat Res.* 2015;786-788:14-44.

The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) sponsored an international prevalidation and validation study of the *in vivo* rat alkaline pH comet assay. Based on existing carcinogenicity and genotoxicity data and chemical class information, 90 chemicals were identified as primary candidates for use in the validation study.

From these 90 chemicals, 46 secondary candidates and then 40 final chemicals were selected based on a sufficiency of carcinogenic and genotoxic data, differences in chemical class or genotoxic or carcinogenic mode of action (MOA), availability, price, and ease of handling.

Keywords: JaCVAM Validation study, *In vivo* comet assay, Chemical selection

---

<sup>\*1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd.

<sup>\*2</sup> BioSafety Research Center

<sup>\*3</sup> NTP, NIEHS

<sup>\*4</sup> EURL ECVAM

<sup>\*5</sup> Innovative Toxicology Consulting

Uno Y<sup>\*1</sup>, Kojima H, Omori T<sup>\*2</sup>, Corvi R<sup>\*3</sup>, Honma M, Schechtman LM<sup>\*4</sup>, Tice RR<sup>\*5</sup>, Burlinson B<sup>\*6</sup>, Escobar P<sup>\*7</sup>, Kraynak AR<sup>\*8</sup>, Nakagawa Y<sup>\*9</sup>, Nakajim M<sup>\*10</sup>, Pant K<sup>\*11</sup>, Asano N<sup>\*12</sup>, Lovell D<sup>\*13</sup>, Morita T, Ohno Y, Hayashi M<sup>\*14</sup>: JaCVAM-organized international validation study of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens: I. Summary of pre-validation study results.

*Mutat Res.* 2015;786-788:3-13.

The *in vivo* rodent alkaline comet assay (comet assay) is used internationally to investigate the *in vivo* genotoxic potential of test chemicals. This assay, however, has not previously been formally validated. The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) organized an international validation study to evaluate the reliability and relevance of the assay for identifying genotoxic carcinogens, using liver and stomach as target organs. The ultimate goal of this validation effort was to establish an Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guideline. The purpose of the pre-validation studies (i.e., Phase 1 through 3), conducted in four or five laboratories with extensive comet assay experience, was to optimize the protocol to be used during the definitive validation study.

Keywords: Comet assay, Validation study, JaCVAM

---

<sup>\*1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd.

<sup>\*2</sup> Doshisha University

<sup>\*3</sup> Institute for Health and Consumer Protection

<sup>\*4</sup> Innovative Toxicology Consulting

<sup>\*5</sup> NIEHS

- \*<sup>6</sup> Huntingdon Life Sciences
- \*<sup>7</sup> Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc
- \*<sup>8</sup> Merck Research Laboratories
- \*<sup>9</sup> Hatano Research Institute
- \*<sup>10</sup> University of Shizuoka
- \*<sup>11</sup> BioReliance
- \*<sup>12</sup> Kinki University
- \*<sup>13</sup> University of Surrey
- \*<sup>14</sup> Biosafety Research Center

Uno Y<sup>\*1</sup>, Kojima H, Omori T<sup>\*2</sup>, Corvi R<sup>\*3</sup>, Honma M, Schechtman LM<sup>\*4</sup>, Tice RR<sup>\*5</sup>, Beevers C<sup>\*6</sup>, Boeck MB<sup>\*7</sup>, Burlinson B<sup>\*8</sup>, Hobbs CH<sup>\*9</sup>, Kitamoto S<sup>\*10</sup>, Kraynakl AR<sup>\*11</sup>, McNamee J<sup>\*12</sup>, Nakagawa Y<sup>\*13</sup>, Pant K<sup>\*14</sup>, Plappert-Helbig U<sup>\*15</sup>, Priestley C<sup>\*16</sup>, Takasawa H<sup>\*17</sup>, Wada K<sup>\*18</sup>, Wirnitzer U<sup>\*19</sup>, Asano N<sup>\*20</sup>, Escobar P<sup>\*21</sup>, Lovell D<sup>\*22</sup>, Morita T, Nakajima M<sup>\*23</sup>, Ohno Y, Hayashi M<sup>\*24</sup>: JaCVAM-organized international validation study of the in vivo rodent alkaline comet assay for detection of genotoxic carcinogens: II. Summary of definitive validation study results.

*Mutat Res.* 2015;786-788:47-56.

The in vivo rodent alkaline comet assay (comet assay) is used internationally to investigate the in vivo genotoxic potential of test chemicals. The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) organized an international validation study. The study protocol was optimized in the pre-validation studies, and then the definitive (4th phase) validation study was conducted in two steps. In the 1st step, assay reproducibility was confirmed among laboratories using four coded reference chemicals and the positive control ethyl methanesulfonate. In the 2nd step, the predictive capability was investigated using 40 coded chemicals with known genotoxic and carcinogenic activity (i.e., genotoxic carcinogens, genotoxic non-carcinogens, non-genotoxic carcinogens, and non-genotoxic non-carcinogens). Based on the results obtained, the in vivo comet assay is concluded to be highly capable of identifying genotoxic chemicals and therefore can serve as a reliable predictor of rodent carcinogenicity.

Keywords: Comet assay, Validation study, JaCVAM

- \*<sup>3</sup> Institute for Health and Consumer Protection
- \*<sup>4</sup> Innovative Toxicology Consulting
- \*<sup>5</sup> NIEHS
- \*<sup>6</sup> Covance Laboratories Ltd.
- \*<sup>7</sup> Jansen Research & Development
- \*<sup>8</sup> Huntingdon Life Sciences
- \*<sup>9</sup> Integrated Laboratory Systems, Inc.
- \*<sup>10</sup> Sumitomo Chemical Co. Ltd.
- \*<sup>11</sup> Merck Research Laboratories
- \*<sup>12</sup> Health Canada
- \*<sup>13</sup> Hatano Research Institute
- \*<sup>14</sup> BioReliance
- \*<sup>15</sup> Novartis
- \*<sup>16</sup> AstraZeneca
- \*<sup>17</sup> LSI Medience
- \*<sup>18</sup> The Institute of Environmental Toxicology
- \*<sup>19</sup> Bayer HealthCare AG
- \*<sup>20</sup> Kinki University
- \*<sup>21</sup> Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc.
- \*<sup>22</sup> University of London
- \*<sup>23</sup> University of Shizuoka
- \*<sup>24</sup> Biosafety Research Center

Uno Y<sup>\*1</sup>, Morita T, Luijten M<sup>\*2</sup>, Beevers C<sup>\*3</sup>, Hamada S<sup>\*4</sup>, Itoh S<sup>\*5</sup>, Ohyama W<sup>\*6</sup>, Takasawa H<sup>\*4</sup>: Recommended protocols for the liver micronucleus test: report of the IWGT working group.

*Mutat Res.* 2015;783:13-8.

At the 6th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT), the liver micronucleus test working group discussed practical aspects of the in vivo rodent liver micronucleus test (LMNT). The group members focused on the three methodologies currently used, i.e., a partial hepatectomy (PH) method, a juvenile/young rat (JR) method, and a repeated-dose (RD) method in adult rodents. Since the liver is the main organ that metabolizes chemicals, the LMNT is expected to detect clastogens, especially those that need metabolic activation in the liver, and aneugens. Based on current data the three methods seem to have a high sensitivity and specificity, but more data, especially on non-genotoxic but toxic substances, would be needed to fully evaluate the test performance. The working group concluded that the LMNT could be used as a second in vivo test when a relevant positive result in in vitro mammalian cell genotoxicity tests is noted (especially under the condition of metabolic activation),

\*<sup>1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd.

\*<sup>2</sup> Doshisha University

and a negative result is observed in the in vivo BM/PB-MNT.

Keywords: Micronucleus test, Liver, IWGT

\*<sup>1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd.

\*<sup>2</sup> RIVM

\*<sup>3</sup> Covance Laboratories Ltd.

\*<sup>4</sup> LSI Medience

\*<sup>5</sup> Daiichi Sankyo Co. Ltd.

\*<sup>6</sup> Yakult Honsha Co., Ltd.

Uno Y<sup>\*1</sup>, Morita T, Luijten M<sup>\*2</sup>, Beevers C<sup>\*3</sup>, Hamada S<sup>\*4</sup>, Itoh S<sup>\*5</sup>, Ohyama W<sup>\*6</sup>, Takasawa H<sup>\*4</sup>: Micronucleus test in rodent tissues other than liver or erythrocytes: Report of the IWGT working group. *Mutat Res.* 2015;783:19-22.

At the 6th International Workshop on Genotoxicity Testing, the liver micronucleus test (MNT) working group briefly discussed the MNT using tissues other than liver/erythrocytes. Many tissues other than liver/erythrocytes have been studied, primarily for research purposes. They have included the colon and intestinal epithelium, skin, spleen, lung, stomach, bladder, buccal mucosa, vagina, and fetal/neonatal tissues. Recently, there has been particular focus on the gastrointestinal (GI) tract as it is a contact site associated with high exposure following oral gavage. Based on limited data currently available, the rodent MNT using the glandular stomach and/or colon seems to detect genotoxic carcinogens with GI tract target-organ specificity. The working group concluded that the GI tract MNT would be a promising method to examine clastogenicity or aneugenicity of test chemicals in the stomach and/or colon. Further data will be needed to fully establish the methods, and to identify the sensitivity and specificity of the GI tract MNT.

Keywords: Micronucleus test, Stomach, Colon

\*<sup>1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd.

\*<sup>2</sup> RIVM

\*<sup>3</sup> Covance Laboratories Ltd.

\*<sup>4</sup> LSI Medience

\*<sup>5</sup> Daiichi Sankyo Co. Ltd.

\*<sup>6</sup> Yakult Honsha Co., Ltd.

MacGregor JT<sup>\*1</sup>, Frötschl R<sup>\*2</sup>, White PA<sup>\*3</sup>, Crump KS<sup>\*4</sup>, Eastmond DA<sup>\*5</sup>, Fukushima S<sup>\*6</sup>, Guérard M<sup>\*7</sup>,

Hayashi M<sup>\*8</sup>, Soeteman-Hernandez L<sup>\*9</sup>, Kasamatsu T<sup>\*10</sup>, Levy D<sup>\*11</sup>, Morita T, Müller L<sup>\*7</sup>, Schoeny R<sup>\*12</sup>, Schuler MJ<sup>\*13</sup>, Thybaud V<sup>\*14</sup>, Johnson GE<sup>\*15</sup>: IWGT Report on Quantitative Approaches to Genotoxicity Risk Assessment I. Methods and metrics for defining exposure-response relationships and points of departure (PoDs).

*Mutat Res.* 2015;783:55-65.

This report summarizes the discussion, conclusions, and points of consensus of the IWGT Working Group on Quantitative Approaches to Genetic Toxicology Risk Assessment (QWG). Topics addressed included (1) the need for quantitative dose-response analysis, (2) methods to analyze exposure-response relationships & derive point of departure (PoD) metrics, (3) points of departure (PoD) and mechanistic threshold considerations, (4) approaches to define exposure-related risks, (5) empirical relationships between genetic damage (mutation) and cancer, and (6) extrapolations across test systems and species. The QWG recognizes that scientific evidence suggests that thresholds below which genotoxic effects do not occur likely exist for both DNA-reactive and DNA-nonreactive substances, but notes that small increments of the spontaneous level cannot be unequivocally excluded either by experimental measurement or by mathematical modeling. Therefore, rather than debating the theoretical possibility of such low-dose effects, emphasis should be placed on determination of PoDs from which acceptable exposure levels can be determined by extrapolation using available mechanistic information and appropriate uncertainty factors.

Keywords: Genotoxicity, Quantitative risk assessment, Points of departure

\*<sup>1</sup> Toxicology Consulting Services

\*<sup>2</sup> BfR

\*<sup>3</sup> Health Canada

\*<sup>4</sup> Ruston

\*<sup>5</sup> University of California

\*<sup>6</sup> Japan Bioassay Research Center

\*<sup>7</sup> Hoffmann-La Roche Ltd.

\*<sup>8</sup> Biosafety Research Center

\*<sup>9</sup> RIVM

\*<sup>10</sup> Kao Corporation

\*<sup>11</sup> US FDA

- \*<sup>12</sup> US EPA  
 \*<sup>13</sup> Pfizer, Inc.  
 \*<sup>14</sup> Sanofi aventis  
 \*<sup>15</sup> Swansea University

MacGregor JT<sup>\*1</sup>, Frötschl R<sup>\*2</sup>, White PA<sup>\*3</sup>, Crump KS<sup>\*4</sup>, Eastmond DA<sup>\*5</sup>, Fukushima S<sup>\*6</sup>, Guérard M<sup>\*7</sup>, Hayashi M<sup>\*8</sup>, Soeteman-Hernandez L<sup>\*9</sup>, Johnson GE<sup>\*10</sup>, Kasamatsu T<sup>\*11</sup>, Levy D<sup>\*12</sup>, Morita T, Müller L<sup>\*7</sup>, Schoeny R<sup>\*13</sup>, Schuler MJ<sup>\*14</sup>, Thybaud V<sup>\*15</sup>. IWGT report on quantitative approaches to genotoxicity risk assessment II. Use of point-of-departure (PoD) metrics in defining acceptable exposure limits and assessing human risk.

*Mutat Res.* 2015;783:66-78.

This is the second of two reports from the International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT) Working Group on Quantitative Approaches to Genetic Toxicology Risk Assessment (the QWG). This report summarizes the QWG discussions and recommendations. Recommendations include the selection of appropriate genetic endpoints and target tissues, uncertainty factors and extrapolation methods to be considered, the importance and use of information on mode of action, toxicokinetics, metabolism, and exposure biomarkers when using quantitative exposure-response data to determine acceptable exposure levels in human populations or to assess the risk associated with known or anticipated exposures. It was concluded that there is a general correlation between cancer induction and mutagenic and/or clastogenic damage for agents thought to act via a genotoxic mechanism, but that the correlation is limited due to an inadequate number of cases in which mutation and cancer can be compared at a sufficient number of doses in the same target tissues of the same species and strain exposed under directly comparable routes and experimental protocols.

Keywords: Benchmark dose, Extrapolation, Low-dose risk

\*<sup>1</sup> Toxicology Consulting Services

\*<sup>2</sup> BfR

\*<sup>3</sup> Health Canada

\*<sup>4</sup> Ruston

\*<sup>5</sup> University of California

\*<sup>6</sup> Japan Bioassay Research Center

- \*<sup>7</sup> Hoffmann-La Roche Ltd.  
 \*<sup>8</sup> Biosafety Research Center  
 \*<sup>9</sup> RIVM  
 \*<sup>10</sup> Swansea University  
 \*<sup>11</sup> Kao Corporation  
 \*<sup>12</sup> US FDA  
 \*<sup>13</sup> US EPA  
 \*<sup>14</sup> Pfizer, Inc.  
 \*<sup>15</sup> Sanofi aventis

Hamada S<sup>\*1</sup>, Ohyama W<sup>\*2</sup>, Takashima R<sup>\*3</sup>, Shimada K<sup>\*4</sup>, Matsumoto K<sup>\*5</sup>, Kawakami S<sup>\*6</sup>, Uno F<sup>\*7</sup>, Sui H<sup>\*8</sup>, Shimada Y<sup>\*9</sup>, Imamura T<sup>\*10</sup>, Matsumura S<sup>\*11</sup>, Sanada H<sup>\*12</sup>, Inoue K<sup>\*13</sup>, Muto S<sup>\*14</sup>, Ogawa I<sup>\*15</sup>, Hayashi A<sup>\*16</sup>, Takayanagi T<sup>\*17</sup>, Ogiwara Y<sup>\*18</sup>, Maeda A<sup>\*19</sup>, Okada E<sup>\*2</sup>, Terashima Y<sup>\*20</sup>, Takasawa H<sup>\*1</sup>, Narumi K<sup>\*2</sup>, Wako Y<sup>\*1</sup>, Kawasaki K<sup>\*1</sup>, Sano M<sup>\*6</sup>, Ohashi N<sup>\*6</sup>, Morita T, Kojima H, Honma M, Hayashi M<sup>\*6</sup>: Evaluation of the repeated-dose liver and gastrointestinal tract micronucleus assays with 22 chemicals using young adult rats: Summary of the collaborative study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/The Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS) – Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS).

*Mutat Res.* 2015;780-781:2-17.

The repeated-dose liver micronucleus (RDLMN) assay using young adult rats has the potential to detect hepatocarcinogens. We conducted a collaborative study to assess the performance of this assay and to evaluate the possibility of integrating it into general toxicological studies. Twenty-two model chemicals, including some hepatocarcinogens, were tested in 14- and/or 28-day RDLMN assays. As a result, 14 out of the 16 hepatocarcinogens were positive, including 9 genotoxic hepatocarcinogens, which were reported negative in the bone marrow/peripheral blood micronucleus (MN) assay by a single treatment. These outcomes show the high sensitivity of the RDLMN assay to hepatocarcinogens. Regarding the specificity, 4 out of the 6 non-liver targeted genotoxic carcinogens gave negative responses. This shows the high organ specificity of the RDLMN assay. The outcomes of our collaborative study indicated that the new techniques to detect chromosomal aberrations in vivo in several tissues worked successfully.

Keywords: Micronucleus, Liver, Repeated-dose



- \*<sup>1</sup> LSI Medience  
\*<sup>2</sup> Yakult Honsha Co., Ltd.  
\*<sup>3</sup> Astellas Pharma Inc  
\*<sup>4</sup> Astellas Research Technologies Co., Ltd.  
\*<sup>5</sup> Asahi Kasei Pharma Corporation  
\*<sup>6</sup> Biosafety Research Center  
\*<sup>7</sup> Food and Drug Safety Center  
\*<sup>8</sup> Hokko Chemical Industry Co., Ltd  
\*<sup>9</sup> Ina Research Inc.  
\*<sup>10</sup> Kao Corporation  
\*<sup>11</sup> Kaken Pharmaceutical Co., Ltd  
\*<sup>12</sup> Maruho Co., Ltd.  
\*<sup>13</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation  
\*<sup>14</sup> Nissan Chemical Industries, Ltd.  
\*<sup>15</sup> Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.  
\*<sup>16</sup> Suntory Business Expert Limited  
\*<sup>17</sup> Taisho Pharmaceutical, Co., Ltd.  
\*<sup>18</sup> Toray Industries Inc.  
\*<sup>19</sup> Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.  
\*<sup>20</sup> University of Shizuoka

Hirata-Koizumi M, Fujii S\*, Hina K, Matsumoto M, Takahashi M, Ono A, Hirose A: Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid.

*Fundam Toxicol Sci.* 2015;2:177-90.

Perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) are global environmental contaminants that are the cause of concern due to their possible effects on wildlife and human health. Since few studies have investigated the toxicity of long-chain PFCAs, we have performed combined repeated dose toxicity studies with the reproduction/developmental toxicity screening tests. We previously examined perfluoroundecanoic acid (C11), perfluorododecanoic acid (C12), and perfluorooctadecanoic acid (C18). We herein reported our results for perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA; C14) and perfluorohexadecanoic acid (PFHxDA; C16). Male and female rats were administered PFTeDA at 1, 3 or 10 mg/kg/day or PFHxDA at 4, 20 or 100 mg/kg/day by gavage, and each female was then mated with a male in the same dose group after 14 days. Males were dosed for a total of 42 days and females were dosed throughout the gestation period

until day 5 after parturition. PFTeDA and PFHxDA caused hepatocyte hypertrophy and/or fatty changes in the liver at the middle and high doses. PFTeDA also induced follicular cell hypertrophy in the thyroid at the middle and high doses. The only reproductive/developmental effect observed was an inhibited postnatal body weight gain in pups in the 10 mg/kg/day PFTeDA group. Based on these results, the NOAELs for the repeated dose and reproductive/developmental toxicity were concluded to be 1 and 3 mg/kg/day for PFTeDA and 4 and 100 mg/kg/day for PFHxDA, respectively. Our current and previous results indicate that the toxicity of PFCAs decreases with increases in the carbon chain length from 12 to 18.

**Keywords:** Perfluorotetradecanoic acid, Perfluorohexadecanoic acid, Reproductive and developmental toxicity

\* Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd

Ono A, Kobayashi K, Serizawa H\*, Kawamura T, Kato H, Matsumoto M, Takahashi M, Hirata-Koizumi M, Matsushima Y, Hirose A: A repeated dose 28-day oral toxicity study of  $\beta$ -bromostyrene in rats.

*Fundam Toxicol Sci.* 2015;2:191-200.

To obtain information on the possible repeated-dose oral toxicity of  $\beta$ -bromostyrene and its reversibility, Crl: CD (SD) rats were administered  $\beta$ -bromostyrene through gavage at 0, 30, 125, and 500 mg/kg/day once for 28 days, followed by a 14-day recovery period. In the 500 mg/kg group, decrease in spontaneous movement was observed in all males and females on the first dosing day, and one female rat died on Day 3. There were no significant changes in body weight or food consumption. An increase in urine volume and decrease in urine osmolality were observed in males receiving 125 mg/kg and above, and an increase in urine volume was observed in females receiving 500 mg/kg. On blood biochemical examination, increases in total cholesterol, phospholipids, triglycerides, total protein, albumin, inorganic phosphorus, and/or chlorine were observed in the 125 and/or 500 mg/kg groups. Histopathologically, eosinophilic bodies of tubular cells and/or renal tubular degeneration were observed in the kidneys of males in the 125 and 500 mg/kg

groups. In the thyroid, hypertrophy of follicular cells was observed in females receiving 125 mg/kg and above and males receiving 500 mg/kg. Furthermore, centrilobular hepatocellular hypertrophy was observed in both sexes receiving 500 mg/kg. These changes observed at the end of the dosing period disappeared or were reduced after the recovery period. Based on these results, the no-observed-adverse-effect-level of  $\beta$ -bromostyrene was judged to be 30 mg/kg/day for both sexes.

Keywords:  $\beta$ -bromostyrene, OECD TG407, Repeated dose toxicity

\* Bozo Research Center Inc.

Okamura H<sup>\*1</sup>, Abe H<sup>\*2</sup>, Hasegawa-Baba Y<sup>\*2</sup>, Saito K<sup>\*1</sup>, Sekiya F<sup>\*1</sup>, Hayashi S<sup>\*1</sup>, Mirokuji Y<sup>\*1</sup>, Maruyama S<sup>\*1</sup>, Ono A, Nakajima M<sup>\*3</sup>, Degawa M<sup>\*3</sup>, Ozawa S<sup>\*4</sup>, Shibutani M<sup>\*2</sup>, Maitani T: The Japan Flavour and Fragrance Materials Association's (JFFMA) safety assessment of acetal food flavouring substances uniquely used in Japan.

*Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2015;32:1384-96.

Using the procedure devised by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), we performed safety evaluations on five acetal flavouring substances uniquely used in Japan: acetaldehyde 2,3-butanediol acetal, acetoin dimethyl acetal, hexanal dibutyl acetal, hexanal glyceryl acetal and 4-methyl-2-pentanone propyleneglycol acetal. As no genotoxicity study data were available in the literature, all five substances had no chemical structural alerts predicting genotoxicity. Using Cramer's classification, acetoin dimethyl acetal and hexanal dibutyl acetal were categorised as class I, and acetaldehyde 2,3-butanediol acetal, hexanal glyceryl acetal and 4-methyl-2-pentanone propyleneglycol acetal as class III. The estimated daily intakes for all five substances were within the range of 1.45-6.53  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$  using the method of maximised survey-derived intake based on the annual production data in Japan from 2001, 2005, 2008 and 2010, and 156-720  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$  using the single-portion exposure technique (SPET), based on the average use levels in standard portion sizes of flavoured foods. The daily intakes of the two class I substances were below the threshold

of toxicological concern (TTC) - 1800  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ . The daily intakes of the three class III substances exceeded the TTC (90  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ ). Two of these, acetaldehyde 2,3-butanediol acetal and hexanal glyceryl acetal, were expected to be metabolised into endogenous products after ingestion. For 4-methyl-2-pentanone propyleneglycol acetal, one of its metabolites was not expected to be metabolised into endogenous products. However, its daily intake level, based on the estimated intake calculated by the SPET method, was about 1/15 000th of the no observed effect level. It was thus concluded that all five substances raised no safety concerns when used for flavouring foods at the currently estimated intake levels. While no information on in vitro and in vivo toxicity for all five substances was available, their metabolites were judged as raising no safety concerns at the current levels of intake.

Keywords: acetals, Cramer's decision tree, food flavours

<sup>\*1</sup> Japan Flavour and Fragrance Materials Association

<sup>\*2</sup> Tokyo University of Agriculture and Technology

<sup>\*3</sup> University of Shizuoka

<sup>\*4</sup> Iwate Medical University

Hashiguchi S\*, Yoshida H\*, Akashi T\*, Komemoto K\*, Ueda T\*, Ikarashi Y, Miyauchi A\*, Konno K\*, Yamanaka S\*, Hirose A, Kurokawa M\*, Watanabe W\*: Titanium dioxide nanoparticles exacerbate pneumonia in respiratory syncytial virus (RSV)-infected mice. *Environ.*

*Toxicol Pharmacol.* 2015;39:879-86.

To reveal the effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles, used in cosmetics and building materials, on the immune response, a respiratory syncytial virus (RSV) infection mouse model was used. BALB/c mice were exposed once intranasally to TiO<sub>2</sub> at 0.5mg/kg and infected intranasally with RSV five days later. The levels of IFN- $\gamma$  and chemokine CCL5, representative markers of pneumonia, in the bronchoalveolar lavage fluids of RSV-infected mice had increased significantly in TiO<sub>2</sub>-exposed mice compared with the control on day 5 post-infection, but not in uninfected mice. While pulmonary viral titers were not affected by TiO<sub>2</sub> exposure, an increase in the infiltration of lymphocytes into the alveolar septa in lung tissues was observed. Immunohistochemical analysis revealed aggregation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles near inflammatory cells in the

severely affected region. Thus, a single exposure to TiO<sub>2</sub> nanoparticles affected the immune system and exacerbated pneumonia in RSV-infected mice.

Keywords: TiO<sub>2</sub>, Immune response, Pneumonia

\* Kyushu University of Health and Welfare

Watanabe H<sup>\*1</sup>, Tamura I<sup>\*1,2</sup>, Abe R<sup>\*1</sup>, Takanobu H<sup>\*1</sup>, Nakamura A<sup>\*1</sup>, Suzuki T<sup>\*3</sup>, Hirose A, Nishimura T<sup>\*4</sup>, Tatarazako N<sup>\*1</sup>: Chronic toxicity of an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals to three aquatic organisms (alga, daphnid, and fish).

*Environ Toxicol Chem.* 2015;35:996-1006.

Principles of concentration addition and independent action have been used as effective tools to predict mixture toxicity based on individual component toxicity. The authors investigated the toxicity of a pharmaceutical mixture composed of the top 10 detected active pharmaceutical ingredients (APIs) in the Tama River (Tokyo, Japan) in a relevant concentration ratio. Both individual and mixture toxicities of the 10 APIs were evaluated by 3 short-term chronic toxicity tests using the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, the daphnid *Ceriodaphnia dubia*, and the zebrafish *Danio rerio*. With the exception of clarithromycin toxicity to alga, the no-observed-effect concentration of individual APIs for each test species was dramatically higher than the highest concentration of APIs found in the environment. The mixture of 10 APIs resulted in toxicity to alga, daphnid, and fish at 6.25 times, 100 times, and 15000 times higher concentrations, respectively, than the environmental concentrations of individual APIs. Predictions by concentration addition and independent action were nearly identical for alga, as clarithromycin was the predominant toxicant in the mixture. Both predictions described the observed mixture toxicity to alga fairly well, whereas they slightly underestimated the observed mixture toxicity in the daphnid test. In the fish embryo test, the observed toxicity fell between the predicted toxicity by concentration addition and independent action. These results suggested that the toxicity of environmentally relevant pharmaceutical mixtures could be predicted by individual toxicity using either concentration addition or independent action.

Keywords: Active pharmaceutical ingredients, Chronic

Ecotoxicity, Environmental concentration

<sup>\*1</sup> NC3Rs National Institute of Environmental Sciences

<sup>\*2</sup> Okayama University

<sup>\*3</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

<sup>\*4</sup> Teikyo Heisei University

Sewell F<sup>\*1</sup>, Ragan I<sup>\*2</sup>, Marczylo T<sup>\*3</sup>, Anderson B<sup>\*4</sup>, Braun A<sup>\*5</sup>, Casey W<sup>\*6</sup>, Dennison N<sup>\*7</sup>, Griffiths D<sup>\*8</sup>, Guest R<sup>\*8</sup>, Holmes T<sup>\*9</sup>, van Huygevoort T<sup>\*10</sup>, Indans I<sup>\*11</sup>, Kenny T<sup>\*12</sup>, Kojima H, Lee K<sup>\*13</sup>, Prieto P<sup>\*14</sup>, Smith P<sup>\*15</sup>, Smedley J<sup>\*16</sup>, Stokes WS<sup>\*17</sup>, Wnorowski G<sup>\*18</sup>, Horgan G<sup>\*19</sup>: A global initiative to refine acute inhalation studies through the use of 'evident toxicity' as an endpoint: Towards adoption of the fixed concentration procedure.

*Regul Toxicol Pharmacol.* 2015;73:770-9.

Acute inhalation studies are conducted in animals as part of chemical hazard identification and characterisation, including for classification and labelling purposes. Current accepted methods use death as an endpoint (OECD TG403 and TG436), whereas the fixed concentration procedure (FCP) (draft OECD TG433) uses fewer animals and replaces lethality as an endpoint with 'evident toxicity.' Evident toxicity is defined as clear signs of toxicity that predict exposure to the next highest concentration will cause severe toxicity or death in most animals. A global initiative including 20 organisations, led by the National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) has shared data on the clinical signs recorded during acute inhalation studies for 172 substances (primarily dusts or mists) with the aim of making evident toxicity more objective and transferable between laboratories. Pairs of studies (5 male or 5 female rats) with at least a two-fold change in concentration were analysed to determine if there are any signs at the lower dose that could have predicted severe toxicity or death at the higher concentration. The results show that signs such as body weight loss (>10% pre-dosing weight), irregular respiration, tremors and hypoactivity, seen at least once in at least one animal after the day of dosing are highly predictive (positive predictive value > 90%) of severe toxicity or death at the next highest concentration. The working group has used these data to propose changes to TG433 that incorporate a

clear indication of the clinical signs that define evident toxicity.

Keywords: 3Rs, Acute inhalation studies, Regulatory toxicology

\*<sup>1</sup> NC3Rs

\*<sup>2</sup> Board Member, NC3Rs

\*<sup>3</sup> Public Health England

\*<sup>4</sup> Harlan Laboratories

\*<sup>5</sup> INERIS

\*<sup>6</sup> NICEATM

\*<sup>7</sup> Home Office

\*<sup>8</sup> Harlan Laboratories

\*<sup>9</sup> Exponent International Limited

\*<sup>10</sup> WIL Research

\*<sup>11</sup> Health and Safety Executive

\*<sup>12</sup> Huntingdon Life Sciences

\*<sup>13</sup> Korea Institute of Toxicology

\*<sup>14</sup> EURL ECVAM

\*<sup>15</sup> Charles River Laboratories

\*<sup>16</sup> Charles River Laboratories

\*<sup>17</sup> U.S. Department of Agriculture

\*<sup>18</sup> Product Safety Laboratories

\*<sup>19</sup> BioSS

Yamaguchi H<sup>\*1,2</sup>, Kojima H, Takezawa T<sup>\*1</sup>: Predictive performance of the Vitrigel-eye irritancy test method using 118 chemicals.

*J Appl Toxicol.* 2015;doi:10.1002/jat.3254.

We recently developed a novel Vitrigel-eye irritancy test (EIT) method. The Vitrigel-EIT method is composed of two parts, i.e., the construction of a human corneal epithelium (HCE) model in a collagen vitrigel membrane chamber and the prediction of eye irritancy by analyzing the time-dependent profile of transepithelial electrical resistance values for 3 min after exposing a chemical to the HCE model. In this study, we estimated the predictive performance of Vitrigel-EIT method by testing a total of 118 chemicals. The category determined by the Vitrigel-EIT method in comparison to the globally harmonized system classification revealed that the sensitivity, specificity and accuracy were 90.1%, 65.9% and 80.5%, respectively. Here, five of seven false-negative chemicals were acidic chemicals inducing the irregular rising of transepithelial electrical resistance values. In case of eliminating the test chemical solutions showing

pH 5 or lower, the sensitivity, specificity and accuracy were improved to 96.8%, 67.4% and 84.4%, respectively. Meanwhile, nine of 16 false-positive chemicals were classified irritant by the US Environmental Protection Agency. In addition, the disappearance of ZO-1, a tight junction-associated protein and MUC1, a cell membrane-spanning mucin was immunohistologically confirmed in the HCE models after exposing not only eye irritant chemicals but also false-positive chemicals, suggesting that such false-positive chemicals have an eye irritant potential. These data demonstrated that the Vitrigel-EIT method could provide excellent predictive performance to judge the widespread eye irritancy, including very mild irritant chemicals. We hope that the Vitrigel-EIT method contributes to the development of safe commodity chemicals.

Keywords: collagen vitrigel membrane, corneal epithelium, eye irritation test

\*<sup>1</sup> National Institute of Agrobiological Sciences

\*<sup>2</sup> Kanto Chemical Co., Inc.

Kojima H: The use of 3-D models as alternatives to animal testing.

*Altern Lab Anim.* 2015;43(4):P40-3.

A number of three-dimensional in vitro models are now available, but significant further developments are needed before their routine and widespread use as alternatives to animal testing will be possible.

Keywords: alternative, 3-D, toxicity

Speit G<sup>\*1</sup>, Kojima H, Burlinson B<sup>\*2</sup>, Collins AR<sup>\*3</sup>, Kasper P<sup>\*4</sup>, Plappert-Helbig U<sup>\*5</sup>, Uno Y<sup>\*6</sup>, Vasquez M<sup>\*7</sup>, Beevers C<sup>\*8</sup>, De Boeck M<sup>\*9</sup>, Escobar PA<sup>\*10</sup>, Kitamoto S<sup>\*11</sup>, Pant K<sup>\*12</sup>, Pfuhler S<sup>\*13</sup>, Tanaka J<sup>\*14</sup>, Levy DD<sup>\*15</sup>: Critical issues with the in vivo comet assay: A report of the comet assay working group in the 6th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT).

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015; 783:6-12

As a part of the 6th IWGT, an expert working group on the comet assay evaluated critical topics related to the use of the in vivo comet assay in regulatory genotoxicity testing. The areas covered were: identification of the domain of applicability and regulatory acceptance, identification of critical

parameters of the protocol and attempts to standardize the assay, experience with combination and integration with other *in vivo* studies, demonstration of laboratory proficiency, sensitivity and power of the protocol used, use of different tissues, freezing of samples, and choice of appropriate measures of cytotoxicity. The standard protocol detects various types of DNA lesions but it does not detect all types of DNA damage. Modifications of the standard protocol may be used to detect additional types of specific DNA damage (e.g., cross-links, bulky adducts, oxidized bases). In addition, the working group identified critical parameters that should be carefully controlled and described in detail in every published study protocol. *In vivo* comet assay results are more reliable if they were obtained in laboratories that have demonstrated proficiency. This includes demonstration of adequate response to vehicle controls and an adequate response to a positive control for each tissue being examined. There was a general agreement that freezing of samples is an option but more data are needed in order to establish generally accepted protocols. With regard to tissue toxicity, the working group concluded that cytotoxicity could be a confounder of comet results. It is recommended to look at multiple parameters such as histopathological observations, organ-specific clinical chemistry as well as indicators of tissue inflammation to decide whether compound-specific toxicity might influence the result. The expert working group concluded that the alkaline *in vivo* comet assay is a mature test for the evaluation of genotoxicity and can be recommended to regulatory agencies for use.

Keywords: Genotoxicity testing, Test protocol, Tissue toxicity

\*<sup>12</sup> BioReliance by SAFC

\*<sup>13</sup> The Procter and Gamble Company

\*<sup>14</sup> Public Interest Incorporated Foundation Biosafety Research Center

\*<sup>15</sup> Food and Drug Administration

---

\*<sup>1</sup> Ulm University, Institute of Human Genetics

\*<sup>2</sup> Huntingdon Life Sciences

\*<sup>3</sup> University of Oslo, Department of Nutrition

\*<sup>4</sup> Federal Institute for Drugs and Medical Devices (BfArM)

\*<sup>5</sup> Novartis Institutes for BioMedical Research

\*<sup>6</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co.

\*<sup>7</sup> Helix3 Inc.

\*<sup>8</sup> Covance Laboratories Ltd

\*<sup>9</sup> Janssen Research & Development

\*<sup>10</sup> Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc.

\*<sup>11</sup> Sumitomo Chemical Co. Ltd.

川西徹：薬学とレギュラトリーサイエンス。  
ファルマシア 2015;51:1.  
薬学教育におけるレギュラトリーサイエンスについて論じた。  
Keywords: Pharmaceutical Science, Regulatory Science, Curriculum

川西徹：レギュラトリーサイエンスの教材について。  
研修センターニュース 2015;255:1.  
日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会で作成した薬学部におけるレギュラトリーサイエンス教育教材案を紹介した。  
Keywords: Pharmacist, Regulatory Science, Curriculum

川西徹：日本薬局方フリートーク。  
医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2015;46:297-301.  
日本薬局方の課題について、過去、現在、将来について私見をまとめた。  
Keywords: Japanese Pharmacopoeia, Internationalization, Quality Control

奥田晴宏：第十七改正日本薬局方における化学薬品各条作成の取り組み。  
Pharm Tech Japan 2015;31:1589-95.  
第十七改正日本薬局方のうち特に化学合成医薬品が苦情の概要を紹介するとともに、国際調和規格であるモンテルカストナトリウムの日本薬局方への取り組みに関して解説した。  
Keywords: 日本薬局方, 品質保証

合田幸広：健康食品の新たな機能性表示と健康食品の品質。  
薬剤学 2015;75:170-6.  
平成25年12月「食品の新たな機能性表示制度に関する検討会」が消費者庁で発足し、検討会での議論の結果、新制度の枠組みが決まった。筆者は、この検討会に委員として参加し、そこで、現在の健康食品の品質に関する意見書を提出した。本稿では、検討会発足までの経緯と意見書、検討会の意見書の背景となった現在の健康食品の品質を示す実験結果について記載するとともに、新たな制度における品質保証の概略について紹介した。  
Keywords: 機能性表示食品, 健康食品, 品質保証

合田幸広：健康食品の新しい機能性表示と品質に関する課題。

食品衛生学雑誌 2015;56:J135-8.

平成25年12月「食品の新たな機能性表示制度に関する検討会」が消費者庁で発足し、8回の検討会での議論の結果、新制度の枠組みが決まった。筆者は、この検討会に委員として参加し、そこで現在の健康食品の品質に関する意見書を提出した。本講演では、検討会の意見書の背景となった健康食品の品質を示す実験結果と新たな制度で守られるべき課題について紹介した。  
Keywords: 機能性表示食品, 健康食品, 品質保証

太田美里<sup>\*1</sup>, 安食菜穂子<sup>\*2</sup>, 川原信夫<sup>\*2</sup>, 合田幸広, 垣内信子<sup>\*3</sup>, 御影雅幸<sup>\*4</sup>: 漢方薬抽出自動包装機を用いた煎剤の品質に関する最近の研究。  
漢方の臨床 2016;63:215-21.

日本では生薬を煎じる作業を患者に任せることが多く、正しく煎じられていない可能性がある。一方、近年、漢方煎剤約1ヶ月分を一度に煎じて、1服分ずつアルミパック包装できる漢方薬抽出自動包装機が開発され、実用化が進められている。本装置の利用により一定品質の煎剤を提供することが可能であり、また煎じる手間が省けることからコンプライアンスの上昇が期待できる。しかし、長期保存による品質変化については十分な検討がされていない。そこで筆者らはこれまでに煎剤の適切な保存条件と品質保証期間の検討を目的として、一定期間保存後の煎剤の色彩、味及び含有成分量の測定を行ったのでレビューとして報告した。  
Keywords: 漢方薬抽出自動包装機, 煎剤, 品質保証

\*1 名古屋市立大学大学院薬学研究科

\*2 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

\*3 九州保健福祉大学薬学部

\*4 東京農業大学農学部バイオセラピー学科

合田幸広：機能性表示食品の品質保証の確認は？重要となる分析法の公開。  
LBヘルステア 2016;29:6.

現行の機能性表示食品の最大の課題は品質保証の弱さである。各製品の機能性関与成分の分析法が公開されないと、品質管理が適正に行われているのか、第三者が追試できないという問題点を指摘した。  
Keywords: 機能性表示食品, 品質保証, 分析法

伊豆津健一, 合田幸広：ジェネリック医薬品品質情報検討会の活動と公的機関での品質評価。  
日本薬剤師会雑誌 2015;67:985-8.

ジェネリック医薬品品質情報検討会について、品質確保に向けた各種の取組みにおける位置付けとともに、論文・学会報告等に関する科学的検討と製剤評価の活動を紹介した。また早期の課題把握と対策に向けて、医療と産官の協力がより重要となることを記した。

Keywords: 後発医薬品, 品質, 適正使用

伊豆津健一: 医薬品の乾燥と水。

冷凍 2015;90:589-94.

医薬品製剤における水の役割について、投与形態としての溶液とともに、固形製剤の製造や保存、投与後の溶解などの各段階における関与と管理方法を概説した。

Keywords: 安定性, 結晶水, 溶解

坂本知昭, 香取典子, 合田幸広: GMP活動における原料受入試験の効率化に向けたハンディー型ラマン分光器の活用と技術的留意点について (その1)。

*Pharm Tech Japan* 2015;31:1923-6.

わが国のPIC/S (Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme: 医薬品査察協定及び医薬品査察共同スキーム) 加盟に対応して、国際基準のGMPに準拠した製造及び品質管理体制の構築が求められている。その結果、原料の受け入れ時などの同ロット分別包装における全数検査の推奨や、原料・資材等の参考品保管など、GMP活動における品質試験検査業務の拡充が迫られている。本稿では、原料の受け入れ試験と分析法について概説した後、ラマン分光器を用いて医薬品試料を測定する際の技術的留意点とデータの信頼性を確保するための考え方などについて、留意点を述べた。

Keywords: Raman spectroscopy, Raw material identification test, GMP

坂本知昭, 香取典子, 合田幸広: GMP活動における原料受入試験の効率化に向けたハンディー型ラマン分光器の活用と技術的留意点について (その2)。

*Pharm Tech Japan* 2015;31:2117-21.

ラマン分光法はその原理から試料を前処理なしに分析することが可能であり、主に結晶多形の識別に活用している製薬企業も少なくない。最近ではレーザー機器の小型化によりハンディー型のラマン分光器も登場し、原料の受け入れ試験などに活用する製薬企業も増えている。しかしながら、「ハンディー型ラマン分光器を導入したものの、分析法のバリデーションの具体的な評価方法がよくわからない。」「またデータの信頼性の確保のためにどのような点に注意したらよいかかわからない。」という質問を受けることもあり、「特にソフトウェアによる適

否判定について正確さを裏付けるデータが欲しいのだが、納得できる情報が提示されない。」といった声も聞こえてくる。本稿では、ラマン分光器を用いて測定する際の技術的留意点とデータの信頼性を確保するための考え方などについて、留意点を述べた。

Keywords: Raman spectroscopy, Analytical validation, GMP

坂本知昭: 医薬品製造・流通のグローバル化と市場流通医薬品の品質確保。

*Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science* 2015;46:773-9.

医薬品製造におけるグローバル化の拡大により、原料、中間体も含めた医薬品等の流通に関する品質保証のあり方も対応が求められている。医薬品製造を国内外の複数のサイトで行う場合、原料、中間体等をサイト間で輸送する機会が多くなり、輸送時における品質劣化等のリスクが増加する可能性がある。一方、インターネットを通じた国内未承認薬を含む個人輸入の医薬品などの販売網に偽造医薬品が含まれることがあり、服用者の健康被害や正規品を製造・販売する製薬企業における経済的損失が生じることが懸念されている。製薬企業は流通阻止や発見のための対策を行っているが、外装から製剤外観に至るまで巧妙に作られている偽造医薬品もあり、一見して識別が容易でないケースもある。筆者は原料の受入試験も含めた工程管理及び流通医薬品の品質管理に向けた分析技術の導入研究を行っており、本稿では、医薬品製造及び物流のグローバル化に伴って変化が予想される品質管理のあり方とそれに伴って導入・活用が期待される分光法及び分光ケミカルイメージング法について紹介した。

Keywords: Quality control, Chemical imaging, Counterfeit drug

小出達夫, 香取典子, 合田幸広: 平成25年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告, ラマン分光法の医薬品確認試験への適用に関する研究。

*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2015;46:342-7.

The purpose of this study was to investigate the performance of Raman spectroscopy and to establish pharmaceutical quality evaluation methods using Raman Spectroscopy. Distributed "Magnesium stearate" has a wide variety of physical properties, for example, pseudopolymorphism, relative content of stearate and palmitate, and particle size. These properties influence on manufacturing processes of products including

“Magnesium stearate” as an additive and their quality, therefore it is necessary to control quality of “magnesium stearate” itself. Ten kinds of “magnesium stearate” obtained different vendors were measured by the raman spectrometry including low frequency. We investigated relationship between their raman spectra and pseudopolymorphism. As the results, they were categorized as four types of pseudopolymorphism, namely, mono-, di-, tri-hydrate and their mixture. Conventional range of raman spectrum was not able to distinguish mixture of pseudopolymorphism completely. Whereas, low frequency range of raman spectrum was able to distinguish them. These data suggested that raman spectroscopy, especially low frequency raman was effective method for discriminating pseudopolymorphism of magnesium stearate.

Keywords: Magnesium stearate, Low frequency Raman, Pseudopolymorphism

小出達夫：近赤外ケミカルイメージングを用いた造粒顆粒の分析.

*Pharm Tech Japan* 2015;31:1499-503.

Granulation is one of the critical processes in the pharmaceutical manufacturing. Understanding of the granulation process is required for establishment of reliable manufacturing process. The purpose of this study was to evaluate the high shear granulation process using near-infrared (NIR) chemical imaging technique. We compared granules and tablets made under appropriate- and over-granulation conditions with high shear granulation using NIR chemical imaging system. We found that segregation of ingredients occurred in the tablets and granules under over-granulation conditions. This interesting phenomenon provided significant information regarding the mechanism of high shear granulation.

Keywords: Near-Infrared, Chemical imaging, High shear granulation

小出達夫, 岡留悠祐\*, 井上元基\*, 深水啓朗\*, 香取典子, 合田幸広：平成26年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告, ラマン分光法の定量試験への適用に関する研究.

*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2016;47:144-9.

The purpose of this study was to investigate the performance of quantification for Raman spectroscopy.

Acetaminophen, as active pharmaceutical ingredient and lactose monohydrate, as excipient were mixed by a blender. The content ratio of acetaminophen : lactose was 20 : 80. The mixed powder was compressed into experimental tablets using 300 mg of mixture and 20 MPa pressure by hand. Raman Spectra of the tablets were measured using backscattering, transmission and PhAT probe modes. Calibration curve was created by using peak ratio of acetaminophen and lactose because of canceling of influence of fluorescence and path length of light. The quantitative results by transmission mode were obtained the highest correlation to those by normal UV method in the three kinds of measurement mode and showed enough accuracy and precision as a pharmaceutical quantification in process analytical technology (PAT). These data suggested that Raman spectroscopy, especially transmission mode was effective method for quantification of content uniformity of solid dosage forms.

Keywords: Raman spectroscopy, Transmission, Quantification

\*<sup>1</sup>Meiji Pharmaceutical University

Imazato-Hirano M<sup>\*1</sup>, Taniguchi Y<sup>\*2</sup>, Kakehi M<sup>\*3</sup>, Kuze Y<sup>\*3</sup>, Nakamura T<sup>\*4</sup>, Minamide Y<sup>\*5</sup>, Miya K<sup>\*6</sup>, Hosogi J<sup>\*7</sup>, Katashima M<sup>\*8,9</sup>, Maekawa K<sup>\*9,10</sup>, Okuda H, Niimi S, Kawasaki N, Ishii-Watabe A, Katori N: Japanese bioanalytical method validation guideline: the world's first regulatory guideline dedicated to ligand binding assays.

*Bioanalysis* 2015;7:1151-6.

After almost one and a half years of thorough discussion, ‘The Guideline on Bioanalytical Method (Ligand Binding Assay) Validation in Pharmaceutical Development’ was issued on 1 April 2014 from the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) of Japan. This Guideline, hereinafter referred to as the ‘MHLW LBA Guideline,’ is the world's first regulatory guideline solely dedicated to ligand-binding assays (LBA) and became effective on 1 April 2015. To develop the MHLW LBA Guideline, its supplemental Q&A Document [2] and their English translation [3], the authors have worked in the Study Group of MHLW and its affiliated LBA Working Group, representing the regulatory agency and industries. This manuscript provides an overview of the developing process of the



MHLW LBA Guideline and the highlights of key issues.  
Keywords: Bioanalysis, Ligand-binding assay, guideline

- \*<sup>1</sup> ノバルティスファーマ (株)  
\*<sup>2</sup> (株) 東レリサーチセンター  
\*<sup>3</sup> 武田薬品工業 (株)  
\*<sup>4</sup> (株) 新日本科学  
\*<sup>5</sup> (株) 島津テクノリサーチ  
\*<sup>6</sup> 中外製薬 (株)  
\*<sup>7</sup> 協和発酵キリン (株)  
\*<sup>8</sup> アステラス製薬 (株)  
\*<sup>9</sup> 日本製薬工業協会  
\*<sup>10</sup> 久光製薬 (株)

石井明子, 多田稔, 鈴木琢雄, 川崎ナナ: 次世代抗体医薬品の非臨床試験.

薬学雑誌 2015;135:857-66.

近年, アミノ酸置換等により, 抗原やFc受容体との結合性等を改変した様々な次世代抗体医薬品の開発が進展している. 本稿では, 抗体の免疫エフェクター作用を担うFc $\gamma$ 受容体, 及び, 抗体の細胞内輸送を担うFcRnについて, ヒトと動物の種差の観点からこれまでの知見を整理した. また, Fc受容体に焦点をあてて, 次世代抗体医薬品の非臨床薬理作用, 薬物動態評価において考慮すべき事項を考察した.

Keywords: 次世代抗体医薬品, Fc受容体, 非臨床試験

角田慎一\*<sup>12</sup>, 石井明子: 次世代バイオ医薬開発に向けた創薬イノベーション.

薬学雑誌 2015;135:841-2.

アンメットニーズを満たす新規バイオ医薬品として期待される医薬品候補分子の中から, 高機能化サイトカイン変異体, 二重特異性抗体を中心に, 最近の開発研究を紹介すると共に, 次世代バイオ医薬品開発における規制上の課題をまとめた.

Keywords: 次世代バイオ医薬品, 高機能化, 開発

\*<sup>1</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*<sup>2</sup> 大阪大学大学院

石井明子, 川崎ナナ\*: バイオ医薬品の現状と展望.  
ファルマシア 2015;51:403-7.

バイオテクノロジー応用医薬品 (バイオ医薬品) とは, 遺伝子組換え技術や細胞培養技術等のバイオテクノロジーを応用して製造される医薬品であり, 組換えタンパク質医薬品, 及び, 細胞培養医薬品を指す. 本稿では, バイオ医薬品に関する総論として, 代表的なバイオ医薬

品, 一般的名称, 及び, 開発動向と展望について概説した.  
Keywords: バイオ医薬品, 一般的名称, 開発動向

\* 横浜市立大学

橋井則貴, 石井明子: ペプチド医薬品に関する規制.  
Pharm Stage 2015;10:13-8.

50アミノ酸残基以下の遺伝子組換え及び合成ペプチドを中心に, 本邦における承認品目, ガイドライン, 特性解析, 並びに, 規格及び試験方法について概説した.

Keywords: 遺伝子組換えペプチド医薬品, 合成ペプチド医薬品, 品質評価

鈴木琢雄, 石井明子, 西村和子, 日向昌司, 橋井則貴, 中川ゆかり\*<sup>1</sup>, 森岡知子\*<sup>1</sup>, 田邊利史\*<sup>2</sup>, 藤田奈穂\*<sup>2</sup>, 余田光\*<sup>3</sup>, 嶋村英雄\*<sup>3</sup>, 倉田康憲\*<sup>3</sup>, 福田純也\*<sup>4</sup>, 小山定利\*<sup>4</sup>, 川崎ナナ: 日本薬局方各条へパリン定量法の改良に関わる研究.

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2015;46:797-806

第十六改正日局第二追補に記載されたへパリン定量法は, 多機関共同研究により空間再現性を含めた分析法バリデーションが実施され, 信頼性が確認されたものであったが, 平成25年度から平成26年度にかけて実施された第十六改正日局第二追補定量法を用いたへパリンナトリウム標準品値付けのための共同検定において, 測定される吸光度が低く, 良好な直線性が得られないため試験成立条件を満たさないケースが頻発する, という問題が生じた.

本問題は, 試験に用いる第IIa因子 (トロンビン) やアンチトロンビンの特性が原因であると考えられた. 市販されているトロンビン試薬及びアンチトロンビン試薬は, 日局へパリン試験への適合性を考慮した品質管理が行われているわけではなく, 今後もその特性が変動する可能性が考えられるため, (1) 緊急の対策として, 第十六改正日局第二追補定量法に使用できるトロンビン試薬及びアンチトロンビン試薬の選定, ならびに (2) 試薬の特性の変動に対応可能な日局へパリン定量法として, トロンビン及びアンチトロンビンの濃度を限定しない試験法の設定が必要と考えられた.

本稿では, 上記対応のための検討結果について報告した.

Keywords: 日局へパリン定量法, 試薬選定, 吸光度条件

\*<sup>1</sup> (一財) 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団

\*<sup>2</sup> エイワイファーマ (株)

\*<sup>3</sup> 扶桑薬品工業 (株)

\*<sup>4</sup> 持田製薬工場 (株)

袴塚高志：これからの薬局方 第6回 第17改正日本薬局方における生薬関連事項の改正.

*Pharm Tech Japan* 2015;12:87-94.

日本薬局方 (日局) における生薬関連事項の特徴について、多成分系としての生薬、生薬の多様性、日局原案作成プロセスの化学薬品等との相違、の観点から解説した後、第17改正における改正点について説明した。最後に、国際調和への対応、使いやすい局方への改善などの今後のありかたについて記述した。

Keywords: 第17改正日本薬局方, 生薬等, 国際調和

花尻 (木倉) 瑠理: 「危険ドラッグ」とは、その検出事例の変遷.

*医薬ジャーナル* 2016;52:57-60.

この3年間で危険ドラッグを取り巻く状況は著しく変化した。危険ドラッグ製品は、含有成分が指定薬物に指定されると、速やかに構造類似物質に置換して販売されるため、流通と規制との「いたちごっこ」が続いていた。特に平成24年頃から、危険ドラッグが起因した健康被害や自動車事故が急増し、深刻な社会問題となった。一方、平成26年6月末に起きた危険ドラッグが起因した自動車暴走事件を契機に、国をあげて危険ドラッグに対する規制と取締りを強化した結果、平成27年には危険ドラッグ製品の流通は激減した。本稿では、そもそも危険ドラッグとは何か、また、指定薬物指定による規制と危険ドラッグ流通実態の変化について簡単に解説する。

Keywords: New psychoactive substances, law enforcement, designated substances

花尻 (木倉) 瑠理: 危険ドラッグの流通実態の把握と流通予測.

*公衆衛生* 2015;79:255-8.

厚生労働省は、危険ドラッグの流通と規制の「いたちごっこ」的状况を打破すべく、平成24年度及び25年度に2種類の構造を対象として医薬品医療機器等法 (平成26年11月25日より薬事法が改称) 下で初めて包括指定を導入した。また、麻薬取締官及び麻薬取締員に医薬品医療機器等法上の指定薬物に対する取締権限の付与等を内容とする法改正を、平成26年度には指定薬物の単純所持・使用等を罰則付きで禁止すること等を内容とする法改正を実施した。さらに、平成26年度後半以降には、指定薬物のスピード指定を行った。一方、平成26年8月末より断続的に、指定薬物の販売の可能性がある店舗に対し検

査命令を実施し、さらに、平成26年末には危険ドラッグに係わる医薬品医療機器等法を改正し、「指定薬物と同等以上に精神毒性を有する蓋然性が高い物である疑いがある物品」についても検査命令及び販売等停止命令を行うことを可能とした。このように、平成24年度以降、危険ドラッグをめぐる状況は刻々と変わっている。本稿では、国立医薬品食品衛生研究所 (国立衛研) が実施している危険ドラッグ流通実態調査の結果をもとに、指定薬物制度による規制と危険ドラッグ流通実態の変化について解説した。

Keywords: New psychoactive substances, drug monitoring, designated substances

島賢一郎<sup>\*1</sup>、佐藤陽治、鈴木邦彦<sup>\*2,3</sup>、宮田俊男<sup>\*4</sup>、森尾友宏<sup>\*5</sup>、横川拓哉<sup>\*2,6</sup>: (座談会) 新制度は再生医療に何をもたらすか.

*再生医療* 2015;14:9-16.

2014年11月に、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」(略称: 医薬品医療機器等法, 薬機法) 及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」(略称: 再生医療等安全性確保法, 再生医療新法) が試行された。これを受け、新制度が今後の再生医療等の研究開発、市場形成にどのような影響を及ぼすかについて、行政、アカデミア、産業界の専門家とともに議論した。

Keywords: 医薬品医療機器等法, 薬機法, 再生医療等安全性確保法

\*<sup>1</sup> (株) ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング

\*<sup>2</sup> 日本再生医療イノベーションフォーラム

\*<sup>3</sup> (株) メディネット

\*<sup>4</sup> 日本医療政策機構

\*<sup>5</sup> 東京医科歯科大学

\*<sup>6</sup> 富士フイルム (株)

三浦巧: ゼノフリー.

*再生医療* 2015;14:52-3.

再生医療分野で近年広く使用されている用語「ゼノフリー (xeno-free)」(「xenogenic component free」の短縮形) について解説した。

Keywords: ゼノフリー (xeno-free), ES細胞, iPS細胞

遊佐敬介, 前田洋助\*, 苑宇哲: バイオ医薬品製造用CHO細胞に汚染事例を引き起こしたベシウイルス2117について.

*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2015;46: 556-9.

CHO細胞によるバイオ医薬品の製造時に起きたベシウイルス2117の汚染事例についてウイルス安全性の観点から解説した。

Keywords : CHO細胞, ベシウイルス, ウイルス安全性

\* 熊本大学

村岡ひとみ, 佐藤陽治: 再生医療の実用化・産業化に向けた新しい法規制。

腎と透析 2015;79:872-6.

薬機法及び再生医療等安全性確保法の施行により, 加速度的に進む事が予測される再生医療に関し, 実用化・産業化に関わる法規制の現状について概説した。

Keywords : 再生医療, 薬事トラック, 医事トラック

Hayakawa T<sup>\*1</sup>, Aoi T<sup>\*2</sup>, Bravery C<sup>\*3</sup>, Hoogendoorn K<sup>\*4</sup>, Knezevic I<sup>\*5</sup>, Koga J<sup>\*6</sup>, Maeda D<sup>\*7</sup>, Matsuyama A<sup>\*8</sup>, McBlane J<sup>\*9</sup>, Morio T<sup>\*10</sup>, Petricciani J<sup>\*11</sup>, Rao M<sup>\*12</sup>, Ridgway A<sup>\*13</sup>, Sato D<sup>\*7</sup>, Sato Y, Stacey G<sup>\*14</sup>, Sakamoto N<sup>\*7</sup>, Trouvin JH<sup>\*15</sup>, Umezawa A<sup>\*16</sup>, Yamato M<sup>\*17</sup>, Yano K<sup>\*17</sup>, Yokote H<sup>\*18</sup>, Yoshimatsu K<sup>\*6</sup>, Zorzi-Morre P<sup>\*19</sup>: Report of the international conference on regulatory endeavors towards the sound development of human cell therapy products. *Biologicals* 2015;43:283-97.

The regulation of human cell therapy products is a key factor in their development and use to treat human diseases. In that regard, there is a recognized need for a global effort to develop a set of common principles that may serve to facilitate a convergence of regulatory approaches to ensure the smooth and efficient evaluation of products. This conference, with experts from regulatory agencies, industry, and academia, contributed to the process of developing such a document. Elements that could form a minimum consensus package of requirements for evaluating human cell therapy products were the overall focus of the conference. The important regulatory considerations that are unique to human cell therapy products were highlighted. Sessions addressed specific points that are different from those of traditional biological/biotechnological protein products. Panel discussions complemented the presentations. The conference concluded that most of the current regulatory framework is appropriate for cell therapy, but there are some areas where the application of the requirements for traditional biologicals is inappropriate.

In addition, it was agreed that there is a need for international consensus on core regulatory elements, and that one of the major international organizations should take the lead in formulating such a consensus document.

Keywords: Stem cells, Therapy, Transplantation

\*<sup>1</sup> Kindai University

\*<sup>2</sup> Kobe University

\*<sup>3</sup> Advanced Biologicals, UK

\*<sup>4</sup> Novartis Pharmaceuticals, Switzerland

\*<sup>5</sup> World Health Organization (WHO)

\*<sup>6</sup> Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA)

\*<sup>7</sup> Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA)

\*<sup>8</sup> National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO)

\*<sup>9</sup> Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA), UK

\*<sup>10</sup> Tokyo Medical and Dental University

\*<sup>11</sup> International Alliance for Biological Standardization (IABS)

\*<sup>12</sup> New York Stem Cell Foundation, USA

\*<sup>13</sup> Health Canada, Canada

\*<sup>14</sup> National Institute of Biological Standards and Control (NIBSC), UK

\*<sup>15</sup> University Paris Descartes, France

\*<sup>16</sup> National Institute for Child Health and Development (NICHD)

\*<sup>17</sup> Tokyo Women's Medical University

\*<sup>18</sup> Chemo-Sero Therapeutic Institute

\*<sup>19</sup> Pharma Biotechnology, France

Yasuda S, Sato Y: Tumorigenicity assessment of human cell-processed therapeutic products.

*Biologicals* 2015;43:416-21.

Human pluripotent stem cells (hPSCs) are expected to be sources of various cell types used for cell therapy, although hPSCs are intrinsically tumorigenic and form teratomas in immunodeficient animals after transplant. Despite the urgent need, no detailed guideline for the assessment of tumorigenicity of human cell-processed therapeutic products (hCTPs) has been issued. Here we describe our consideration on tumorigenicity and related tests of hCTPs. The purposes of those tests for hPSC-based products are classified into three categories: 1) quality control of raw materials; 2)

quality control of intermediate/final products; and 3) safety assessment of final products. Appropriate types of tests need to be selected, taking the purpose(s) into consideration. In contrast, human somatic (and somatic stem) cells are believed to have little tumorigenicity. Therefore, GMP-compliant quality control is essential to avoid contamination of somatic cell-derived products with tumorigenic cells. Compared with in vivo tumorigenicity tests, in vitro cell proliferation assays may be more useful and reasonable for detecting immortalized cells that have a growth advantage in somatic cell-based products. The results obtained from tumorigenicity and related tests for hCTPs should meet the criteria for decisions on product development, manufacturing processes, and clinical applications.  
Keywords: tumorigenicity tests, pluripotent stem cells, somatic stem cells

早川堯夫\*, 佐藤陽治: わが国の再生医療実用化促進の規制整備と世界での位置づけ.  
*再生医療* 2015;14:225-41.

日本における再生医療関連の法令および指針等の整備の状況および海外の再生医療の規制動向に関して解説した。  
Keywords: 再生医療, 薬機法, 再生医療等安全性確保法

\* 近畿大学薬学総合研究所

佐藤陽治: 再生医療等に使用される細胞加工物の品質・安全性評価—リスクベースアプローチの考え方—.  
*バイオインダストリー* 2016;33:54-64.

細胞加工物の品質・安全性評価の原則とされるリスクベースアプローチの考え方について解説した。  
Keywords: 再生医療等製品, EMA, リスクベースアプローチ

佐藤陽治: 生物由来原料基準.  
*再生医療* 2016;15:89-90.

平成26年の薬事法の薬機法への改正・改称にともなって実施された生物由来原料基準の改正について解説した。  
Keywords: 再生医療等製品, 生物由来原料, BSE

添田麻由実\*, 佐藤陽治: 再生医療に関するわが国の法規制と海外の規制について.  
*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2016;47:

86-92

わが国の再生医療関連の法令・指針の整備状況および海外の規制の動向について解説した。  
Keywords: 再生医療, 薬機法, 再生医療等安全性確保法

\* (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

佐藤陽治: 再生医療等製品の製品化に大切なこと・・・品質の確保をどうするか—改正薬事法施行に向けた, ガイダンス等の整備状況と解説.  
*臨床医薬* 2016;32:89-95.

薬機法施行に伴い発出される再生医療等製品の品質の確保に関するガイダンス等の整備状況と内容について解説した。  
Keywords: 再生医療等製品, 薬機法, 生物由来原料基準

山口照英\*, 内田恵理子: 遺伝子治療の開発に関する我が国の規制と海外動向.  
*Pharma Medica* 2015;33(4):51-9.

「遺伝子治療等臨床研究に関する指針」の改正内容を中心に, 日本と海外における遺伝子治療関連規制の動向について概説した。  
Keywords: 遺伝子治療, 規制, レギュラトリーサイエンス

\* 日本薬科大学

内田恵理子: 遺伝子治療に関する我が国の規制動向.  
*Bio Industry* 2015;32(8):13-20.

我が国における遺伝子治療の規制の最新動向と, 遺伝子治療用製品の開発・実用化促進のための指針の改正に向けた取組について紹介した。  
Keywords: 遺伝子治療, 規制, レギュラトリーサイエンス

内田恵理子: 生物薬品委員会の検討課題—マイコプラズマ否定試験の改正によるNATの積極的活用—.  
*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2015;46:698-708.

日本薬局方参考情報マイコプラズマ否定試験のPCR法改正のために実施した共同研究の内容を説明するとともに, 17局での主な改正点及びマイコプラズマ否定試験として核酸増幅法 (NAT) を実施する場合の注意点等について解説した。  
Keywords: マイコプラズマ, 日本薬局方, NAT

内田恵理子：微生物試験法Q&A 現場の困った！に答える誌上セミナー第27回。

*Pharm Tech Japan* 2016;32:93-4.

日本薬局方参考情報マイコプラズマ否定試験の17局改正案として公表された核酸増幅法 (NAT) の実施に関する質問に対して回答した。

Keywords: マイコプラズマ, 日本薬局方, NAT

内田恵理子：遺伝子治療用製品等の開発における国内規制動向。

*Pharm Stage* 2016;15(11):9-15.

遺伝子治療に係る国内規制の現状を紹介するとともに、2015年に改正された「遺伝子治療等臨床研究に関する指針」の改正点及び遺伝子治療用製品指針の改正に向けた取組について紹介した。

Keywords: 遺伝子治療, 規制, レギュラトリーサイエンス

内田恵理子：遺伝子治療製品開発における海外規制動向。

*Pharm Stage* 2016;15(11):16-22.

欧米の規制当局が発出している遺伝子治療用製品関連ガイダンスの発出の動向と、最近発出されたガイダンスの内容について紹介した。

Keywords: 遺伝子治療, 規制, レギュラトリーサイエンス

Ohoka N, Shibata N, Hattori T, Naito M: Protein Knockdown Technology: Application of Ubiquitin Ligase to Cancer Therapy.

*Curr Cancer Drug Targets*. 2016;16:136-46.

Selective degradation of pathogenic proteins by small molecules in cells is a novel approach for development of therapeutic agents against various diseases, including cancer. We and others have developed a protein knockdown technology with a series of hybrid small compounds, called SNIPERs (Specific and Nongenetic IAP-dependent Protein ERasers); and peptidic chimeric molecules, called PROTACs (proteolysis-targeting chimeric molecules), which induce selective degradation of target proteins via the ubiquitin-proteasome pathway. These compounds include two different ligands connected by a linker; one is a ligand for a ubiquitin ligase and the other is a ligand for the target protein, which are expected to crosslink these proteins in cells. Theoretically, any cytosolic protein can be targeted for degradation by this technology.

To date, several SNIPERs and PROTACs against various oncogenic proteins have been developed, which specifically induce polyubiquitylation and proteasomal degradation of the oncogenic proteins, resulting in cell death, growth arrest, or impaired migration of cancer cells. Thus, this protein knockdown technology has a great potential for cancer therapy.

Keywords: Ubiquitin, Proteasome, IAP

Okuhira K\*, Demizu Y, Hattori T, Ohoka N, Shibata N, Kurihara M, Naito M: Molecular Design, Synthesis, and Evaluation of SNIPER(ER) That Induces Proteasomal Degradation of ER $\alpha$ .

*Methods Mol Biol*. 2016;1366:549-60.

Manipulation of protein stability using small molecules has a great potential for both basic research and clinical therapy. Based on our protein knockdown technology, we recently developed a novel small molecule SNIPER(ER) that targets the estrogen receptor alpha (ER  $\alpha$ ) for degradation via the ubiquitin-proteasome system. This chapter describes the design and synthesis of SNIPER(ER) compounds, and methods for the evaluation of their activity in cellular system.

Keywords: Estrogen receptor, Protein knockdown, SNIPER

\* 徳島大学大学院医歯薬学研究部

追田秀行：人工関節 ～医工連携が進むカスタムメイド可動部位～。

*電子情報通信学会誌* 2015;98:279-83.

人工関節置換術は、痛みにより歩行が困難になった患者が歩行できるようになるなど、生活の質の向上に大きく貢献している。安定した治療成績が得られるため、毎年症例数が増加しており、国内では年間約20万例が実施されている。しかし、人工関節の寿命は10年から20年と言われ、不具合により再手術が必要になる場合もあるため、長寿命化が求められている。更に、関節の可動域の拡大といった、機能向上の要求も増大しており、材料開発、ナビゲーションの利用、カスタムメイド化など、様々な方面からの研究開発が行われている。

Keywords: 人工関節, 超高分子量ポリエチレン, ナビゲーション

岡本吉弘：効率的に薬事申請を進めていくための具体的事項と対処法。

*日本歯科医学会誌* 2016;35:66-7.

医療機器（主にクラスIII及びIV）の製造販売をしようとする者は、品目ごとにその製造販売についての厚生労働大臣の承認を受けなければならないこととなっている。製品の目標設定、評価項目、評価方法の妥当性については、申請の前にPMDAの対面助言にて確認することが推奨される。特に新しい製品など、今までの製品と異なるリスクが考えられる場合は、既存の評価基準では評価が不十分な可能性があることを認識する必要がある。相談制度を積極的に活用することにより、審査における論点等を申請前に明確化、共有することができるため、製品化までの期間が短縮されると考える。

Keywords: 医療機器, 薬事, 審査

佐藤謙一<sup>\*1</sup>, 荒木辰也<sup>\*2</sup>, 飯島正也<sup>\*3</sup>, 伊藤隆夫<sup>\*4</sup>, 井上雅晴<sup>\*5</sup>, 大下昌利<sup>\*6</sup>, 小田昌宏<sup>\*7</sup>, 北野誠<sup>\*8</sup>, 左海順<sup>\*9</sup>, 菅原敬信<sup>\*2</sup>, 鈴木義紀<sup>\*10</sup>, 瀧田雄治<sup>\*11</sup>, 塚本洋子<sup>\*12</sup>, 殿守俊介<sup>\*13</sup>, 松野哲厳<sup>\*14</sup>, 丸山裕一<sup>\*15</sup>, 水沼恒英<sup>\*16</sup>, 村井活史<sup>\*6</sup>, 吉成河法吏<sup>\*17</sup>, 新見伸吾: 再生医療の最近の話題と規制動向。

*Pharm Tech Japan* 2015;31:1290-301.

わが国における再生医療の歴史を振り返りつつ、近年の再生医療の技術進歩やそれを取り巻く規制が変化した背景、再生医療の実用化を促進する制度的枠組み、法令・ガイドラインの現状などを整理した。さらには、再生医療等製品の特徴に基づいた品質管理や、安全性を確保する上での要点や評価指標を、関連するガイドラインや最新の規制に即してまとめた。

Keywords: 再生医療, 実用化, 規制動向

<sup>\*1</sup> テルモ (株)

<sup>\*2</sup> (一財) 化学及血清療法研究所

<sup>\*3</sup> 北里第一三共ワクチン (株)

<sup>\*4</sup> メルク (株)

<sup>\*5</sup> 旭化成メディカル (株)

<sup>\*6</sup> (一社) 日本血液製剤機構

<sup>\*7</sup> 日本ポール (株)

<sup>\*8</sup> シグマアルドリッチジャパン合同会社

<sup>\*9</sup> 大日本住友製薬 (株)

<sup>\*10</sup> 積水メディカル (株)

<sup>\*11</sup> 東洋紡 (株)

<sup>\*12</sup> 旭硝子 (株)

<sup>\*13</sup> 日本チャールス・リバー (株)

<sup>\*14</sup> 旭化成ファーマ (株)

<sup>\*15</sup> デンカ生研 (株)

<sup>\*16</sup> 日本製薬 (株)

<sup>\*17</sup> (医) 聖友会

酒井信夫: 食物アレルゲン分析のネクストジェネレーション: LC-MSによる多重検出。

ファルマシア 2015;51:461.

食物アレルゲン分析法の長所および短所を解説し、LC-MSを用いた多重検出に関する最新の論文をトピックスとして紹介した。

Keywords: food allergen, LC-MS, multiple detection method

五十嵐良明, 河上強志, 秋山卓美: 化粧品及び家庭用品に含まれる接触皮膚炎原因物質の分析—イソチアゾリノン系防腐剤を例に—。

アレルギーの臨床 2015;35(5):27-31.

近年メチルクロロイソチアゾリノン, メチルイソチアゾリノン等のイソチアゾリノン系防腐剤に対するアレルギー症例が増加している。国内でも冷感グッズに添加され、接触皮膚炎の原因物質であることが確認された。イソチアゾリノン系防腐剤は幅広い分野及び製品に使用され、接触する機会が増えている。本稿では、化粧品をはじめ種々の家庭用品に含まれたイソチアゾリノン系防腐剤に対するアレルギー性接触皮膚炎の発生現況や含有実態について、我々の分析結果を含めて述べた。

Keywords: isothiazolinone, preservatives, cosmetics

五十嵐良明: 手袋の安全性確保対策の現状と動向。

日本ラテックスアレルギー研究会会誌 2015;19(2):44-50.

手袋の原材料及び製品製造過程に添加された化学物質が残存し、医療従事者をはじめとして手袋の使用頻度の高い人に手あれやアレルギーなどの皮膚障害を引き起こすことが問題となっている。ラテックスアレルギーに対する手袋の安全性対策として、現状の諸外国の規格基準と本邦とのそれと比較して述べるとともに、手袋中の化学物質によるアレルギー事例の動向を紹介した。

Keywords: latex allergy, rubber, glove

小林憲弘: 水道水質検査とその検査方法。

水環境学会誌 2016;39(A)(2):64-6.

水道事業者等の水質検査機関は、新たな標準検査方法が設定されるたびに、それらの方法を導入していく必要がある。その一方で、多くの検査機関においては、新たな検査方法が導入されてもそれに応じて検査人員を増やすことは困難であるため、検査精度を確保した上で、検査をより効率的に行うための取り組みが求められる。こうした流れによって、水道水質検査およびその検査方法のあり方は、ここ数年の間に大きく変わってきた。本稿では、水道水質検査とその検査方法に関する近年の動向

について解説するとともに、将来の展望を予測する。

Keywords: drinking water, testing method

河上強志, 波多野弥生<sup>\*1</sup>, 古田光子<sup>\*2</sup>, 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 鹿庭正昭<sup>\*3</sup>: 家庭用防水スプレー製品等による健康被害とその安全対策.

*中毒研究* 2016;29:45-9.

「防水スプレー製品等安全性確保マニュアル作成の手引き」改定に際して、防水スプレー製品等による健康被害事例に関する文献収集を実施し、その傾向を解析した内容を報告した。また、海外における当該製品の安全性確保に関する取り組み状況や、国内の業界団体の取り組みについても紹介した。

Keywords: water-proof spray, lung injury, risk management

<sup>\*1</sup> (公財) 日本中毒情報センター

<sup>\*2</sup> 厚生労働省

<sup>\*3</sup> 元: 日本生活協同組合連合会

渡邊敬浩, 片岡洋平: ミネラルウォーター類の分析法と有害物質等分析法の妥当性確認ガイドラインの通知について.

*食品衛生研究* 2015;65(4):11-20.

食安発1222第1号により、ミネラルウォーター類（殺菌・除菌無）とミネラルウォーター類（殺菌・除菌有）とを区別した上で、それぞれに規格項目が設定され基準値（上限濃度）が定められた。この規格基準値への適合判定を目的とした検査において使用可能な分析法の一例が「清涼飲料水等の規格基準の一部改正に係る試験法について」（食安発1222第4号）により示され、それら分析法の性能規程が「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」（食安発第1222第7号）により定められた。本稿では、「清涼飲料水等の規格基準の一部改正に係る試験法について」及び、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」について概説する。

Keywords: ミネラルウォーター類, 検査, 分析法の妥当性確認

塚越芳樹\*, 渡邊敬浩: 食品検査で実施されるサンプリングの国際的な状況とそれにおけるロットサイズとサンプルサイズの関係.

*日本食品科学工学会誌* 2015;62:165-70.

Sampling plans for food testing adopted in official documents published by countries and international organizations are reviewed. The aim of this review

was to summarize the information contained in various documents and to identify the risk level for producers and consumers in the international food trade. Sampling policies described in several official documents, such as the directives of the European Commission and the Code of Federal Regulations of the United States, are introduced. The relation between lot size and sample size during bulk sampling was summarized and fitted to several functions, which showed that sample size is roughly proportional to the square root of the lot size.

Keywords: Food testing, sampling plan

\* (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

穂山浩, 原田晋\*: コチニール色素やカルミンによるアレルギーについて.

*アレルギーの臨床* 2015;35:441-4.

コチニール色素とはサボテンに寄生するカイガラムシ科エンジムシの雌の乾燥虫体由来の天然の赤色色素である。コチニール色素の主色素成分であるカルミン酸のアルミニウム結合物やアルミニウム・カルシウム結合物等による不溶化したものをカルミンという。コチニール色素及びカルミンが使われている食品による症例が報告されている。我が国においてコチニール色素は食品添加物として使用許可されているが、カルミンについては食品添加物としての使用は許可されていない。コチニール色素及びカルミンのアレルギーの実態及び原因について解説する。

Keywords: コチニール色素, カルミン, 食物アレルギー

\* はらだ皮膚科クリニック

松田りえ子: 流通食品中の放射性セシウム濃度調査.

*ILSI Japan* 2015;122:9-15.

平成23年3月の震災に伴う津波により、東京電力福島第一原子力発電所で事故が発生し、環境に放射性物質が放出された。この結果、発電所周辺だけでなく、近接する地域で生産された食品からも放射性物質が検出される事態となり、食品中の放射性物質に関わる国民の懸念が高まった。国立医薬品食品研究所食品部では、2011年7月から、放射性セシウム汚染が予想される地域産食品の流通段階での買い上げ調査を開始し、2014年度まで毎年1,000を超える試料を調査し、2015年にいたっている。2011年度に放射性セシウム濃度が100 Bq/kgを超えた試料の率は1.5%あったが、2012年には0.3%、2013年には

0.4%であり、流通する食品の基準値超過率は1%以下となった。放射性セシウム濃度が100 Bq/kgを超える割合が一貫して高いのは、きのこ類と淡水魚であった。福島県産品で基準値超過した試料は、2011年に1試料、2012年に2試料で、2013年度には基準値超過試料数は0となった。原発事故現場から近く、放射性物質による汚染は深刻であるにも拘らず、基準値を超える食品の流通がここまで抑えられているのは、県の方々の努力により流通前の検査が有効に機能していることがうかがえる。

Keywords: 放射性セシウム, 流通食品

穂山浩: ifa JAPAN 2015食の安全・化学フォーラム  
第14回セミナー&国際シンポジウム.

*ILSI Japan* 2015;122:46-52.

食品流通においてもグローバル化の波が急速に進んでおり、我が国において厚生労働省及び農林水産省ともにHACCP規格を推進する動きが加速している。我が国のHACCP規格の導入は米国や欧州よりも遅れており、そのため食の安全性の確保のためには留意する必要がある。またマイコトキシン等の食品の規格基準の動きについて知識を深めることが重要であると考えられる。日本食品微生物学会、日本食品衛生学会、日本食品化学学会が合同で主催者となり、その年の食品安全にまつわる話題に関して専門家の先生方をお招きして意見交換することを目的として、合同シンポジウムを毎年開催している。今年「国際化に対応した食の安全対策: Food Safety Management in response to Food Globalization」をテーマとし、ILSI Japan, 日本マイコトキシン学会、日本食品衛生協会、食品産業センター、食品化学新聞社と共催し、カビ毒規格の国際整合性、HACCP推進の動向、コーデックスの食品規格の動向について国際シンポジウムを開催した。約124名もの参加があり、著名な国際的研究者から、最新の動向の紹介とこれから取り組むべき課題についての講演と、それに続く質疑応答が行われた。

Keywords: 食品, HACCP, 国際整合性

渡邊敬浩, 堤智昭: 食品に含まれる有害物質 トランス脂肪酸と多環芳香族炭化水素類.

*公衆衛生* 2015;79:777-82.

食品に本来含まれている化学物質が、加熱といった加工によって変化し有害物質となることが知られている。この事実は「焼き魚の焦げた部分は食べないように」といった食生活の知恵に古くから反映されてきている。現在では、食品に由来し加工を原因として生成する有害物質には複数が知られており、それらを総称して製造副生成物と呼んでいる。本稿では、複数が知られる製造副生成物中、トランス脂肪酸と多環芳香族炭化水素類につい

て概説した。

Keywords: 食品製造副生成物, トランス脂肪酸, 多環芳香族炭化水素濃度

鍋師裕美: 調理加工による食品中の放射性セシウム量の低減効果について.

*ILSI Japan* 2016;125:4-12.

2011年3月に発生した東京電力福島第一原子力発電所事故以降、食品中の放射性物質に関する問題は食品安全上の重大な関心事項のひとつである。現在では、出荷前検査の成果などにより、一部の天然食品を除けば、食品中の放射性物質濃度が基準値（放射性セシウム濃度として100 Bq/kg）を上回することはほとんどない。しかし、わずかな放射性物質の含有に対しても不安感を持つ消費者も存在することから、生産段階以降の加工や調理の段階で実施できる食品中の放射性物質の低減に関する情報の収集は、食品に対する安心の観点から重要である。国立医薬品食品衛生研究所食品部では、2011年から様々な食品を用いて、調理加工による食品からの放射性セシウム除去に関する検討を実施し、データを蓄積してきた。その結果、放射性セシウムの除去率が50%以上となった調理法は、ゆでる、煮る、あく抜き、調味液浸漬、水戻し、調味液浸漬後乾燥であり、最大で90%の除去率を示した。一方、焼く、揚げる、甘露煮、乾燥するなどの調理法における放射性セシウムの除去率は、およそ10%以下であった。一連の研究から、焼く、揚げるのような高温短時間での加熱調理では、放射性セシウムの除去効果は低く、ゆでる、煮る、液体（水や調味液）に浸漬するなどの食品に対して比較的少量の液体と接するような調理では、放射性セシウムの除去効果が高いことが明らかとなった。また、ゆで汁や煮汁などの食品と接する液体の量やpHなどが放射性セシウムの除去に重要な役割を果たす可能性が示唆された。今回紹介した調理法は、一般的な方法であるため、簡単に実施可能な食品中の放射性セシウム低減法として活用できると考えられた。

Keywords: radioactive cesium, removal effect, cooking

穂山浩, 佐藤恭子, 山崎壮: 食品香料の摂取量推計法.  
*食品衛生研究* 2015;65(10):21-6.

食品添加物の安全性評価を行う上で、食事から推計される一日摂取量が、毒性影響の出ない値であることを確認することが重要である。そのため、各食品の摂取量と食品への添加量から一日摂取量が推定される。しかし、食品香料の場合は、多種類が微量ずつ混合された香料製剤が食品に添加されることが一般的であり、添加量が食品事業者によって異なること等から、それらの摂取量を正確に予測することは非常に困難を要する。このよ



うな状況の中、国際的に種々の摂取量推計法が採用されている。JECFA（食品添加物・汚染物質に関するFAO/WHO合同専門家会議）ではMSDI（Maximized Survey-Derived Intake）法やSPET（Single Portion Exposure Technique）法を使用しているが、我が国の内閣府食品安全委員会では、国際汎用香料の評価にMSDI法のみを採用した。本項ではJECFAやEFSA（欧州食品安全庁）、米国のGRAS評価（FEMA GRAS=米国香料協会専門家による、香料としての使用が一般的に安全とする評価）など国際的評価機関に採用されている食品香料の摂取量推計法の特徴を概説する。

Keywords：食品香料，一日摂取量，安全性評価

建部千絵，大槻崇，佐藤恭子：食品添加物の分析法。  
ぶんせき 2016;1:19-24.

食品中の食品添加物分析法は、食品添加物の使用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。2012年から2014年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について紹介した。

Keywords：食品添加物，不許可添加物，食品中の食品添加物分析法

大城直雅：下痢性貝毒（オカダ酸群）検査法。  
食品衛生研究 2015;82:29-36.

平成27年3月6日付で「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取扱いについて」（昭和55年7月1日付け環乳第29号）が改正され、下痢性貝毒をオカダ酸（OA）群に限定し、可食部1 kgにつき0.16 mgOA当量という規制値が設定された。それに伴い、改正された下痢性貝毒の検査法設定の経緯と検査法の詳細および留意点について解説した。

Keywords：下痢性貝毒，オカダ酸，機器分析

入谷展弘<sup>\*1</sup>，山元誠司<sup>\*1,2</sup>，改田厚<sup>\*1</sup>，阿部仁一郎<sup>\*1</sup>，  
上林大起<sup>\*1,2</sup>，久保英幸<sup>\*1</sup>，野田衛：2014/2015シーズンに流行したノロウイルスGII.17について。  
食品衛生研究 2015;65:7-15.

大阪市で2014/15シーズンに流行したノロウイルスGII.17の国内および諸外国での流行状況，遺伝学的性状，予防法等について概説した。

Keywords：ノロウイルス，GII.17，2014/2015シーズン

<sup>\*1</sup>大阪市立環境科学研究所

<sup>\*2</sup>大阪府立公衆衛生研究所

野田衛：汚染リスクを知って予防しよう！ウイルス性

食中毒。

食と健康 2015;706:8-18.

ウイルス性食中毒の原因として重要なノロウイルス，サポウイルス，A型肝炎ウイルス及びE型肝炎ウイルスの食中毒・感染症発生状況，ウイルス学的特徴，予防法等について概説した。

Keywords：ノロウイルス，サポウイルス，肝炎ウイルス

野田衛：ノロウイルス食中毒の予防対策。

日本栄養士会雑誌 2015;58:16-21.

ノロウイルスは冬季の散発性感染性胃腸炎，胃腸炎集団感染および食中毒の主要な原因ウイルスである。食中毒事件において、ノロウイルスによるものは事例数では1位か2位、患者数では最も多く、全食中毒患者数の約半数を占めている。さらに、1事例当たりの患者数が多く、ひとたび食中毒が発生した場合、患者の被害だけでなく、業者自体の経済的・社会的損失も大きい。本稿ではノロウイルスの特徴，近年の食中毒の特徴，予防法について取りまとめた。

Keywords：ノロウイルス，食中毒，予防法

工藤由起子：日本での腸炎ビブリオ食中毒の急激な減少とその要因について。

食品機械装置 2015;52(12):50-5.

日本での主な食中毒であった腸炎ビブリオ食中毒は、1999年以降、急激に減少している。この減少は、魚介類での腸炎ビブリオ汚染が減少したためではなく、科学的根拠にもとづく行政の食中毒防止対策による魚介類の生産から消費までの各段階での食品衛生上の改善が大きく貢献したためであることが、国，地方自治体，検査機関，大学など多機関の長期間にわたる細菌学的または疫学的調査研究によって示された。しかし、現在も血清型O3:K6のパンデミック株や他の血清型の病原性腸炎ビブリオに汚染された魚介類が日本で流通している。食品業界や行政などの日々の努力のもとに、腸炎ビブリオ食中毒の減少が維持されているが、今後も継続して衛生管理に努めることが求められている。

Keywords：腸炎ビブリオ食中毒，食中毒防止対策，減少

五十君静信，寺嶋淳，渡辺麻衣子，長嶋等<sup>\*1</sup>，上垣隆一<sup>\*2</sup>，鈴木俊之<sup>\*3</sup>，長谷川朗生<sup>\*4</sup>：UJNR有毒微生物専門部会第49回日米合同部会。

食品衛生研究 2015;65(9):7-28.

マイコトキシンセッションでは、「国内のとあるワインおよびワイナリーにおけるフモニシンB1とその産生

菌の汚染状況」および「米国の穀物に適用するUSDA（米国農務省）-GIPSAのマイコトキシン試験プログラム：有機溶媒を用いない迅速検査法，プログラムの改良，および試験的統計」についての研究発表が行われた。前者は，国内のとあるワイナリーで製造された複数のワインからフモニシンB1，B2およびB3が検出されたとの報告を受け，2011年から2013年にかけてフモニシン類が検出されたワインを生産したワイナリーにおいて実施された，ブドウ果実，搾汁，畑土壌，畑の空気中などから*Fusarium*属菌の分布調査の結果を示した。その結果，国産ワインのフモニシン類汚染の原因菌は，外国産ワインで多数報告されている原因菌*Aspergillus niger*ではなく，*Fusarium*属菌であることが強く示唆された。後者では，GIPSAにおける米国産および輸入の穀物，オイルシード，穀物加工品等についてのマイコトキシン検査の公定法を定める機関としての役割が紹介された。2016年にはGIPSAは迅速試験法の性能のクライテリアを更新する予定であり，それによってアフラトキシン類，デオキシニバレノールおよびフモニシン類の測定の正確さをより広い濃度範囲において担保することが必要となる。さらに，現在，マイコトキシン迅速検査法の製造元は，検査法が使用認可されるのと同時に商品を市場展開できるように，GIPSAの様式に従った使用説明書を認可と同時に供給するよう求められている。これらの検査法プログラムは，最近の検査結果の統計処理に基づき，改良がなされるであろう。

Keywords：フモニシン，アフラトキシン，マイコトキシン検査公定法

\*<sup>1</sup> (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*<sup>2</sup> (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所

\*<sup>3</sup> (国研) 水産研究・教育機構中央水産研究所

\*<sup>4</sup> 厚生労働省医薬食品局食品安全部

渡辺麻衣子：東日本大震災被災地仮設住宅におけるカビ発生被害とその対策。

都市有害生物管理 2015;5(1):25-36.

東日本大震災における仮設住宅では，今後も長期的な避難生活が継続される見通しがある。仮設住宅のカビ発生問題は，仮設住宅が未だ多い岩手県・宮城県・福島県に共通した話題である。今後被害の拡大をできるだけ食い止めるために，具体的には，これら4県のより広い範囲で，カビ発生現状の把握と軽減・予防対策の実施に加え，住民の間での健康被害の現状把握を行い，被害の防止に努めることが急務である。したがって，仮設住宅の

カビと健康被害の問題について，関連省庁や地方行政機関の間で活発に情報交換を行い，効果的な対策を講じる必要性が高い。震災発生数年の間は，情報交換や連携が十分でなく，対策がほとんど取られていなかった。しかし，平成26・27年に石巻市が予算を計上したカビ発生に伴う仮設住宅の修繕を始めとして，徐々に動きが広まりつつある。平成26年10月に厚生労働省から，応急仮設住宅生活における真菌対策と健康への影響について，各地方行政機関の担当部署に注意を促す事務連絡が通知された。また平成27年1月に宮城県から各市町の担当部署へ向けて，内閣府から災害救助費（国費）の対象となる補修及び経費の範囲として「重篤な結露，カビ等により，生活の安全上不具合が生じている部分の修繕等」が認められた，との通知がなされた。今後のさらなる対策の実行に期待したい。さらに，今後の災害時に多数建設されるであろう仮設住宅の改善のためにも，本震災に関する情報を蓄積していくことは大変重要であり，震災発生からすでに4年が経過した現状においても，震災関連研究は，盛んに行われるべき研究分野であると言える。

Keywords: カビ汚染，仮設住宅，健康被害

大西貴弘：新しい感染症はどのように見つかるか。

チャイルドヘルス 2016;19:45-6.

原因不明食中毒として知られたクドアの事例について，2011年6月に感染症がどのように見つかったかを中心に解説を行った。

Keywords: *Kudoa*, Parasite, Food-borne disease

出水庸介：ペプチド二次構造制御に基づく創薬研究。

薬事日報 2016;第11673号:3.

タンパク質の二次構造の中でヘリックス構造はDNAや他のタンパク質を認識する上で重要な役割を果たしている。これらの機能をペプチド単位で発現させるためには，タンパク質中と同じ安定なヘリックス構造を形成できるペプチド分子を設計することが重要である。近年，様々な手法によって安定化されたヘリカルペプチドを用いた創薬研究が世界中で活発に行われている。その中でも，非天然アミノ酸である $\alpha,\alpha$ -ジ置換アミノ酸や環状 $\beta$ -アミノ酸，共有結合型のアミノ酸側鎖架橋（ステープル）がヘリカル構造の安定化ツールとして汎用されている。著者らのグループでも， $\alpha,\alpha$ -ジ置換アミノ酸やステープルペプチドを利用した短鎖ペプチドのヘリカル構造制御に基づく創薬研究をおこなっており，本稿では「核内受容体を標的とした転写活性化阻害ペプチドの開発」について紹介する。

Keywords：ペプチド，核内受容体転写活性化阻害，タンパク質間相互作用

栗原正明：危険ドラッグ規制の戦略.

日本薬理学会雑誌 2015;146:315-20.

危険ドラッグや違法薬物を速やかに規制する場合、動物実験や生物学的試験には多くの時間を要するため、インシリコによる活性予測が必要となる。薬物が作用する標的タンパク質が不明であるか、判明しているが三次元構造が明らかでない場合は、リガンド側の構造情報のみで活性予測を行う。その場合 QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship: 定量的構造活性相関) 法が一般的である。QSAR法とは化合物の構造と生物学的 (薬学的あるいは毒性学的) な活性とを定量的に数学的な関係であらわしたものである。すでに危険ドラッグの規制において、その根拠となる活性データの取得に QSAR法による活性予測を用いてきた。ここ数年危険ドラッグにおいて、ある構造の危険ドラッグを規制すると少し構造の違った危険ドラッグが流通するといういわゆる「いたちごっこ」の状態が続いている。その対策として平成25年に包括規制を導入した。包括規制はある範囲の化合物群 (数百化合物) を一度に指定することである。それにより、今後流通すると予測される活性を有する化合物群を事前に規制することができる。この包括規制においては、指定する化合物の中には、まだ合成されていない化合物も当然含まれるので、その活性を求めることはインシリコで行うしかない。今後ますます、インシリコによる活性予測の重要性が高まるだろう。

Keywords: 危険ドラッグ, 計算機化学, 定量的構造活性相関 (QSAR)

蜂須賀暁子, 植草義徳, 鍋師裕美, 堤智昭, 手島玲子, 松田りえ子: トータルダイエット試料による食品からの放射性セシウム及びカリウムの摂取量推定.

Isotope News 2015;732:95-7.

平成23年から25年にかけて当所にて行われたトータルダイエット試料による放射性セシウム及びカリウムの摂取量調査結果を紹介した。

Keywords: トータルダイエット試料, 放射性セシウム, 摂取量推定

蜂須賀暁子: 食品中の放射性物質の安全性.

月刊 地域保険 2015;46:20-31.

福島第一原子力発電所事故により発生した食品中放射性物質の汚染について、放射線の基本から、食品による内部被ばくの評価、現行基準値、摂取量調査の結果とその解釈等について解説し、関連情報の入手サイトを紹介した。

Keywords: 放射線, 食品, 摂取量調査

窪田邦宏, 天沼宏, 春日文子: 食品の安全性に関する海外の最近の話題—微生物学的食品安全の立場から.

公衆衛生 2015;79:738-42.

海外における最近の各種微生物汚染に起因する食中毒アウトブレイク事例を、経緯や原因調査とともに各国の対応について紹介した。

Keywords: Foodborne, Outbreak, Microbial

窪田邦宏, 天沼宏, 春日文子: 海外における最近のリストERIA食中毒アウトブレイク.

食品衛生研究 2015;65(12):23-33.

欧米における最近のリストERIA食中毒アウトブレイク事例を、経緯や原因調査とともに各国の対応について紹介した。

Keywords: Listeria, Foodborne, Outbreak

登田美桜, 上田悠介\*: FAO/WHO合同食品規格計画 第9回食品汚染物質部会.

食品衛生研究 2015;65(7):29-43.

第9回コーデックス食品汚染物質部会における議論について、議題ごとに概要及び決定事項を解説した。また、我が国の食品安全行政にとって特に重要と考えられる議題については、今後の課題についてまとめた。

Keywords: Codex committee, contaminants, food

\* 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課

畝山智香子, 登田美桜: 世界各国のトランス脂肪酸のリスク評価について.

食品衛生研究 2015;65(11):15-25.

食事由来の人工トランス脂肪酸の各国のリスクとその規制等の対応の違いについて解説した。

Keywords: trans fat, risk, management

Falcone FH\*, Alcocer MJC\*, Okamoto-Uchida Y, Nakamura R: Use of humanized rat basophilic leukemia reporter cell lines as a diagnostic tool for detection of allergen-specific IgE in allergic patients: Time for a reappraisal?.

Curr Allergy Asthma Rep. 2015;15:67.

The interaction between allergens and specific IgE is at the heart of the allergic response and as such lies at the center of techniques used for diagnosis of allergic sensitization. Here, we review the perceived limitations of diagnostic applications of humanized rat basophilic leukemia (RBL) systems. Furthermore, we illustrate how the introduction of reporter genes

into humanized RBL cells is able to overcome most of these limitations, and has the potential to become a new powerful tool to complement the armamentarium of allergists. A demonstration of the usefulness of humanized RBL reporter systems for elucidation of complex IgE sensitization patterns against wheat proteins and a section on the use of fluorescence-based reporter systems in combination with allergen arrays close the review.

Keywords: RS-ATL8, NFAT-DsRed, IgE

\* University of Nottingham, United Kingdom

岡本 (内田) 好海, 児玉進, 中村亮介, 斎藤嘉朗: 臨床における重症薬疹とゲノムマーカー.

谷本学校—毒性質問籍 2015;17:18-23.

医薬品の副作用は、大きく2種類に分類できる。タイプAの副作用は、薬理作用と関連のある容量依存性の反応で、動物実験でも再現可能な事例が多く、予測やコントロールが容易である。糖尿病薬による低血糖など、医薬品の高濃度曝露に基づくものが多く、用量の調節で回避可能である。一方、タイプBの副作用は、本来の薬理作用と関連せず、動物実験で再現できないものが多く、アナフィラキシーなど特異体質性で発症予測が難しい副作用である。発症機構が不明なため、長らく一定の割合で発症しても致し方ないと考えられてきた。しかし、ゲノム薬理学の発展により、その一部ではあるが、発症と関連するゲノムマーカーが同定され、さらにその機序も明らかになるなど、発症回避が可能な事例も出てきた。本稿では、ゲノムマーカーとの関連性について最も研究が進んでいる重症薬疹に関し、最近の知見を中心に述べる。

Keywords: 重症薬疹, ゲノムマーカー, ヒト白血球抗原

斎藤嘉朗, 児玉進, 杉山永見子, 中村亮介: 重篤副作用に関する予測ゲノムマーカー.

薬学雑誌 2015;135:589-95.

Severe adverse drug reactions are an important issue to be considered during proper drug usage in postmarketing period. Most severe adverse reactions are idiosyncratic and unrelated to their pharmacological actions via primary targets. Although these reactions were not predictable, recent developments in the field of genomics have revealed closely associated markers responsible for some severe adverse reactions, including Stevens-Johnson syndrome (SJS) and toxic

epidermal necrolysis (TEN). This review demonstrates genomic biomarkers for SJS/TEN and drug-induced liver injury (DILI) that were found mainly in Japanese patients and reveal ethnic differences. We and other groups have found the following associations of SJS/TEN with susceptible drugs: 1) HLA-B\*58:01 for allopurinol-related cases; 2) HLA-B\*15:11 and HLA-A\*31:01 for carbamazepine-related cases; 3) HLA-B\*51:01 for phenobarbital-related cases; 4) HLA-A\*02:07 for zonisamide-related cases; 5) CYP2C9\*3 for phenytoin-related cases; and 6) HLA-A\*02:06 for cold medicine-related cases. The allele frequencies of these related HLA types vary among Asian populations. In addition, direct (noncovalent) binding of carbamazepine or an allopurinol metabolite, oxypurinol, to the associated HLA-type proteins was suggested. Associated genomic biomarkers are also summarized for DILI in Japanese and Caucasian populations. The application of these genomic biomarkers to prevent the onset of a reaction has been utilized in a few countries. However, in Japan, the package inserts only contain precautions that cite the research findings. To overcome this limitation, the following points should be addressed: 1) factors responsible for the development of SJS/TEN should be identified in addition to the above-mentioned HLA alleles; and 2) an inexpensive genotyping strategy and assay methods should be developed to provide a pharmacoeconomical viewpoint. Further research on severe adverse reactions is warranted.

Keywords: 重症薬疹, ゲノムマーカー, ヒト白血球抗原

頭金正博\*, 斎藤嘉朗: バイオマーカーの適格性評価を支えるレギュラトリーサイエンス (オーバービュー).

薬学雑誌 2015;135:649-53.

New drug development (NDD) for intractable diseases such as cancer and Alzheimer's disease has been challenging in recent years because it is difficult to evaluate the therapeutic efficacy of new drugs and the response of individual patients. Thus biomarkers might be a useful tool to facilitate NDD because they can be used to evaluate accurately drug responses. Biomarkers include proteins, metabolites, and genetic targets; imaging data and can also be used in pre-clinical studies, clinical trials, and post-marketing surveillance. In pre-clinical studies, biomarkers are used

as an index of the pharmacological and toxicological effects of a new drug, which may help to predict the clinical response. In clinical studies, biomarkers are widely used as an index of clinical efficacy and safety for dose-adjustment and for patient selection. In post-clinical studies, biomarkers may facilitate the evaluation of drug responses, as well as aid improvements in drug efficacy. Several points should be considered for biomarker-guided NDD. First, the clinical study design is very important and must be suitable to permit the use of the relevant biomarkers. The analytical methods should be carefully evaluated, and evidence should be provided regarding the physiological significance and relevance of the biomarker with regard to its intended use. Regulatory sciences are required to resolve these issues and bridge the gap between basic science and clinical studies that involve biomarkers.

Keywords: レギュラトリーサイエンス, バイオマーカー, 医薬品開発

\* 名古屋市立大学

佐藤 薫: ミクログリアの発生と分化.  
*Clinical Neuroscience* 2015;32:1338-41.

脳の免疫機能担当細胞として長らく知られてきたミクログリアは脳細胞の5%を占める。モノサイトやマクロファージに類似点が多いため、脳内炎症レベルの決定細胞として長らく炎症を伴う病態研究の対象となってきた。また、ミクログリアをマクロファージやモノサイトと決定的に区別できる細胞表面抗原がまだ見つかっていないため、その起源についてもモノサイトやマクロファージと共通であると長らく考えられてきた。しかし、2010-12年にかけて、ミクログリアが系統的に発生過程の早い時期にマクロファージと分かれていることが明らかにされた。本総説ではミクログリアの発生と脳神経系発達過程におけるミクログリアの新しい機能について概説した。

Keywords: ミクログリア, 発生, 脳室下帯

Sato K: Effects of microglia on neurogenesis.  
*Glia* 2015;63:1394-405.

This review summarizes and organizes the literature concerning the effects of microglia on neurogenesis, particularly focusing on the subgranular zone (SGZ) of the hippocampus and subventricular zone (SVZ), in which the neurogenic potential is progressively restricted during the life of the organism. A

comparison of microglial roles in neurogenesis in these two regions indicates that microglia regulate neurogenesis in a temporally and spatially specific manner. Microglia may also sense signals from the surrounding environment and have regulatory effects on neurogenesis. We speculate microglia function as a hub for the information obtained from the inner and outer brain regions for regulating neurogenesis.

Keywords: cytokine, microglia, neurogenesis

諫田 泰成: 癌幹細胞の創薬応用.  
*技術情報協会* 2016;354-9.

多くの癌は幹細胞の性質を有する癌幹細胞を起源として形成されることが明らかになってきた。癌幹細胞は、自己複製能と多分化能を有しており、高い腫瘍形成能を示す。薬剤耐性能により抗癌剤治療で生き残った癌幹細胞が再発や転移に関わると考えられることから、癌を根治するためには癌幹細胞を標的とした薬剤が期待される。しかしながら、現在のところ、癌幹細胞の増殖制御機構が十分に解明されていないため、いまだ治療薬の開発には至っていない。そこで本総説では、臨床検体や細胞株から癌幹細胞を単離する方法として、スフィア形成法、細胞表面マーカー、SP (Side population) 細胞、ALDH (アルデヒド脱水素酵素) 法を概説する。さらに、我々は最近、細胞株より調製した癌幹細胞モデルを用いて網羅的遺伝子解析を行った結果、脂質受容体による新たな癌幹細胞の増殖制御機構を見出した。癌幹細胞を標的とする創薬につながる可能性が考えられ、あわせてご紹介したい。

Keywords: 癌幹細胞, 増殖制御, 受容体

平田 尚也, 諫田 泰成: 癌幹細胞の解析モデルと創薬への応用.  
*CBI学会誌* 2015;3:10-4.

近年、多くの癌は幹細胞の性質を持った癌幹細胞を起源に形成されることが解明されつつある。癌幹細胞は、様々な細胞系統へと分化する多分化能と自己と同等の性質を有する細胞を複製する自己複製能を兼ね備え、高い腫瘍形成能を有する。癌幹細胞の薬剤耐性能により、抗癌剤治療で生き残った癌幹細胞が再発や転移に関わるモデルが提唱されている。従って、癌を根治するためには癌幹細胞を標的とした薬剤が求められるが、癌幹細胞の増殖機構など十分に解明されていないため、治療薬の開発には至っていない。本論文では、現在、用いられている癌幹細胞の同定・分離法であるスフィア形成法、細胞表面マーカー、幹細胞の薬剤排出能を利用した方法 (SP細胞)、癌幹細胞のアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) の

酵素活性を利用した方法を概説する。さらに、我々は最近癌幹細胞の網羅的遺伝子解析によって、脂質受容体による新たな癌幹細胞の増殖制御機構を見出した。癌幹細胞を標的とする創薬への展望と課題を紹介する。

Keywords: 癌幹細胞, 脂質受容体, 創薬応用

芦原貴司<sup>\*1</sup>, 黒川洵子<sup>\*2</sup>, 諫田泰成, 原口亮<sup>\*3</sup>, 稲田慎<sup>\*3</sup>, 中沢一雄<sup>\*3</sup>, 堀江稔<sup>\*1</sup>: ヒトiPS細胞由来心筋細胞シートの不整脈研究への応用可能性: in silico 不整脈学の観点から。

生体医工学 2015;53:100-5.

Background: Recently, myocardial sheets consisting of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CM) have been used to clarify the mechanisms of inherited arrhythmias and to evaluate the efficacy of antiarrhythmic drugs. However, whether the electrophysiological properties of the hiPSC-CM are the same as those of the original human cardiomyocytes (hCM) remains unclear. Indeed, hiPSC-CM has automaticity, longer action potential duration (APD), smaller action potential amplitude (APA), and positively shifted diastolic potential (DP). Methods: To clarify this issue, we constructed in silico models of hCM and hiPSC-CM sheets based on the experimental data, and performed simulations of spiral wave (SW) reentry. Then we analyzed the SW behaviors in the in silico myocardial sheets, and also evaluated the effects of IKr blockade. Results: The in silico model of hiPSC-CM had spontaneous activations 0.5-1 Hz, longer APD, smaller APA, and DP positively shifted by ~15 mV. Conduction velocity (CV) in the hiPSC-CM sheet was ~5 cm/s, which was only ~1/10 of the CV in the hCM sheet. Mean cycle length (mCL) of excitations during SW reentry in the hiPSC-CM sheet was ~0.9 Hz, whereas that in the hCM sheet was ~5 Hz and identical to that of human VF. Both CV and mCL during SW reentry in the model of hiPSC-CM sheet were highly consistent with previous experimental data. The mCL of SW reentry in hCM sheet was markedly prolonged by IKr blockade, whereas that in hiPSC-CM sheet was shortened. Conclusion: The SW behavior and the antiarrhythmic drug efficacy in the in silico models of hCM and hiPSC-CM sheets are different. Our findings suggest that such in silico analytical approach might fill the gap between hCM and hiPSC-CM when we apply the hiPSC-CM sheet to clinical practice.

Keywords: in silico, myocardial sheet, spiral wave

reentry

<sup>\*1</sup> 滋賀医科大学

<sup>\*2</sup> 東京医科歯科大学

<sup>\*3</sup> 国立循環器病研究センター

山田茂, 諫田泰成: 幹細胞と発達神経毒性。

日本薬理学雑誌 2015;146:171-3.

近年、子供の発達障害の増加が社会問題となっており、胎生期および発達期における化学物質の曝露の影響が懸念されている。たとえば、メチル水銀の胎生期曝露により生まれた子供に精神遅滞・運動機能障害が報告されている。また、鉛、ポリ臭化ジフェニルエーテル、ポリ塩化ビフェニル、ペルフルオロオクタン酸などの血中濃度と注意欠陥や多動性との相関やバルプロ酸による自閉症、多環芳香族炭化水素による知能指数低下、有機スズ化合物であるトリブチルスズ (tributyltin: TBT) による催奇形性などの報告がある。発達中の神経系は成体と比較して様々な化学物質に対して感受性が高いと考えられることから、化学物質への曝露から子供を守るためにはより予測性の高い評価系の構築が強く望まれる。本稿では、現在の発達神経毒性ガイドラインを概説するとともに、幹細胞の応用可能性についてあわせて紹介したい。

Keywords: 幹細胞, 発達神経毒性, 代替法

石田誠一: iPS細胞等から分化誘導された肝細胞とその薬物安全性評価への応用。

バイオマテリアル-生体材料 2015;33:212-7.

創薬過程の第I相臨床試験におけるヒトへの最初の投与 (first-in-human) や市販後における安全性の担保にとって、医薬品候補化合物の安全性を早期に的確に評価することは重要であり、成功確率の向上にもつながる。肝薬物動態並びに薬物性肝障害の評価に有用なツールとしてiPS細胞由来の肝細胞やその他分化誘導肝細胞に期待が寄せられている。それら細胞の開発状況を概説するとともに、新規培養基材等を用い細胞の成熟化を高め、再現性のある評価系を安定して提供するための産官学の取り組みを紹介した。

Keywords: iPS細胞由来肝細胞, 薬物性肝障害評価, 非臨床試験

小川久美子: 食品添加物のリスク評価とリスク管理。

Foods & Food Ingredients Journal of Japan 2015;220:204-11.

In the Food Sanitation Act in Japan, food additives are defined as the substances that are used in or on the food during the process of manufacturing food,

or the substances that are used for the purpose of processing or preserving food, that are applied by the method of addition, blending, invasion and so on. Although a number of substances that were mostly natural origin have been consumed for this purpose since ancient age, we have also experienced several poisoning cases from foods. Historically, there were several turning points of regulation for the food additives in Japan. As the one of the biggest change, all of a new substance regardless of whether it is a natural product had become to be requested the application in 1995. Thus, the data for kinetics, toxicity tests and the evidence of human epidemiology have been required in the application. In 2003, to deal with the Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) problem, the Food Safety Commission was organized under the Cabinet Office as the center of a risk assessment organization, independently from the risk management organizations including Health, Labour and Welfare Ministry and Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. We have been depending on the imported food for about 60% as a base of the calorie. The systems and regulations concerning the food safety including the scope of the food additive are not necessarily the same among the country, therefore, harmonization and contribution for the international reputation of these substances are required.

Keywords: food additives, safety assessment, toxicity study

豊田武士, 塚本徹哉<sup>\*1</sup>, 小川久美子, 立松正衛<sup>\*2</sup>: 食塩と胃癌-H. pylori感染との関連も含めて.

臨床消化器内科 2015;30:1395-400.

食塩の過剰摂取は胃癌のリスク要因であることが, 疫学的に明らかにされている. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染スナネズミを用いた検討で, 食塩は用量依存性に胃癌を促進すること, 食塩単独での促進作用は*H. pylori*と比較して弱く, *H. pylori*のco-promoterとしての機能が重要であることが示された. 食塩は*H. pylori*抵抗性のIII型粘液を減少させるなど, 胃粘液環境を攪乱し,*H. pylori*感染を促進する可能性が示唆された. 実際に, 食塩と*H. pylori*感染の複合によって, 炎症関連酵素の発現増強, および胃粘膜遺伝子発現動態の変化が生じることが確かめられた. *H. pylori*感染者における減塩が, 胃癌予防の観点から重要であると考えられた.

Keywords: *Helicobacter pylori*, 食塩, 胃癌

<sup>\*1</sup> 藤田保健衛生大学

<sup>\*2</sup> 日本バイオアッセイ研究センター

吉田緑, 梅村隆志, 小島弘幸<sup>\*1</sup>, 井上薫, 高橋美和, 浦丸直人<sup>\*2</sup>, 北村繁幸<sup>\*2</sup>, 安部賀央里<sup>\*3</sup>, 頭金正博<sup>\*3</sup>, 小澤正吾<sup>\*4</sup>, 吉成浩一<sup>\*5</sup>: 化学物質のリスク評価における肝肥大の取扱いの基本的考え方.

食品衛生学雑誌 2015;56:42-8.

化学物質で一般的に誘発される肝肥大が生体の適応反応か, 毒性(悪影響)かを判断するための科学的な考え方を提示した. 外的因子に対して肝細胞の恒常性が維持されている範囲内の肝肥大(肝細胞肥大および肝重量増加)は, 適応性変化であり毒性影響ではない. 同時に生体の恒常性保持機能の限界を越し, 破綻を来した場合の肝細胞肥大は毒性と判断すべきである. 具体的には以下の変化を伴う肝肥大は毒性影響の可能性を考える起点になる:(1)肝細胞の壊死と関連する指標や炎症性変化,(2)胆道系の変化,(3)脂質代謝系の変化,(4)色素沈着,(5)タイプや部位の異なる肝細胞肥大の誘発.

Keywords: 肝肥大, 薬物代謝酵素, 一日許容摂取量

<sup>\*1</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*2</sup> 日本薬科大学

<sup>\*3</sup> 名古屋市立大学

<sup>\*4</sup> 岩手医科大学

<sup>\*5</sup> 静岡県立大学

井上薫, 高橋美和, 梅村隆志, 吉田緑: 食品安全委員会により公開されている農薬評価書において用いられた肝臓の病理組織学的所見名の分類とシソーラス構築: 毒性病理用語・診断基準国際統一化.

食品衛生学雑誌 2015;56:96-107.

リスク評価にかかわる申請者および評価者が病理所見名から同一の病理組織学的理解を得られるよう, 食品安全委員会により公開された農薬評価書から, ラット, マウスおよびイヌを用いた90日間亜急性毒性試験およびラットとマウスの発がん性試験において認められた肝臓の病理組織学的所見名について抽出・分類し, 最終的に毒性病理用語・診断基準国際統一化International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic (INHAND) Criteriaに基づいてシソーラスを構築した.

Keywords: 農薬評価書, 肝臓, シソーラス構築

Uno Y<sup>\*1</sup>, Kojima H, Omori T<sup>\*2</sup>, Corvi R<sup>\*3</sup>, Honma M, Schechtman LM<sup>\*4</sup>, Tice RR<sup>\*5</sup>, Burlinson B<sup>\*6</sup>, Escobar PA<sup>\*7</sup>, Kravynak AR<sup>\*8</sup>, Nakagawa Y<sup>\*9</sup>, Nakajima M<sup>\*10</sup>, Pant K<sup>\*11</sup>, Asano N<sup>\*12</sup>, Lovell D<sup>\*13</sup>, Morita T, Ohno

Y, Hayashi M<sup>\*14</sup>: JaCVAM-organized international validation study of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens: I. Summary of pre-validation study results.

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;786-788:3-13.

The *in vivo* rodent alkaline comet assay (comet assay) is used internationally to investigate the *in vivo* genotoxic potential of test chemicals. This assay, however, has not previously been formally validated. The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM), with the cooperation of the U.S. NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM)/the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM), the European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), and the Japanese Environmental Mutagen Society/Mammalian Mutagenesis Study Group (JEMS/MMS), organized an international validation study to evaluate the reliability and relevance of the assay for identifying genotoxic carcinogens, using liver and stomach as target organs. The ultimate goal of this validation effort was to establish an Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guideline. The purpose of the pre-validation studies (i.e., Phase 1 through 3), conducted in four or five laboratories with extensive comet assay experience, was to optimize the protocol to be used during the definitive validation study.

Keywords: Comet assay, Genotoxicity, JaCVAM

Uno Y<sup>\*1</sup>, Kojima H, Omori T<sup>\*2</sup>, Corvi R<sup>\*3</sup>, Honma M, Schechtman LM<sup>\*4</sup>, Tice RR<sup>\*5</sup>, Beevers C<sup>\*6</sup>, Boeck MD<sup>\*7</sup>, Burlinson B<sup>\*8</sup>, Hobbs CA<sup>\*9</sup>, Kitamoto S<sup>\*10</sup>, Kraynak AR<sup>\*11</sup>, McNamee J<sup>\*12</sup>, Nakagawa Y<sup>\*13</sup>, Pant K<sup>\*14</sup>, Plappert-Helbig U<sup>\*15</sup>, Priestley C<sup>\*16</sup>, Takasawa H<sup>\*17</sup>, Wada K<sup>\*18</sup>, Wirnitzer U<sup>\*19</sup>, Asano N<sup>\*20</sup>, Escobar PA<sup>\*21</sup>, Lovell D<sup>\*22</sup>, Morita T, Nakajima M<sup>\*23</sup>, Ohno Y, Hayashi M<sup>\*24</sup>: JaCVAM-organized international validation study of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for detection of genotoxic carcinogens: II. Summary of definitive validation study results.

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;786-788:45-76.

The *in vivo* rodent alkaline comet assay (comet assay) is used internationally to investigate the *in vivo* genotoxic potential of test chemicals. This assay, however, has not previously been formally validated. The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM), with the cooperation of the U.S. NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM)/the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM), the European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), and the Japanese Environmental Mutagen Society/Mammalian Mutagenesis Study Group (JEMS/MMS), organized an international validation study to evaluate the reliability and relevance of the assay for identifying genotoxic carcinogens, using liver and stomach as target organs. The ultimate goal of this exercise was to establish an Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guideline. The study protocol was optimized in the pre-validation studies, and then the definitive (4th phase) validation study was conducted in two steps. In the 1st step, assay reproducibility was confirmed among laboratories using four coded reference chemicals and the positive control ethyl methanesulfonate. In the 2nd step, the predictive capability was investigated using 40 coded chemicals with known genotoxic and carcinogenic activity (i.e., genotoxic carcinogens, genotoxic non-carcinogens, non-genotoxic carcinogens, and non-genotoxic non-carcinogens). Based on the results obtained, the *in vivo* comet assay is concluded to be highly capable of identifying genotoxic chemicals and therefore can serve as a reliable predictor of rodent carcinogenicity.

<sup>\*1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co.

<sup>\*2</sup> Kobe University Hospital

<sup>\*3</sup> Joint Research Centre of the European Commission

<sup>\*4</sup> Innovative Toxicology Consulting, LLC

<sup>\*5</sup> National Institute of Environmental Health Sciences

<sup>\*6</sup> Huntingdon Life Sciences

<sup>\*7</sup> Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc.

<sup>\*8</sup> Merck Research Laboratories

<sup>\*9</sup> Hatano Research Institute, Food Drug Safety Center

<sup>\*10</sup> University of Shizuoka

<sup>\*11</sup> BioReliance

<sup>\*12</sup> Kinki University

<sup>\*13</sup> St. George's, University of London

<sup>\*14</sup> Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides



Keywords: Comet assay, Genotoxicity, Validation study

- \*<sup>1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co.  
 \*<sup>2</sup> Kobe University Hospital  
 \*<sup>3</sup> Joint Research Centre of the European Commission  
 \*<sup>4</sup> Innovative Toxicology Consulting, LLC  
 \*<sup>5</sup> National Institute of Environmental Health Sciences  
 \*<sup>6</sup> Covance Laboratories Ltd.  
 \*<sup>7</sup> Janssen Research & Development  
 \*<sup>8</sup> Huntingdon Life Sciences  
 \*<sup>9</sup> Integrated Laboratory Systems, Inc.  
 \*<sup>10</sup> Sumitomo Chemical Co. Ltd.  
 \*<sup>11</sup> Merck Research Laboratories  
 \*<sup>12</sup> Health Canada  
 \*<sup>13</sup> Hatano Research Institute, Food Drug Safety Center  
 \*<sup>14</sup> BioReliance  
 \*<sup>15</sup> Novartis  
 \*<sup>16</sup> AstraZeneca R&D  
 \*<sup>17</sup> LSI Medience,  
 \*<sup>18</sup> The Institute of Environmental Toxicology  
 \*<sup>19</sup> Bayer HealthCare AG  
 \*<sup>20</sup> Kinki University  
 \*<sup>21</sup> Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc.  
 \*<sup>22</sup> St. George's, University of London  
 \*<sup>23</sup> University of Shizuoka  
 \*<sup>24</sup> Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides

Morita T, Uno Y<sup>\*1</sup>, Honma M, Kojima H, Hayashi M<sup>\*2</sup>, Tice RR<sup>\*3</sup>, Corvi R<sup>\*4</sup>, Schechtman L<sup>\*5</sup>: The JaCVAM international validation study on the *in vivo* comet assay: Selection of test chemicals.

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;786-788:14-44.

The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) sponsored an international prevalidation and validation study of the *in vivo* rat alkaline pH comet assay. The main objective of the study was to assess the sensitivity and specificity of the assay for correctly identifying genotoxic carcinogens, as compared with the traditional rat liver unscheduled DNA synthesis assay. Based on existing carcinogenicity and genotoxicity data and chemical class information, 90 chemicals were identified as primary candidates for use in the validation study. From these 90 chemicals, 46 secondary candidates and then 40 final chemicals were selected based

on a sufficiency of carcinogenic and genotoxic data, differences in chemical class or genotoxic or carcinogenic mode of action (MOA), availability, price, and ease of handling. These 40 chemicals included 19 genotoxic carcinogens, 6 genotoxic non-carcinogens, 7 non-genotoxic carcinogens and 8 non-genotoxic non-carcinogens. "Genotoxicity" was defined as positive in the Ames mutagenicity test or in one of the standard *in vivo* genotoxicity tests (primarily the erythrocyte micronucleus assay). These chemicals covered various chemicals classes, MOAs, and genotoxicity profiles and were considered to be suitable for the purpose of the validation study. General principles of chemical selection for validation studies are discussed.

Keywords: Chemical selection, *In vivo* comet assay, JaCVAM

- \*<sup>1</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co.  
 \*<sup>2</sup> BioSafety Research Center  
 \*<sup>3</sup> National Institute of Environmental Health Sciences  
 \*<sup>4</sup> European Commission Joint Research Centre  
 \*<sup>5</sup> Innovative Toxicology Consulting, LLC

Hamada S<sup>\*1</sup>, Ohyama W<sup>\*2</sup>, Takashima R<sup>\*1</sup>, Shimada K<sup>\*3</sup>, Matsumoto K<sup>\*4</sup>, Kawakami S<sup>\*5</sup>, Uno F<sup>\*6</sup>, Sui H<sup>\*7</sup>, Shimada Y<sup>\*8</sup>, Imamura T<sup>\*9</sup>, Matsumura S<sup>\*10</sup>, Sanada H<sup>\*11</sup>, Inoue K<sup>\*12</sup>, Muto S<sup>\*13</sup>, Ogawa I<sup>\*14</sup>, Hayashi A<sup>\*15</sup>, Takayanagi T<sup>\*16</sup>, Ogiwara Y<sup>\*17</sup>, Maeda A<sup>\*18</sup>, Okada E<sup>\*2</sup>, Terashima Y<sup>\*19</sup>, Takasawa H<sup>\*1</sup>, Narumi K<sup>\*2</sup>, Wako Y<sup>\*1</sup>, Kawasaki K<sup>\*1</sup>, Sano M<sup>\*6</sup>, Ohashi N<sup>\*6</sup>, Morita T, Kojima H, Honma M, Hayashi M<sup>\*6</sup>: Evaluation of the repeated-dose liver and gastrointestinal tract micronucleus assays with 22 chemicals using young adult rats: summary of the collaborative study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/The Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS) – Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS).

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;780-781:2-17.

The repeated-dose liver micronucleus (RDLMN) assay using young adult rats has the potential to detect hepatocarcinogens. We conducted a collaborative study to assess the performance of this assay and to evaluate the possibility of integrating it into general toxicological studies. Twenty-four testing laboratories belonging to the Mammalian Mutagenicity Study

Group, a subgroup of the Japanese Environmental Mutagen Society, participated in this trial. Twenty-two model chemicals, including some hepatocarcinogens, were tested in 14- and/or 28-day RDLMN assays. As a result, 14 out of the 16 hepatocarcinogens were positive, including 9 genotoxic hepatocarcinogens, which were reported negative in the bone marrow/peripheral blood micronucleus (MN) assay by a single treatment. These outcomes show the high sensitivity of the RDLMN assay to hepatocarcinogens. Regarding the specificity, 4 out of the 6 non-liver targeted genotoxic carcinogens gave negative responses. This shows the high organ specificity of the RDLMN assay. In addition to the RDLMN assay, we simultaneously conducted gastrointestinal tract MN assays using 6 of the above carcinogens as an optional trial of the collaborative study. The MN assay using the glandular stomach, which is the first contact site of the test chemical when administered by oral gavage, was able to detect chromosomal aberrations with 3 test chemicals including a stomach-targeted carcinogen. The treatment regime was the 14- and/or 28-day repeated-dose, and the regime is sufficiently promising to incorporate these methods into repeated-dose toxicological studies. The outcomes of our collaborative study indicated that the new techniques to detect chromosomal aberrations *in vivo* in several tissues worked successfully.

Keywords: Gastrointestinal tract, Hepatocarcinogen, Micronucleus

---

\*<sup>1</sup> LSI Medience Corporation

\*<sup>2</sup> Yakult Honsha Co., Ltd.

\*<sup>3</sup> Astellas Pharma Inc.

\*<sup>4</sup> Astellas Research Technologies Co., Ltd.

\*<sup>5</sup> Asahi Kasei Pharma Corporation

\*<sup>6</sup> Public Interest Incorporated Foundation, Biosafety Research Center

\*<sup>7</sup> Food and Drug Safety Center

\*<sup>8</sup> Hokko Chemical Industry Co., Ltd.

\*<sup>9</sup> Ina Research Inc.

\*<sup>10</sup> Kao Corporation

\*<sup>11</sup> Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.

\*<sup>12</sup> Maruho Co., Ltd.

\*<sup>13</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

\*<sup>14</sup> Nissan Chemical Industries, Ltd.

\*<sup>15</sup> Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

\*<sup>16</sup> Suntory Business Expert Limited

\*<sup>17</sup> Taisho Pharmaceutical, Co., Ltd.

\*<sup>18</sup> Toray Industries Inc.

\*<sup>19</sup> Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.

Martus HJ<sup>\*1</sup>, Hayashi M<sup>\*2</sup>, Honma M, Kasper P<sup>\*3</sup>, Gollapudi B<sup>\*4</sup>, Mueller L<sup>\*5</sup>, Schoeny R<sup>\*6</sup>, Uno Y<sup>\*7</sup>, Kirkland DJ<sup>\*8</sup>: Summary of major conclusions from the 6th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT), Foz do Iguacu, Brazil.

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;783: 1-5.

The International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT) are convened approximately every four years and bring together experts in the field of genetic toxicology testing to develop consensus recommendations on genetic toxicology testing methods and testing strategies. The topics discussed at the 6th IWGT covered subjects specific to individual test systems and others of a more strategic nature. Topics were selected by the IWGT Steering Committee based on a process of gathering priority topics from within the scientific community of genetic toxicologists. As in previous workshops, groups of invited experts representing academic institutions, industry and regulatory authorities from around the world were convened for each working group, led by a Chair, Co-chair and Rapporteur. Nomination of expert participants was made on the basis of expertise in their field, with the expectation that a substantial contribution to the overall goal of the subgroup could be made by the nominee. Five working groups were convened, and their detailed recommendations are given in the individual reports in this Special Issue.

Keywords: Conclusions, Genotoxicity, IWGT workshop 2014

---

\*<sup>1</sup> Novartis Institutes for BioMedical Research

\*<sup>2</sup> Public Interest Incorporated Foundation BioSafety Research Center

\*<sup>3</sup> Federal Institute for Drugs and Medical Devices (BfArM)

\*<sup>4</sup> Exponent, Inc.

\*<sup>5</sup> Pharmaceutical Sciences, Roche Innovation Center

\*<sup>6</sup> U.S. Environmental Protection Agency

\*<sup>7</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma Co.

\*<sup>8</sup> Kirkland Consulting

Yauk CL<sup>\*1</sup>, Aardema MJ<sup>\*2</sup>, Benthem VJ<sup>\*3</sup>, Bishop JB<sup>\*4</sup>, Dearfield KL<sup>\*5</sup>, DeMarini DM<sup>\*6</sup>, Dubrova YE<sup>\*7</sup>, Honma M, Lupski JR<sup>\*8</sup>, Marchetti F<sup>\*1</sup>, Meistrich ML<sup>\*9</sup>, Pacchierotti F<sup>\*10</sup>, Stewart J<sup>\*11</sup>, Waters MD<sup>\*12</sup>, Douglas GR<sup>\*1</sup>: Approaches for Identifying Germ Cell Mutagens: Report of the 2013 IWGT Workshop on Germ Cell Assays.

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;783:36-54.

This workshop reviewed the current science to inform and recommend the best evidence-based approaches on the use of germ cell genotoxicity tests. The workshop questions and key outcomes were as follows. (1) Do genotoxicity and mutagenicity assays in somatic cells predict germ cell effects? Limited data suggest that somatic cell tests detect most germ cell mutagens, but there are strong concerns that dictate caution in drawing conclusions. (2) Should germ cell tests be done, and when? If there is evidence that a chemical or its metabolite(s) will not reach target germ cells or gonadal tissue, it is not necessary to conduct germ cell tests, notwithstanding somatic outcomes. However, it was recommended that negative somatic cell mutagens with clear evidence for gonadal exposure and evidence of toxicity in germ cells could be considered for germ cell mutagenicity testing. For somatic mutagens that are known to reach the gonadal compartments and expose germ cells, the chemical could be assumed to be a germ cell mutagen without further testing. Nevertheless, germ cell mutagenicity testing would be needed for quantitative risk assessment. (3) What new assays should be implemented and how? There is an immediate need for research on the application of whole genome sequencing in heritable mutation analysis in humans and animals, and integration of germ cell assays with somatic cell genotoxicity tests. Focus should be on environmental exposures that can cause de novo mutations, particularly newly recognized types of genomic changes. Mutational events, which may occur by exposure of germ cells during embryonic development, should also be investigated. Finally, where there are indications of germ cell toxicity in repeat dose or reproductive toxicology tests, consideration should be given to leveraging those studies to inform of possible germ cell genotoxicity.

Keywords: Copy number variants, Germ cell mutation,

Reproductive health

<sup>\*1</sup> Health Canada

<sup>\*2</sup> Marilyn Aardema Consulting

<sup>\*3</sup> National Institute for Public Health and the Environment

<sup>\*4</sup> National Institute of Environmental Health Sciences

<sup>\*5</sup> USDA, Food Safety and Inspection Service

<sup>\*6</sup> University of North Carolina at Chapel Hill

<sup>\*7</sup> University of Leicester

<sup>\*8</sup> Baylor College of Medicine

<sup>\*9</sup> University of Texas M.D. Anderson Cancer Center

<sup>\*10</sup> Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development

<sup>\*11</sup> AstraZeneca Pharmaceuticals

<sup>\*12</sup> Integrated Laboratory Systems, Incorporation

Zeiger E<sup>\*1</sup>, Gollapudi B<sup>\*2</sup>, Aardema MJ<sup>\*3</sup>, Auerbach S<sup>\*4</sup>, Boverhof D<sup>\*2</sup>, Custer L<sup>\*5</sup>, Dedon P<sup>\*6</sup>, Honma M, Ishida S, Kasinski AL<sup>\*7</sup>, Kim JH<sup>\*8</sup>, Manjanatha MG<sup>\*9</sup>, Marlowe J<sup>\*10</sup>, Pfuhler S<sup>\*11</sup>, Pogribny I<sup>\*9</sup>, Slikker W<sup>\*9</sup>, Stankowski LF Jr<sup>\*12</sup>, Tanir JY<sup>\*8</sup>, Tice R<sup>\*4</sup>, van Benthem J<sup>\*13</sup>, White P<sup>\*14</sup>, Witt KL<sup>\*4</sup>, Thybaud V<sup>\*15</sup>: Opportunities to integrate new approaches in genetic toxicology: an ILSI-HESI workshop report.

*Environ Mol Mutagen.* 2015;56:277-85.

Genetic toxicity tests currently used to identify and characterize potential human mutagens and carcinogens rely on measurements of primary DNA damage, gene mutation, and chromosome damage *in vitro* and in rodents. The International Life Sciences Institute Health and Environmental Sciences Institute (ILSI-HESI) Committee on the Relevance and Follow-up of Positive Results in *In Vitro* Genetic Toxicity Testing held an April 2012 Workshop in Washington, DC, to consider the impact of new understanding of biology and new technologies on the identification and characterization of genotoxic substances, and to identify new approaches to inform more accurate human risk assessment for genetic and carcinogenic effects. Workshop organizers and speakers were from industry, academe, and government. The Workshop focused on biological effects and technologies that would potentially yield the most useful information for evaluating human risk of genetic damage. Also addressed was the impact that improved understanding of biology and

availability of new techniques might have on genetic toxicology practices. Workshop topics included (1) alternative experimental models to improve genetic toxicity testing, (2) Biomarkers of epigenetic changes and their applicability to genetic toxicology, and (3) new technologies and approaches. The ability of these new tests and technologies to be developed into tests to identify and characterize genotoxic agents; to serve as a bridge between *in vitro* and *in vivo* rodent, or preferably human, data; or to be used to provide dose response information for quantitative risk assessment was also addressed. A summary of the workshop and links to the scientific presentations are provided.

Keywords: epigenetics, genetic toxicity, genomics

- 
- \*<sup>1</sup> Errol Zeiger Consulting
  - \*<sup>2</sup> The Dow Chemical Co.
  - \*<sup>3</sup> BioReliance Corporation
  - \*<sup>4</sup> National Institute of Environmental Health Sciences
  - \*<sup>5</sup> Bristol-Myers Squibb Co.
  - \*<sup>6</sup> Massachusetts Institute of Technology
  - \*<sup>7</sup> Yale University
  - \*<sup>8</sup> ILSI Health and Environmental Sciences Institute
  - \*<sup>9</sup> National Center for Toxicological Research, US Food and Drug Administration
  - \*<sup>10</sup> Novartis
  - \*<sup>11</sup> The Procter and Gamble Co.
  - \*<sup>12</sup> BioReliance Corporation
  - \*<sup>13</sup> National Institute for Public Health and the Environment (RIVM)
  - \*<sup>14</sup> Environmental Health Sciences and Research Division, Health Canada
  - \*<sup>15</sup> Sanofi, Vitry-Alfortville Research Center

Gollapudi BB<sup>\*1</sup>, Lynch AM<sup>\*2</sup>, Heflich RH<sup>\*3</sup>, Dertinger SD<sup>\*4</sup>, Dobrovolsky VN<sup>\*3</sup>, Froetschl R<sup>\*5</sup>, Horibata K, Kenyon MO<sup>\*6</sup>, Kimoto T<sup>\*7</sup>, Lovell DP<sup>\*8</sup>, Stankowski LF Jr<sup>\*9</sup>, White PA<sup>\*10</sup>, Witt KL<sup>\*11</sup>, Tanir JY<sup>\*12</sup>: The *in vivo* *Pig-a* assay: A report of the International Workshop On Genotoxicity Testing (IWGT) Workgroup.

*Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015;783: 23-35.

The *in vivo* *Pig-a* assay uses flow cytometry to measure phenotypic variants for antibody binding to cell surface glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins. There is good evidence suggesting that the

absence of antibody binding is the result of a mutation in the endogenous X-linked *Pig-a* gene, which forms the rationale for the assay. Although the assay has been performed with several types of hematopoietic cells and in a variety of mammalian species, including humans, currently it is optimized only for measuring CD59-deficient (presumed *Pig-a* mutant) erythrocytes in the peripheral blood of rats. An expert workgroup formed by the International Workshop on Genotoxicity Testing considered the state of assay development and the potential of the assay for regulatory use. Consensus was reached on what is known about the *Pig-a* assay and how it should be conducted, and recommendations were made on additional data and refinements that would help to further enhance the assay for use in hazard identification and risk assessment.

Keywords: Flow cytometry, Glycosylphosphatidylinositol, Mutation

- 
- \*<sup>1</sup> E(x)ponent
  - \*<sup>2</sup> GlaxoSmithKline
  - \*<sup>3</sup> US Food and Drug Administration, National Center for Toxicological Research
  - \*<sup>4</sup> Litron Laboratories
  - \*<sup>5</sup> Federal Institute for Drugs and Medical Devices
  - \*<sup>6</sup> Pfizer Global Research and Development
  - \*<sup>7</sup> Teijin Pharma
  - \*<sup>8</sup> St. George's, University of London
  - \*<sup>9</sup> BioReliance
  - \*<sup>10</sup> Environmental Health Science and Research Bureau
  - \*<sup>11</sup> National Institutes of Health, National Institute of Environmental Health Sciences, Division of the National Toxicology Program
  - \*<sup>12</sup> Health and Environmental Sciences Institute

本間正充：食品添加物等の遺伝毒性リスク評価法。  
*食品衛生学雑誌* 2016;57:J12-5

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、食品添加物や残留農薬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、健康リスクもゼロの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。我々は日常的に、食物を通して多くの発がん物質を摂取しており、また、太陽からの紫外線、自然環境からの放射線も先史からの発がん因子である。さらに、現代社会で生活する限り、工業製品等からの微量の発がん可能性物質の暴露を避けることはできない。現在必要なのは、食品に含まれる化学物質の危険性とそのリスクを国民に対して合理的、且つ高い透明性をもって説明可能な、評価方法と管理方法を確立することである。このための重要な研究は、リスクをもたらしハザードのメカニズムの解明と、定量化であると考えられる (Hazard Characterization)。

Keywords: 遺伝毒性, 閾値, 一日摂取許容量

森田健: LD<sub>50</sub>値による毒性評価手法の変遷。

*中毒研究* 2015;28:388-91.

LD50値による毒性評価手法の変遷を概説し、“LD50値”に対する認識について基礎と臨床の相互理解を図った。

Keywords: LD<sub>50</sub>値, 急性毒性値, GHS

松本真理子, 清水将史<sup>\*1</sup>, 宮地繁樹<sup>\*2</sup>, 菅谷芳雄<sup>\*3</sup>, 広瀬明彦: OECD化学物質共同評価プログラム: 第6回化学物質共同評価会議概要。

*化学生物総合管理* 2015;10:37-45.

第6回OECD化学物質共同評価会議が、2014年9月30日-10月3日にフランスのパリで開催された。この会議では計136物質(初期評価:132物質;選択的初期評価:4物質)について審議され、titanium dioxide (CAS:13463-67-6)を除く全ての物質に合意が得られた。日本は、政府作成の物質カテゴリー: Methyl- and Ethylcyclohexane (CAS:108-87-2, 1678-91-7) および経済産業諮問委員会原案作成のtrimethylsilanol (CAS: 1066-40-6)の初期評価文書、また1,2-dichloro-4-(chloromethyl)benzene (CAS:102-47-6), 1-naphthol-4-sulfonic acid sodium salt (CAS:6099-57-6), Disperse Red 206 (CAS: 6630-87-5)の計3物質の選択的初期評価文書を提出し合意された。本稿では、第6回化学物質共同評価会議の討議の概要を報告する。

Keywords: 経済協力開発機構, 化学物質共同評価会議, 有害性評価

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹<sup>\*1</sup>, 菅谷芳雄<sup>\*2</sup>, 長谷川隆一, 小林克己, 平田睦子, 小野敦, 広瀬明彦: OECD化学物質対策の動向(第26報) - 第6回OECD化学物質共同評価会議(2014年パリ)。

*化学生物総合管理* 2015;11:28-36.

第6回OECD化学物質共同評価会議(CoCAM-6)が2014年10月にフランスのパリで開催され、日本が担当した1物質(トリメチルシラノール: CAS番号(以下同様)1066-40-6), および1物質カテゴリー(メチル/エチルシクロヘキサン)の初期評価プロファイル(SIAP), 3物質(3,4-ジクロロベンジルクロライド: 102-47-6, 1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウム: 6099-57-6, ディスパーズレッド206: 26630-87-5)の選択的初期評価プロファイル(ITAP)について合意が得られた。本稿ではこれらの初期評価文書について紹介する。

Keywords: OECD, 化学物質共同評価会議

<sup>\*1</sup>(一財)化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所

<sup>\*2</sup>(独)国立環境研究所環境リスク研究センター

小島肇: 化粧品原料に対する安全性規制の世界動向。  
*Cosmetic Stage* 2015;9(4):1-9.

我が国や世界各国の化粧品の制度や安全性試験法を紹介した後、EUの化粧品規制と動物実験禁止の国際的な波及効果の影響を考察し、動物実験代替法の利用・普及状況と問題点についてまとめた。

Keywords: 化粧品規制, 安全性評価, 動物実験代替法

小島肇: 化粧品等の接触皮膚炎を起こす物質を評価するための動物実験代替法について。

*アレルギーの臨床* 2015;35(5):436-40.

EUにおける欧州化学品規則(REACH: Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals)や動物実験により安全性が評価された成分を含んだ化粧品の輸入および販売が禁止により、化粧品等の接触皮膚炎を起こす物質(皮膚感作性物質)を評価する動物実験代替法の開発が強く求められている。

経済協力開発機構(OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development)では、皮膚感作性に関する有害性発現機序AOP(Adverse Outcome Pathway)を開発し、その主要因を明確にするとともに、試験法ガイドライン(TG: Test Guideline)の開発を促している。その中で、2015年2月5日にペプチドとの結合反応を利用したDirect Peptide Reactivity Assay(DPRA)およびケラチノサイト細胞系の標的遺伝子を用いたARE-Nrf2 Luciferase Test MethodがTG442Cおよび442Dとして承認された。ただし、これらのTG単独で皮膚感作性を判

<sup>\*1</sup>(独)製品評価技術基盤機構化学物質管理センター

<sup>\*2</sup>(一財)化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所

<sup>\*3</sup>(独)国立環境研究所環境リスク研究センター

定することは難しい。その他の情報源と組み合わせて評価する試験法と評価のための統合アプローチ (IATA: Integrated Approaches to Testing and Assessment) の開発もOECDで進んでいる。

Keywords: 皮膚感作性, 動物実験代替法, 化粧品

Kojima H, Kasamatsu T\*: Regulatory science - JEMS symposium in 2014.

*Genes and Environment* 2015;37:12.

The Public Symposium of the Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS), entitled "Regulatory Science", was held at the Shiba-Kyoritsu campus of Keio University, Tokyo, on May 24, 2014. The concept of regulatory science was first proposed by Dr. Mitsuru Uchiyama in 1987 as the science that reconciles the fruits of science and technology with the most desirable form for harmony between people and society, by making accurate predictions, assessments, and judgments, based on evidence. However, a quarter-century later, the perception (or attitude) of the masses towards this word appears to be diverse. The main aim of this symposium was to provide the concerned population, including the members of JEMS, with an opportunity to rediscover the role played by JEMS in regulatory science and to discuss the meaning and implications of regulatory science, as well as its development in Japan. The morning session comprised six lectures, including one special lecture, which introduced the regulatory science-related activities of the organizations closely relevant to JEMS. The afternoon session included five lectures on the issues of regulatory science, pertinent to the Food Safety Commission of Japan (FSCJ), which were followed by a panel discussion. This symposium highlighted the important contributions of JEMS toward development of regulatory science in Japan, in conjunction with the many challenges to be addressed. We believe that this symposium provided great scope for eliciting interest in regulatory science, in many members of the audience. It would be helpful if all members of the audience, as well as the readers of this article, would attempt to clarify the challenges presented in this symposium.

Keywords: Regulatory science, Risk assessment, Risk management

小島肇: 昨今の皮膚毒性評価法の動向。

谷本学校毒性質問箱 2015;17:8-14.

化粧品・医薬部外品における昨今の皮膚毒性評価法の動向をまとめた。これまでに皮膚トラブルで回収となった原料成分の事例報告やEUの動物実験禁止に伴う動物実験代替法の利用についてまとめた。

Keywords: 化粧品・医薬部外品, 皮膚トラブル, 動物実験代替法

小島肇: 動物実験代替法の変遷と最新動向。

日本化粧品学会誌 創立40周年記念 2015;39:72-5.

2004年に始まり、2013年3月に施行されたEUによる動物実験の禁止に関する化粧品規制は、世界的な規模で拡大しつつある。国際市場を考慮せざるをえない日本企業においてもこの問題は避けては通れず、日本でも多くの企業が動物実験の禁止を宣言している。しかし、化粧品のポジティブリスト収載成分や医薬部外品の許認可においては、動物実験を実施せねばならないことに変わりがない。本書では医薬部外品の許認可における動物実験代替法の利用を念頭に昨今の動向をまとめた。

Keywords: 動物実験代替法, 化粧品, 医薬部外品

小島肇: 日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) の紹介並びに我が国における動物実験代替法の現状。

*LABIO 21* 2015;62:42-4.

日本における動物実験代替法の現状を説明するにあたり、日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) の活動として、昨今の試験法ガイドラインまたはハリデーシヨンの過程にある動物実験代替法の動向をまとめた。これらは局所毒性や遺伝毒性が中心であり、これら以外に、現在開発中の試験法の中には、反復投与毒性や発生毒性などの代替を目指したものもある。今後、より複雑な毒性試験に有益な代替法が開発されることを期待している。

Keywords: JaCVAM, 動物実験代替法, 試験法ガイドライン

小島肇, 西川秋佳: 日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) 平成26年度報告。

*AAATEX-JaCVAM* 2015;4(1):30-8.

2014年, JaCVAM (日本動物実験代替法評価センター) はその評価会議が認めた2つの試験法を行政機関に提案した。それらは、限刺激性試験代替法 ニワトリ摘出眼球試験 (ICE法) およびIn Chemico皮膚感作性試験ペプチド結合試験である。

さらに, JaCVAMは経済協力開発機構のOECD試験ガ

\* Kao Corporation

イドライン (TG) である遺伝毒性試験 in vivo コメットアッセイのTG 489の成立に寄与した。OECD の作業計画では、日本は以下の5 試験を提案している。1) Bhas 42 形質転換試験2) 限刺激性試験代替法 短時間曝露 (STE: Short Time Exposure) 法, 3) 皮膚感作性試験代替法h-CLAT (Human Cell Line Activation Test), 4) ヒトエストロ, ゲン受容体- $\alpha$  の転写活性化アッセイアンタゴニスト (ER-STTR) 法および5) ヒトアンドロジェン受容体結合による活性化・拮抗作用物質を検出する試験 AR-EcoScreenである。さらに、JaCVAMでは国際協調を通して、複数の試験法のバリデーションや第三者評価を進めている。それらには、AR-Ecoscreen, 発生毒性スクリーニングHand1-Luc EST, in vitro 皮膚感作性試験代替法IL-8 Luc アッセイ, 限刺激性試験代替法SIRC-CVS, および眼刺激性試験代替法Vitrigel-EITである。

Keywords : JaCVAM, JaCVAM試験法提案書, 試験法ガイドライン

Yamazoe Y\*, Yamada T, Mitsumori K\*: Embryo- and testicular-toxicities of methoxyacetate and the related: a review on possible roles of one-carbon transfer and histone modification.

*Food Safety* 2015;3:92-107.

Methoxyacetate (MAA), formed by the metabolisms of ethylene glycol monomethyl ether (2-methoxyethanol), di-(2-methoxyethyl) phthalate and 1,6-dimethoxyhexane, is known to be a teratogenic and testicular toxicant in experimental animals. MAA is known to inhibit histone deacetylase and is associated with lactate-carrying monocarboxylate transporter expressed in Sertoli and fetal cells. In cells of rapid division, nucleosomal histone exchanges occur through the methyl and acetyl modifications and rates of nucleic acid syntheses are elevated with consumption of cellular energy. These phenomena are considered to associate with MAA-mediated teratogenicity and phase-selective spermatocyte disorders, and also suggest a mutual adverse-outcome pathway in which MAA-mediated histone deacetylase inhibition is involved through p21 activation as the early events. In addition, a possible functional relationship of one-carbon transferring folate/S-adenosyl methionine cycle with testicular metabolisms of sarcosine and creatine is envisioned. Thus, the mechanisms underlying the MAA toxicities will be discussed in relation to the current understanding of the involvement of the

epigenetic phenomena and cell-specific metabolisms.

Keywords: methoxyacetic acid, monocarboxylate transporter, creatine and sarcosine

\* Food Safety Commission of Japan

Tanabe S: Overview of gene regulation in stem cell network to identify therapeutic targets utilizing genome databases.

*Insights Stem Cells*. 2015;1:1.

Recent major progress in bioinformatics has enabled the collection and accumulation of so-called big data in medical fields and cell biology. It is important to analyze and interpret these abundant data for appropriate application in therapeutics and the treatment of diseases. Several databases have been introduced worldwide, and the utility of these databases is discussed with literatures. The databases are useful for analyzing genome mutations, gene expression, epigenetic regulation, gene ontology, stem cell phenotype alteration, risk prediction, species differences, and so on. Gene network analysis using these databases may identify targets for therapeutics and treatment relating stem cells. Molecular network regulation is critical for understanding disease and treatment mechanisms.

Keywords: Bioinformatics, Gene regulation, Stem cell

Tanabe S: Signaling involved in stem cell reprogramming and differentiation.

*World J Stem Cells*. 2015;7:992-8.

Stem cell differentiation is regulated by multiple signaling events. Recent technical advances have revealed that differentiated cells can be reprogrammed into stem cells. The signals involved in stem cell programming are of major interest in stem cell research. The signaling mechanisms involved in regulating stem cell reprogramming and differentiation are the subject of intense study in the field of life sciences. In this review, the molecular interactions and signaling pathways related to stem cell differentiation are discussed.

Keywords: Gene, Stem cell, Reprogramming

Tanabe S, Komatsu M<sup>\*1</sup>, Aoyagi K<sup>\*1</sup>, Yokozaki H<sup>\*2</sup>, Sasaki H<sup>\*1</sup>: Implications of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer.

*Transl Gastrointest Cancer.* 2015;4:258-64.

Gastric cancer phenotypes have been associated with various gene alterations. To identify the phenotypes and basis of gastric cancer, precise information about genetic mutations and molecular associations is needed. Cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)(CDH1), one of the most commonly mutated genes, is closely involved in phenotypic transitions in gastric cancer. In this review article, we intensively discuss gene alterations and molecular networks in gastric cancer focusing on both CDH1 and gastric cancer phenotypic diversity [including cancer stem cells (CSCs)] associated with the epithelial-mesenchymal transition (EMT).

Keywords: Cancer stem cell (CSC), epithelial-mesenchymal transition (EMT), Stem cell

---

\*<sup>1</sup>National Cancer Research Institute

\*<sup>2</sup>Kobe University Graduate School of Medicine

Tanabe S: Origin of cells and network information.

*World J Stem Cells.* 2015;7:535-40.

All cells are derived from one cell, and the origin of different cell types is a subject of curiosity. Cells construct life through appropriately timed networks at each stage of development. Communication among cells and intracellular signaling are essential for cell differentiation and for life processes. Cellular molecular networks establish cell diversity and life. The investigation of the regulation of each gene in the genome within the cellular network is therefore of interest. Stem cells produce various cells that are suitable for specific purposes. The dynamics of the information in the cellular network changes as the status of cells is altered. The components of each cell are subject to investigation.

Keywords: Epithelial-mesenchymal transition, Gene, Stem cell



合田幸広：“漢方今昔物語”，第1章 漢方産業を知る，第5章 22世紀の薬草政策につなぐ今：生薬国産化のキーテクノロジー，大阪大学出版会，大阪，pp.6-22, 74-94 (2015)

合田幸広：“qNMRプライマリーガイド”，日本薬局方におけるqNMR採用の採用と経緯，共立出版（株），東京，pp.160-7 (2015)

伊豆津健一：“バイオ医薬品の品質管理戦略”，第二章Ⅲ 安定性，（株）じほう，東京，pp.45-56 (2015)

阿曾幸男：“ICH M7変異原性不純物の開発段階からの評価・管理と申請/CTD記載法”，ICH M7ガイドラインの要求事項と各部門での取り組み/対応法，サイエンス&テクノロジー（株），東京，pp.17-27 (2015)

坂本知昭：“国内未承認薬の検定と品質基準”，寄生虫症薬物治療の手引き-2016-改訂第9.0版，「わが国における熱帯病・寄生虫症の最適診断治療体制の構築」研究班監修，（国研）日本医療研究開発機構，東京，pp.86-8 (2016)

石井明子，橋井則貴，鈴木琢雄，原園景，多田稔，日向昌司，新見伸吾他：“有効性・安全性確保のためのバイオ医薬品の品質管理戦略 クオリティ・バイ・デザインを取り入れた製造・品質管理”，川西徹監修，川崎ナナ監著，（株）じほう，東京 (2015)

川崎ナナ，原園景，石井明子：“糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック”，第8編 糖タンパク質バイオ医薬品の開発と品質・安全性評価，（株）エヌ・ティー・エス，東京，pp.589-95 (2015)

Kikura-Hanajiri R: “Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse Volume 2: Stimulants, Club and Dissociative Drugs, Hallucinogens, Steroids, Inhalants, and International Aspects”, New Designer Drugs in Japan, ed., Preedy VR, Academic Press-Elsevier, London, UK, pp.1055-84 (2016)

遊佐敬介：“有効性・安全性確保のためのバイオ医薬品の品質管理戦略”，第4章 品質管理Ⅲ ウイルス安全性，川西徹，川崎ナナ監修，（株）じほう，東京，pp.124-9 (2015)  
佐藤陽治：“再生医療のための細胞製造ハンドブッ

ク”，紀ノ岡正博監修，（株）シーエムシー出版，東京，pp.146-58 (2015)

田原麻衣子：“qNMRプライマリーガイド-基礎から実践まで-”，第5章 qNMRの実例 5.1 環境汚染物質の標準物質の純度評価，共立出版（株），東京，pp.127-33 (2015)

Tachibana M, Asakura H, Watarai M: “Advances in Medicine and Biology Vo.97”, Widespread dissemination of Legionella pneumophila in aquatic environments, eds., Berhardt LV, Nova Science Publishers Ltd., Chichester, pp.2041-54 (2016)

畝山智香子：“食品の安全と安心，講座I”，科学者から見た食品のリスクと安全性，松田友義編，（株）幸書房，東京，pp.70-80 (2015)

畝山智香子：“「健康食品」のことがよくわかる本”，（株）日本評論社，東京，pp.1-232 (2016)

本間正充：“ICH M7 変異原性不純物の開発段階からの評価・管理と申請/CTD記載法”，第1章 ICH M7の適用範囲と既存ガイドラインとの関連性，サイエンス&テクノロジー（株），東京，pp.3-13 (2015)

本間正充：“衛生試験法・注解2015”，1.3 遺伝毒性試験法，注解，（公社）日本薬学会編，金原出版（株），東京，pp.135-8 (2015)

増村健一：“衛生試験法・注解2015”，1.3 遺伝毒性試験法，1.3.3げっ歯類を用いる試験，(2)トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験，（公社）日本薬学会編，金原出版（株），東京，pp.159-61 (2015)

小島肇：“経皮吸収型製剤開発における基礎と実務への応用”，第4章 経皮吸収の測定・評価および安全性試験，第1節 動物愛護管理法と日臨床試験，杉林堅次監修，（株）情報機構，東京，pp.71-83 (2015)

## 行政報告

## Scientific Reports to Governmental Agencies

医薬品等一斉取り締まり試験報告；フェキソフェナジン塩酸塩60mg錠：合田幸広，伊豆津健一，柴田寛子，吉田寛幸

後発医薬品品質確保対策事業費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

ジェネリック医薬品品質情報検討会製剤試験ワーキンググループ試験結果報告；ロラタジン錠10mg錠：合田幸広，伊豆津健一，柴田寛子，吉田寛幸

後発医薬品品質情報提供等推進事業（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

医薬品等一斉取り締まり試験報告；イミダプリル塩酸塩を含有する内用剤：合田幸広，阿曾幸男，宮崎玉樹

後発医薬品品質確保対策事業費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

国際調和作業に伴う日本薬局方収載添加物規格等の改訂原案策定に関する調査：合田幸広，阿曾幸男，宮崎玉樹  
医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

高分子医薬製剤の安定性評価に係る研究：合田幸広，阿曾幸男，宮崎玉樹

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

日本薬局方新規収載品目及び改正既収載品目原案作成：坂本知昭，小出達夫，香取典子，合田幸広

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

登録試験検査機関精度管理－平成26年度試験検査機関間比較による技能試験結果－：小出達夫，坂本知昭，香取典子，合田幸広

医薬品審査等業務庁費（平成26年4月～平成27年3月），平成28年2月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

地方衛生研究所における医薬品試験の精度管理－平成26

年度試験検査機関間比較による技能試験結果－：小出達夫，坂本知昭，香取典子，合田幸広

医薬品審査等業務庁費（平成26年4月～平成27年3月），平成28年2月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

日局各条へパリンナトリウム等に含まれる不純物の規格及び試験法原案の作成及びその検証に関する研究：橋井則貴，蛭田葉子，久保田浩樹，鈴木琢雄，佐藤恭子，石井明子

医薬品承認審査等推進費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

収去検体の成分分析（ヘパリンの品質試験）：橋井則貴，鈴木琢雄，石井明子，奥田晴宏

医薬品安全対策等推進費（平成27年6月），平成27年6月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

収去検体の成分分析（製剤中残存ヘパリン活性試験）：鈴木琢雄，橋井則貴，多田稔，石井明子，奥田晴宏

医薬品安全対策等推進費（平成27年7月），平成27年7月厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告

生薬製剤の規格整備に係る研究：袴塚高志，丸山卓郎  
医薬品審査等業務庁費（平成27年7月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

オウレン及びオウレンを含む漢方処方製剤（黄連解毒湯）（承認規格において重金属試験の設定があるもの）の重金属に関する分析試験：袴塚高志，鎌倉浩之

後発医薬品品質確保対策事業経費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

インターネット買上げ調査報告（瘦身用健康食品）：袴塚高志，鎌倉浩之

医薬品審査等業務庁費健康食品買上げ調査経費（平成26年4月～平成27年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

医薬品迅速分析法作成のための試験について-ホモタグラフィル，N-ブチルノルタグラフィル，2-ヒドロキシプロピルノルタグラフィル，アセトアミノタグラフィルの迅速分析法-：袴塚高志，最所和宏

医薬品審査等調査研究費（平成27年4月～平成28年3月）、平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・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-：袴塚高志，最所和宏

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月）、平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

あへん中のモルヒネ含量試験：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，緒方潤

あへん等取扱業務庁費（平成27年4月～平成28年3月）平成27年9月及び平成28年2月（インド産あへん66検体）、平成28年2月（国産あへん6検体）厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課

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-：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，最所和宏

厚生労働省庁費（平成27年4月～平成28年3月）平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・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-鑑識用標準品の整備について-：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，田中理恵

厚生労働省庁費（平成27年4月～平成28年3月）平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

危険ドラッグの買上調査における成分分析について：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，田中理恵

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月）平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

危険ドラッグの麻薬指定調査の実施について：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，田中理恵

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月）平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告

危険ドラッグの分析業務について：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月）平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬

対策課に報告

危険ドラッグの分析について（1）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導麻薬対策課に報告（財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼23製品）

危険ドラッグの分析について（2）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告（財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼10製品）

危険ドラッグの分析について（3）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告（財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼6製品）

危険ドラッグの分析について（4）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告（財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼1製品）

危険ドラッグの分析について（5）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告（財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼1製品）

危険ドラッグの分析について（6）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告（財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼6製品）

危険ドラッグの分析について（7）：袴塚高志，花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，緒方潤，田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等，平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策

課に報告(財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼2製品)

危険ドラッグの分析について(8):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 緒方潤, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼2製品)

危険ドラッグの分析について(9):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 緒方潤, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼1製品)

危険ドラッグの分析について(10):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 緒方潤, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼4製品)

危険ドラッグの分析について(11):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 緒方潤, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(財務省関税局/厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼2製品)

指定薬物である疑いがある物品等の検査について(1):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼191製品)

指定薬物である疑いがある物品等の検査について(2):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼158製品)

指定薬物である疑いがある物品等の検査について(3):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 田中理恵

医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導麻薬対策課に報告(厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼326製品)

指定薬物である疑いがある物品等の検査について(4):袴塚高志, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 田中理恵  
医薬品等の国家検定及び検査等に必要経費等, 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課に報告(厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長依頼362製品)

平成27年度微量診断装置審査ワーキンググループ報告書:前田瑞夫\*, 新見伸吾, 齋島由二, 植松美幸, 野村祐介, 福井千恵

医薬品審査等業務庁費(平成27年4月~平成28年3月), 平成28年3月厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生医療等製品審査管理担当)に報告。

\* 理化学研究所前田バイオ工学研究室

平成27年度生体由来材料分野審査ワーキンググループ報告書:岸田晶夫\*, 新見伸吾, 中岡竜介, 加藤玲子  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月~平成28年3月), 平成28年3月厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生医療等製品審査管理担当)に報告。

\* 東京医科歯科大学生体材料工学研究所

平成27年度生体吸収性ステント審査ワーキンググループ報告書:中村正人\*, 新見伸吾, 迫田秀行, 宮島敦子  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月~平成28年3月), 平成28年3月厚生労働省大臣官房参事官(医療機器・再生医療等製品審査管理担当)に報告。

\* 東邦大学医療センター大橋病院内科学講座循環器内科

室内空気環境汚染化学物質調査(放散試験):五十嵐良明, 酒井信夫

化学物質安全対策費, 家庭用品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月), 平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

室内空気環境汚染化学物質調査(全国実態調査):五十嵐良明, 酒井信夫

化学物質安全対策費, 家庭用品等試験検査費(平成27年10月~平成28年3月), 平成28年3月厚生労働省医薬・生

活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

シックハウス（室内空気汚染）問題に係る規制状況調査：  
五十嵐良明，酒井信夫

化学物質安全対策費，家庭用品等試験検査費（平成27年  
10月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生  
活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

平成27年度化粧品・医薬部外品成分の分析法に関する調  
査報告書：アスコルビン酸誘導体の分析法：内野正，秋  
山卓美，五十嵐良明

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に  
報告

平成27年度医薬部外品原料の規格に関する研究報告書：  
秋山卓美，五十嵐良明

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に  
報告

医薬品等一斉監視指導取去指定品目の試験結果報告：ク  
ロルフェネシンを含有する化粧品又は医薬部外品：秋山  
卓美，内野正，五十嵐良明

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻  
薬対策課に報告

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：久保田領志，小林憲弘，  
五十嵐良明

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成  
28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安  
全部水道課に報告

水質基準等検査方法検討調査：小林憲弘，久保田領志，  
五十嵐良明

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成  
28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安  
全部水道課に報告

水道水質検査法に関する技術的知見の収集及び公表用試  
料の作成：小林憲弘，久保田領志，五十嵐良明

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成  
28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安  
全部水道課に報告

ポリ塩化ビニル製手袋に含有される亜リン酸エステル類  
の定性・定量：秋山卓美，伊佐間和郎，河上強志，五十  
嵐良明

家庭用品等試験検査費（平成26年4月～平成27年3月），  
平成27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

家庭用品による皮膚障害原因究明のための化学分析シス  
テムの基盤整備：河上強志，伊佐間和郎，五十嵐良明

家庭用品等試験検査費（平成26年4月～平成27年3月），  
平成27年6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

家庭用品中のグアニジン系加硫促進剤に関する調査：秋  
山卓美，清水久美子，伊佐間和郎，河上強志，五十嵐良  
明

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化  
学物質安全対策室に報告

クレオソート油及びそれらで処理された木材中に含まれ  
る未規制多環芳香族化合物類の実態調査：西以和貴\*，  
仲野富美\*，佐藤学\*，辻清美\*，上村仁\*，河上強志，  
伊佐間和郎，五十嵐良明

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化  
学物質安全対策室に報告

\* 神奈川県衛生研究所

柔軟仕上げ剤等のおいに関する調査：伊佐間和郎，河  
上強志，五十嵐良明

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化  
学物質安全対策室に報告

繊維製品中のアレルギー性金属の実態調査：河上強志，  
伊佐間和郎，五十嵐良明

家庭用品等試験検査費（平成27年11月～平成28年3月），  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化  
学物質安全対策室に報告

食品に残留する農薬等の成分である物質の試験法の検討  
結果の評価における事前確認について（第1回）：グリホ  
サート試験法（畜水産物），ジチオカルバメート及びミ  
ルネブ試験法（農産物及び畜水産物），ジルパテロール  
試験法（畜産物），ドジン試験法（農産物），ノシヘプタ

イト試験法(畜水産物):根本了, 穂山浩  
厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長依頼(平成27年6月~平成28年3月), 平成27年6月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

食品に残留する農薬等の成分である物質の試験法の検討結果の評価における事前確認について(第2回):カスガマイシン試験法(農産物),スピロテトラマト試験法(農産物),スピロテトラマト試験法(畜水産物),ピンドン試験法(農産物),ピンドン試験法(畜水産物),フルメツラム試験法(畜水産物):根本了, 穂山浩

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長依頼(平成27年6月~平成28年3月), 平成27年11月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品に残留する農薬等の成分である物質の試験法の検討結果の評価における事前確認について(第3回):クロラムフェニコール告示試験法(畜水産物),ジフェニルアミン試験法(農産物),ニトロイミダゾール類告示試験法(畜水産物),フルオピコリド試験法(畜水産物),プロパモカルブ試験法(畜水産物):根本了, 穂山浩

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長依頼(平成27年6月~平成28年3月),平成28年1月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 ジエチルスチルベストロール告示試験法改良:坂井隆敏, 根本了, 穂山浩

食品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 食品に含有される天然ホルモンに関する調査事業 天然型ホルモン類の含有量実態調査等:(1)天然型ホルモン類の含有量実態調査:坂井隆敏, 根本了, 穂山浩  
食品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 食品に含有される天然ホルモンに関する調査事業 天然型ホルモン類の含有量実態調査等:(2)カンタキサンチン含有量の上限推定:坂井隆敏, 根本了, 穂山浩  
食品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 LC-TOF-MS法等の高分解能質量分析法の通知LC/MS一斉試験法I(農産物:穀類・豆類,茶)への適用検討(妥当性評価試験)及び試験法通知の英訳事業:(1)液体クロマトグラフ・飛行時間型質量分析計(LC-TOF-MS)法の通知LC/MS一斉試験法I(農産物:穀類・豆類)への適用検討:志田(齊藤)静夏, 根本了, 穂山浩

食品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 LC-TOF-MS法等の高分解能質量分析法の通知LC/MS一斉試験法I(農産物:穀類・豆類,茶)への適用検討(妥当性評価試験)及び試験法通知の英訳事業:(2)試験法通知の英訳:志田(齊藤)静夏, 根本了, 穂山浩

食品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 LC-TOF-MS法等の高分解能質量分析法の通知LC/MS一斉試験法I(農産物:穀類・豆類,茶)への適用検討(妥当性評価試験)及び試験法通知の英訳事業:(3)液体クロマトグラフ・フーリエ変換質量分析法の通知LC/MS一斉試験法I(農産物:茶)への適用検討:志田(齊藤)静夏, 根本了, 穂山浩

食品等試験検査費(平成27年12月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 アピラマイシン試験法(畜産物)開発に関する基礎検討:志田(齊藤)静夏, 根本了, 穂山浩

食品等試験検査費(平成27年12月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 フルトラニル試験法(畜水産物)の開発:菊地博之, 坂井隆敏, 根本了, 穂山浩

食品等試験検査費(平成27年4月~平成28年3月),平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品中の放射性物質実態調査等事業:植草義徳, 鍋師裕美, 前田朋美, 高附巧, 堤智昭, 松田りえ子, 穂山浩,

蜂須賀暁子，曾我慶介

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部監視安全課に報告

食品中の放射性物質の摂取量等調査：鍋師裕美，植草義徳，堤智昭，松田りえ子，穂山浩，蜂須賀暁子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

環境汚染物質検査：高附巧，堤智昭，穂山浩

食品等試験検査費（平成27年6月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部監視安全課に報告

亜麻中のシアン化合物の実態調査に係る試験検査：渡邊敬浩，片岡洋平，穂山浩

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年4月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

チョコレート及びチョコレート飲料中のカドミウム含有実態調査：片岡洋平，林恭子，渡邊敬浩，穂山浩

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

食品中の製造副生成物（フラン）に関する実態調査：渡邊敬浩，林智子，林恭子，穂山浩

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

食品中に残留する農薬等の検査結果集計・解析に関する試験：松田りえ子，林恭子，渡邊敬浩，穂山浩

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

食品添加物公定書の策定に関わる検討：佐藤恭子，多田敦子，建部（佐々木）千絵，大槻崇，杉本直樹，工藤由紀子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

国際的に汎用されている添加物等の指定に向けた研究等：建部（佐々木）千絵，古庄紀子，鐘熙寧，久保田浩樹，大槻崇，多田敦子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

食品添加物の規格基準の設定等に関する試験：建部（佐々木）千絵，古庄紀子，鐘熙寧，久保田浩樹，大槻崇，杉本直樹，多田敦子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

食品中の食品添加物分析法の検討：大槻崇，久保田浩樹，建部（佐々木）千絵，石附京子，西崎雄三，杉本直樹，多田敦子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

平成27年度食品中の過酢酸製剤実態調査事業：久保田浩樹，大槻崇，鈴木一平，建部（佐々木）千絵，多田敦子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

食品添加物一日摂取量調査等研究：久保田浩樹，熊井康人，鐘熙寧，五十嵐敦子，鈴木一平，古庄紀子，建部（佐々木）千絵，大槻崇，多田敦子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年6月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

塩素殺菌処理された食品中の塩素酸及び亜塩素酸の残存調査研究：久保田浩樹，熊井康人，建部（佐々木）千絵，大槻崇，多田敦子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年9月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

既存添加物の成分規格の設定－規格試験法の検討：杉本直樹，多田敦子，西崎雄三，石附京子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

既存添加物の成分規格の設定－規格根拠資料の整理：杉本直樹，多田敦子，西崎雄三，石附京子，佐藤恭子  
食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

既存添加物の成分規格の設定－純度規格設定に関する検討：杉本直樹，多田敦子，西崎雄三，石附京子，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

器具・容器包装の規格試験へのTOC試験の導入に関する研究：六鹿元雄，阿部裕，山口未来，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年5月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

合成樹脂製器具・容器包装の製造に係る製造管理及び品質管理に関する調査：六鹿元雄，阿部裕，山口未来，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年5月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

フタル酸エステル類の溶出挙動に関する研究：阿部裕，山口未来，六鹿元雄，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年11月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品添加物の指定等要請に係る事前相談等業務：西島基弘，長野健一，安原加壽雄，渡邊英俊，多田敦子，杉本直樹，佐藤恭子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

製造基準（殺菌温度及び殺菌時間）に関する調査：五十君静信，岡田由美子，朝倉宏，百瀬愛佳

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

豆腐中の微生物に関する試験検査：五十君静信，朝倉宏  
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年

4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

牛の肝臓の危害に関する試験等調査：五十君静信，岡田由美子，朝倉宏，鈴木穂高，百瀬愛佳

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年12月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品中の微生物検査における衛生指標菌に関する試験検査：五十君静信，朝倉宏，岡田由美子

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

清涼飲料水の製造基準（除菌）に関する文献等の調査：五十君静信，朝倉宏，岡田由美子，百瀬愛佳

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年11月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

貝毒規制に係る試験方法：五十君静信，大城直雅

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

マリントキシン外部精度管理事業：五十君静信，大城直雅，松田りえ子

食品等試験検査費（平成27年6月～平成22年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部監視安全課に報告

生食用カキの安全性確保に係る試験法：野田衛，上間匡，五十君静信

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

清涼飲料水の細菌試験法見直しの検討：工藤由起子，寺嶋淳

食品等安全確保対策費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

水産食品中のヒスタミン生成菌に係る試験検査：工藤由起子，窪崎敦隆，寺嶋淳

食品等安全確保対策費（平成27年4月～平成28年3月），



平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

平成27年度食中毒関連情報調査等の実施：渡辺麻衣子  
食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部監視安全課に報告

食品中のかび毒に係る試験検査（フモニシン，デオキシニバレノール，ニバレノール及びオクラトキシンAの含有実態調査）：吉成知也，大西貴弘，寺嶋淳  
食品・添加物等規格基準に関する試験検査（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

遺伝子組換え食品検査の外部精度管理調査：野口秋雄，中村公亮，近藤一成，最上知子  
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全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：中村公亮，近藤一成，野口秋雄，最上知子  
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部監視安全課に報告

安全性審査済の遺伝子組換え食品の検査法の確立と標準化：野口秋雄，中村公亮，近藤一成，最上知子  
消費者政策調査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月消費者庁に報告

各種食物アレルギーの解析並びにアレルギーを含む食品の検査法の応用及び改良等：最上知子，安達玲子，酒井信夫  
食品表示に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月消費者庁食品表示企画課に報告

食中毒関連情報調査：窪田邦宏，春日文子，渡辺麻衣子，五十君静信，岡田由美子，野田衛，上岡匡  
食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部監視安全課に報告

諸外国における食品微生物の規格基準に関する調査：窪田邦宏，春日文子

食品等試験検査費（平成27年9月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

輸出国における食品の病原微生物等による汚染状況等調査：窪田邦宏，春日文子  
食品等試験検査費（平成28年1月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全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調査：登田美桜，畝山智香子，春日文子  
食品等試験検査費（平成27年12月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部監視安全課に報告

健康食品に関する安全性確保対策等に係る調査：畝山智香子，登田美桜，春日文子  
食品等試験検査費（平成27年9月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課新開発食品保健対策に報告

食品中の製造副生成物に関する調査研究：畝山智香子，登田美桜，春日文子  
食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

医薬品使用実態調査・安全対策推進事業：今任拓也，佐井君江，斎藤嘉朗  
医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局安全対策課に報告

遺伝子多型探索調査事業：中村亮介，前川京子，斎藤嘉朗  
医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局安全対策課に報告

指定添加物の安全性に関する試験： $\beta$ -カリオフィレンの強制経口投与によるラット90日間反復経口投与毒性試験：菅野純，高橋祐次  
食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成27年10月），平成27年10月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全全部基準審査課に報告

指定添加物の安全性に関する試験；2-メチルブチリックアシドの強制経口投与によるラット90日間反復経口投与毒性試験：菅野純，高橋祐次

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成27年10月），平成27年10月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

指定添加物の安全性に関する試験；アセトアルデヒドジエチルアセタールの強制経口投与によるラット90日間反復経口投与毒性試験：菅野純，高橋祐次

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

指定添加物の安全性に関する試験；1,3,5-ウンデカトリエンの強制経口投与によるラット90日間反復経口投与毒性試験：菅野純，高橋祐次

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

指定添加物の安全性に関する試験；ジメチルスルフィドの強制経口投与によるラット90日間反復経口投与毒性試験：菅野純，高橋祐次

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

農薬等の各種毒性試験に関する文献収集事業；1,2-ジブプロモ-3-クロロプロパン，フェノプロップ，ペンタクロロフェノール，1,2-ジブプロモエタンの安全性評価に係る資料整備：山本雅也，高橋祐次

食品・添加物等規格基準に関する試験検査費（平成27年12月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

平成27年度化学物質に係る調査等の実施；内分泌かく乱化学物質スクリーニング試験，4'-hydroxychalcone子宮肥大試験（経口投与試験，皮下投与試験）：菅野純

化学物質安全対策費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課 化学物質安全対策室に報告

平成27年度化学物質に係る調査等の実施；内分泌かく乱化学物質スクリーニング試験，Methylbenzylidene Camphor子宮肥大試験（経口投与試験，皮下投与試験）：菅野純

化学物質安全対策費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課 化学物質安全対策室に報告

指定添加物（香料）の安全性に関する試験（2,3-pentandioneのF344ラットにおける90日間反復投与毒性試験）平成27年度最終報告書：木島綾希，石井雄二，高須伸二，梅村隆志，小川久美子

食品等試験検査費（平成26年8月～平成27年9月），平成27年9月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

指定添加物（香料）の安全性に関する試験（trans-2-ヘキセノールのラットを用いた90日間反復投与毒性試験）平成27年度最終報告書：小川久美子，梅村隆志，石井雄二

食品等試験検査費（平成26年8月～平成27年9月），平成27年9月厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課に報告

指定添加物（香料）の安全性に関する試験（ラットを用いた2-エチルブタナールの90日間亜慢性反復投与試験）平成27年度最終報告書：松下幸平，森川朋美，高橋美和，井上薫，豊田武士，小川久美子

食品等試験検査費（平成27年1月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

指定添加物（香料）の安全性に関する試験（反復投与毒性試験：7品目）（ラットを用いた5-ヘキセニルイソチオシアネート，2-フランメタンチオール，イソオイゲニルメチルエーテル，バニリンプロピレングリコールアセタール，フルフラールプロピレングリコールアセタール，2-(4-メチル-5-チアゾリル)エタノール及び5-メチル-3-フェニル-2-ヘキセナールの90日間亜慢性反復投与試験）平成27年度中間報告書：松下幸平，森川朋美，高橋美和，井上薫，豊田武士，木島綾希，石井雄二，高須伸二，梅村隆志，赤木純一，水田保子，曹永晩，小川久美子

食品等試験検査費（平成27年4月～平成29年1月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

農薬等の各種毒性試験に関する文献収集事業報告書（5物質：DDT，エンドリン，ヒドロコルチゾン，フェンプロスタレン，ニコチン）：豊田武士，小川久美子  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

非遺伝毒性発がん物質に対するIATA作成に係る調査研究報告書：小川久美子

平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

指定添加物の安全性に関する試験（小核試験6品目，トランスジェニック突然変異試験2品目）平成27年度報告書：本間正充，増村健一，堀端克良

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

既存化学物質の安全性に関する試験（復帰突然変異試験8件，染色体異常試験12件）平成27年度報告書：本間正充，山田雅巳，杉山圭一，安井学

食品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

化審法における変異原性の試験法に係る調査（小核試験1件，TK6遺伝子突然変異試験3件，マウスリンフォーム試験3件）平成27年度報告書：本間正充，山田雅巳

化学物質支出委任費（平成27年10月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

農薬の各種毒性試験に関する文献調査（4品目）平成27年度報告書：本間正充，安井学，グルーズ・ピーター，堀端克良

食品等支出委任費（平成27年11月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

食品・添加物等規格基準に関する試験検査（5品目；遺伝毒性試験）平成27年度報告書：本間正充

平成27年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等の実施について（平成27年12月～平成28年2月），平成28年2月厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課に報告

ICH調和3局ガイドライン「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドライン（M7）補遺，ICH M7ガイドライン原則の化合物特異的な許容摂取量算出への適用M7（R1），Step2文書：本間正充

平成27年6月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報告

難分解性物質に関するスクリーニング毒性等調査：広瀬明彦，小野敦，平田陸子，松本真理子，高橋美加，川村智子，小林克己，加藤日奈，山口治子，五十嵐智女，山田隆志

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

POPs条約において廃絶が予定されている化学物質の毒性等調査：広瀬明彦，小野敦，平田陸子，松本真理子，高橋美加，川村智子，小林克己，加藤日奈，山口治子，五十嵐智女，山田隆志

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

スクリーニング・リスク評価のための効率的な毒性試験結果の整理：広瀬明彦，小野敦，平田陸子，松本真理子，高橋美加，川村智子，小林克己，加藤日奈，山口治子  
家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

優先評価化学物質に係る評価資料（リスク評価Ⅱの有害性評価書）の整理，分析等：広瀬明彦，小野敦，平田陸子，松本真理子，高橋美加，川村智子，小林克己，加藤日奈，五十嵐智女

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

一般化学物質に係る評価（スクリーニング評価）資料の整理，分析等：広瀬明彦，小野敦，平田陸子，松本真理子，高橋美加，川村智子，小林克己，加藤日奈，山口治子，山田隆志

家庭用品等試験検査費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：2-tert-ブチルフェノール（CAS No. 88-18-6）：森田健，広瀬明彦

医薬品審査等業務庁費（平成27年4月～平成28年3月），平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：吉草酸

(CAS No. 109-52-4)：森田健, 広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：n-酪酸  
(CAS No. 107-92-6)：森田健, 広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：塩化  
アルミニウム(無水物)(CAS No. 7440-70-0)：森田健,  
広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：ジフェ  
ニルアミン(CAS No. 122-39-4)：森田健, 広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：n-ヘプ  
タン酸(CAS No. 111-14-8)：森田健, 広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：メルカ  
プト酢酸(CAS No. 68-11-1)：森田健, 広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

毒物劇物指定のための有害性情報の収集・評価：水酸化  
リチウム水和物(CAS No. 1310-66-3)：森田健, 広瀬明彦  
医薬品審査等業務庁費(平成27年4月～平成28年3月),  
平成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室に報告

新規試験法提案書 皮膚感作性試験代替法角化細胞株レ  
ポーターアッセイ：小島肇  
厚生労働本省試験研究所試験研究費試験研究費(平成27  
年4月～平成28年3月), 平成28年1月厚生労働省医薬・生

活衛生局審査管理課および医薬・生活衛生局審査管理課  
化学物質安全対策室に報告

新規試験法提案書 光安全性評価法ROSアッセイ：小島  
肇

厚生労働本省試験研究所試験研究費 試験研究費(平成  
27年4月～平成28年3月), 平成28年1月厚生労働省医薬・  
生活衛生局審査管理課および医薬・生活衛生局審査管理  
課化学物質安全対策室に報告

新規試験法提案書 眼刺激性試験代替法STE法：小島肇  
厚生労働本省試験研究所試験研究費 試験研究費(平成  
27年4月～平成28年3月), 平成28年3月厚生労働省医薬・  
生活衛生局審査管理課および医薬・生活衛生局審査管理  
課化学物質安全対策室に報告

急性毒性試験代替法に関する調査：小島肇  
化学物質安全対策費(平成27年7月～平成28年3月), 平  
成28年3月厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課に報  
告

## 学会発表

## Titles of Speeches at Scientific Meetings etc.

川西徹：医薬品品質管理に係る最近の話題（医薬品の国際化に関連して）。

ISPE日本本部2015年次大会（2015.4）

Kawanishi T: Purpose of the 17th Edition of the Japanese Pharmacopoeia and Impact on Generic Drugs Assessment.

DIA CMC フォーラム（2015.6）

川西徹：革新的医薬品の開発環境整備のためのレギュラトリーサイエンスとは－ナノDDS製剤を例にして－。

第52回薬剤学懇談会（2015.6）

川西徹：健康医療戦略におけるレギュラトリーサイエンスの役割。

第34回日本糖質学会年会（2015.8）

川西徹：レギュラトリーサイエンスと衛生薬学。

フォーラム2015:衛生薬学・環境トキシコロジー（2015.9）

川西徹：第17改正日本薬局方の改正のねらい。

日本PDA製薬学会第22回年会（2015.12）

川西徹：医薬品・医療機器・再生医療等製品の開発に向けたレギュラトリーサイエンス研究とは。

第1回AMED-RSシンポ（2016.2）

川西徹：医薬品品質のこれから－革新的医薬品からジェネリック医薬品まで－。

ファームテックジャパンセミナー（2016.3）

川西徹：レギュラトリーサイエンスRSの実践（医薬品開発）。

日本薬学会第136年会シンポジウム（2016.3）

合田幸広：健康食品の新しい機能性表示と品質に関する課題。

第109回日本食品衛生学会学術講演会（2015.5）

Goda Y: Introduction of qNMR to the Japanese Pharmacopoeia (JP) for specification of marker compounds used for standardization of herbal medicines.

2015 International Symposium on Traditional Medicine (2015.6)

Miura T<sup>\*1</sup>, Sugimoto N, Suematsu T<sup>\*2</sup>, Hosoe J, Nishimura H<sup>\*3</sup>, Kikuchi Y<sup>\*3</sup>, Katsuhara T<sup>\*3</sup>, Yamashita T<sup>\*4</sup>, Yamada, Y<sup>\*1</sup>, Goda Y: Application of "AQARI: Accurate Quantitative NMR with Internal reference substance" to the specification of analytical marker compounds used for standardization of natural medicines in the Japanese Pharmacopoeia.

EUROMAR 2015 (2015.7)

\*<sup>1</sup> 和光純薬

\*<sup>2</sup> ジオルレゾナンス

\*<sup>3</sup> ツムラ

\*<sup>4</sup> 常磐植物化学

合田幸広：医薬品の品質保証と生薬および生薬製剤。

第32回和漢医薬学会学術大会（2015.8）

山路誠一<sup>\*1</sup>, 菊池真衣<sup>\*1</sup>, 寺林進<sup>\*2</sup>, 酒井英二<sup>\*3</sup>, 合田幸広, 川原信夫<sup>\*4</sup>, 飯田修<sup>\*4</sup>: 薬用植物総合情報データベースの構築のための基盤咳部に関する研究～誌上流通生薬の組織形態(7)・ボクソク～。

日本生薬学会第62回年会（2015.9）

\*<sup>1</sup> 日本薬科大学

\*<sup>2</sup> 横浜薬科大学

\*<sup>3</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>4</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

Suematsu T<sup>\*1</sup>, Hosoe J, Sugimoto N, Yamada Y<sup>\*2</sup>, Miura T<sup>\*2</sup>, Hayakawa M<sup>\*2</sup>, Suzuki H<sup>\*2</sup>, Katsuhara T<sup>\*3</sup>, Nishimura H<sup>\*3</sup>, Kikuchi Y<sup>\*3</sup>, Yamashita T<sup>\*4</sup>, Goda Y: Application of AQARI (Accurate Quantitative NMR with Internal Reference Substance) to the reagents in the crude drug section of the Japanese Pharmacopoeia. Small Molecule NMR Conference 2015 (2015.9)

\*<sup>1</sup> ジオルレゾナンス

\*<sup>2</sup> 和光純薬

\*<sup>3</sup> ツムラ

\*<sup>4</sup> 常磐植物化学

中嶋祐輝\*, 金田利夫\*, 中田麻美\*, 西野仁美\*, 出口潤\*, 平澤祐介\*, 森田博史\*, 川崎洋子, 合田幸広: Mollugin 誘導体の抗炎症作用。

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

\* 星薬科大学

Miura T<sup>\*1</sup>, Sugimoto N, Suematsu T<sup>\*2</sup>, Nakao S<sup>\*1</sup>, Takaoka, S<sup>\*1</sup>, Hosoe J, Nishimura H<sup>\*3</sup>, Kikuchi Y<sup>\*3</sup>, Katsuhara T<sup>\*3</sup>, Yamashita T<sup>\*4</sup>, Yamada Y<sup>\*1</sup>, Goda Y: Development of Analytical Standards guaranteed by qNMR.

Pacificchem 2015 (2015.12)

\*<sup>1</sup> 和光純薬

\*<sup>2</sup> ジオルレゾナンス

\*<sup>3</sup> ツムラ

\*<sup>4</sup> 常磐植物化学

好村守生<sup>\*1</sup>, 杉脇秀美<sup>\*1</sup>, 内倉崇<sup>\*1</sup>, 測野裕之<sup>\*2</sup>, 合田幸広, 川原信夫<sup>\*2</sup>, 天倉吉章<sup>\*1</sup>: HPTLCによる国内流通生薬の成分比較 (第6報).

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 松山大学薬学部

\*<sup>2</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

山中沙綾<sup>\*1</sup>, 菊池真衣<sup>\*1</sup>, 横田直之<sup>\*1</sup>, 山路誠一<sup>\*1</sup>, 寺林進<sup>\*2</sup>, 酒井英二<sup>\*3</sup>, 合田幸広, 川原信夫<sup>\*4</sup>, 飯田修<sup>\*4</sup>: 薬用植物総合情報データベース構築のための基盤整備に関する研究～市場流通生薬の組織形態(8).

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 日本薬科大学

\*<sup>2</sup> 横浜薬科大学

\*<sup>3</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>4</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

合田幸広: エフェドリンアルカロイド除去麻黄エキスの創薬に向けた取り組み, ～天然物医薬品の開発におけるブレイクスルーを目指して～.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

吉田寛幸, 桑名明美, 柴田寛子, 伊豆津健一, 合田幸広: 粒子速度測定法を用いたフロースルーセル内の水流の評価.

日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

柴田寛子, 吉田寛幸, 伊豆津健一, 合田幸広: 腸溶錠の溶出性評価における炭酸水素緩衝液の利用.

日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

伊豆津健一, 柴田寛子, 吉田寛幸, 合田幸広: 凍結溶液中のタンパク質と添加剤の混合性: ゼラチンを用いた検討.

日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

柴田寛子, 吉田寛幸, 伊豆津健一, 合田幸広: テイコプラニン注射剤の先発医薬品と後発医薬品における成分含量比の評価.

第25回日本医療薬学会年会 (2015.11)

吉田寛幸, 桑名明美, 伊豆津健一, 柴田寛子, 合田幸広: ジェネリック医薬品品質情報検討会における取り組み - ジアゼパム錠等の溶出試験について -.

第48回日本薬剤師会学術大会 (2015.11)

柴田寛子, 吉田寛幸, 伊豆津健一, 合田幸広: ジェネリック医薬品品質情報検討会において品質確認を実施したテイコプラニン注射剤の成分含量比試験について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

浅原初木, 伊豆津健一, 小山靖人: 早期承認に向けた先駆け審査指定制度等における CMCやGMP の課題と提言.

日本PDA製薬学会第22回年会 (2015.12)

伊豆津健一, 柴田寛子, 吉田寛幸, 合田幸広: 凍結水溶液の濃縮相ガラス転移と医薬品の品質確保への活用.

第5回ソフトマター研究会 (2015.12)

伊豆津健一, 吉田寛幸, 柴田寛子, 合田幸広: 凍結乾燥による共結晶の作製に向けた熱測定への活用.

化学工学会第81年会 (2016.3)

吉田寛幸, 桑名明美, 柴田寛子, 伊豆津健一, 合田幸広: 複数の多段インパクターを用いた各種流量における吸入剤の粒度分布の比較.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広: ヨウ素デンブンプン反応の呈色の数値化によるデンブンプンの基原確認法.

第109回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.5)

阿曾幸男, 宮崎玉樹, 合田幸広: ニフェジピンとアセト

アミノフェン類似体とのコアモルファスの結晶化速度.  
日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広: テープ剤基剤中の結晶性薬物の多形判別.  
日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

Aso Y, Miyazaki T, Goda Y: Relationship between crystallization rate of co-amorphous nifedipine with acetaminophen analogues and <sup>13</sup>C-NMR relaxation time of drug carbons.  
AAPS Annual Meeting (2015.10)

Miyazaki T, Aso Y, Goda Y: Feasibility of DSC to determine polymorphic transformation ratio of sulfathiazole form I.  
AAPS Annual Meeting (2015.10)

宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広: 医薬品添加剤として使用されるデンプン類のヨウ素反応の呈色による基原の判別.  
第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

宮崎玉樹, 阿曾幸男, 合田幸広: X線回折測定による市販経皮吸収型製剤中の薬物の結晶状態の解析.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

瀬古友里恵<sup>\*1</sup>, 服部祐介<sup>\*1</sup>, Jomjai Peerapattana<sup>\*2</sup>, 大塚邦子<sup>\*3</sup>, 坂本知昭, 大塚誠<sup>\*1</sup>: NIR法とSEM/EDSマッピング法による偽造医薬品の簡易・精密判別法の確立.  
日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

<sup>\*1</sup> 武蔵野大学

<sup>\*2</sup> コンケン大学

<sup>\*3</sup> 横浜薬科大学

Sakamoto T, Sasaki T\*, Katori N, Goda Y: Observation of effect on cellulose derivative against a pseudo-polymorphism conversion and dehydration in pharmaceutical granules by using a terahertz spectroscopy and near-infrared chemical imaging.  
8th International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (2015.7)

\* Shizuoka University

大塚誠<sup>\*1</sup>, 瀬古友里恵<sup>\*1</sup>, 服部祐介<sup>\*1</sup>, Jomjai

Peerapattana<sup>\*2</sup>, 大塚邦子<sup>\*3</sup>, 坂本知昭: 近赤外分光法を用いたアトルバスタチン偽造医薬品の簡易迅速同定法の確立.

日本社会薬学会第34年会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> 武蔵野大学

<sup>\*2</sup> コンケン大学

<sup>\*3</sup> 横浜薬科大学

Sakamoto T, Sasaki T\*, Katori N, Goda Y: Analysis of Diffusion Process of Pseudo-polymorphism Conversion from Theophylline Monohydrate to the Anhydride in a Tablet by using a Terahertz Chemical Imaging System.

The Second International Symposium on Frontiers in THz Technology (2015.8)

\* Shizuoka University

坂本知昭, 佐々木哲朗\*, 香取典子, 合田幸広: 高感度テラヘルツCWケミカルイメージングシステムによる錠剤中薬物の分布計測.

日本分析化学会第64年会 (2015.9)

\* 静岡大学

峯木紘子\*, 大田孝義\*, 前窪哲也\*, 閑林直人\*, 坂本知昭, 福田晋一郎\*: 曲率を有するサンプルの断面出し新手法-食品・医薬品を斬る.

日本分析化学会第64年会 (2015.9)

\* ジャスコエンジニアリング

坂本知昭, 佐々木哲朗\*, 香取典子, 合田幸広: 紫外線照射による酸化チタン (IV) のフォノン振動の変化.  
第76回応用物理学会秋季学術講演会 (2015.9)

\* 静岡大学

佐々木哲朗<sup>\*1</sup>, 大塚誠<sup>\*2</sup>, 坂本知昭: イソニアジドの単結晶成長とテラヘルツ振動解析.  
第45回結晶成長国内会議 (2015.10)

<sup>\*1</sup> 静岡大学

<sup>\*2</sup> 武蔵野大学

坂本知昭, 藤巻康人<sup>\*1</sup>, 峯木紘子<sup>\*2</sup>, 小金井誠司<sup>\*1</sup>, 閑

林直人<sup>\*2</sup>, 福田晋一郎<sup>\*2</sup>, 香取典子, 合田幸広: NIR分光法を用いた市場流通医薬品検査のための錠剤精密切削面の成分分布解析.

第31回近赤外フォーラム (2015.11)

<sup>\*1</sup> 東京都立産業技術研究センター

<sup>\*2</sup> ジャスコエンジニアリング

坂本知昭, 佐々木哲朗<sup>\*</sup>, 香取典子, 合田幸広: テラヘルツ及びラマン分光を用いたフォノン及び分子振動解析による酸化チタン (IV) のUV活性とキノロン系合成抗菌剤のUV劣化の評価.

第63回応用物理学会春季学術講演会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 静岡大学

佐々木哲朗<sup>\*1</sup>, 大塚誠<sup>\*2</sup>, 坂本知昭: テオフィリン及びイソニアジドの単結晶成長とテラヘルツ振動解析.

第63回応用物理学会春季学術講演会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 静岡大学

<sup>\*2</sup> 武蔵野大学

坂本知昭, 佐々木哲朗<sup>\*</sup>, 香取典子, 合田幸広: フォノン及び分子振動解析による酸化チタン (IV) のUV活性と医薬用成分のUV劣化の評価.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 静岡大学

佐々木哲朗<sup>\*1</sup>, 大塚誠<sup>\*2</sup>, 坂本知昭: テオフィリン及びイソニアジドの単結晶成長とテラヘルツ振動解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 静岡大学

<sup>\*2</sup> 武蔵野大学

副島武夫<sup>\*</sup>, 湯本政昭<sup>\*</sup>, 赤尾賢一<sup>\*</sup>, 永森浩司<sup>\*</sup>, 坂本知昭: ラマン分光法を用いたシプロフロキサシンのUV劣化の評価.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 日本分光

小出達夫, 深水啓朗<sup>\*</sup>, 久田浩史<sup>\*</sup>, 香取典子, 奥田晴宏, 合田幸広: ラマン分光法を用いた医薬品製剤品質評価に関する研究.

日本薬学会第30年会 (2015.5)

<sup>\*</sup> 明治薬科大学

深水啓朗<sup>\*1</sup>, 久田浩史<sup>\*1</sup>, 小出達夫, 鈴木豊史<sup>\*2</sup>, 伴野和夫<sup>\*2</sup>: 錠剤中コクリスタルの低波数ラマン分光イメージング.

日本薬学会第30年会 (2015.5)

<sup>\*1</sup> 明治薬科大学

<sup>\*2</sup> 日本大学

東初樹<sup>\*1</sup>, 瀧波磨理江<sup>\*2</sup>, 大橋由紀<sup>\*2</sup>, 久田浩史<sup>\*1</sup>, 井上元基<sup>\*1</sup>, 小出達夫, 鈴木豊史<sup>\*2</sup>, 伴野和夫<sup>\*2</sup>, 深水啓朗<sup>\*1</sup>: ケトプロフェン含有テープ製剤の顕微ラマンイメージング.

日本薬学会第30年会 (2015.5)

<sup>\*1</sup> 明治薬科大学

<sup>\*2</sup> 日本大学

飯田康人<sup>\*</sup>, 久田浩史<sup>\*</sup>, 井上元基<sup>\*</sup>, 小出達夫, 深水啓朗<sup>\*</sup>: フェルビナク含有テープ製剤の結晶状態に関する研究.

第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

<sup>\*</sup> 明治薬科大学

岡留悠祐<sup>\*</sup>, 島村りえ<sup>\*</sup>, 鈴木郁也<sup>\*</sup>, 小出達夫, 久田浩史<sup>\*</sup>, 井上元基<sup>\*</sup>, 深水啓朗<sup>\*</sup>: ラマン分光法による錠剤中主薬の定量に関する研究.

第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

<sup>\*</sup> 明治薬科大学

島村りえ<sup>\*</sup>, 久田浩史<sup>\*</sup>, 井上元基<sup>\*</sup>, 小出達夫, 深水啓朗<sup>\*</sup>: 錠剤中インドメタシン結晶多形のラマン分光イメージング.

第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

<sup>\*</sup> 明治薬科大学

小山内諒治<sup>\*</sup>, 久田浩史<sup>\*</sup>, 井上元基<sup>\*</sup>, 小出達夫, 深水啓朗<sup>\*</sup>: 顕微ラマン測定による錠剤中主薬の多形転移モニタリング.

第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

<sup>\*</sup> 明治薬科大学



Fukami T\*, Inoue M\*, Hisada H\*, Koide T: Chemical Imaging of Crystalline Components in Pharmaceutical Dosage Forms by Using Low Frequency Raman Spectroscopy.  
SCIX 2015 (2015.9)

\* Meiji Pharmaceutical University

井上元基\*, 久田浩史\*, 小出達夫, 深水啓朗\*: 低波数ラマン分光法を用いた錠剤中原薬の結晶多形のイメージング.  
第32回製剤と粒子設計シンポジウム (2015.10)

\* 明治薬科大学

山本佳久\*<sup>1</sup>, 久米谷萌水\*<sup>1</sup>, 深水啓朗\*<sup>2</sup>, 小出達夫: 近赤外分光法を利用した皮膚外用製剤混合物の安定性評価.  
第54回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 明治薬科大学

\*<sup>2</sup> 帝京平成大学

山本佳久\*<sup>1</sup>, 久米谷萌水\*<sup>1</sup>, 大貫義則\*<sup>2</sup>, 深水啓朗\*<sup>3</sup>, 小出達夫, 鈴木豊史\*<sup>4</sup>, 伴野和夫\*<sup>4</sup>: W/O型保湿クリーム製剤と副腎皮質ステロイド外用製剤からなる混合物の保存安定性に関する研究.  
第25回日本医療薬学会年会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 帝京平成大学

\*<sup>2</sup> 富山大学

\*<sup>3</sup> 明治薬科大学

\*<sup>4</sup> 日本大学

飯田康人\*, 井上元基\*, 久田浩史\*, 小出達夫, 深水啓朗\*: OTCテープ剤に含まれるフェルピナクのラマンイメージング.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 明治薬科大学

岡留悠祐\*, 島村りえ\*, 鈴木郁也\*, 小出達夫, 久田浩史\*, 井上元基\*, 深水啓朗\*: ラマン分光法による錠剤中主薬の定量に関する研究-製剤均一性試験への応用を見据えて-.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 明治薬科大学

島村りえ\*, 久田浩史\*, 井上元基\*, 小出達夫, 深水啓朗\*: 錠剤中インドメタシン結晶多形のラマン分光イメージング.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 明治薬科大学

小山内諒治\*, 久田浩史\*, 井上元基\*, 小出達夫, 深水啓朗\*: 低波数ラマン分光法による製剤中原薬の結晶化挙動モニタリング.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 明治薬科大学

山本佳久\*<sup>1</sup>, 久米谷萌水\*<sup>1</sup>, 大貫義則\*<sup>2</sup>, 深水啓朗\*<sup>3</sup>, 小出達夫, 鈴木豊史\*<sup>4</sup>: 近赤外分光法を用いたヘパリン類似物質含有保湿剤とステロイド軟膏からなる混合物の安定性.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 帝京平成大学

\*<sup>2</sup> 富山大学

\*<sup>3</sup> 明治薬科大学

\*<sup>4</sup> 日本大学

鮎谷千明\*<sup>1</sup>, 大貫義則\*<sup>2</sup>, 山本佳久\*<sup>3</sup>, 深水啓朗\*<sup>4</sup>, 小出達夫, 内海俊一\*<sup>1</sup>, 小幡誉子\*<sup>1</sup>, 高山幸三\*<sup>1</sup>: MRIを利用したステロイド軟膏と保湿クリームの混合製剤の定量的製剤安定性評価.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 星薬科大学

\*<sup>2</sup> 富山大学

\*<sup>3</sup> 帝京平成大学

\*<sup>4</sup> 明治薬科大学

Katori N: Appropriate BMV Methods for each Stage of Drug Development.  
2015 AAPS Workshop Crystal City VI: BMV on Biomarkers (2015.9)

香取典子: バイオマーカー測定における分析法バリデーション-規制下バイオアナリシスとの関連-.  
第30回日本薬物動態学会年会 (2015.11)

香取典子：ICH S3A Q&A の状況報告。  
第7回JBFシンポジウム (2016.3)

鎌田春彦<sup>\*1,2</sup>, 井上雅己<sup>\*1</sup>, 阿部康弘, 角田慎一<sup>\*1,2</sup>：ヒトTNFR2 指向性アゴニストを用いた新規TNFR2 シグナル関連分子の同定。  
日本プロテオーム学会2015年会 (JHUPO第13回大会) (2015.7)

<sup>\*1</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所  
<sup>\*2</sup> 大阪大学

阿部康弘, 加藤くみ子, 合田幸広：siRNA封入リポソームの物性評価と自然免疫応答に関する研究。  
第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2015.9)

加藤くみ子, 原矢佑樹\*, 阿部康弘, 合田幸広：ナノ医薬品の特性解析における走査型プローブ顕微鏡の利用。  
第24回日本バイオイメージング学会学術集会 (2015.9)

\* 日本医療研究開発機構

Kamada H<sup>\*1,2</sup>, Inoue M<sup>\*1</sup>, Abe Y, Higashisaka K<sup>\*2</sup>, Yoshioka Y<sup>\*2</sup>, Mukai Y<sup>\*1</sup>, Nagano K<sup>\*1</sup>, Tsutsumi Y<sup>\*1,2</sup>, Tsunoda S<sup>\*1,2</sup>: Identification of adaptor proteins included in the TNFR2 signaling complex.  
14th Human Proteome Organization World Congress (2015.9)

<sup>\*1</sup> National Institute of Biomedical Innovation and Nutrition  
<sup>\*2</sup> Osaka University

阿部康弘, 加藤くみ子, 合田幸広：siRNA封入リポソームの自然免疫応答に関する研究。  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

原矢佑樹\*, 加藤くみ子, 合田幸広：原子間力顕微鏡による液中リポソームのイメージングと膜弾性解析。  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 日本医療研究開発機構

加藤くみ子, 桜井真理, 合田幸広：リポタンパク質受容体を介したリポソームの細胞内取り込みに関する研究。  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

三浦ゆり<sup>\*1</sup>, 太田悠葵, 高倉大輔, 橋井則貴, 新井康通<sup>\*2</sup>, 津元裕樹<sup>\*1</sup>, 川崎ナナ, 広瀬信義<sup>\*2</sup>, 遠藤玉夫<sup>\*1</sup>：超百寿者血漿タンパク質のN-結合型糖鎖解析。  
第63回質量分析総合討論会 (2015.6)

<sup>\*1</sup> 東京都健康長寿医療センター  
<sup>\*2</sup> 慶応大学百寿総合センター

橋井則貴：液体クロマトグラフィー/質量分析による抗体医薬品の糖鎖不均一性解析：プロセス解析工学への応用。  
第15回蛋白質科学会年会 (2015.6)

橋井則貴：LC/MSを用いた抗体医薬品の迅速糖鎖不均一性解析。  
第34回日本糖質学会年会 (2015.7)

橋井則貴, 菊池慶実<sup>\*1</sup>, 山田尚之<sup>\*1</sup>, 板屋寛<sup>\*1</sup>, 秦信子<sup>\*2</sup>, 橋本勉<sup>\*3</sup>, 星野雅輝<sup>\*3</sup>, 蛭田葉子, 鈴木琢雄, 南出善幸<sup>\*4</sup>, 井上則子<sup>\*5</sup>, 後藤理恵子<sup>\*5</sup>, 山口建<sup>\*6</sup>, 神野文宏<sup>\*7</sup>, 藤田央<sup>\*7</sup>, 清水久夫<sup>\*7</sup>, 石井明子：LC/MSによる抗体医薬品のバイオアナリシスに関する研究。  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 味の素 (株)  
<sup>\*2</sup> (株) Ig-M  
<sup>\*3</sup> (株) LSIメディエンス  
<sup>\*4</sup> (株) 島津テクノロジーサーチ  
<sup>\*5</sup> シミックファーマサイエンス (株)  
<sup>\*6</sup> (株) 住化分析センター  
<sup>\*7</sup> 武田薬品工業 (株)

鈴木琢雄, 宮崎ちひろ, 多田稔, 橋井則貴, 石井明子：FcRn親和性の違いが抗体医薬品の体内分布などに及ぼす影響。  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

伊藤孝司<sup>\*1</sup>, 西岡宗一郎<sup>\*1</sup>, 辻大輔<sup>\*1</sup>, 東哲也<sup>\*1</sup>, 真板宣夫<sup>\*2</sup>, 小林功<sup>\*3</sup>, 瀬筒秀樹<sup>\*3</sup>, 湯本史明<sup>\*4</sup>, 原園景, 石井明子, 川崎ナナ：新規組換えリソソーム酵素の創製とリソソーム病治療への応用。  
第15回蛋白質科学会年会シンポジウム (2015.6)

<sup>\*1</sup> 徳島大学大学院  
<sup>\*2</sup> 徳島大学疾患酵素研  
<sup>\*3</sup> 農業生物資源研究所  
<sup>\*4</sup> 高エネルギー加速器研究機構

西村和子, 石井明子: バイオ医薬品に対する抗薬物抗体分析におけるdrug tolerance改善に関する研究.  
第22回免疫毒性学会学術年会 (2015.9)

Kajihara D<sup>\*1</sup>, Hirose A, Katori N, Hashii N, Arai S<sup>\*2</sup>, Awatsu H<sup>\*3</sup>, Eiza A<sup>\*4</sup>, Hara Y<sup>\*5</sup>, Hattori H<sup>\*6</sup>, Inoue T<sup>\*7</sup>, Isono T<sup>\*8</sup>, Iwakura M<sup>\*9</sup>, Kasahara N<sup>\*10</sup>, Matsuda H<sup>\*11</sup>, Murakami S<sup>\*12</sup>, Nakagawa T<sup>\*13</sup>, Okumura T<sup>\*14</sup>, Omasa T<sup>\*15</sup>, Takuma S<sup>\*8</sup>, Terashima I<sup>\*16</sup>, Tsukahara M<sup>\*13</sup>, Tsutsui M<sup>\*17</sup>, Yano T<sup>\*18</sup>, Kawasaki N<sup>\*19</sup>, Ishii-Watabe A: Approaches to Quality Risk Management When Using Single-Use Systems in the Manufacture of Biologics. Japan Single-Use Systems Risk Management Committee (JSRC) BioProcess International (2015.10)

- \*1 GEヘルスケア・ジャパン (株)
- \*2 住友ベークライト (株)
- \*3 日本ボール (株)
- \*4 積水成型工業 (株)
- \*5 ザルトリウス・ステディム・ジャパン (株)
- \*6 大日本印刷 (株)
- \*7 MSD (株)
- \*8 中外製薬 (株)
- \*9 次世代バイオ医薬品製造技術研究組合
- \*10 アステラス製薬 (株)
- \*11 藤森工業 (株)
- \*12 (株) 日立製作所
- \*13 協和発酵キリン (株)
- \*14 武田薬品工業 (株)
- \*15 大阪大学
- \*16 メルク (株) ミリポア事業本部
- \*17 大日本住友製薬 (株)
- \*18 第一三共 (株)
- \*19 横浜市立大学

西村和子, 秦信子<sup>\*1</sup>, 橋本勉<sup>\*2</sup>, 森民樹<sup>\*2</sup>, 井上則子<sup>\*3</sup>, 笹原里美<sup>\*3</sup>, 繁水裕子<sup>\*3</sup>, 中村隆広<sup>\*4</sup>, 野村達希<sup>\*4</sup>, 横田喜信<sup>\*4</sup>, 石井明子: バイオ医薬品に対する抗薬物抗体分析におけるdrug tolerance 改善法に関する多機関共同研究.  
第30回日本薬物動態学会学術年会 (2015.11)

- \*1 (株) Ig-M
- \*2 (株) LSIメディエンス
- \*3 シミックファーマサイエンス (株)
- \*4 (株) 新日本科学

西村和子, 宮間ちづる, 石井明子: 抗薬物抗体評価に用いられる各種Ligand Binding Assayの分析能比較.  
136回日本薬学会年会 (2016.3)

Harazono A: New Japanese Pharmacopoeia General Test and General Information for Glycosylation Analysis of Glycoprotein. USP Workshop on Glycosylation Analysis for Biopharmaceuticals (2015.8)

原園景, 鳥巢哲生<sup>\*1</sup>, 寺島勇<sup>\*2</sup>, 齋藤智<sup>\*2</sup>, 水野保子<sup>\*3</sup>, 岡野清<sup>\*3</sup>, 大庭澄明<sup>\*4</sup>, 柳原繁弘<sup>\*5</sup>, 福田潤<sup>\*5</sup>, 山口秀人<sup>\*6</sup>, 古木健一郎<sup>\*6</sup>, 中家修一<sup>\*7</sup>, 十時慎一郎<sup>\*7</sup>, 古賀淳一<sup>\*8</sup>, 小林直樹<sup>\*8</sup>, 横山毅<sup>\*9</sup>, 内山進<sup>\*10</sup>, 横山雅美<sup>\*10</sup>, クラユヒナ・エレナ<sup>\*10</sup>, 中野祥晃<sup>\*11</sup>, 辰巳正史<sup>\*12</sup>, 中子真由美<sup>\*13</sup>, 田中二郎<sup>\*14</sup>, 木吉真人, 石井明子: バイオ医薬品の不溶性微粒子試験のための予備的検討: 試験の低容量化及び測定粒子径範囲について.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

- \*1 武田薬品工業 (株)
- \*2 中外製薬 (株)
- \*3 東レリサーチ (株)
- \*4 持田製薬 (株)
- \*5 協和発酵キリン (株)
- \*6 アステラス製薬 (株)
- \*7 (株) 島津製作所
- \*8 第一三共 (株)
- \*9 (一社) 日本血液製剤機構
- \*10 (株) ユー・メディコ
- \*11 (一財) 化血研
- \*12 JCRファーマ (株)
- \*13 大日本住友製薬 (株)
- \*14 Meiji Seikaファルマ (株)

Kiyoshi M, Jose M.M. Caaveiro<sup>\*1</sup>, Kawai T<sup>\*1</sup>, Tashiro T<sup>\*1</sup>, Ide T<sup>\*2</sup>, Asaoka Y<sup>\*2</sup>, Hatayama K<sup>\*2</sup>, Tsumoto K<sup>\*1</sup>: Structural basis for binding of human IgG1 to its human receptor FcγRI. GEライフサイエンス発表会 (2015.7)

- \*1 東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻
- \*2 東ソー (株)

木吉真人, マルチネスカアヴェイロホセマヌエル<sup>\*1</sup>, 井出輝彦<sup>\*2</sup>, 朝岡義春<sup>\*2</sup>, 畑山耕太<sup>\*2</sup>, 石井明子, 津本浩

平<sup>\*1</sup>: Fc $\gamma$  Receptor IとRituximab IgG Fcとの複合体X線結晶構造解析による親和性, 特異性創出機構の解明. 若手のためのファーマ・バイオフォーラム (2015.9)

<sup>\*1</sup> 東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻

<sup>\*2</sup> 東ソー (株)

Kiyoshi M, Jose M.M. Caaveiro<sup>\*1</sup>, Kawai T<sup>\*1</sup>, Tashiro T<sup>\*1</sup>, Ide T<sup>\*2</sup>, Asaoka Y<sup>\*2</sup>, Hatayama K<sup>\*2</sup>, Tsumoto K<sup>\*1</sup>: Structural basis for binding of human IgG1 to its human receptor Fc $\gamma$ RI.

Gordon Research Conference Antibody Biology & Engineering (2016.3)

<sup>\*1</sup> 東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻

<sup>\*2</sup> 東ソー (株)

小林哲, 村山一茂<sup>\*1</sup>, 豊島聰<sup>\*1</sup>, 川崎ナナ<sup>\*2</sup>, 石井明子: 各種抗TNF薬における有害事象プロファイルの比較. 日本薬剤疫学会第21回学術総会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 武蔵野大学薬学部

<sup>\*2</sup> 横浜市立大学生命医科学研究科

小林哲, 鎌田泉<sup>\*1</sup>, 小村純子<sup>\*2</sup>, 豊島聰<sup>\*1</sup>, 石井明子: フィルグラスチムの後続品と先行品における有害事象の報告割合と発症時期の比較.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 武蔵野大学薬学部

<sup>\*2</sup> 医薬品医療機器総合機構安全第一部

西村行生<sup>\*1</sup>, 日向須美子<sup>\*2</sup>, 日向昌司, 伊藤和幸<sup>\*3</sup>, 花輪壽彦<sup>\*2</sup>: 麻黄は肺癌細胞においてHGF刺激後のMET endocytosisおよびその分解を促進する.

第24回日本がん転移学会学術集会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> 九州大学

<sup>\*2</sup> 北里大学東洋医学総合研究所

<sup>\*3</sup> 大阪府立成人病センター

日向須美子<sup>\*1</sup>, 日向昌司, 大嶋直浩<sup>\*2</sup>, 鎌倉浩之, 丸山卓郎, 袴塚高志, 天倉吉章<sup>\*3</sup>, 合田幸広, 花輪壽彦<sup>\*1</sup>: エフェドリンアルカロイド除去麻黄エキス (EFM) の薬理作用と安全性.

第32回和漢医薬学会学術大会 (2015.8)

<sup>\*1</sup> 北里大学東洋医学総合研究所

<sup>\*2</sup> 国際医療福祉大学薬学部

<sup>\*3</sup> 松山大学薬学部

中森俊輔<sup>\*1</sup>, 高橋純<sup>\*1</sup>, 日向須美子<sup>\*2</sup>, 天倉吉章<sup>\*3</sup>, 日向昌司, 袴塚高志, 合田幸広, 花輪壽彦<sup>\*2</sup>, 小林義典<sup>\*1</sup>: Capsaicin誘発疼痛及びFormalin誘発疼痛に対する麻黄の鎮痛効果.

第32回和漢医薬学会学術大会 (2015.8)

<sup>\*1</sup> 北里大学薬学部

<sup>\*2</sup> 北里大学東洋医学総合研究所

<sup>\*3</sup> 松山大学薬学部

多田稔, 石井明子: Fc $\gamma$ 受容体発現レポーター細胞を用いた抗体医薬品の品質評価.

日本薬学会第136年会シンポジウム (2016.3)

高倉美智子, 多田稔, 石井明子: Fc $\gamma$ 受容体発現レポーター細胞株を用いた抗体医薬品の免疫作用予測・評価系の開発.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

日向昌司, 多田稔, 石井明子: EGFR陽性ヒト癌細胞株におけるEGFR発現量とセツキシマブ結合能の相関.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

志賀有貴<sup>\*1</sup>, 村田大輔<sup>\*1</sup>, 大島祐太<sup>\*1</sup>, 多田稔, 石井明子, 竹内崇<sup>\*2</sup>, 加賀谷伸治<sup>\*3</sup>, 佐藤淳<sup>\*1</sup>: エフェクター機能を示さないHinge欠失IgG Fc融合技術の開発.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 東京工科大学

<sup>\*2</sup> 鳥取大学

<sup>\*3</sup> (株) NRLファーマ

松田基<sup>\*1</sup>, 橋本洋佑<sup>\*1</sup>, 川東祐美<sup>\*1</sup>, 畑智幸<sup>\*1</sup>, 渡利彰浩<sup>\*1</sup>, 近藤昌夫<sup>\*1</sup>, 岡田欣晃<sup>\*1</sup>, 多田稔, 石井明子, 深澤征義<sup>\*2</sup>, 土井健史<sup>\*1</sup>, 八木清仁<sup>\*1</sup>: Claudinを標的とした創薬基盤技術の開発～ claudin-4を標的としたがん治療戦略の有効性及び安全性の評価～.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 大阪大学

<sup>\*2</sup> 国立感染症研究所

高橋純<sup>\*1</sup>, 中森俊輔<sup>\*1</sup>, 日向須美子<sup>\*2</sup>, 山下忠俊<sup>\*3</sup>, 大嶋直浩<sup>\*4</sup>, 丸山卓郎, 日向昌司, 天倉吉章<sup>\*5</sup>, 袴塚高志, 小田口浩<sup>\*2</sup>, 合田幸広, 花輪壽彦<sup>\*2</sup>, 小林義典<sup>\*1</sup>: Formalin誘発疼痛に対する麻黄エキス, エフェドリンアルカロイド除去麻黄エキス (EFE) 及びエフェドリンの鎮痛効果.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 北里大学薬学部

<sup>\*2</sup> 北里大学東洋医学総合研究所

<sup>\*3</sup> (株) 常磐植物化学研究所

<sup>\*4</sup> 国際医療福祉大学薬学部

<sup>\*5</sup> 松山大学薬学部

橋井則貴: LC/MSによるバイオ医薬品の品質評価及びバイオアナリシス.

第22回クロマトグラフィーシンポジウム (2015.5)

橋井則貴: 液体クロマトグラフィー/質量分析によるバイオ医薬品のバイオアナリシス.

第63回質量分析総合討論会 (2015.6)

石井明子: 抗体医薬品開発の進展とがん治療における期待.

第25回医療薬学会年会シンポジウム (2015.11)

石井明子: バイオ医薬品の免疫原性.

第35回動物細胞工学会シンポジウム バイオ医薬品の物性と免疫原性 (2016.1)

河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 佐藤太<sup>\*</sup>, 袴塚高志: LC-Q-TOF-MSを用いた生体試料中危険ドラッグ成分のスクリーニング法の検討.

日本法中毒学会第34年会 (2015.6)

<sup>\*</sup> 日本ウォーターズ (株)

工藤恵子<sup>\*</sup>, 白元洋介<sup>\*</sup>, 花尻 (木倉) 瑠理, 辻彰子<sup>\*</sup>, 池田典昭<sup>\*</sup>: 危険ドラッグによる中毒死事例における, 血液および尿中4-methoxy PV8, PV9, 4-methoxy PV9, diphenidineの同時分析.

日本法中毒学会第34年会 (2015.6)

<sup>\*</sup> 九州大学医学部

内山奈穂子, 花尻 (木倉) 瑠理, 袴塚高志: 簡易薬物スクリーニングキットを用いた危険ドラッグ成分の識別法

の検討.

日本法中毒学会第34年会 (2015.6)

Uchiyama N, Aritake K<sup>\*</sup>, Kikura-Hanajiri R, Hakamatsuka T, Urade Y<sup>\*</sup>: Effects of recently-emerged synthetic cannabinoids on locomotor activity in mice.

TIAFT 2015 (2015.8)

<sup>\*</sup> 筑波大学国際統合睡眠医学科学研究機構

Kikura-Hanajiri R, Uchiyama N, Hakamatsuka T: Evaluation of the binding affinities of 54 newly-emerged Synthetic cannabinoids at the cannabinoid CB1 and CB2 Receptors.

TIAFT 2015 (2015.8)

堀井周文<sup>\*</sup>, 小此木明<sup>\*</sup>, 高橋隆二<sup>\*</sup>, 鎌倉浩之, 袴塚高志, 合田幸広: 八味地黄丸エキス製剤及び湯剤の同等性に関する研究.

第32回和漢医薬学会学術大会 (2015.8)

<sup>\*</sup> クラシエ製薬 (株) 漢方研究所

大嶋直浩<sup>\*1</sup>, 日向須美子<sup>\*2</sup>, 日向昌司, 鎌倉浩之, 丸山卓郎, 袴塚高志, 天倉吉章<sup>\*3</sup>, 合田幸広, 花輪壽彦<sup>\*2</sup>: エフェドリンアルカロイド除去麻黄エキス (EFM) の製造法と活性成分 herbacetin の含量.

第32回和漢医薬学会学術大会 (2015.8)

<sup>\*1</sup> 国際医療福祉大学薬学部

<sup>\*2</sup> 北里大学東洋医学研究所

<sup>\*3</sup> 松山大学薬学部

大嶋直浩<sup>\*1</sup>, 政田さやか, 鈴木隆太, 八木奏, 松藤寛<sup>\*2</sup>, 末永恵美, 高橋豊<sup>\*3</sup>, 矢作忠弘<sup>\*1,2</sup>, 渡邊将人<sup>\*4</sup>, 矢原正治<sup>\*4</sup>, 飯田修<sup>\*5</sup>, 川原信夫<sup>\*5</sup>, 丸山卓郎, 合田幸広, 袴塚高志: チェストツリーのマンケイシに対する特徴的な新規成分の同定.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 国際医療福祉大学薬学部

<sup>\*2</sup> 日本大学薬学部

<sup>\*3</sup> エムエス・ソリューションズ (株)

<sup>\*4</sup> 熊本大学薬学部

<sup>\*5</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

矢作忠弘<sup>\*1,2</sup>, 政田さやか, 大嶋直浩<sup>\*1</sup>, 鈴木隆太, 八木奏, 松藤寛<sup>\*2</sup>, 末永恵美, 高橋豊<sup>\*3</sup>, 渡邊将人<sup>\*4</sup>, 矢原正治<sup>\*4</sup>, 飯田修<sup>\*5</sup>, 川原信夫<sup>\*5</sup>, 丸山卓郎, 合田幸広, 袴塚高志: マンケイシのチェストツリーに対する特徴的な成分の同定.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 国際医療福祉大学薬学部

<sup>\*2</sup> 日本大学薬学部

<sup>\*3</sup> エムエス・ソリューションズ (株)

<sup>\*4</sup> 熊本大学薬学部

<sup>\*5</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

河野徳昭\*, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 鈴木秀幸\*, 吉松嘉代\*, 川原信夫\*: ケシ属植物の網羅的な発現遺伝子情報を利用した鑑別法の開発.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

\* (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

成暁<sup>\*1</sup>, 楊永平<sup>\*1</sup>, 孫航<sup>\*1</sup>, 山路弘樹<sup>\*2</sup>, 司馬真央<sup>\*2</sup>, 中村理恵<sup>\*2</sup>, 橋本和則<sup>\*2</sup>, 武田修己<sup>\*2</sup>, 楊振興<sup>\*3</sup>, 趙鵬<sup>\*3</sup>, 劉濤<sup>\*3</sup>, 李世玉<sup>\*3</sup>, 丸山卓郎, 袴塚高志, 合田幸広: チクジョ日本流通品の基原植物調査及び含有成分における中国・日本産竹類の多様性.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 中国科学院昆明植物研究所

<sup>\*2</sup> ツムラ (株)

<sup>\*3</sup> 深圳津村薬業有限公司

大塚璃里\*, 関口尚香\*, 平澤祐介\*, 内山奈穂子, 合田幸広, 森田博史\*: 2種のヒカゲノカズラ科植物に含まれるアルカロイドの成分研究.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

\* 星薬科大学

張雯佳\*, Nugroho AE\*, 平澤祐介\*, 内山奈穂子, 袴塚高志, 金田利夫\*, 森田博史\*: キョウチクトウ科 *Leuconotis griffithii* より単離した新規アルカロイドの構造.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

\* 星薬科大学

裕本紗里\*, 高須翔志郎\*, 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 前橋恭子\*, 岩楯公晴\*: 血液中から危険ドラッグ成分が検出され, 高度冠動脈狭窄を認めた若年男性2症例. 日本法医学会第84回学術関東地方集会 (2015.10)

\* 東京慈恵会医科大学

北岡千佳<sup>\*1</sup>, 品川明<sup>\*2</sup>, 細江潤子, 袴塚高志, 濱田(佐藤)奈保子<sup>\*3</sup>, 良永裕子<sup>\*4</sup>: 産地の異なる養殖マガキの味認識装置による呈味分析.

日本食生活学会第51回大会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 戸板女子短期大学食物栄養科

<sup>\*2</sup> 学習院女子大学国際文化交流学部

<sup>\*3</sup> 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科

<sup>\*4</sup> 麻布大学生命・環境科学部

糸田幸恵, 丸山卓郎, 袴塚高志, 合田幸広, 浅間宏志<sup>\*1</sup>, 山本豊<sup>\*2</sup>: PCR法による生薬アキョウの基原動物種鑑別. 第44回生薬分析シンポジウム (2015.11)

<sup>\*1</sup> (株) ウチダ和漢薬

<sup>\*2</sup> (株) 栃本天海堂

政田さやか, 高橋豊\*, 合田幸広, 袴塚高志: 赤ブドウ葉抽出エキス由来製品の成分分析.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

\* エムエス・ソリューションズ (株)

内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 浅川和宏\*, 堤泰造\*, 袴塚高志: 平成26年~27年度新規流通危険ドラッグ成分の同定.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

\* 徳島県立保健製薬環境センター

河村麻衣子, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志: 平成26年度危険ドラッグ製品の全国買い上げ調査について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

最所和宏, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: 平成26年度無承認無許可医薬品の買い上げ調査について—強壮用健康食品等—.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

緒方潤, 花尻 (木倉) 瑠理, 袴塚高志: DNA情報を用いた幻覚性植物の鑑定事例.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

内山奈穂子, 有竹浩介\*, マリシェフサカヤ オリガ\*, 裏出良博\*: リボカリン型プロスタグランジンD合成酵素遺伝子欠損マウスの自発行動及び脳波に及ぼすカンナビノイドの作用.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 BMB 2015 (2015.12)

\* 筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構

Masada S, Oshima N, Yahagi T<sup>\*1</sup>, Suzuki R, Takahashi Y<sup>\*2</sup>, Matsufuji Y<sup>\*3</sup>, Watanabe M<sup>\*4</sup>, Yahara S<sup>\*4</sup>, Iida O<sup>\*5</sup>, Kawahara N<sup>\*5</sup>, Maruyama T, Goda Y, Hakamatsuka T: Identification of marker compounds to distinguish herbal medicines originating from different Vitex species.

PacificChem 2015 (2015.12)

\*1 国際医療福祉大学薬学部

\*2 エムエス・ソリューションズ (株)

\*3 日本大学生物資源学部

\*4 熊本大学薬学部

\*5 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

内山奈穂子, 花尻 (木倉) 瑠理, 袴塚高志: 簡易薬物スクリーニングキットを用いた危険ドラッグ成分の識別法の検討 (3)

第30回日本中毒学会・東日本地方会 (2016.1)

多田百花<sup>\*1</sup>, 小島梨花<sup>\*1</sup>, 永田久美子<sup>\*1</sup>, 日坂真輔<sup>\*1</sup>, 政田さやか, 袴塚高志, 本間真人<sup>\*2</sup>, 能勢充彦<sup>\*1</sup>: 漢方処方の科学的解析 (第14報) 各種甘草配合処方におけるグリチルリチン酸含有量ならびにその抽出効率について.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 名城大学薬学部

\*2 筑波大学附属病院

吉富太一, 後藤佑斗, 袴塚高志, 丸山卓郎, 大嶋直浩<sup>\*1</sup>, 中森俊輔<sup>\*2</sup>, 小林義典<sup>\*2</sup>, 安食菜穂子<sup>\*3</sup>, 杉村康司<sup>\*3</sup>, 瀧野裕之<sup>\*3</sup>, 飯田修<sup>\*3</sup>, 川原信夫<sup>\*3</sup>, 神野透人<sup>\*4</sup>, 香川聡子<sup>\*5</sup>, 若菜大悟<sup>\*6</sup>: LC-HRMS データによるショウキョ

ウ及びカンキョウのTRPV1賦活活性予測モデル式について.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 国際医療福祉大学薬学部

\*2 北里大学薬学部

\*3 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

\*4 名城大学薬学部

\*5 横浜薬科大学

\*6 星薬科大学

政田さやか, 袴塚高志, 丸山卓郎, 河野徳昭<sup>\*1</sup>, 瀧野裕之<sup>\*1</sup>, 川原信夫<sup>\*1</sup>, 朱姝<sup>\*2</sup>, 小松かつ子<sup>\*2</sup>, 山本豊<sup>\*3</sup>, 横倉胤夫<sup>\*4</sup>, 山路弘樹<sup>\*5</sup>, 中井洋一郎<sup>\*5</sup>, 新井玲子<sup>\*6</sup>, 川崎武志<sup>\*6</sup>, 近藤誠三<sup>\*7</sup>: 遺伝子情報を利用したポウフウの純度試験法の検討.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

\*2 富山大学和漢医薬学総合研究所

\*3 (株) 栃本天海堂

\*4 日本粉末薬品 (株)

\*5 ツムラ (株)

\*6 (株) ウチダ和漢薬

\*7 小太郎漢方製薬 (株)

吉富太一, 丸山卓郎, 江崎正美<sup>\*1</sup>, 河野徳昭<sup>\*1</sup>, 瀧野裕之<sup>\*1</sup>, 川原信夫<sup>\*1</sup>, 朱姝<sup>\*2</sup>, 小松かつ子<sup>\*2</sup>, 山本豊<sup>\*3</sup>, 横倉胤夫<sup>\*4</sup>: 陝西省周辺産ポウフウ及び類似生薬の基原と成分について.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

\*2 富山大学和漢医薬学総合研究所

\*3 (株) 栃本天海堂

\*4 日本粉末薬品 (株)

吉富太一, 在間一将, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 合田幸広, 袴塚高志, 川原信夫<sup>\*1</sup>, 吉田雅昭<sup>\*2</sup>, 近藤誠三<sup>\*2</sup>, 秋葉秀一郎<sup>\*2</sup>, 浅間宏志<sup>\*2</sup>, 横倉胤夫<sup>\*2</sup>, 五島隆志<sup>\*2</sup>, 山浦高夫<sup>\*2</sup>, 高橋喜久美<sup>\*2</sup>, 富塚弘之<sup>\*2</sup>, 佐々木博<sup>\*2</sup>, 神本敏弘<sup>\*3</sup>, 山路弘樹<sup>\*3</sup>, 菊地祐一<sup>\*3</sup>, 山本豊<sup>\*4</sup>, 嶋田康男<sup>\*4</sup>: TLCを用いたチクヨウの確認及び純度試験の設定とその指標成分の同定.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

\*<sup>2</sup> 日本漢方生薬製剤協会

\*<sup>3</sup> (公社) 東京生薬協会

\*<sup>4</sup> 日本生薬連合会

矢加部亮<sup>\*1</sup>, 平倉一弘<sup>\*1</sup>, 神本敏弘<sup>\*1</sup>, 五十嵐靖<sup>\*1</sup>, 菊地祐一<sup>\*1</sup>, 高尾正樹<sup>\*1</sup>, 濱口隆<sup>\*1</sup>, 諸田隆<sup>\*1</sup>, 川原信夫<sup>\*2</sup>, 袴塚高志, 合田幸広, 木内文之<sup>\*3</sup>: 「葛根湯加川キユウ辛夷エキス」のシンイ確認試験成分の構造.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> (株) ツムラ

\*<sup>2</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

\*<sup>3</sup> 慶応義塾大学薬学部

佐藤 (増本) 直子, 坂上祐香<sup>\*</sup>, 合田幸広, 袴塚高志: 新規漢方処方品の品質規格に関する基礎的検討 (17) 半夏に含有される抗炎症性サイトカインIL-10の発現誘導活性成分について.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 東京理科大学薬学部

内山奈穂子, 有竹浩介<sup>\*</sup>, 花尻 (木倉) 瑠理, 裏出良博<sup>\*</sup>, 袴塚高志: 危険ドラッグ製品よりマイナー成分として検出された新規化合物の同定及びマウス自発運動量に及ぼす作用について.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構

鎌倉浩之, 細江潤子, 袴塚高志, 合田幸広: 漢方エキス中の水銀, ヒ素, 鉛及びカドミウムについて (第2報).

日本薬学会第136年会 (2016.3)

田中理恵, 河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 袴塚高志: 危険ドラッグのDART-Orbitrap MSを用いた迅速スクリーニング法の検討.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 袴塚高志: イオンモビリティ質量分析による生体試料中の危険ドラッグ成分スクリーニング分析法の検討.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

Sawada R, Kono K, Hiruma H, Sato Y, Niimi S: Effects of synthetic high polymers used as materials of blood-contacting medical devices on the gene expression profiles of human mesenchymal stem cells and human monocytic leukemia cells.

International Society for Stem Cell Research 2015 (2015.6)

Kono K, Sawada R, Sato Y: Association of LINE-1s expression with differentiation potential of human mesenchymal stem cells.

International Society for Stem Cell Research 2015 (2015.6)

遊佐敬介, 前田洋助<sup>\*</sup>, 佐藤陽治, 苑宇哲: RNA-Seqによるカリシウイルス感染ヒト細胞内でのウイルス複製阻害メカニズムの解析.

第4回NGS現場の会 (2015.7)

\* 熊本大学

苑宇哲, 前田洋助<sup>\*</sup>, 佐藤陽治, 遊佐敬介: バイオ医薬品製造用細胞が産生する内在性レトロウイルスの解析.

第4回NGS現場の会 (2015.7)

\* 熊本大学

Yusa K, Maeda Y<sup>\*</sup>, Sato Y, Yuan Y: Human cells are protected from feline calicivirus replication by host factor(s).

第63回日本ウイルス学会学術集会 (2015.11)

\* 熊本大学

Yuan Y, Maeda Y<sup>\*</sup>, Sato Y, Yusa K: Novel endogenous retroviruses responsible for virus-like particles generated from CHO cells.

第63回日本ウイルス学会学術集会 (2015.11)

\* 熊本大学

澤田留美, 河野健, 比留間瞳, 田中賢<sup>\*</sup>, 新見伸吾, 佐藤陽治: 医用材料の内皮化に関するin vitro 評価における新規不死化ヒト血管内皮細胞株の有用性.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)



---

\* 九州大学先導物質化学研究所

Kusakawa S, Yasuda S, Kuroda T, Kawamata S\*, Sato Y: Digital analysis of soft agar colony formation for highly sensitive detection of tumorigenic cellular impurities in human cell-processed therapeutic products.

World Stem Cell Summit 15 (2015.12)

---

\* 先端医療振興財団

Kuroda T, Yasuda S, Matsuyama S, Takada N, Nakashima H, Kusakawa S, Umezawa A\*<sup>1</sup>, Matsuyama A\*<sup>2</sup>, Kawamata S\*<sup>3</sup>, Sato Y: Simple in vitro method for detection of immortalized cells in human retinal pigment epithelial cells.

World Stem Cell Summit 15 (2015.12)

---

\*<sup>1</sup> 国立成育医療研究センター

\*<sup>2</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*<sup>3</sup> 先端医療振興財団

佐藤陽治：再生医療等製品（細胞加工製品）の実用化のためのレギュラトリーサイエンス。

第89回日本薬理学会年会（2016.3）

佐藤陽治：ヒト細胞加工製品実用化における科学的課題とそれらに関するコンセンサスづくり。

第15回日本再生医療学会総会（2016.3）

佐藤陽治：ヒト細胞加工製品の造腫瘍性のリスクとハザードと不足情報。

第15回日本再生医療学会総会（2016.3）

黒田拓也, 安田智, 松山さと子, 高田のぞみ, 中島啓行, 草川森士, 梅澤明弘\*<sup>1</sup>, 松山晃史\*<sup>2</sup>, 川真田伸\*<sup>3</sup>, 佐藤陽治：ヒトiPS細胞由来網膜色素上皮細胞中に混入する不死化細胞検出法の開発とその性能評価。

第15回日本再生医療学会総会（2016.3）

---

\*<sup>1</sup> 国立成育医療研究センター

\*<sup>2</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

\*<sup>3</sup> 先端医療振興財団

伊東絵望子\*, 宮川繁\*, 福寫五月\*, 齋藤充弘\*, 河村愛\*, 武田真季\*, 寒川延子\*, 塩崎元子\*, 伊勢岡弘子\*,

小田紀子\*, 佐藤陽治, 澤芳樹\*：ヒトiPS細胞由来心筋細胞移植における安全性評価システムの確立。

第15回日本再生医療学会総会（2016.3）

---

\* 大阪大学

草川森士, 安田智, 黒田拓也, 川真田伸\*, 佐藤陽治：デジタル軟寒天コロニー形成試験を利用した再生医療製品の品質評価。

第15回日本再生医療学会総会（2016.3）

---

\* 先端医療振興財団

河野健, 澤田留美, 佐藤陽治：ヒト間葉系幹細胞における細胞分化とレトロトランスポゾンLINE-1発現量の関係について。

第15回日本再生医療学会総会（2016.3）

内田恵理子, 水澤左衛子\*<sup>1</sup>, 岡田義昭\*<sup>1,2</sup>, 皆木隆男\*<sup>3</sup>, 高倉明子\*<sup>4</sup>, 内田茂治\*<sup>4</sup>, 古田里佳\*<sup>5</sup>, 松倉晴道\*<sup>5</sup>, 坂田秀勝\*<sup>6</sup>, 松林圭二\*<sup>6</sup>, 山口照英：血液製剤のウイルス安全性確保：パルボウイルスB19 DNA参照パネルの樹立に関する共同研究。

第63回日本輸血・細胞治療学会総会（2015.5）

---

\*<sup>1</sup> 国立感染症研究所

\*<sup>2</sup> 埼玉医科大学

\*<sup>3</sup> 日本血液製剤機構

\*<sup>4</sup> 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

\*<sup>5</sup> 日本赤十字社近畿ブロック血液センター

\*<sup>6</sup> 日本赤十字社北海道ブロック血液センター

水澤左衛子\*<sup>1</sup>, 落合雅樹\*<sup>1</sup>, 内田茂治\*<sup>2</sup>, 高倉明子\*<sup>2</sup>, 内田恵理子, 山口照英, 浜口功\*<sup>1</sup>, 岡田義昭\*<sup>3</sup>：パルボウイルスB19国内標準品作製のための共同研究。

第63回日本輸血・細胞治療学会総会（2015.5）

---

\*<sup>1</sup> 国立感染症研究所

\*<sup>2</sup> 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

\*<sup>3</sup> 埼玉医科大学

大岡伸通, 服部隆行, 内藤幹彦：TACC3分解誘導剤によるがん細胞のユビキチン関連死。

第19回日本がん分子標的治療学会学術集会（2015.6）

吉田徳幸, 内藤雄樹\*<sup>1</sup>, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡\*<sup>2</sup>, 佐藤陽治, 内藤幹彦, 井上貴雄：Gapmer型ア

ンチセンスによる相補結合依存的オフターゲット効果の安全性評価に関する研究.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6・7)

\*<sup>1</sup> ライフサイエンス統合データベースセンター

\*<sup>2</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

服部隆行, 高橋美帆<sup>\*1</sup>, 椎名勇<sup>\*2</sup>, 大橋愛美<sup>\*3</sup>, 旦慎吾<sup>\*3</sup>, 西川喜代孝<sup>\*1</sup>, 内藤幹彦: プロテアソーム阻害による志賀毒素誘導性細胞死の抑制.

第19回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (2015.7)

\*<sup>1</sup> 同志社大学生命医科学部

\*<sup>2</sup> 東京理科大学理学部

\*<sup>3</sup> がん研究所がん化学療法センター

Yamaguchi T\*, Uchida E: Revision of Japanese gene therapy guidelines.

第21回遺伝子治療学会学術集会 (2015.7)

\* 日本薬科大学

Igarashi Y\*, Uchiyama T\*, Uchida E, Onodera M\*: Reguratory science of viral vector for gene therapy.

第21回遺伝子治療学会学術集会 (2015.7)

\* 国立成育医療研究センター

吉田徳幸, 内藤雄樹<sup>\*1</sup>, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡<sup>\*2</sup>, 佐藤陽治, 内藤幹彦, 井上貴雄: Gapmer型アンチセンスによる相補結合依存的オフターゲット効果の安全性評価法の確立に向けた基盤研究.

第7回日本RNAi研究会 (2015.8)

\*<sup>1</sup> ライフサイエンス統合データベースセンター

\*<sup>2</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

吉田徳幸, 内藤雄樹<sup>\*1</sup>, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡<sup>\*2</sup>, 佐藤陽治, 内藤幹彦, 井上貴雄: アンチセンス医薬品のオフターゲット効果の安全性評価に関する研究.

第9回バイオ関連化学シンポジウム (2015.9)

\*<sup>1</sup> ライフサイエンス統合データベースセンター

\*<sup>2</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

佐々木澄美, 吉田徳幸, 内田恵理子, 内藤幹彦, 佐藤陽

治, 井上貴雄: 核酸医薬品の細胞内輸送機構の解析.

第9回バイオ関連化学シンポジウム (2015.9)

Suzuki T: Regulatory issues on the companion diagnostics in Japan.

3rd International Conference on Predictive, Preventive and Personalized Medicine & Molecular Diagnostics (2015.9)

Suzuki T, Suresh T: Protein adductome analysis for human exposure monitoring with environmental and endogenous mutagens.

14th Human Proteome Organization World Congress (2015.9)

柴田識人, 大岡伸通, 権藤洋一\*, 内藤幹彦: 終止コドンリードスルー変異による蛋白質のユビキチン-プロテアソーム依存的な分解はある種の遺伝性疾患の原因となりえる.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

\* (独) 理化学研究所バイオリソースセンター

大岡伸通, 柴田識人, 服部隆行, 内藤幹彦: TACC3分解誘導剤によるがん細胞のユビキチン関連死.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

Suzuki T: Urinary proteome analysis for toxic biomarker of aristolochic acid.

The 2015 Shanghai International Symposium on Herbal Safety (2015.10)

Yamamoto S<sup>\*1</sup>, Hagihara T<sup>\*1</sup>, Yoshida T, Sasaki K, Naito M, Obika S<sup>\*2</sup>, Uemura H<sup>\*1</sup>, Inoue T: Evaluation of innate immune activity of Antisense Oligonucleotides.

11th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society (2015.10)

\*<sup>1</sup> 扶桑薬品工業 (株)

\*<sup>2</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

内藤幹彦: 病原性タンパク質を分解するSNIPER化合物の開発.

第33回メデイシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

鈴木孝昌, 降旗千恵, スレッシュユ・テイルパッティ, 鶴

飼明子, 山田雅巳, 本間正充: 次世代シーケンサーを使った突然変異の直接検出.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

降旗千恵, スレッシュ・ティルパッティ, 本間正充, 鈴木孝昌: 次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を用いたヒト細胞のSNP探索とゲノム構造変化の解析.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

吉田徳幸, 内藤雄樹<sup>\*1</sup>, 佐々木澄美, 内田恵理子, 小比賀聡<sup>\*2</sup>, 佐藤陽治, 内藤幹彦, 井上貴雄: Gapmer型アンチセンスによる相補結合依存的オフターゲット効果の安全性評価手法構築に向けた基盤研究.

日本核酸医薬学会第1回年会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> ライフサイエンス統合データベースセンター

<sup>\*2</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

佐々木澄美, 吉田徳幸, 内田恵理子, 内藤幹彦, 佐藤陽治, 井上貴雄: オリゴ核酸の細胞内動態に関する分子の探索.

日本核酸医薬学会第1回年会 (2015.11)

山本誠司<sup>\*1</sup>, 萩原衆子<sup>\*1</sup>, 吉田徳幸, 佐々木澄美, 飯村信<sup>\*2</sup>, 小泉誠<sup>\*2</sup>, 内藤幹彦, 小比賀聡<sup>\*3</sup>, 植村英俊<sup>\*1</sup>, 井上貴雄: Gapmer型アンチセンスによる自然免疫活性化の評価に関する研究.

日本核酸医薬学会第1回年会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 扶桑薬品工業 (株)

<sup>\*2</sup> 第一三共 (株)

<sup>\*3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

萩原衆子<sup>\*1</sup>, 山本誠司<sup>\*1</sup>, 吉田徳幸, 佐々木澄美, 飯村信<sup>\*2</sup>, 小泉誠<sup>\*2</sup>, 内藤幹彦, 小比賀聡<sup>\*3</sup>, 植村英俊<sup>\*1</sup>, 井上貴雄: スプライシング制御型アンチセンスによって引き起こされる自然免疫活性化の評価に関する研究.

日本核酸医薬学会第1回年会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 扶桑薬品工業 (株)

<sup>\*2</sup> 第一三共 (株)

<sup>\*3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

大岡伸通, 永井克典<sup>\*</sup>, 服部隆行, 柴田識人, 長展生<sup>\*</sup>, 内藤幹彦: ユビキチン化誘導剤によって起こるユビキチン関連死の解明.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 (BMB2015) (2015.12)

<sup>\*</sup> 武田薬品工業 (株)

服部隆行, 高橋美帆<sup>\*1</sup>, 椎名勇<sup>\*2</sup>, 大橋愛美<sup>\*3</sup>, 且慎吾<sup>\*3</sup>, 西川喜代孝<sup>\*1</sup>, 内藤幹彦: プロテアソーム阻害による志賀毒素誘導性細胞死の抑制.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 (BMB2015) (2015.12)

<sup>\*1</sup> 同志社大学生命医科学部

<sup>\*2</sup> 東京理科大学理学部

<sup>\*3</sup> がん研究所がん化学療法センター

奥井文<sup>\*</sup>, 堀内祥行<sup>\*</sup>, 山本誠司<sup>\*</sup>, 萩原衆子<sup>\*</sup>, 吉田徳幸, 井上貴雄, 植村英俊<sup>\*</sup>, 松久明生<sup>\*</sup>: 好中球のNETs現象に着目した核酸医薬の安全性評価.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 (BMB2015) (2015.12)

<sup>\*</sup> 扶桑薬品工業 (株)

山本誠司<sup>\*</sup>, 萩原衆子<sup>\*</sup>, 堀内祥行<sup>\*</sup>, 奥井文<sup>\*</sup>, 和仁翔太郎<sup>\*</sup>, 吉田徳幸, 井上貴雄, 田中亜紀<sup>\*</sup>, 松久明生<sup>\*</sup>, 廣瀬豊<sup>\*</sup>, 大熊芳明<sup>\*</sup>: CpGオリゴ核酸によるTLR9を介した転写制御機構の解析.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 (BMB2015) (2015.12)

<sup>\*</sup> 扶桑薬品工業 (株)

Naito M: Protein knockdown by SNIPER compounds, inducers for target protein-selective degradation.

The 20th JFCR-ISCC (2015.12)

鈴木孝昌: コンパニオン診断薬開発の現状と課題に関するアンケート調査の概要.

日本遺伝子診療学会遺伝子診断・検査技術推進フォーラム公開シンポジウム2015 (2015.12)

Naito M, Hattori T, Ohoka N, Shibata N, Shoda T, Demizu Y, Kurihara M: Protein knockdown by SNIPER compounds: Application for basic research and cancer therapy.

Tenth AACR-JCA Joint Conference (2016.2)

内藤幹彦 (代理: 大岡伸通): オフターゲット効果の評価法構築.

平成27年度日本医療研究開発機構研究費創薬基盤推進研究事業研究成果発表会 (2016.2)

吉田徳幸：核酸医薬品の安全性確保のための評価技術開発.

平成27年度日本医療研究開発機構研究費創薬基盤推進研究事業研究成果発表会 (2016.2)

内田恵理子：「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」の改正.

バイオロジクスフォーラム第13回学術集会 (2016.2)

吉田徳幸, 佐々木澄美, 内藤雄樹<sup>\*1</sup>, 飯村信<sup>\*2</sup>, 小泉誠<sup>\*2</sup>, 多賀谷光洋<sup>\*3</sup>, 高垣和史<sup>\*3</sup>, 小比賀聡<sup>\*4</sup>, 内藤幹彦, 井上貴雄：スプライシング制御型アンチセンスのオフターゲット効果の評価に関する研究.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> ライフサイエンス統合データベースセンター

<sup>\*2</sup> 第一三共 (株)

<sup>\*3</sup> 日本新薬 (株)

<sup>\*4</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

佐々木澄美, 吉田徳幸, 内田恵理子, 内藤幹彦, 佐藤陽治, 小比賀聡<sup>\*</sup>, 井上貴雄：アンチセンス核酸の細胞内動態に関連する分子の探索.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

萩原衆子<sup>\*1</sup>, 山本誠司<sup>\*1</sup>, 吉田徳幸, 佐々木澄美, 飯村信<sup>\*2</sup>, 小泉誠<sup>\*2</sup>, 内藤幹彦, 小比賀聡<sup>\*3</sup>, 植村英俊<sup>\*1</sup>, 井上貴雄：Mixmer型アンチセンスのToll様受容体を介した自然免疫活性化に関する研究.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 扶桑薬品工業 (株)

<sup>\*2</sup> 第一三共 (株)

<sup>\*3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

山本誠司<sup>\*1</sup>, 萩原衆子<sup>\*1</sup>, 吉田徳幸, 佐々木澄美, 飯村信<sup>\*2</sup>, 小泉誠<sup>\*2</sup>, 内藤幹彦, 小比賀聡<sup>\*3</sup>, 植村英俊<sup>\*1</sup>, 井上貴雄：Gapmer型アンチセンスによるTLR9を介した自然免疫活性化の評価.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 扶桑薬品工業 (株)

<sup>\*2</sup> 第一三共 (株)

<sup>\*3</sup> 大阪大学大学院薬学研究科

柴田識人, 大岡伸通, 服部隆行, 橋井則貴, 斎藤臣雄<sup>\*</sup>, 近藤恭光<sup>\*</sup>, 石井明子, 長田裕之<sup>\*</sup>, 内藤幹彦：BCR-ABLの蛋白質分解誘導剤開発を指向したBCR-ABL結合化合物の探索.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 理化学研究所

大岡伸通, 伊東昌宏<sup>\*1</sup>, 奥平桂一郎<sup>\*2</sup>, 永井克典<sup>\*1</sup>, 柴田識人, 服部隆行, 長展生<sup>\*1</sup>, 内藤幹彦：ユビキチン・プロテアソーム経路を利用したプロテインノックダウン化合物の開発.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 武田薬品工業 (株)

<sup>\*2</sup> 徳島大学大学院医歯薬学研究部

服部隆行, 正田卓司, 奥平桂一郎<sup>\*1</sup>, 柴田識人, 大岡伸通, 伊藤進<sup>\*2</sup>, 栗原正明, 内藤幹彦：網羅的人工ユビキチン修飾システムの構築.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 徳島大学大学院医歯薬学研究部

<sup>\*2</sup> 昭和薬科大学

植松美幸, 靄島由二, 中岡竜介, 中野達也, 瀬川勝智, 新見伸吾：医用材料の生体適合性評価指標開発を目的とした表面の水和上体に関する分子動力学シミュレーション.

第54回日本生体医工学会大会 (2015.5)

Uematsu M, Haishima Y, Nakaoka R, Niimi S, Segawa K, Nakano T: Developing a Biocompatibility Evaluation System Utilizing Molecular Dynamics Simulation of Hydration on Surface of Biomaterials.

The 54th Annual Conference of Japanese Society for Medical and Biological Engineering (2015.5)

藤澤彩乃<sup>\*1</sup>, 下畑宣行<sup>\*2</sup>, 伊藤聖子<sup>\*1</sup>, 中川貴之<sup>\*1</sup>, 望月学<sup>\*1</sup>, 靄島由二, 福井千恵, 河上強志, 鄭雄一<sup>\*1</sup>, 佐々木伸雄<sup>\*1</sup>：ビーグル犬を利用した人工呼吸関連肺炎を抑制する低侵襲性換気用気管チューブの開発.

第62回日本実験動物学会学術集会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 東京大学

\*<sup>2</sup> 立命館大学

Pellevoisin C<sup>\*1</sup>, Tornier C<sup>\*1</sup>, Alonso A<sup>\*1</sup>, Turley AP<sup>\*2</sup>, Lee M<sup>\*2</sup>, Briotet D<sup>\*3</sup>, Haishima Y, Bouez C<sup>\*1</sup>: In vitro assessment of skin irritation of medical devices with Episkin reconstructed human epidermis (RHE). ASIATOX 2015 (2015.6)

\*<sup>1</sup> EPISKIN Academy

\*<sup>2</sup> Nelson Laboratories

\*<sup>3</sup> NAMSA

Nie J<sup>\*1</sup>, Sakuma I<sup>\*1</sup>, Konoeda H<sup>\*2</sup>, Hishiyama J<sup>\*2</sup>, Sakurai H<sup>\*2</sup>, Masamune K<sup>\*2</sup>, Uematsu M: Evaluation of a medical image overlay navigation system with a tablet PC. Computer Assisted Radiology and Surgery 29th International Congress and Exhibition (2015.6)

\*<sup>1</sup> The University of Tokyo

\*<sup>2</sup> Tokyo Women's Medical University

宮島敦子, 河上強志, 小森谷薫, 加藤玲子, 新見伸吾, 伊佐間和郎: 物理化学的性質の異なる酸化亜鉛ナノマテリアルの細胞応答. 第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

靛島由二, 戸井田瞳, 福井千恵, 野村祐介, 新見伸吾, 甲斐茂美<sup>\*1</sup>, 小野浩一<sup>\*2</sup>, 金井淳<sup>\*2</sup>: カラー CL の色素局在性を解析する新規評価法の開発. 第58回日本コンタクトレンズ学会総会 (2015.7)

\*<sup>1</sup> 神奈川衛研

\*<sup>2</sup> 順天堂大学

野村祐介, 福井千恵, 戸井田瞳, 森下裕貴, 新見伸吾, 宮川伸<sup>\*1</sup>, 金玲<sup>\*1</sup>, 中村義一<sup>\*1,2</sup>, 靛島由二: RNAアプタマーを利用した革新的医用材料の開発. 第17回RNAミーティング (2015.7)

\*<sup>1</sup> リボミック

\*<sup>2</sup> 東京大学医科学研究所

野村祐介, 福井千恵, 森下裕貴, 柚場俊康<sup>\*1</sup>, 新藤智子<sup>\*2</sup>, 坂口圭介<sup>\*3</sup>, 谷川隆洋<sup>\*3</sup>, 杉山知子<sup>\*3</sup>, 竹ノ内美香<sup>\*3</sup>, 河上強志, 伊佐間和郎, 新見伸吾, 靛島由二: 医療機器

の血液適合性試験法の改定に向けた取り組み.

第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2015.9)

\*<sup>1</sup> 川澄化学

\*<sup>2</sup> 食品薬品安全センター

\*<sup>3</sup> テルモ

植松美幸, 靛島由二, 中岡竜介, 新見伸吾: 新規医用材料開発における一次スクリーニング法としての分子動力学シミュレーションの応用. 第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2015.9)

Uematsu M, Haishima Y, Nakaoka R, Niimi S: Simulation strategy to monitor water distribution in PME channel. 生体医工学シンポジウム2015 (2015.9)

Kandarova H<sup>\*1,4</sup>, Willoughby JA<sup>\*2</sup>, Wim H<sup>\*3</sup>, Bachelor MA<sup>\*4</sup>, Letasiova S<sup>\*1</sup>, Milasova T<sup>\*1</sup>, Breyfogle B<sup>\*4</sup>, Fonteyne L<sup>\*3</sup>, Haishima Y, Coleman KP<sup>\*5</sup>: Development, optimization and standardization of an in vitro skin irritation test for medical devices using the reconstructed human tissue model EpiDerm. Eurotox 2015 (2015.9)

\*<sup>1</sup> MatTek In Vitro Life Science Laboratories

\*<sup>2</sup> Cyprotex US LLC

\*<sup>3</sup> RIVM

\*<sup>4</sup> MatTek Corporation,

\*<sup>5</sup> Medtronic

Sakoda H, Niimi S: Effects of lipids on the wear of ultra-high molecular weight polyethylene used for total artificial joints.

The 8th International Biotribology Forum (2015.9)

Miyajima-Tabata A, Komoriya K, Hiruma H, Kato R, Niimi S: Comparison of the evaluation methods of haemocompatibility for polymer biomaterials contacting with blood. Eurotox 2015 (2015.9)

Fukunaga J<sup>\*1</sup>, Nomura Y, Tanaka Y<sup>\*1,2</sup>, Nakamura Y<sup>\*3,4</sup>, Sakamoto T<sup>\*5</sup>, Kozu T<sup>\*1</sup>: MTG8 TAFH domain binds to the RNA G-quadruplex motif that can dissociate the

AML1-MTG8 fusion protein/DNA complex.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> Saitama Cancer Center

\*<sup>2</sup> Instrumental Analysis Center, Yokohama National University

\*<sup>3</sup> Inst. Med. Sci., Univ. Tokyo

\*<sup>4</sup> Ribomic Inc.

\*<sup>5</sup> Chiba Inst. Tech.

迫田秀行：医療機器の評価 -新しい医療機器を現場に届けるために-

第26回バイオフロンティア講演会 (2015.10)

野村祐介, 福井千恵, 戸井田瞳, 森下裕貴, 新見伸吾, 宮川伸<sup>\*1</sup>, 金玲<sup>\*1</sup>, 中村義一<sup>\*1,2</sup>, 靛島由二：RNAアプタマーを利用した新規医用材料の蛋白質吸着挙動評価.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> リボミック

\*<sup>2</sup> 東京大学医科学研究所

野村祐介, 福井千恵, 竹ノ内美香\*, 杉山知子\*, 坂口圭介\*, 森下裕貴, 新見伸吾, 靛島由二：溶血性試験公定法3種間における感度相違の原因究明.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\* テルモ

藤澤彩乃\*, 福井千恵, 野村祐介, 靛島由二, 鄭雄一\*：医療用プラスチック製品の各種可塑剤に対する炎症惹起性の評価.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\* 東京大学

森下裕貴, 福井千恵, 野村祐介, 藤澤彩乃<sup>\*1</sup>, 山崎佳世<sup>\*2</sup>, 熊田秀文<sup>\*3</sup>, 井上薫, 森川朋美, 高橋美和, 河上強志, 伊佐間和郎, 柚場俊康<sup>\*4</sup>, 宮崎謙一<sup>\*5</sup>, 鄭雄一<sup>\*1</sup>, 小川久美子, 新見伸吾, 吉田緑, 靛島由二：PVC 製血液バッグに適用可能な新規可塑剤DL9THの安全性評価.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 東京大学

\*<sup>2</sup> 民生科学協会

\*<sup>3</sup> 神奈川歯大

\*<sup>4</sup> 川澄化学

\*<sup>5</sup> 新日本理化

張替貴志\*, 佐草啓介\*, 靛島由二, 坂口圭介\*：生体反応を反映した医療機器のIn vitroハイスループット評価系の検討.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\* テルモ

加藤玲子, 靛島由二, 比留間瞳, 小森谷薫, 宮島敦子, 田中賢\*, 新見伸吾：高分子材料表面がヒト単球系細胞の活性化に与える影響について.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\* 九州大学

靛島由二, 福井千恵, 戸井田瞳, 田中賢<sup>\*1</sup>, 柚場俊康<sup>\*2</sup>, 野村祐介, 森下裕貴, 新見伸吾：プロテオミクス解析を利用した医用材料の血液適合性評価法の開発.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 九州大学

\*<sup>2</sup> 川澄化学

靛島由二, 佐々木祥一<sup>\*1</sup>, 山崎佳世<sup>\*1</sup>, 吉田緑, 福井千恵, 柚場俊康<sup>\*2</sup>, 坂口圭介<sup>\*3</sup>, 野村祐介, 森下裕貴, 新見伸吾, Lee M<sup>\*4</sup>：刺激性試験用陽性対照材料の性能評価.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 民生科学協会

\*<sup>2</sup> 川澄化学

\*<sup>3</sup> テルモ

\*<sup>4</sup> Nelson Labo.

迫田秀行, 新見伸吾：マイクロ・スラリージェットエオン法による生体内材料劣化評価の可能性.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

迫田秀行, 松岡厚子, 河野健, 高橋広幸\*, 中島義雄\*, 新見伸吾：電子ビーム積層造形法に使用するチタン合金粉末の細胞毒性.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\* 帝人ナカシマメディカル

植松美幸, 靛島由二, 中岡竜介, 新見伸吾：分子動力的シミュレーションを用いた材料表面近傍の温度条件と

水分子挙動の相関解析.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

中岡竜介, 新見伸吾: ベタイン構造模倣SAM表面の血液適合性評価を踏まえたタンパク質動的吸着解析.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

宮島敦子, 小森谷薫, 田中賢\*, 比留間瞳, 加藤玲子, 新見伸吾: PMEAA類似高分子材料の血液適合性評価における評価試験項目の特性について.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

\* 九州大学

迫田秀行, 新見伸吾, 菅野伸彦\*: 抜去した人工関節超高分子量ポリエチレンコンポーネントに含まれる生体脂質の定量.

第42回日本臨床バイオメカニクス学会 (2015.11)

\* 大阪大学

近藤次郎\*<sup>1</sup>, 野村祐介, 北原佑季子\*<sup>1</sup>, 小比賀聡\*<sup>2</sup>, 鳥越秀峰\*<sup>3</sup>: 2',4'-BNANC[N-Me]修飾をもつアンチセンスギャップマーのX線結晶解析.

日本核酸医薬学会第1回年会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 上智大学

\*<sup>2</sup> 大阪大学

\*<sup>3</sup> 東京理科大学

天野亮\*<sup>1</sup>, 高田健多\*<sup>1</sup>, 田中陽一郎\*<sup>2,3</sup>, 永田崇\*<sup>4</sup>, 片平正人\*<sup>4</sup>, 野村祐介, 福永淳一\*<sup>3</sup>, 中村義一\*<sup>5,6</sup>, 神津知子\*<sup>3</sup>, 坂本泰一\*<sup>1</sup>: AML1 (RUNX1) タンパク質のRuntドメインとRNAアプタマーの相互作用のNMR解析.

日本核酸医薬学会第1回年会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 千葉工業大学

\*<sup>2</sup> 横浜国立大学

\*<sup>3</sup> 埼玉県立がんセンター

\*<sup>4</sup> 京都大学

\*<sup>5</sup> 東京大学医科学研究所

\*<sup>6</sup> リボミック

木島研一\*<sup>1</sup>, 荒木辰也\*<sup>2</sup>, 飯嶋正也\*<sup>3</sup>, 卯月左江子\*<sup>4</sup>, 山浦一期\*<sup>4</sup>, 大下昌利\*<sup>5</sup>, 小川伸哉\*<sup>6</sup>, 小田昌宏\*<sup>7</sup>, 左海順\*<sup>8</sup>, 佐藤謙一\*<sup>9</sup>, 菅原敬信\*<sup>2</sup>, 鈴木義紀\*<sup>10</sup>, 塚本洋子\*<sup>11</sup>, 殿守俊介\*<sup>12</sup>, 水沼恒英\*<sup>13</sup>, 村井活史\*<sup>5</sup>, 吉成河

法吏\*<sup>14</sup>, 新見伸吾: 国内外における再生医療等製品の承認の現状~審査報告書から見た再生医療等製品に求められる品質, 有効性, 安全性の確保~.

日本PDA製薬学会第22回年会 (2015.12)

\*<sup>1</sup> 協和発酵キリン (株)

\*<sup>2</sup> (一財) 化学及血清療法研究所

\*<sup>3</sup> 北里第一三共ワクチン (株)

\*<sup>4</sup> 大鵬薬品 (株)

\*<sup>5</sup> (一社) 日本血液製剤機構

\*<sup>6</sup> 東洋紡 (株)

\*<sup>7</sup> 日本ボール (株)

\*<sup>8</sup> 大日本住友製薬 (株)

\*<sup>9</sup> テルモ (株)

\*<sup>10</sup> (株) スリーエス・ジャパン

\*<sup>11</sup> 旭硝子 (株)

\*<sup>12</sup> 日本チャールス・リバー (株)

\*<sup>13</sup> 日本製薬 (株)

\*<sup>14</sup> (医) 聖友会

Sakamoto T\*<sup>1</sup>, Amano R\*<sup>1</sup>, Nomura Y, Nagata T\*<sup>2,3</sup>, Katahira M\*<sup>2,3</sup>, Fukunaga J\*<sup>4</sup>, Tanaka Y\*<sup>4</sup>, Nakamura Y\*<sup>5,6</sup>, Kozu T\*<sup>4</sup>: NMR study of RNA aptamer that binds to the transcription factor AML1 Runt domain. 第8回武田科学振興財団薬科学シンポジウム (2016.1)

\*<sup>1</sup> Chiba Inst. Tech.

\*<sup>2</sup> Inst. of Adv. Energ., Kyoto Univ.

\*<sup>3</sup> Grad. Sch. of Energ. Sci., Kyoto Univ.

\*<sup>4</sup> Saitama Cancer Center

\*<sup>5</sup> Inst. Med. Sci., Univ. Tokyo

\*<sup>6</sup> Ribomic Inc.

迫田秀行, 新見伸吾: 脂質に起因する劣化が超高分子量ポリエチレンの耐久性に与える影響.

第28回バイオエンジニアリング講演会 (2016.1)

岩崎清隆\*, 笠貫宏\*, 伊関洋\*, 新見伸吾, 齋島由二, 宮島敦子, 加藤玲子, 迫田秀行, 植松美幸, 松橋祐輝\*, 梅津光生\*: 革新的医療機器実用化のためのEngineering Based Medicineに基づく非臨床性能評価系と評価法の確立.

第28回バイオエンジニアリング講演会 (2016.1)

\* 早稲田大学

高橋泰浩\*<sup>1</sup>, 植松美幸, 青見茂之\*<sup>2</sup>, 飯村浩\*<sup>2</sup>, 中岡竜介,

新見伸吾, 鈴木孝司<sup>\*2</sup>, 村垣善浩<sup>\*2</sup>, 伊関洋<sup>\*2</sup>, 梅津光生<sup>\*1</sup>, 岩崎清隆<sup>\*1</sup>: 人工血管置換術用ナビゲーションにおける骨格の点を用いたレジストレーション法の開発と臨床データを用いた誤差評価.

第28回バイオエンジニアリング講演会 (2016.1)

<sup>\*1</sup> 早稲田大学

<sup>\*2</sup> 東京女子医科大学

Sakoda H, Niimi S: Emerging technology medical devices and regenerative medicine products in reconstruction of joint function.

International Symposium on Artificial Hydrogel Cartilage, Joint Replacement and Related Topics (ISAHC 2016) (2016.1)

迫田秀行, 松岡厚子, 河野健, 高橋広幸<sup>\*</sup>, 中島義雄<sup>\*</sup>, 新見伸吾: 三次元積層造形法に用いるチタン合金原材料粉末による細胞毒性と遺伝毒性.

第46回日本人工関節学会 (2016.2)

<sup>\*</sup> 帝人ナカシマメディカル

Pellevoisin C<sup>\*1</sup>, Tornier C<sup>\*1</sup>, Rollin B<sup>\*2</sup>, Briotet D<sup>\*3</sup>, Turley AP<sup>\*3</sup>, Lee M<sup>\*4</sup>, Haishima Y, Seyler N<sup>\*1</sup>, Bouez C<sup>\*1</sup>: Skin irritation of medical devices: in vitro assay with Episkin reconstructed human epidermis (RHE).

55th Annual Meeting and ToxExpo (2016.3)

<sup>\*1</sup> EPISKIN Academy

<sup>\*2</sup> Arthrex Laboratory

<sup>\*3</sup> NAMSA

<sup>\*4</sup> Nelson Laboratories

中岡竜介, 靛島由二, 新見伸吾: 再生医療等製品に関連した国際標準化の進捗状況について.

第15回日本再生医療学会総会 (2016.3)

野村祐介, 福井千恵, 戸井田瞳, 森下裕貴, 新見伸吾, 宮川伸<sup>\*1</sup>, 金玲<sup>\*1</sup>, 中村義一<sup>\*1,2</sup>, 靛島由二: RNAアプタマーを利用した機能性医用材料の開発.

第15回日本再生医療学会総会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> リボミック

<sup>\*2</sup> 東京大学医科学研究所

山崎佳世<sup>\*1</sup>, 藤巻日出夫<sup>\*1</sup>, 福井千恵, 向井智和<sup>\*2</sup>, 柚

場俊康<sup>\*2</sup>, 稲村健一<sup>\*2</sup>, 宮崎謙一<sup>\*3</sup>, 新見伸吾, 野村祐介, 森下裕貴, 河上強志, 伊佐間和郎, 靛島由二: PVC製4連血液バッグ用新規基材の生物学的安全性評価.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 民生科学協会

<sup>\*2</sup> 川澄化学

<sup>\*3</sup> 新日本理化

靛島由二, 河上強志, 福井千恵, 田上昭人<sup>\*1</sup>, 向井智和<sup>\*2</sup>, 柚場俊康<sup>\*2</sup>, 稲村健一<sup>\*2</sup>, 宮崎謙一<sup>\*3</sup>, 野村祐介, 森下裕貴, 伊佐間和郎, 新見伸吾: PVC製4連血液バッグ用代替可塑剤DL9THの特性評価.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 国立成育医療研究センター

<sup>\*2</sup> 川澄化学

<sup>\*3</sup> 新日本理化

野村祐介, 福井千恵, 戸井田瞳, 森下裕貴, 新見伸吾, 宮川伸<sup>\*1</sup>, 金玲<sup>\*1</sup>, 中村義一<sup>\*1,2</sup>, 靛島由二: RNAアプタマーを利用した革新的医用材料の開発.

日本化学会第96春季年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> リボミック

<sup>\*2</sup> 東京大学医科学研究所

森下裕貴, 野村祐介, 福井千恵, 新見伸吾, 中村義一<sup>\*1,2</sup>, 靛島由二: 新規機能性医用材料の開発に向けたVEGF捕捉型RNAアプタマーの探索.

日本化学会第96春季年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> リボミック

<sup>\*2</sup> 東京大学医科学研究所

Miyajima-Tabata A, Kawakami T, Komoriya K, Kato R, Niimi S, Isama K: Effects of zinc oxide nanomaterials on the cellular responses in THP-1 cells.

The 55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

佐々木和実<sup>\*1</sup>, 西嶋桂子<sup>\*1</sup>, 安宅花子<sup>\*1</sup>, 酒井信夫, 中村政志<sup>\*2</sup>, 安達玲子, 中村里香, 最上知子, 福富友馬<sup>\*3</sup>, 松永佳世子<sup>\*2</sup>, 手島玲子: 各種加水分解コムギ末の解析(1)-分子プロファイリング-

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)



\*<sup>1</sup> 製品評価技術基盤機構

\*<sup>2</sup> 藤田保健衛生大学

\*<sup>3</sup> 国立病院機構相模原病院臨床研究センター

酒井信夫, 安達玲子, 中村里香, 最上知子, 佐々木和実\*<sup>1</sup>, 西嶋桂子\*<sup>1</sup>, 安宅花子\*<sup>1</sup>, 中村政志\*<sup>2</sup>, 福富友馬\*<sup>3</sup>, 松永佳世子\*<sup>2</sup>, 手島玲子: 各種加水分解コムギ末の解析(2)-経皮感作性試験-

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 製品評価技術基盤機構

\*<sup>2</sup> 藤田保健衛生大学

\*<sup>3</sup> 国立病院機構相模原病院臨床研究センター

小林憲弘, 久保田領志, 菱木麻佑\*, 小杉有希\*, 鈴木俊也\*, 五十嵐良明: LC/MS/MSを用いた水道水中ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドの同時分析.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

\* 東京都健康安全研究センター

久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 固相抽出-LC/MSによるハロアセトアミド類の分析法の開発及び水道水中存在実態.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

河上強志, 伊佐間和郎, 香川聡子\*<sup>1</sup>, 神野透人\*<sup>2</sup>: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類及びグリコールエーテル類等の分析.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

\*<sup>1</sup> 横浜薬科大学薬学部

\*<sup>2</sup> 名城大学薬学部

河上強志, 宮島敦子, 小森谷薫, 加藤玲子, 伊佐間和郎: NiOナノ粒子の二次粒子径が細胞毒性に及ぼす影響.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

Tanaka-Kagawa T\*<sup>1</sup>, Tahara M, Mayumi K, Ikarashi Y, Hanioka N\*<sup>1</sup>, Jinno H\*<sup>2</sup>: Molecular structure-based prediction of the air-nasal mucus partition coefficients by the COSMO-RS method coupled with the density functional theory calculations.

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX 2015) (2015.6)

\*<sup>1</sup> 横浜薬科大学

\*<sup>2</sup> 名城大学

田原麻衣子, 真弓加織, 五十嵐良明, 埴岡伸光\*<sup>1</sup>, 香川(田中)聡子\*<sup>1</sup>, 神野透人\*<sup>2</sup>: COSMO-RS法による空気-鼻粘液分配係数の予測.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6・7)

\*<sup>1</sup> 横浜薬科大学

\*<sup>2</sup> 名城大学

小林憲弘, 田中翔\*, 竹原広\*, 納屋聖人\*, 久保田領志, 五十嵐良明, 広瀬明彦: マウス単回・反復気管内投与による多層カーボンナノチューブの催奇形性の評価.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6・7)

\* (公財) 食品農医薬品安全性評価センター

清水久美子, 秋山卓美, 最上(西巻)知子, 五十嵐良明: 4置換フェノール化合物のチロシナーゼによる代謝と表皮細胞に対する細胞毒性.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6・7)

伊佐間和郎, 河上強志, 小濱とも子, 五十嵐良明: 亜リン酸トリエステル類の細胞毒性及び皮膚感作性.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6・7)

河上強志, 波多野弥生\*<sup>1</sup>, 古田光子\*<sup>2</sup>, 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 鹿庭正昭\*<sup>3</sup>: 防水スプレー製品等による中毒事故の傾向およびその安全対策の動向.

第37回日本中毒学会総会・学術大会 (2015.7)

\*<sup>1</sup> (公財) 日本中毒情報センター

\*<sup>2</sup> 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室

\*<sup>3</sup> 元日本生活協同組合連合会

五十嵐良明: 手袋の安全性確保対策の現状と動向.

ラテックスアレルギー・OASフォーラム2015 第20回日本ラテックスアレルギー研究会 (2015.7)

小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: 水道水中のGC/MS分析対象農薬のLC/MS/MS一斉分析方法の検討. 環境科学会2015年会 (2015.9)

河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: 家庭用品中のアゾ化合物規制について.

第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエ

ンスフォーラム (2015.9)

Isama K, Kawakami T, Ikarashi Y: Cytotoxicity of phosphite and phosphate triesters.  
Eurotox 2015 (2015.9)

香川 (田中) 聡子<sup>\*1</sup>, 田原麻衣子, 上村仁<sup>\*2</sup>, 斎藤育江<sup>\*3</sup>, 武内伸治<sup>\*4</sup>, 神野透人<sup>\*5</sup>: 室内環境中の粒子状物質の日内変動とその組成に関する研究.

フォーラム2015: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2015.9)

<sup>\*1</sup> 横浜薬科大学

<sup>\*2</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*3</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*4</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*5</sup> 名城大学

小林憲弘, 久保田領志, 菱木麻佑\*, 小杉有希\*, 鈴木俊也\*, 五十嵐良明: LC/UVおよびLC/MS/MSによる水道水中ホルムアルデヒドとアセトアルデヒドの同時分析法の検討.

日本水道協会平成27年度全国会議 (水道研究発表会) (2015.10)

\* 東京都健康安全研究センター

久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 平成26年度水道水質検査精度管理のための統一試料調査の結果および留意点.

日本水道協会平成27年度全国会議 (水道研究発表会) (2015.10)

伊佐間和郎, 河上強志, 新見伸吾: 血液適合性の評価を踏まえた医用高分子材料に対する蛋白質吸着挙動の動力学的解析.

第37回日本バイオマテリアル学会大会 (2015.11)

河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: ウェットティッシュ製品に含まれる防腐剤調査.

第45回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 (2015.11)

鈴木加余子<sup>\*1</sup>, 安藤亜季<sup>\*1</sup>, 佐野晶代<sup>\*2</sup>, 矢上晶子<sup>\*2</sup>, 河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 佐々木和実<sup>\*3</sup>, 松永佳世子<sup>\*2</sup>: 弾性ストッキング装着時の皮膚障害についての検討.

第45回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大

会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 刈谷豊田総合病院

<sup>\*2</sup> 藤田保健衛生大学

<sup>\*3</sup> (独) 製品評価技術基盤機構

酒井信夫, 安達玲子, 最上 (西巻) 知子, 佐久間智宏<sup>\*1</sup>, 大坂郁恵<sup>\*2</sup>, 石井里枝<sup>\*2</sup>: マイクロチップ電気泳動システムを利用した特定原材料通知PCR法の機関間および種間検証.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 日本食品分析センター

<sup>\*2</sup> 埼玉県衛生研究所

小林憲弘, 久保田領志, 鈴木俊也<sup>\*1</sup>, 川元達彦<sup>\*2</sup>, 高木総吉<sup>\*3</sup>, 吉田仁<sup>\*3</sup>, 小高陽子<sup>\*4</sup>, 菌部真理奈<sup>\*4</sup>, 小林浩<sup>\*5</sup>, 望月映希<sup>\*5</sup>, 上村仁<sup>\*6</sup>, 西以和貴<sup>\*6</sup>, 佐藤学<sup>\*6</sup>, 辻清美<sup>\*6</sup>, 宮本紫織<sup>\*7</sup>, 大窪かおり<sup>\*8</sup>, 五十嵐良明: 対象農薬リスト掲載農薬の新規6分析法の妥当性評価.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*2</sup> 兵庫県立健康生活科学研究所

<sup>\*3</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*4</sup> 千葉県衛生研究所

<sup>\*5</sup> 山梨県衛生環境研究所

<sup>\*6</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*7</sup> 愛媛県立衛生環境研究所

<sup>\*8</sup> 佐賀県衛生薬業センター

小林憲弘, 久保田領志, 菱木麻佑\*, 小杉有希\*, 鈴木俊也\*, 五十嵐良明: HPLC/UVおよびLC/MS/MSによる水道水中ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの同時分析.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

\* 東京都健康安全研究センター

久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水質検査精度管理のための統一試料調査: 平成26年度の結果および留意点について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

久保田領志, 小林憲弘, 五十嵐良明: 水道水中ハロアセトアミド類の分析法の開発およびその存在実態.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

河上強志, 伊佐間和郎, 香川聡子<sup>\*1</sup>, 神野透人<sup>\*2</sup>: 家庭用芳香剤などのスプレー製品に含まれるグリコールエーテル等の実態調査.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 横浜薬科大学薬学部

<sup>\*2</sup> 名城大学薬学部

河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: 「防水スプレー安全確保マニュアル作成の手引き」の改定について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

秋山卓美, 高清水真帆<sup>\*</sup>, 伊佐間和郎, 河上強志, 五十嵐良明: ポリ塩化ビニル製手袋に含有される亜リン酸エステル類の定量.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*</sup> 北里大学

伊佐間和郎, 河上強志, 五十嵐良明: 亜リン酸トリエステル類及びリン酸トリエステル類の細胞毒性.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

五十嵐良明, 秋山卓美, 酒井信夫, 安達玲子, 手島玲子: 医薬部外品原料「加水分解コムギ末」規格の改定検討状況.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

小濱とも子, 田原麻衣子, 五十嵐良明: シャンプーおよびハンドソープ中の1,4-ジオキササン含有量実態調査.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

内野正, 神野透人<sup>\*1</sup>, 香川聡子<sup>\*2</sup>, 秋山卓美, 五十嵐良明: 化粧品原料として用いられる白金ナノマテリアル粒子の分散状態とその細胞毒性等への寄与.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 名城大学

<sup>\*2</sup> 横浜薬科大学

秋山卓美, 藤巻日出夫<sup>\*</sup>, 五十嵐良明: 化粧品中の防腐剤ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニルのGC/MSによる定量.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*</sup> (一財) 民生科学協会

小林憲弘: 水道水質管理および検査法の最新動向.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

河上強志: 新規指定有害物質「アゾ化合物」に係る家庭用品の基準について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

田原麻衣子, 香川 (田中) 聡子<sup>\*1</sup>, 酒井信夫, 五十嵐良明, 神野透人<sup>\*2</sup>: 未規制室内空気汚染物質の家庭用品からの発生源に関する調査.

平成27年室内環境学会学術大会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 横浜薬科大学

<sup>\*2</sup> 名城大学

香川 (田中) 聡子<sup>\*1</sup>, 田原麻衣子, 斎藤育江<sup>\*2</sup>, 武内伸治<sup>\*3</sup>, 上村仁<sup>\*4</sup>, 大貫文<sup>\*2</sup>, 田中礼子<sup>\*5</sup>, 竹熊美貴子<sup>\*6</sup>, 中野いず美<sup>\*7</sup>, 永田淳<sup>\*7</sup>, 酒井信夫, 五十嵐良明, 埴岡伸光<sup>\*1</sup>, 神野透人<sup>\*8</sup>: 室内空気中総揮発性有機化合物の分析方法確立に関する検討.

平成27年室内環境学会学術大会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 横浜薬科大学

<sup>\*2</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*3</sup> 北海道立衛生研究所

<sup>\*4</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*5</sup> 横浜市衛生研究所

<sup>\*6</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*7</sup> 鳥津テクノロジーサーチ

<sup>\*8</sup> 名城大学

Kobayashi N, Tanaka S<sup>\*1</sup>, Ema M<sup>\*2</sup>, Ikarashi Y, Hirose A: Evaluation of developmental toxicity of multi-wall carbon nanotubes in pregnant mice after repeated intratracheal instillation.

Society for Risk Analysis 2015 Annual Meeting (2015.12)

<sup>\*1</sup> Biosafety Research Center

<sup>\*2</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

内野正, 宮崎洋<sup>\*1</sup>, 山下邦彦<sup>\*1</sup>, 小島肇, 竹澤俊明<sup>\*2</sup>,

秋山卓美, 五十嵐良明: ビトリゲルチャンバーを用いた皮膚感作性試験代替法 (Vitrigel-SST法) の室内再現性. 日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> (株) ダイセル

\*2 (独) 農業生物資源研究所

宮崎洋<sup>\*1</sup>, 山下邦彦<sup>\*1</sup>, 内野正, 竹澤俊明<sup>\*2</sup>, 小島肇:  
ビトリゲルチャンバーを用いた皮膚感作性試験代替法  
(Vitrigel-SST法) による感作性物質の評価 (第2報).  
日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

\*1 (株) ダイセル

\*2 (独) 農業生物資源研究所

伊藤隼哉<sup>\*1</sup>, 仲川清隆<sup>\*1</sup>, 鈴木優里<sup>\*1</sup>, 三上優依<sup>\*1</sup>, 内  
野正, 宮澤陽夫<sup>\*2</sup>: ヒト肝臓癌細胞HepG2におけるホス  
ファチジルコリンヒドロペルオキシド (PCOOH) の代  
謝, PCOOHの作用におよぼすビタミンE等の影響.  
第27回ビタミンE研究会 (2016.1)

\*1 東北大学

\*2 東北大学未来科学技術共同センター

小林憲弘, 矢代和史\*, 久保田領志, 五十嵐良明: 塩素  
処理による水道水中プロチオホスの分解物の生成.  
第50回日本水環境学会年会 (2016.3)

\* 東京医薬専門学校

阿草哲郎<sup>\*1</sup>, 井上英<sup>\*2</sup>, 久保田領志, 田辺信介<sup>\*2</sup>: メコ  
ン川および紅河流域における地下水のヒ素汚染.  
第50回日本水環境学会年会 (2016.3)

\*1 熊本県立大学

\*2 愛媛大学 沿岸環境科学研究センター

Kubota R, Kobayashi N, Ikarashi Y: Development  
of an analytical method for the determination of  
haloacetamides in water by SPE-LC/MS and their  
detection in tap water from Japan.  
International symposium on environmental chemistry  
and toxicology - to accelerate a global network of  
environmental researchers (2016.3)

清水久美子, 秋山卓美, 河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐  
良明: グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴ  
ム製品中の定量.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

五十嵐良明, 秋山卓美, 酒井信夫, 安達玲子, 手島玲子\*:  
医薬部外品原料として用いる加水分解コムギタンパク質

の規格及び試験方法について.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 医薬品医療機器総合機構

河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: ポリウレタン製織  
維製品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の簡易一  
斉分析法の開発.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

藤巻日出夫<sup>\*1</sup>, 秋山卓美, 栗原瑞季<sup>\*2</sup>, 五十嵐良明: 化  
粧品中の防腐剤ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニルの  
定量法.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 (一財) 民生科学協会

\*2 北里大学

佐久間智宏<sup>\*1</sup>, 酒井信夫, 石井里枝<sup>\*2</sup>, 大坂郁恵<sup>\*2</sup>, 岡  
本正志<sup>\*3</sup>, 後藤浩文<sup>\*1</sup>, 佐伯憲一<sup>\*4</sup>, 手島玲子, 三野芳  
紀<sup>\*5</sup>: 食品成分試験法 食物アレルギー (PCR法による  
検出).  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 日本食品分析センター

\*2 埼玉県衛生研究所

\*3 神戸学院大学

\*4 金城学院大学

\*5 大阪薬科大学

香川 (田中) 聡子<sup>\*1</sup>, 田原麻衣子, 斎藤育江<sup>\*2</sup>, 武内伸  
治<sup>\*3</sup>, 上村仁<sup>\*4</sup>, 大貫文<sup>\*2</sup>, 田中礼子<sup>\*5</sup>, 竹熊美貴子<sup>\*6</sup>,  
中野いず美<sup>\*7</sup>, 永田淳<sup>\*7</sup>, 酒井信夫, 五十嵐良明, 埴岡  
伸光<sup>\*1</sup>, 神野透人<sup>\*8</sup>: 室内空気中総揮発性有機化合物の  
分析法に関する研究.  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 横浜薬科大学

\*2 東京都健康安全研究センター

\*3 北海道立衛生研究所

\*4 神奈川県衛生研究所

\*5 横浜市衛生研究所

\*6 埼玉県衛生研究所

\*7 鳥津テクノリサーチ

\*8 名城大学

宮本雅史\*, 福沢栄太\*, 後藤浩文\*, 伊佐川聡\*, 根本了:

LC-MS/MSを用いた畜水産食品中の酢酸イソ吉草酸タ  
イロシン分析法の検討.

日本食品衛生学会第109回学術講演会 (2015.5)

\* (一財) 日本食品分析センター

堤智昭, 足立利華, 手島玲子: 燻製・焙煎食品中に含ま  
れる多環芳香族炭化水素の実態調査.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

志田 (齊藤) 静夏, 根本了, 手島玲子: 野菜・果実中の  
酸性農薬一斉分析法の検討.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

鍋師裕美, 植草義徳, 堤智昭, 蜂須賀暁子, 松田りえ  
子, 手島玲子: トータルダイエツトスタディによる福島  
第一原子力発電所事故後の放射性物質の預託実効線量の  
推定.

第4回京都大学原子炉実験所原子力安全基盤科学研究シ  
ンポジウム (2015.5)

箕川剛<sup>\*1</sup>, 中島光一<sup>\*1</sup>, 西山浩司<sup>\*1</sup>, 村田充良<sup>\*2</sup>, 高橋徹<sup>\*2</sup>,  
穂山浩: ラック色素中のタンパク質定量法の検討.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 三栄源エフエフアイ (株)

\*<sup>2</sup> (株) 岐阜セラック製造所

福島悠依子\*, 片山茂\*, 小俣洋奈\*, 穂山浩, 中村宗一  
郎\*: 樹状細胞の遊走能を指標とした抗原感作性評価法  
の確立.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

\* 信州大学農学部

滝口肇, 能勢充彦<sup>\*1</sup>, 工藤善<sup>\*2</sup>, 杉山圭一, 大月典子,  
多田敦子, 杉本直樹, 瀧野裕之<sup>\*3</sup>, 川原信夫<sup>\*3</sup>, 吉松嘉  
代<sup>\*3</sup>, 穂山浩: 人工水耕栽培により生産したオウレンの  
安全性・有効性評価について.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 名城大学大学院薬学研究科

\*<sup>2</sup> 鹿島建設 (株)

\*<sup>3</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研  
究センター

能勢充彦<sup>\*1</sup>, 穂山浩, 滝口肇, 大月典子, 工藤善<sup>\*2</sup>, 多

田敦子, 杉本直樹, 瀧野裕之<sup>\*3</sup>, 川原信夫<sup>\*3</sup>, 吉松嘉代<sup>\*3</sup>:  
人工水耕栽培により生産したカンゾウの有効性評価につ  
いて.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 名城大学大学院薬学研究科

\*<sup>2</sup> 鹿島建設 (株)

\*<sup>3</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研  
究センター

福田優作\*, 片岡洋平, 佐野勇氣\*, 滝澤和宏\*, 渡邊敬浩,  
手島玲子: ミネラルウォーター類中の陰イオン性化合物  
を対象とした分析法の開発と今後の課題.

日本食品衛生学会第109回学術講演会 (2015.5)

\* (一財) 日本冷凍食品検査協会

穂山浩: 食品安全分野のレギュラトリーサイエンス.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

中村政志<sup>\*1</sup>, 矢上晶子<sup>\*1</sup>, 佐々木和実<sup>\*2</sup>, 西嶋桂子<sup>\*2</sup>,  
安宅花子<sup>\*2</sup>, 竹尾直子<sup>\*3</sup>, 福富友馬<sup>\*4</sup>, 三井直弥<sup>\*5</sup>, 原  
田晋<sup>\*6</sup>, 山口正雄<sup>\*7</sup>, 宇賀神つかさ<sup>\*8</sup>, 佐藤奈由<sup>\*9</sup>, 穂  
山浩, 松永佳世子<sup>\*9</sup>: コチニール色素アレルギーの抗原  
解析.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 藤田保健衛生大学医学部皮膚科学

\*<sup>2</sup> 製品評価技術基盤機構

\*<sup>3</sup> 大分大学医学部皮膚科

\*<sup>4</sup> 国立病院機構相模原病院

\*<sup>5</sup> 三井病院小児科

\*<sup>6</sup> はらだ皮膚科クリニック

\*<sup>7</sup> 三井病院小児科

\*<sup>8</sup> 帝京大学医学部呼吸器・アレルギー内科

\*<sup>9</sup> 東京医科歯科大学皮膚科

福田優作\*, 片岡洋平, 佐野勇氣\*, 滝澤和宏\*, 渡邊敬浩,  
手島玲子: ミネラルウォーター類中の陰イオン性化合物  
を対象とした分析法の開発と今後の課題.

AOAC I日本セクション2015年次大会 (2015.6)

\* (一財) 日本冷凍食品検査協会

渡邊敬浩: 食品規格ができるまで~汚染物質を例に~.

AOAC I日本セクション2015年次大会 (2015.6)

渡邊敬浩, 片岡洋平, 荒川史博\*, 森松文毅\*, 手島玲子:  
摂取量推定を目的とした元素類分析法の性能評価手法の  
開発.

AOAC 日本セクション2015年次大会 (2015.6)

\* 日本ハム (株) 中央研究所

植草義徳, 鍋師裕美, 林恭子, 五十嵐敦子, 曾我慶介,  
亀井俊之, 堤智昭, 渡邊敬浩, 蜂須賀暁子, 松田りえ子,  
穂山浩, 手島玲子: 市販流通食品の放射性セシウム濃度  
の調査~平成26年度調査の結果~.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

鍋師裕美, 堤智昭, 植草義徳, 蜂須賀暁子, 松田りえ子,  
穂山浩, 手島玲子: 福島県内の河川で採取されたモクズ  
ガニ中の放射性セシウムおよびストロンチウム90濃度調  
査.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

堤智昭, 高附巧, 植草義徳, 渡邊敬浩, 松田りえ子, 穂  
山浩, 手島玲子: 東日本大震災が魚介類を介したPCBs  
摂取量に与えた影響~震災後のマーケットバスケット試  
料による摂取量の推定~.

第24回環境化学討論会 (2015.6)

Nabeshi H, Tsutsumi T, Uekusa Y, Hachisuka A,  
Matsuda R, Teshima R: Surveillance of Strontium-90  
in Foods after the Fukushima Daiichi Nuclear Power  
Plant Accident.

Health Physics Society 60th Annual meeting (2015.7)

中村政志\*<sup>1</sup>, 矢上晶子\*<sup>1</sup>, 佐々木和実\*<sup>2</sup>, 西嶋桂子\*<sup>2</sup>,  
安宅花子\*<sup>2</sup>, 竹尾直子\*<sup>3</sup>, 福富友馬\*<sup>4</sup>, 三井直弥\*<sup>5</sup>, 原  
田晋\*<sup>6</sup>, 山口正雄\*<sup>7</sup>, 宇賀神つかさ\*<sup>8</sup>, 穂山浩, 佐藤奈  
由\*<sup>9</sup>, 佐野晶代\*<sup>9</sup>, 松永佳世子\*<sup>9</sup>: プロテオミクス手法  
によるコチニール色素アレルギーの抗原解析.

第20回日本ラテックスアレルギー研究会 (2015.7)

\*<sup>1</sup> 藤田保健衛生大学医学部皮膚科学

\*<sup>2</sup> 製品評価技術基盤機構

\*<sup>3</sup> 大分大学医学部皮膚科

\*<sup>4</sup> 国立病院機構相模原病院

\*<sup>5</sup> 三井病院小児科

\*<sup>6</sup> はらだ皮膚科クリニック

\*<sup>7</sup> 三井病院小児科

\*<sup>8</sup> 帝京大学医学部呼吸器・アレルギー内科

\*<sup>9</sup> 東京医科歯科大学皮膚科

穂山浩: 我が国の食物アレルギーの表示制度と最新の話  
題について.

日本食品科学工学会第62回大会 (2015.8)

Uekusa Y, Takatsuki S, Tsutsumi T, Matsuda R,  
Akiyama H, Hachisuka A, Teshima R, Watanabe T:  
Follow-up investigation of polychlorinated biphenyl  
concentrations in fish from tsunami-stricken areas of  
Japan.

35th International Symposium on Halogenated  
Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2015) (2015.8)

Takahashi K\*, Yasutake D\*, Kajiwara J\*, Watanabe T:  
Dietary intake of hexabromocyclododecane in Japan.

35th International Symposium on Halogenated  
Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2015) (2015.8)

\* Fukuoka Institute of Health and Environmental  
Sciences

Yasutake D\*, Hori T\*, Takahashi K\*, Kajiwara J\*,  
Watanabe T: Concentration of polychlorinated  
biphenyls (PCBs) and hydroxylated PCBs in seafood  
samples collected in Kyusyu district, Japan.

35th International Symposium on Halogenated  
Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2015) (2015.8)

\* Fukuoka Institute of Health and Environmental  
Sciences

植草義徳, 鍋師裕美, 前田朋美, 林恭子, 五十嵐敦子,  
曾我慶介, 亀井俊之, 中村里香, 渡邊敬浩, 穂山浩, 蜂  
須賀暁子, 松田りえ子, 手島玲子, 堤智昭: 市販流通食  
品の放射性物質濃度の実態調査.

第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエ  
ンスフォーラム2015 (2015.9)

天倉吉章\*<sup>1</sup>, 好村守生\*<sup>1</sup>, 中村昌文\*<sup>2</sup>, 半田洋士\*<sup>2</sup>, 堤智昭,  
渡邊敬浩: 各種食品抽出物のAhR結合活性.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> 松山大薬学部

\*<sup>2</sup> (株) 日吉

能勢充彦\*<sup>1</sup>, 筒井梨帆\*<sup>1</sup>, 日坂真輔\*<sup>1</sup>, 穂山浩, 大月典子,  
滝口肇, 多田敦子, 杉本直樹, 工藤善\*<sup>2</sup>, 瀧野裕之\*<sup>3</sup>,  
乾貴幸\*<sup>3</sup>, 河野徳昭\*<sup>3</sup>, 林茂樹\*<sup>3</sup>, 菱田敦之\*<sup>3</sup>, 川原信夫\*<sup>3</sup>,

吉松嘉代<sup>\*3</sup>: 人工水耕栽培により生産したカンゾウの有効性評価について.

日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 名城大学大学院薬学研究科

<sup>\*2</sup> 鹿島建設 (株)

<sup>\*3</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター

松田りえ子, 土山智之\*, 宮崎仁志\*, 手島玲子, 蜂須賀暁子, 渡邊敬浩: 食品中放射性物質検査における適正なサンプリング計画.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* 名古屋市衛生研究所

鍋師裕美, 堤智昭, 植草義徳, 蜂須賀暁子, 手島玲子, 松田りえ子, 穂山浩: 果実中のストロンチウム90濃度調査.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

長島典夫\*, 石井里枝\*, 高野真理子\*, 根本了, 手島玲子: LC-MS/MSによる農産物中のメタゾスルフロンの分析法の開発.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* 埼玉県衛生研究所

小椋和彦\*, 鳥海栄輔\*, 伊佐川聡\*, 根本了: LC-MS/MSによる農産物中のメチオカルブ分析法の検討.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* (一財) 日本食品分析センター

北村真理子\*, 朝倉敬行\*, 関亘\*, 飯田智成\*, 中里光男\*, 安田和男\*, 根本了: LC-MS/MSによる食品中のジニコナゾール試験法.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* (一財) 東京顕微鏡院食と環境の科学センター

植草義徳, 鍋師裕美, 片岡洋平, 渡邊敬浩, 蜂須賀暁子, 堤智昭, 穂山浩, 松田りえ子, 手島玲子: 原子力発電所事故由来の放射性セシウムが検出された食品のウラン濃度の調査.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

片岡洋平, 渡邊敬浩, 林智子, 林恭子, 穂山浩, 手島玲子: 輸入農産物の有害元素濃度の実態調査.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

渡邊敬浩, 片岡洋平, 下山晃\*, 滝澤和宏\*, 穂山浩, 手島玲子: アマニに含まれるシアン化合物の分析.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* (一財) 日本冷凍食品検査協会

堤智昭, 足立利華, 手島玲子, 穂山浩, 渡邊敬浩: 燻製(熟燻・温燻)により食品に含まれる多環芳香族炭化水素.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

高橋浩司\*, 安武大輔\*, 堀就英\*, 梶原淳陸\*, 渡邊敬浩: 臭素系難燃剤ヘキサプロモシクロドデカンの摂取量推定.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* 福岡県保健環境研究所

安武大輔\*, 堀就英\*, 高橋浩司\*, 梶原淳陸\*, 渡邊敬浩: 食品中の塩素系難燃剤の摂取量推定.

日本食品衛生学会第110回学術講演会 (2015.10)

\* 福岡県保健環境研究所

Tsutsumi T, Adachi R, Teshima R, Akiyama H, Matsuda R, Watanabe T: Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked foods in Japan.

7th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis (2015.11)

根本了, 上野英二<sup>\*1</sup>, 神尾典子<sup>\*2</sup>, 小林ゆかり<sup>\*3</sup>, 菅原隆志<sup>\*4</sup>, 永村桂一<sup>\*4</sup>, 中村宗知<sup>\*5</sup>, 山口理香<sup>\*6</sup>, 山田修一<sup>\*7</sup>, 脇ますみ<sup>\*8</sup>, 志田(齊藤)静夏, 坂井隆敏, 松田りえ子, 手島玲子, 穂山浩: LC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)の妥当性評価結果について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 愛知県衛生研究所

<sup>\*2</sup> 福島県衛生研究所

<sup>\*3</sup> 新潟県保健環境科学研究所

<sup>\*4</sup> 岩手県環境保健研究センター

<sup>\*5</sup> (一財) 日本食品分析センター

<sup>\*6</sup> 北九州市環境科学研究所

<sup>\*7</sup> (一財) 千葉県薬剤師会検査センター

\*8 神奈川県衛生研究所

根本了, 上野英二\*1, 中村正規\*2, 中村宗知\*3, 野口昭一郎\*4, 志田(齊藤)静夏, 坂井隆敏, 松田りえ子, 手島玲子, 穂山浩: LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ(畜水産物)の妥当性評価結果について.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

\*1 愛知県衛生研究所

\*2 福岡市保健環境研究

\*3 (一財)日本食品分析センター

\*4 名古屋市衛生研究所

志田(齊藤)静夏, 根本了, 手島玲子, 穂山浩: 加工食品中の殺鼠剤テトラメチレンジスルホテトラミンの迅速分析法.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

志田(齊藤)静夏, 根本了, 手島玲子, 穂山浩: GC-TOF-MSを用いた残留農薬一斉分析の検討.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

渡邊敬浩, 林智子, 林恭子, 穂山浩, 手島玲子: 食品に含まれるフランを対象とした分析法の開発と実態調査.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

片岡洋平, 渡邊敬浩, 林智子, 穂山浩, 手島玲子: ミネラルウォーター類の各種元素濃度の実態調査(平成25年度および平成26年度).

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

林智子, 松田りえ子, 穂山浩, 渡邊敬浩: 摂取量推定を目的とした魚における総水銀及びメチル水銀濃度の実態調査.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

菊地博之, 坂井隆敏, 根本了, 手島玲子, 穂山浩: LC-MS/MSによる畜水産物中のクロラムフェニコール分析法の開発.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

坂井隆敏, 根本了, 手島玲子, 穂山浩: LC-MS/MSによる畜水産物中のイプロニダゾール等分析法の開発.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

鍋師裕美, 堤智昭, 植草義徳, 松田りえ子, 蜂須賀暁子, 手島玲子, 穂山浩: 牛肉・山菜類・果実類中の放射性セ

シウムの調理影響に関する検討.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

植草義徳, 鍋師裕美, 堤智昭, 蜂須賀暁子, 松田りえ子, 穂山浩, 手島玲子: 放射性セシウムが検出された食品のプルトニウム分析.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

高附巧, 植草義徳, 堤智昭, 穂山浩, 手島玲子, 渡邊敬浩: 乳幼児用調製粉乳中の塩素化ダイオキシン類実態調査.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

穂山浩: 食品中の検査方法の国際的なハーモナイゼーションについて.

食品の輸出推進に係る講習会 (2015.12)

Akiyama H, Adachi R: Japanese framework for labeling and testing of allergens in foods.

Pacificchem 2015 THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES (2015.12)

島村智子\*1, 吉田鉄平\*1, 柏木丈広\*1, 受田浩之\*2, 杉本直樹, 穂山浩: ロダン鉄法による酸化防止剤の抗酸化活性評価.

ビタミンE研究会 (2016.1)

\*1 高知大学農学部

\*2 高知大学地域協働学部

穂山浩: 学術論文の読み方, 書き方(基本編) Regulatory Scienceにおける論文の意味を踏まえて.

日本食品化学学会食品科学研究のための基礎セミナー (2016.2)

永山敏廣\*1, 根本了, 小木曾基樹\*2, 高取聡\*3, 高野伊知郎\*4, 松木宏晃\*5, 望月直樹\*6: 衛生試験法・注解 農薬等一斉分析法 LC/MSによる定性および定量(改訂).

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*1 明治薬科大学

\*2 (一財)日本食品分析センター

\*3 大阪府公衆衛生研究所

\*4 東京都健康安全研究センター

\*5 サントリービジネスエキスパート(株)

\*6 アサヒグループホールディングス(株)



穂山浩：専門教育を学ぶ上でのレギュラトリーサイエンス。

日本薬学会第136年会（2016.3）

竹尾直子<sup>\*1</sup>，藤原作平<sup>\*1</sup>，中村政志<sup>\*2</sup>，矢上晶子<sup>\*2</sup>，松永佳世子<sup>\*2</sup>，穂山浩，中山哲<sup>\*3</sup>：コチニール色素アレルギー診断時のプリックテストと特異的IgE抗体測定の有効性。

第275回日本皮膚学会東海地方会（2016.3）

<sup>\*1</sup> 大分大学医学部皮膚科学

<sup>\*2</sup> 藤田保健衛生大学医学部皮膚科

<sup>\*3</sup> サーモフィッシャーダイアグノスティックス（株）

佐藤恭子，秋山裕<sup>\*1</sup>，伊藤澄夫<sup>\*2</sup>，大槻崇，岸弘子<sup>\*3</sup>，櫻井有里子<sup>\*4</sup>，田原正一<sup>\*5</sup>，平田瑞生，宮川弘之<sup>\*5</sup>，山本信次<sup>\*6</sup>，山本純代<sup>\*5</sup>，吉田充哉<sup>\*7</sup>：食品添加物試験法，アドバンテームおよびネオテームのHPLCおよびLC/MSによる定性および定量。

日本薬学会第136年会（2016.3）

<sup>\*1</sup>（一財）日本冷凍食品検査協会

<sup>\*2</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ（株）

<sup>\*3</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*4</sup> 横浜市衛生研究所

<sup>\*5</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*6</sup>（一財）東京顕微鏡院

<sup>\*7</sup>（一財）日本食品分析センター

Tada A, Sugimoto N, Nishizaki Y, Matsuda S, Kawasaki H, Ishizuki K, Ohtsuki T, Tahara M, Suematsu T<sup>\*1</sup>, Yamada Y<sup>\*2</sup>, Akiyama H: Examination of quantification methods of quercetin in food additives and reagents using <sup>1</sup>H quantitative NMR.

Pacificchem 2015 (2015.12)

<sup>\*1</sup> JEOL RESONANCE Inc.

<sup>\*2</sup> Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

建部千絵，古庄紀子，久保田浩樹，佐藤恭子，穂山浩：キレート樹脂固相カートリッジを用いた食品添加物中の鉛試験法の開発。

日本食品化学学会第21回総会・学術大会（2015.5）

大槻崇，小田琢磨，吉田篤史<sup>\*</sup>，小林尚<sup>\*</sup>，建部千絵，久保田浩樹，佐藤恭子，穂山浩：LC-MSを用いた母乳代替食品中のビオチン分析法。

第110回日本食品衛生学会学術講演会（2015.10）

<sup>\*</sup>（一財）食品分析開発センター SUNATEC

Ohtsuki T, Sato K, Abe Y, Sugimoto N, Akiyama H: Development of an absolute quantification method for food additives in processed foods by <sup>1</sup>H quantitative NMR.

Pacificchem 2015 (2015.12)

熊井康人，細木伸泰<sup>\*1</sup>，川島綾<sup>\*2</sup>，関根百合子<sup>\*3</sup>，林千恵子<sup>\*4</sup>，本郷猛<sup>\*4</sup>，安永恵<sup>\*5</sup>，氏家あけみ<sup>\*5</sup>，小川尚考<sup>\*6</sup>，川原るみ子<sup>\*6</sup>，仲間幸俊<sup>\*7</sup>，古謝あゆ子<sup>\*7</sup>，寺見祥子，久保田浩樹，佐藤恭子，穂山浩：平成26年度マーケットバスケット方式による小児の食品添加物一日摂取量調査。

第52回全国衛生化学技術協議会年会（2015.12）

<sup>\*1</sup> 札幌市衛生研究所

<sup>\*2</sup> 仙台市衛生研究所

<sup>\*3</sup> 仙台市衛生研究所（現：仙台市食肉衛生検査所）

<sup>\*4</sup> 千葉県衛生研究所

<sup>\*5</sup> 香川県環境保健研究センター

<sup>\*6</sup> 長崎市保健環境試験所

<sup>\*7</sup> 沖縄県衛生環境研究所

好村守生<sup>\*</sup>，越智啓介<sup>\*</sup>，多田敦子，杉本直樹，穂山浩，天倉吉章<sup>\*</sup>：既存添加物「モウソウチク抽出物」の成分研究。

日本生薬学会第62回年会（2015.9）

<sup>\*</sup> 松山大学薬学部

吉田晴菜<sup>\*1</sup>，好村守生<sup>\*1</sup>，島村智子<sup>\*2</sup>，受田浩之<sup>\*2</sup>，多田敦子，杉本直樹，穂山浩，天倉吉章：既存添加物「生コーヒー豆抽出物」活性画分の成分解析。

第54回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会（2015.10）

<sup>\*1</sup> 松山大学薬学部

<sup>\*2</sup> 高知大学農学部

Miura T<sup>\*1</sup>, Nakao S<sup>\*1</sup>, Yamada Y<sup>\*1</sup>, Ohtsuki T, Tada A, Tahara M, Sugimoto N, Yamazaki T<sup>\*2</sup>, Saito T<sup>\*2</sup>, Ihara T<sup>\*2</sup>, Suematsu T<sup>\*3</sup>, Horinouchi T<sup>\*4</sup>, Koike R<sup>\*4</sup>: Development of standard solutions for qNMR.

The 3rd International Symposium on Process

## Chemistry (ISPC2015) (2015.7)

- \*<sup>1</sup> Wako Pure Chemical Industries, Ltd.  
 \*<sup>2</sup> National Metrology Institute of Japan  
 \*<sup>3</sup> JEOL RESONANCE Inc.  
 \*<sup>4</sup> Kao Corporation

杉本直樹, 多田敦子, 西崎雄三, 石附京子, 田邊思帆里, 穂山浩: 既存添加物「焼成カルシウム」及び「未焼成カルシウム」の規格試験法の検討.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

Sugimoto N, Takada M<sup>\*1</sup>, Ishizuki K, Ohtsuki T, Tada A, Nishizaki Y, Suematsu T<sup>\*2</sup>, Miura T<sup>\*3</sup>, Yamada Y<sup>\*3</sup>, Horinouchi T<sup>\*4</sup>, Koike R<sup>\*4</sup>, Kato T<sup>\*5</sup>, Togawa T<sup>\*1</sup>, Akiyama H: "AQARI" vs. "PULCON", a comparison of qNMR: internal and external reference methods. Pacificchem 2015 (2015.12)

- \*<sup>1</sup> Meiji Pharmaceutical University  
 \*<sup>2</sup> JEOL RESONANCE Inc.  
 \*<sup>3</sup> Wako Pure Chemical Industries, Ltd.  
 \*<sup>4</sup> Kao Corporation  
 \*<sup>5</sup> Japan Food Research Laboratories (JFRL)

西崎雄三, 多田敦子, 石附京子, 加藤智久, 秋山卓美, 穂山浩, 杉本直樹, 佐藤恭子: メチルパラベンを内標準物質とする既存添加物「酵素処理ルチン (抽出物)」HPLC定量分析法の確立.

第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム2015 (2015.9)

西崎雄三, 石附京子, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 穂山浩: 食品中のカルミン酸, 4-アミノカルミン酸及びカルミンの一斉分析法の検討.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

加藤智久, 多田敦子, 河崎裕美, 西崎雄三, 石附京子, 建部千絵, 古庄紀子, 佐藤恭子, 杉本直樹, 穂山浩: qNMRを用いた既存添加物カワラヨモギ抽出物の定量法の開発.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

市川裕司<sup>\*1</sup>, 石附京子, 西崎雄三, 大槻崇, 多田敦子, 兎川忠靖<sup>\*1</sup>, 末松孝子<sup>\*2</sup>, 杉本直樹, 佐藤恭子: <sup>13</sup>C-qNMRに関する基礎検討.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 明治薬科大学薬学部

\*<sup>2</sup> (株) JEOL RESONANCE Inc.

Miura T<sup>\*1</sup>, Sugimoto N, Suematsu, T<sup>\*2</sup>, Hosoe J, Nishimura H<sup>\*3</sup>, Kikuchi Y<sup>\*3</sup>, Katsuhara T<sup>\*3</sup>, Yamashita T<sup>\*4</sup>, Yamada Y<sup>\*1</sup>, Goda Y: Application of "AQARI: Accurate quantitative NMR with internal reference substance" to the Japanese Pharmacopeia.

EUROMAR 2015 (2015.7)

\*<sup>1</sup> Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

\*<sup>2</sup> JEOL RESONANCE Inc.

\*<sup>3</sup> Tsumura & Co.

\*<sup>4</sup> Tokiwa Phytochemical Co., Ltd.

Miura T<sup>\*1</sup>, Sugimoto N, Suematsu T<sup>\*2</sup>, Asakura K<sup>\*2</sup>, Nakao S<sup>\*1</sup>, Yamada Y<sup>\*1</sup>: Development of analytical standards guaranteed by qNMR.

AOAC 129th Annual Meeting (2015.9)

\*<sup>1</sup> Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

\*<sup>2</sup> JEOL RESONANCE Inc.

Kato T<sup>\*1</sup>, Sugimoto N, Ishizuki K, Suematsu T<sup>\*2</sup>, Nagae M<sup>\*1</sup>, Inohana S<sup>\*1</sup>, Fujita K<sup>\*1</sup>, Watai M<sup>\*1</sup>, Yasumoto K<sup>\*1</sup>: Absolute quantification of ciguatoxins standard by quantitative Nuclear Magnetic RESONANCE.

Pacificchem 2015 (2015.12)

\*<sup>1</sup> Japan Food Research Laboratories (JFRL)

\*<sup>2</sup> JEOL RESONANCE Inc.

加藤尚志\*, 山崎太一\*, 西崎雄三, 杉本直樹, 井原俊英\*: qNMR/LCによるハロ酢酸混合標準液への値付け方法の開発.

第21回LCテクノプラザ (2016.1)

\* (国研) 産業技術総合研究所

高橋未来\*, 井之上浩一\*, 西崎雄三, 多田敦子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 穂山浩: 逆相系HPLCによる既存添加物ゴマ油不けん化物の成分規格の検討.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 立命館大学薬学部

六鹿元雄, 菌部博則<sup>\*1</sup>, 阿部孝<sup>\*2</sup>, 阿部智之<sup>\*3</sup>, 阿部裕, 大坂郁恵<sup>\*4</sup>, 大野春香<sup>\*5</sup>, 大野浩之<sup>\*6</sup>, 大野雄一郎<sup>\*7</sup>, 大畑昌輝<sup>\*8</sup>, 尾崎麻子<sup>\*9</sup>, 柿原芳輝<sup>\*10</sup>, 小林尚<sup>\*11</sup>, 柴田博<sup>\*12</sup>, 関戸晴子<sup>\*13</sup>, 高坂典子<sup>\*14</sup>, 但馬吉保<sup>\*15</sup>, 田中葵<sup>\*16</sup>, 外岡大幸<sup>\*17</sup>, 中西徹<sup>\*2</sup>, 野村千枝<sup>\*18</sup>, 羽石奈穂子<sup>\*19</sup>, 早川雅人<sup>\*20</sup>, 疋田晃典<sup>\*21</sup>, 松山重倫<sup>\*8</sup>, 三浦俊彦<sup>\*22</sup>, 山口未来, 渡辺一成<sup>\*20</sup>, 佐藤恭子, 穂山浩: ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験の試験室間共同試験.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

<sup>\*1</sup> (一財) 日本文化用品安全試験所

<sup>\*2</sup> (一財) 日本食品分析センター

<sup>\*3</sup> (公社) 日本食品衛生協会

<sup>\*4</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*5</sup> 愛知県衛生研究所

<sup>\*6</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*7</sup> (一財) 千葉県薬剤師会検査センター

<sup>\*8</sup> (国研) 産業技術総合研究所

<sup>\*9</sup> 大阪市立環境科学研究所

<sup>\*10</sup> (一財) 日本穀物検定協会

<sup>\*11</sup> (一財) 食品分析開発センター SUNATEC

<sup>\*12</sup> (一財) 東京顕微鏡院

<sup>\*13</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*14</sup> (一財) 食品薬品安全センター

<sup>\*15</sup> (一財) 食品環境検査協会

<sup>\*16</sup> (一社) 日本海事検定協会

<sup>\*17</sup> さいたま市健康科学研究センター

<sup>\*18</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*19</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*20</sup> (一財) 化学研究評価機構

<sup>\*21</sup> 長野県環境保全研究所

<sup>\*22</sup> (一財) 日本冷凍食品検査協会

阿部裕, 六鹿元雄, 山口未来, 穂山浩: 器具・容器包装の蒸発残留物試験における蒸発乾固操作に関する検討.

日本食品化学学会第21回学術大会 (2015.5)

阿部裕, 山口未来, 六鹿元雄, 佐藤恭子, 穂山浩: DART-OT/MSを用いたPVC製品中可塑剤の迅速分析法の開発.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

Abe Y, Yamaguchi M, Mutsuga M, Akiyama H: Development of rapid direct analysis method for plasticizers in polyvinyl chloride (PVC) product using direct analysis in real time-orbitrap mass spectrometry

(DART-OT/MS).

PacifiChem 2015 (2015.12)

Kawamura Y: Current status of food contact regulations in Japan.

Global Food Contact 2015 (2015.5)

河村葉子, 中西徹<sup>\*1</sup>, 有菌幸司<sup>\*2</sup>, 大野浩之<sup>\*3</sup>, 尾崎麻子<sup>\*4</sup>, 金子令子<sup>\*5</sup>, 羽石奈穂子<sup>\*6</sup>, 松井秀俊<sup>\*7</sup>, 六鹿元雄, 村上亮<sup>\*8</sup>: 生活用品試験法 器具・容器包装および玩具試験法 植物油への総溶出物量.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> (一財) 日本食品分析センター

<sup>\*2</sup> 熊本県立大学

<sup>\*3</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*4</sup> 大阪市環境科学研究所

<sup>\*5</sup> 前東京健康安全研究センター

<sup>\*6</sup> 東京健康安全研究センター

<sup>\*7</sup> 東洋製罐 (株)

<sup>\*8</sup> (公社) 日本食品衛生協会

山口未来, 阿部裕, 六鹿元雄, 佐藤恭子, 穂山浩: GC-MS/MSを用いた器具・容器包装から溶出する添加剤の一斉分析法の開発.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

渡辺一成<sup>\*1</sup>, 六鹿元雄, 阿部孝<sup>\*2</sup>, 阿部智之<sup>\*3</sup>, 阿部裕, 大坂郁恵<sup>\*4</sup>, 大野春香<sup>\*5</sup>, 大野浩之<sup>\*6</sup>, 大野雄一郎<sup>\*7</sup>, 尾崎麻子<sup>\*8</sup>, 柿原芳輝<sup>\*9</sup>, 小林尚<sup>\*10</sup>, 近藤貴英<sup>\*11</sup>, 柴田博<sup>\*12</sup>, 城野克広<sup>\*13</sup>, 関戸晴子<sup>\*14</sup>, 菌部博則<sup>\*15</sup>, 高坂典子<sup>\*16</sup>, 但馬吉保<sup>\*17</sup>, 田中葵<sup>\*18</sup>, 田中秀幸<sup>\*13</sup>, 中西徹<sup>\*2</sup>, 野村千枝<sup>\*19</sup>, 羽石奈穂子<sup>\*20</sup>, 早川雅人<sup>\*1</sup>, 疋田晃典<sup>\*21</sup>, 三浦俊彦<sup>\*22</sup>, 山口未来, 佐藤恭子, 穂山浩: ナイロン製器具・容器包装におけるカプロラクタム試験の試験室間共同試験.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

<sup>\*1</sup> (一財) 化学研究評価機構

<sup>\*2</sup> (一財) 日本食品分析センター

<sup>\*3</sup> (公社) 日本食品衛生協会

<sup>\*4</sup> 埼玉県衛生研究所

<sup>\*5</sup> 愛知県衛生研究所

<sup>\*6</sup> 名古屋市衛生研究所

<sup>\*7</sup> (一財) 千葉県薬剤師会検査センター

<sup>\*8</sup> 大阪市立環境科学研究所

<sup>\*9</sup> (一財) 日本穀物検定協会

\*<sup>10</sup> (一財) 食品分析開発センター SUNATEC

\*<sup>11</sup> さいたま市健康科学研究センター

\*<sup>12</sup> (一財) 東京顕微鏡院

\*<sup>13</sup> (国研) 産業技術総合研究所

\*<sup>14</sup> 神奈川県衛生研究所

\*<sup>15</sup> (一財) 日本文化用品安全試験所

\*<sup>16</sup> (一財) 食品薬品安全センター

\*<sup>17</sup> (一財) 食品環境検査協会

\*<sup>18</sup> (一社) 日本海事検定協会

\*<sup>19</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

\*<sup>20</sup> 東京都健康安全研究センター

\*<sup>21</sup> 長野県環境保全研究所

\*<sup>22</sup> (一財) 日本冷凍食品検査協会

渡邊雄一\*, 河村葉子, 中西徹\*, 川口寿之\*, 杉本敏明\*, 阿部裕, 六鹿元雄: 植物油総溶出物量試験法の改良 その3 植物油抽出法.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\* (一財) 日本食品分析センター

中西徹\*, 河村葉子, 渡邊雄一\*, 川口寿之\*, 杉本敏明\*, 阿部裕, 六鹿元雄: 植物油総溶出物量試験法の改良 その4 改良試験法の検証.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\* (一財) 日本食品分析センター

朝倉宏, 西田直樹\*, 春日文字, 山本茂貴, 五十君静信: ウシ内臓肉における腸管出血性大腸菌の分布と内部浸潤性に関する検討.

第19回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (2015.7)

\* (一財) 日本冷凍食品検査協会

吉村昌徳<sup>\*1</sup>, 磯陽子<sup>\*2</sup>, 橋理人, 須田貴之, 小西良子<sup>\*2</sup>, 春日文字, 五十君静信, 朝倉宏: 芽物野菜の種子における微生物汚染と発育に応じた菌叢動態に関する検討.

日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> (一財) 日本冷凍食品検査協会

\*<sup>2</sup> 麻布大学

須田貴之<sup>\*1</sup>, 吉村昌徳<sup>\*2</sup>, 有路由佳<sup>\*3</sup>, 橋理人, 小西良子<sup>\*3</sup>, 春日文字, 五十君静信, 朝倉宏: 充填豆腐製品における微生物汚染実態と保存試験を通じた芽胞菌の挙動に関する検討.

日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> (一財) 日本食品分析センター

\*<sup>2</sup> (一財) 日本冷凍食品検査協会

\*<sup>3</sup> 麻布大学

橋理人, 吉村昌徳\*, 山本詩織, 春日文字, 五十君静信, 朝倉宏: 衛生規範改正前後における市販浅漬け製品の指標菌数ならびに菌叢動態に関する比較検討.

日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

\* (一財) 日本冷凍食品検査協会

朝倉宏, 野田大樹<sup>\*1</sup>, 吉村昌徳<sup>\*2</sup>, 小西良子<sup>\*1</sup>, 山本茂貴<sup>\*3</sup>, 五十君静信: 冷凍処理による鶏肉中でのカンピロバクター汚染低減効果に関する検討.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 麻布大学

\*<sup>2</sup> (一財) 日本冷凍食品検査協会

\*<sup>3</sup> 東海大学

木村浩紀\*, 蓮沼愛弓\*, 山谷郁子\*, 朝倉宏, 村上覚史\*: 鶏盲腸内での時系列的Campylobacter jejuniの定着動態と盲腸菌叢変動要因の探索に関する検討.

第8回日本カンピロバクター研究会総会 (2015.12)

\* 東京農業大学

Asakura H, Tachibana M, Yamamoto S, Yamamoto S\*, Igimi S: Exo vivo proteomic analysis of *Campylobacter jejuni* in chicken.

UJNR有毒微生物専門部会第50回日米合同部会 (2016.1)

\* 東海大学

朝倉宏, 川本恵子<sup>\*1</sup>, 橋理人, 村上覚史<sup>\*2</sup>, 倉園久生<sup>\*1</sup>, 五十君静信: *Campylobacter* FabG affects fatty acid compositions to alter growth fitness in chicken gut.

第89回日本細菌学会総会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 帯広畜産大学

\*<sup>2</sup> 東京農業大学

山本詩織, 朝倉宏, 岡田由美子, 吉田麻利江, 五十君静信: 国内の市販鶏肉におけるESBL産生大腸菌の分布状況と保有するプラスミドの諸性状について.

第89回日本細菌学会総会 (2016.3)

村田龍, 小根澤遥, 大城直雅, 松田りえ子, 五十君静信:  
LS-MS/MSによる下痢性貝毒 (オカダ酸群) の分析法検  
討.

第109回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.5)

Oshiro N, Sakugawa S<sup>\*1</sup>, Kuniyoshi K, Murata R,  
Tachihara K<sup>\*2</sup>, Yasumoto T<sup>\*3</sup>: LC-MS analysis of  
ciguatoxins from fish and other marine organisms  
collected off the coast of Japan.

Fifth Joint Symposium and AOAC Task Force Meeting  
Marine & Freshwater Toxins Analysis (2015.6)

<sup>\*1</sup> Okinawa Prefectural Institute of Health and  
Environment

<sup>\*2</sup> University of the Ryukyus

<sup>\*3</sup> Japan Food Research Laboratory

大野祐美<sup>\*1</sup>, 風間美保<sup>\*1</sup>, 國吉杏子, 佐久川さつき<sup>\*2</sup>,  
林田宜之<sup>\*3</sup>, 立原一憲<sup>\*3</sup>, 小島尚<sup>\*1</sup>, 安元健<sup>\*4</sup>, 大城直  
雅: LC-MS/MSを用いたバラフエダイ筋肉のシガトキシ  
ン類分析の検討.

第25回体力・栄養・免疫学会大会 (2015.8)

<sup>\*1</sup> 帝京科学大学

<sup>\*2</sup> 沖縄県衛生環境研究所

<sup>\*3</sup> 琉球大学

<sup>\*4</sup> (一財) 日本食品分析センター

富川拓海<sup>\*1</sup>, 國吉杏子, 石川輝<sup>\*2</sup>, 小島尚<sup>\*1</sup>, 安元健<sup>\*3</sup>,  
大城直雅: 本州沿岸生物からのLC-MS/MS によるシ  
ガトキシン類の探索.

第25回体力・栄養・免疫学会大会 (2015.8)

<sup>\*1</sup> 帝京科学大学

<sup>\*2</sup> 三重大学

<sup>\*3</sup> (一財) 日本食品分析センター

西村美桜<sup>\*1</sup>, 渡辺美遥<sup>\*2</sup>, 小西良子<sup>\*2</sup>, 國吉杏子, 大城  
直雅, 立原一憲<sup>\*1</sup>: シガテラ毒魚バラハタの年齢と成長,  
成熟, 食性.

2015年度日本魚類学会年会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 琉球大学

<sup>\*2</sup> 麻布大学

富川拓海<sup>\*1</sup>, 國吉杏子, 石川輝<sup>\*2</sup>, 小島尚<sup>\*1</sup>, 安元健<sup>\*3</sup>,  
大城直雅: イシガキダイのLC-MS/MSによるシガトキシ  
ン類分析検討.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

<sup>\*1</sup> 帝京科学大学

<sup>\*2</sup> 三重大学

<sup>\*3</sup> (一財) 日本食品分析センター

國吉杏子, 村田龍, 松田りえ子, 大城直雅, 五十君静信:  
各種二枚貝中オカダ酸群のLC-MS/MS分析法の検討.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

渡辺美遥<sup>\*1</sup>, 國吉杏子, 佐久川さつき<sup>\*2</sup>, 高嶺朝典<sup>\*2</sup>,  
小林直樹<sup>\*1</sup>, 小西良子<sup>\*1</sup>, 大城直雅: LC-MS/MSによ  
るシガトキシン類分析法の改良検討.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

<sup>\*1</sup> 麻布大学

<sup>\*2</sup> 沖縄県衛生環境研究所

大野祐美<sup>\*1</sup>, 風間美保<sup>\*1</sup>, 國吉杏子, 林田宜之<sup>\*2</sup>, 佐久  
川さつき<sup>\*3</sup>, 立原一憲<sup>\*2</sup>, 小島尚<sup>\*1</sup>, 安元健<sup>\*4</sup>, 大城直雅:  
バラフエダイ筋肉のLC-MS/MS法によるCTXs類分析.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

<sup>\*1</sup> 帝京科学大学

<sup>\*2</sup> 琉球大学

<sup>\*3</sup> 沖縄県衛生環境研究所

<sup>\*4</sup> (一財) 日本食品分析センター

Oshiro N: Detection of ciguatoxins from marine  
creatures caught off Japanese waters by LC-MS.

Pacificchem 2015 (2015.12)

富川拓海<sup>\*1</sup>, 國吉杏子, 石川輝<sup>\*2</sup>, 豊福肇<sup>\*3</sup>, 小島尚<sup>\*1</sup>,  
大城直雅: 海外産魚類試料のシガトキシン類分析.

平成28年度日本水産学会春季大会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 帝京科学大学

<sup>\*2</sup> 三重大学

<sup>\*3</sup> 山口大学

鈴木穂高: フグ毒のマウス・バイオアッセイのSCAWの  
苦痛分類.

第158回日本獣医学会学術集会 (2015.9)

嶋本敬介\*, 岡田由美子, 小川竜也\*, 工藤佳代子\*, 中村厚\*, 久世博\*, 鈴木穂高: 無眼球症スナネズミの聴性脳幹反応検査.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\* ボゾリサーチセンター

岡田由美子, 吉田麻利江, 泉谷秀昌\*, 五十君静信: *Listeria monocytogenes*の分子疫学的解析.

第158回日本獣医学会学術集会 (2015.9)

\* 国立感染症研究所

Okada Y, Suzuki H, Yoshida M, Momose Y, Igimi S: Comparison of pathogenicities of *Listeria monocytogenes* serotype 4b isolates.

第89回日本細菌学会 (2016.3)

秋野和華子\*, 斎藤博之\*, 野田衛: 食品のウイルス検査における偽陽性防止対策に関する検討.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\* 秋田県健康環境センター

斎藤博之\*, 秋野和華子\*, 野田衛: 食品のサポウイルス検査にパンソルビン・トラップ法を用いる際のRNA検出系の最適化.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\* 秋田県健康環境センター

菅原直子\*<sup>1</sup>, 木村俊介\*<sup>1</sup>, 鈴木優子\*<sup>1</sup>, 佐々木美江\*<sup>1</sup>, 植木洋\*<sup>1</sup>, 渡邊節\*<sup>1</sup>, 真砂佳史\*<sup>2</sup>, 大村達夫\*<sup>3</sup>, 野田衛: カキからのノロウイルス抽出法の検討.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 宮城県保健環境センター

\*<sup>2</sup> 国際連合大学サステイナビリティ高等研究所

\*<sup>3</sup> 東北大学未来科学技術共同研究センター

斎藤博之\*<sup>1</sup>, 秋野和華子\*<sup>1</sup>, 田中智之\*<sup>2</sup>, 野田衛: 食品検体の病原ウイルス検査にパンソルビン・トラップ法を用いる際の捕捉抗体供給源に関する検討.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 秋田県健康環境センター

\*<sup>2</sup> 堺市衛生研究所

小菅大嗣\*, 上間匡, 小西良子\*, 野田衛: 市販アルコール系消毒剤によるネコカリシウイルス不活化効果の比較.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\* 麻布大学・生命環境科学部

Iritani N\*<sup>1</sup>, Yamamoto S\*<sup>1,2</sup>, Kaida A\*<sup>1</sup>, Abe N\*<sup>1</sup>, Kanbayashi D\*<sup>1,2</sup>, Kubo H\*<sup>1</sup>, Noda M: Norovirus GII.17 detected in Osaka City, Japan.

第63回日本ウイルス学会学術集会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 大阪市立環境科学研究所

\*<sup>2</sup> 大阪府公衆衛生研究所

Saito H\*, Akino W\*, Noda M: Optimization of RT-PCR to detect Sapovirus RNA recovered by PANtrap method.

第63回日本ウイルス学会学術集会 (2015.11)

\* 秋田県健康環境センター

Nagoya M\*, Inasaki N\*, Shima I\*, Itamochi M\*, Inahata R\*, Obuchi M\*, Noda M, Sata T\*, Takizawa T\*: Detection of noroviruses from outbreaks of gastroenteritis by metagenomic analysis.

第63回日本ウイルス学会学術集会 (2015.11)

\* 富山県衛生研究所

吉富秀亮\*, 芦塚由紀\*, 野田衛: 市販カキから検出されたノロウイルスGII.17の分子疫学解析.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\* 福岡県衛生研究所

三元昌美, 小菅大嗣\*, 上間匡, 野田衛: 感染性推定遺伝子検査法を用いた高圧処理によるノロウイルスに対する不活化効果の検証.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\* 麻布大学・生命環境科学部

上間匡, 照山晏菜\*, 堀内百恵\*, 浅川愛\*, 三元昌美, 野田衛: カキからのノロウイルス検出における通知法, 改良法, 感染性推定遺伝子検査法の比較.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\* 明治薬科大学

寺嶋淳：ベロ毒素産生大腸菌（VTEC）等による食品媒介感染症の分子疫学的解析.

食品媒介感染症防止に向けた食品安全確保のための定量的・定量的アプローチに関する国際シンポジウム (2015.12)

Terajima J, Izumiya H\*, Ohnishi M\*: Molecular Epidemiological Analysis of Foodborne Infection with Enterohemorrhagic E. coli and other Bacterial Pathogens.

50th Toxic Microorganisms Joint Panel Meeting (2016.1)

\* National Institute of Infectious Diseases

星野梢<sup>\*1</sup>, 鈴木史恵<sup>\*2</sup>, 山崎匠子<sup>\*3</sup>, 小西典子<sup>\*4</sup>, 菊地理慧<sup>\*5</sup>, 岩渕香織<sup>\*6</sup>, 永井佑樹<sup>\*7</sup>, 磯部順子<sup>\*8</sup>, 山田裕子<sup>\*9</sup>, 坂本綾<sup>\*10</sup>, 上田泰史<sup>\*11</sup>, 森哲也<sup>\*12</sup>, 中川弘<sup>\*13</sup>, 大塚佳代子<sup>\*1</sup>, 工藤由起子：食品における腸管出血性大腸菌6血清群試験法のコラボレイティブスタディによる評価.

第19回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (2015.7)

\*1 埼玉県衛生研究所

\*2 静岡市環境保健研究所

\*3 杉並区衛生試験所

\*4 東京都健康安全研究センター

\*5 福島県衛生研究所

\*6 岩手県環境保健研究センター

\*7 三重県保健環境研究所

\*8 富山県衛生研究所

\*9 広島県立総合技術研究所保健環境センター

\*10 広島市衛生研究所

\*11 神戸検疫所

\*12 (一財) 東京顕微鏡院

\*13 (株) BMLフード・サイエンス

窪崎敦隆, 山崎朗子, 宮原美知子, 菊池裕, 工藤由起子, 寺嶋淳, 渡辺麻衣子：真菌性髄膜炎原因菌をモデルとした細胞調製品の微生物迅速測定法の検討.

日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

森哲也\*, 長尾清香, 岸野かなえ\*, 難波豊彦\*, 高田薫, 工藤由起子：腸管出血性大腸菌の食品からの検出におけるDNA抽出法および遺伝子検出法の検討.

日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

\* (一財) 東京顕微鏡院

杉山寛治<sup>\*1</sup>, 岩出義人<sup>\*2</sup>, 徳岡英亮<sup>\*3</sup>, 西尾智裕<sup>\*1</sup>, 齋藤志保子<sup>\*4</sup>, 大友良光<sup>\*5</sup>, 小沼博隆<sup>\*6</sup>, 中川弘<sup>\*7</sup>, 田中廣行<sup>\*8</sup>, 工藤由起子：腸炎ビブリオの二枚貝からの分離状況と疫学的観点からのTRHの病原性に関する考察.

第49回腸炎ビブリオシンポジウム (2015.10)

\*1 静岡県環境衛生科学研究所

\*2 三重県保健環境研究所

\*3 熊本県保健環境研究所

\*4 秋田県健康環境センター

\*5 弘前大学

\*6 東海大学

\*7 (株) BMLフード・サイエンス

\*8 日本食品分析センター

大塚佳代子<sup>\*1</sup>, 大阪美紗<sup>\*1</sup>, 工藤由起子, 小沼博隆<sup>\*2</sup>, 三輪憲永<sup>\*3,4</sup>, 増田高志<sup>\*3,5</sup>, 小澤一弘<sup>\*5</sup>, 熊谷進<sup>\*6</sup>, 仁科徳啓<sup>\*4</sup>：人工海水による魚類における腸炎ビブリオ汚染の低減化およびエラ・内臓における高菌数汚染.

第49回腸炎ビブリオシンポジウム (2015.10)

\*1 埼玉県衛生研究所

\*2 東海大学

\*3 静岡県環境衛生科学研究所

\*4 東海大学短期大学部

\*5 中部衛生検査センター

\*6 東京大学大学院

石川暢子<sup>\*1</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 吉田信一郎<sup>\*1</sup>, 市川希美<sup>\*2</sup>, 森哲也<sup>\*2</sup>, 伊藤武<sup>\*2</sup>, 池本尚人<sup>\*3</sup>, 加藤一郎<sup>\*4</sup>, 林伸之<sup>\*5</sup>, 工藤由起子：ゼリー飲料および固形化成分を含有する粉末清涼飲料の細菌試験法の問題点とその改善法の検討.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\*1 (一財) 日本食品分析センター

\*2 (一財) 東京顕微鏡院

\*3 サントリービジネスエキスパート (株)

\*4 (株) 伊藤園

\*5 キリン (株)

大塚佳代子<sup>\*1</sup>, 森哲也<sup>\*2</sup>, 上田泰史<sup>\*3</sup>, 中川弘<sup>\*4</sup>, 清水大輔<sup>\*4</sup>, 甲斐明美<sup>\*5</sup>, 小西典子<sup>\*5</sup>, 長尾清香, 寺嶋淳, 工藤由起子：食品の腸管出血性大腸菌検査におけるVT

遺伝子検出機器及び試薬の検討.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 埼玉衛生研究所

\*<sup>2</sup> (一財) 東京顕微鏡院

\*<sup>3</sup> 神戸検疫所

\*<sup>4</sup> (株) BMLフードサイエンス

\*<sup>5</sup> 東京都健康安全研究センター

松谷佐知子：転写因子ArtAのDNA結合能解析のための新しい手法の開発とその結合部位.

第38回日本分子生物学会年会 (2015.12)

窪崎敦隆：ヒト培養細胞を用いたエピジェネティック毒性検出.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

渡辺麻衣子, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>: 東日本大震災における応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診1・真菌叢調査.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

\*<sup>2</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>3</sup> 岩手大学

釣木澤尚実<sup>\*1</sup>, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 渡辺麻衣子: 東日本大震災における応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診2・疫学調査.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

\*<sup>2</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>3</sup> 岩手大学

押方智也子<sup>\*1</sup>, 渡辺麻衣子, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>: 東日本大震災における応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診3・抑うつ傾向の調査.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

\*<sup>2</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>3</sup> 岩手大学

齋藤明美<sup>\*1</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 渡辺麻衣子: 東日本大震災における応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診4・血清学的調査.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

\*<sup>2</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>3</sup> 岩手大学

石田雅嗣<sup>\*1</sup>, 矢内勝<sup>\*1</sup>, 大久保愉一<sup>\*1</sup>, 矢満田慎介<sup>\*1</sup>, 花笠正和<sup>\*1</sup>, 小林誠一<sup>\*1</sup>, 齋藤明美<sup>\*2</sup>, 押方智也子<sup>\*2</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*2</sup>, 渡辺麻衣子: 東日本大震災後に発症した *Aspergillus versicolor* によるアレルギー気管支肺真菌症の1例.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>2</sup> 国立病院機構相模原病院

Watanabe, M: Relationship between Fungal contamination and health hazard in Temporary Houses after the Great East Japan Calamity.

The 9 International Symposium on Heating, Ventilation and Air Conditioning and the 3 International Conference on Building Energy and Environment (2015.7)

押方智也子<sup>\*1</sup>, 渡辺麻衣子, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>: 東日本大震災における応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器かびアレルギー集団検診1・臨床.

第24回日本臨床環境医学会学術総会 (2015.6)

\*<sup>1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

\*<sup>2</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>3</sup> 岩手大学

渡辺麻衣子, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>: 東日本大震災における応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器かびアレルギー集団検診2・基礎.

第24回日本臨床環境医学会学術総会 (2015.6)

\*<sup>1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

\*<sup>2</sup> 石巻赤十字病院

\*<sup>3</sup> 岩手大学



渡辺麻衣子, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 小沼ルミ<sup>\*2</sup>, 石田雅嗣<sup>\*3</sup>, 小林誠一<sup>\*3</sup>, 鎌田洋一<sup>\*4</sup>, 寺嶋淳, 矢内勝<sup>\*3</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>: 応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診1・真菌叢調査.

第46回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

<sup>\*2</sup> 東京都立産業技術研究センター

<sup>\*3</sup> 石巻赤十字病院

<sup>\*4</sup> 岩手大学

釣木澤尚実<sup>\*1</sup>, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 橋本一浩<sup>\*4</sup>, 寺嶋淳, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 渡辺麻衣子: 応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診2・喘息の疫学調査.

第46回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

<sup>\*2</sup> 石巻赤十字病院

<sup>\*3</sup> 岩手大学

<sup>\*4</sup> (株) エフシージー総合研究所

押方智也子<sup>\*1</sup>, 渡辺麻衣子, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 齋藤明美<sup>\*1</sup>, 小林直樹<sup>\*3</sup>, 鎌田洋一<sup>\*4</sup>, 寺嶋淳, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>: 応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診3・喘息と抑うつ傾向.

第46回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

<sup>\*2</sup> 石巻赤十字病院

<sup>\*3</sup> 麻布大学

<sup>\*4</sup> 岩手大学

齋藤明美<sup>\*1</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*1</sup>, 押方智也子<sup>\*1</sup>, 石田雅嗣<sup>\*2</sup>, 小林誠一<sup>\*2</sup>, 矢内勝<sup>\*2</sup>, 山崎朗子<sup>\*3</sup>, 鎌田洋一<sup>\*3</sup>, 寺嶋淳, 渡辺麻衣子: 応急仮設住宅住民を対象とした呼吸器アレルギー集団検診4・血清学的調査.

第46回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

<sup>\*2</sup> 石巻赤十字病院

<sup>\*3</sup> 岩手大学

川上裕司<sup>\*1</sup>, 横山耕治<sup>\*2</sup>, 橋本ルイコ<sup>\*3</sup>, 橋本一浩<sup>\*1</sup>, 浅野勝佳<sup>\*4</sup>, 陰地義樹<sup>\*4</sup>, 北岡洋平<sup>\*4</sup>, 小田尚幸<sup>\*1</sup>, 渡辺麻衣子, 高橋治男<sup>\*2</sup>: 焼酎工場における黒麹菌類の調査とマイコトキシン産生能.

都市有害生物管理学会第36回大会・総会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> (株) エフシージー総合研究所

<sup>\*2</sup> 千葉大学真菌医学研究センター

<sup>\*3</sup> 千葉県衛生研究所

<sup>\*4</sup> 奈良県景観・環境総合センター

大内勇樹<sup>\*1</sup>, 福富友馬<sup>\*2</sup>, 長井和哉<sup>\*1</sup>, 小林直樹<sup>\*3</sup>, 渡辺麻衣子, 鎌田洋一<sup>\*1</sup>: 次世代シークエンサーによる *Aspergillus restrictus* の新規アレルゲンの同定と解析.

第158回日本獣医学会学術集会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 岩手大学

<sup>\*2</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

<sup>\*3</sup> 麻布大学

大内勇樹<sup>\*1</sup>, 福富友馬<sup>\*2</sup>, 長井和哉<sup>\*1</sup>, 小林直樹<sup>\*3</sup>, 渡辺麻衣子, 鎌田洋一<sup>\*1</sup>: 次世代シークエンサーを用いた新規カビアレルゲンの同定と解析.

日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

<sup>\*1</sup> 岩手大学

<sup>\*2</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

<sup>\*3</sup> 麻布大学

押方智也子<sup>\*</sup>, 齋藤明美<sup>\*</sup>, 渡辺麻衣子, 堀田綾子<sup>\*</sup>, 安枝浩<sup>\*</sup>, 齋藤生朗<sup>\*</sup>, 釣木澤尚実<sup>\*</sup>: 築10年マンションの外壁工事を機に発症し *Chaetomium globosum* の関与が示唆された過敏性肺炎の一例.

第59回日本医真菌学会総会・学術集会 (2015.10)

<sup>\*</sup> (独) 国立病院機構相模原病院

吉本優里<sup>\*1</sup>, 渡辺麻衣子, 吉成知也, 高橋治男<sup>\*2</sup>, 小西良子<sup>\*1</sup>, 寺嶋淳: 輸入小麦におけるフザリウムトキシン産生菌の分布に関する研究.

日本マイコトキシン学会第78回学術講演会 (2016.1)

<sup>\*1</sup> 麻布大学

<sup>\*2</sup> 千葉大学真菌医学研究センター

Watanabe M: Study on distribution of trichothecens-producing *Fusarium* isolated adzuki beans.

## UJNR有毒微生物専門部会第50回大会日米合同部会

橋本ルイコ<sup>\*1</sup>, 中川博之<sup>\*2</sup>, 橋本一浩<sup>\*3</sup>, 小田尚幸<sup>\*3</sup>, 川上裕司<sup>\*3</sup>, 渡辺麻衣子, 北岡洋平<sup>\*4</sup>, 陰地義樹<sup>\*4</sup>, 横山耕治<sup>\*5</sup>, 高橋治男<sup>\*5</sup>: 本邦ワイナリーから分離されたフモニシン産生*Fusarium* 属菌の性状と接種試験.

日本マイコトキシン学会第78回学術講演会 (2016.1)

<sup>\*1</sup> 千葉県衛生研究所

<sup>\*2</sup> (国研) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

<sup>\*3</sup> (株) エフシージー総合研究所

<sup>\*4</sup> 奈良県保健研究センター

<sup>\*5</sup> 千葉大学真菌医学研究センター

大波純一<sup>\*1</sup>, 小林直樹<sup>\*2</sup>, 渡辺麻衣子, 山田修<sup>\*3</sup>, 水谷治<sup>\*3</sup>, 高橋徹<sup>\*4</sup>, 川上裕司<sup>\*5</sup>, 橋本一浩<sup>\*5</sup>, 清水公德<sup>\*6</sup>, 高橋治男, 知花博治<sup>\*7</sup>, 鎌田洋一<sup>\*8</sup>: データベースから選出されたカビアレゲン候補遺伝子の*Aspergillus*属内における配列比較とアレゲン性の検討.

第10回日本ゲノム微生物学会年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> JST・バイオサイエンスデータベースセンター

<sup>\*2</sup> 麻布大学

<sup>\*3</sup> (独) 酒類総合研究所

<sup>\*4</sup> (株) 岐阜セラック製造所

<sup>\*5</sup> (株) エフシージー総合研究所

<sup>\*6</sup> 東京理科大学

<sup>\*7</sup> 千葉大学

<sup>\*8</sup> 岩手大学

Ohnishi T, Kikuchi Y, Furusawa H, Yoshinari T, Yamazaki A, Kamata Y<sup>\*1</sup>, Sugita-Konishi Y<sup>\*2</sup>: Electron Microscopic Study on *Kudoa septempunctata* Infecting Olive Flounder.

IAFP European Symposium on Food Safety (2015.4)

<sup>\*1</sup> Iwate University

<sup>\*2</sup> Azabu University

Takeuchi F, Sekizuka T<sup>\*1</sup>, Ogasawara Y<sup>\*1</sup>, Yokoyama H<sup>\*2</sup>, Kamikawa R<sup>\*3</sup>, Inagaki Y<sup>\*4</sup>, Nozaki T<sup>\*1,4</sup>, Sugita-Konishi Y<sup>\*5</sup>, Ohnishi T, Kuroda M<sup>\*1</sup>: Phylogenetic analysis of a Myxozoan Genus *Kudoa* Mitochondrial Genomes, and the modulation of host innate immunity by *Kudoa* infection.

2nd International Symposium Matryoshka-type

## Evolution of Eukaryotic Cells (2015.9)

<sup>\*1</sup> National Institute of Infectious Diseases

<sup>\*2</sup> The University of Tokyo

<sup>\*3</sup> Kyoto University

<sup>\*4</sup> University of Tsukuba

<sup>\*5</sup> Azabu University

大西貴弘, 都丸亜希子, 吉成知也, 鎌田洋一<sup>\*1</sup>, 小西良子<sup>\*2</sup>: 原因不明有症苦情事例検体からの粘液胞子虫の検出.

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 岩手大学

<sup>\*2</sup> 麻布大学

吉成知也: アフラトキシンM1規格設定の概要と経緯.

ifia JAPAN 2015食の安全・科学フォーラム 第14回セミナー & 国際シンポジウム (2015.5)

吉成知也, 鈴木恵利<sup>\*</sup>, 小西良子<sup>\*</sup>, 寺嶋淳: ペプチジルヌクレオシド系化合物のアフラトキシン生産阻害活性.

日本マイコトキシン学会第77回学術講演会 (2015.9)

<sup>\*</sup> 麻布大学

吉成知也: マイコトキシンの分析法と汚染実態について. 平成27年度マイコトキシン研修会 (2015.9)

吉成知也, 寺嶋淳: 日本に輸入される小麦に含まれるカビ毒の汚染実態.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

鈴木結子<sup>\*</sup>, 渡辺麻衣子, 小西良子<sup>\*</sup>, 寺嶋淳, 吉成知也: 小麦から単離されたフザリウム属菌の代謝物の解析とエンニアチン類の汚染実態.

日本マイコトキシン学会第78回学術講演会 (2016.1)

<sup>\*</sup> 麻布大学

Kikuchi Y, Yusa S, Kubosaki A, Terajima J, Kanayasu-Toyoda T, Yamaguchi T: Expression of a splice variant of prion protein in human glioblastoma cell line T98G regulated by the overexpression of bHLH transcription factor DEC1.

The 3rd Conference of the Japanese Association for

Hypoxia Biology (2015.7)

豊田淑江, 田中建志\*, 菊池裕, 内田恵理子, 山口照英:  
単核球由来血管内皮前駆細胞の細胞浸潤における膜結合  
MMP - 9の役割とヒアルロニダーゼ処理による阻害.  
第38回日本分子生物学会年会第88回日本生化学会大会  
(2015.12)

\* 日本薬科大

山村隼志\*, 大村綾子\*, 櫻井美栄\*, 齊藤麻紀子\*, 松  
尾健一\*, 福井千恵, 齋島由二, 菊池裕: オゾン - 過酸  
化水素混合ガスのエンドトキシン不活化効果.  
日本防菌防黴学会第42回年次大会 (2015.9)

\* (株) IHI

櫻井美栄\*, 山村隼志\*, 大村綾子\*, 齊藤麻紀子\*, 松  
尾健一\*, 福井千恵, 齋島由二, 菊池裕: オゾン - 過酸  
化水素混合ガスの殺菌効果.

\* (株) IHI

菊池裕: 日本薬局方生物試験法の現状と今後の展開.  
第31回GMPとバリデーションをめぐる諸問題に関する  
シンポジウム - 第17改正日本薬局方の最新情報を踏まえて -  
(2016.3)

齋島由二, 菊池裕, 山村隼志\*: オゾン - 過酸化水素  
混合ガスによるエンドトキシンの不活化ならびに殺菌効  
果.  
第31回GMPとバリデーションをめぐる諸問題に関する  
シンポジウム - 第17改正日本薬局方の最新情報を踏まえて -  
(2016.3)

\* (株) IHI

出水庸介, 三澤隆史, 長久保貴哉, 諫田泰成, 奥平桂一  
郎, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容  
体転写活性化阻害能を有するヘリカルペプチドの開発.  
ケミカルバイオロジー第10回年会 (2015.6)

三澤隆史, 出水庸介, 栗原正明: ヘリカルペプチドを用  
いたビタミンD受容体 (VDR) -コアクチベータ相互作用  
阻害剤の創製.  
ケミカルバイオロジー第10回年会 (2015.6)

沖津航陽, 出水庸介, 三澤隆史, 正田卓司, 服部隆行,  
内藤幹彦, 栗原正明: Hisタグタンパク質応答性蛍光ブ  
ローブの開発.

ケミカルバイオロジー第10回年会 (2015.6)

榎原紀和<sup>\*1</sup>, Gianfranco Balboni<sup>\*2</sup>, Cenzo Congiu<sup>\*2</sup>,  
Valentina Onnis<sup>\*2</sup>, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明,  
加藤善久<sup>\*1</sup>, 丸山徳見<sup>\*1</sup>, 外山政明<sup>\*1</sup>, 岡本実佳<sup>\*3</sup>, 馬  
場昌範<sup>\*3</sup>: 新規トリアジン誘導体の合成とそれらの抗  
HIV-1活性評価.

ケミカルバイオロジー第10回年会 (2015.6)

<sup>\*1</sup> 徳島文理大学香川薬学部

<sup>\*2</sup> University of Cagliari

<sup>\*3</sup> 鹿児島大学医学部

大庭誠\*, 古川かほり\*, 加藤巧馬\*, 山下博子, 出水庸介,  
栗原正明, 田中正一\*: アルギニン含有ペプチドの細胞  
膜透過性とpDNAデリバリーに関する研究.  
第31回日本DDS学会学術集会 (2015.7)

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

山下博子, 出水庸介, 三澤隆史, 大庭誠\*, 田中正一\*,  
服部隆行, 内藤幹彦, 栗原正明: DDSキャリアを指向し  
たカチオン性非天然アミノ酸導入ペプチドの開発.  
第31回日本DDS学会学術集会 (2015.7)

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

三澤隆史, 出水庸介, 榎島誠\*, 栗原正明: ノンセコス  
テロイド型VDRリガンドの創製.  
第1回Neo Vitamin D Workshop (2015.8)

\* 日本大学医学部

三澤隆史, 依岡桃子, 出水庸介, 大岡伸通, 木下恵愛,  
榎島誠\*, 内藤幹彦, 栗原正明: 長鎖アルキル基を有す  
るビタミンD受容体リガンドの創製.  
第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

\* 日本大学医学部

依岡桃子, 三澤隆史, 出水庸介, 大岡伸通, 榎島誠<sup>\*1</sup>,  
南雲紳史<sup>\*2</sup>, 内藤幹彦, 栗原正明: ジフェニルメタンを  
基本骨格としたエストロゲン受容体転写阻害剤および分  
解誘導剤の開発.

## 第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> 日本大学医学部\*<sup>2</sup> 工学院大学

田中克哉, 三澤隆史, 出水庸介, 諫田泰成, 槇島誠\*, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: ジフェニルメタンを基本骨格とするエストロゲン受容体アンタゴニストの創製.

## 第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

\* 日本大学医学部

出水庸介, 三澤隆史, 内山奈穂子, 花尻瑠理, 袴塚高志, 栗原正明: コンピュータシミュレーションによる合成カンナビノイドのCB1受容体への結合様式解析.

## 第59回日本薬学会関東支部大会 (2015.9)

山下博子, 出水庸介, 三澤隆史, 服部隆行, 大庭誠\*, 田中正一\*, 内藤幹彦, 栗原正明: 細胞膜透過性の向上を指向したカチオン性アミノ酸の合成およびその応用.

## 第41回反応と合成の進歩シンポジウム (2015.10)

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

三澤隆史, 依岡桃子, 出水庸介, 大岡伸通, 木下恵愛, 槇島誠\*, 内藤幹彦, 栗原正明: 長鎖アルキルを有するノンセコステロイド型VDRリガンドの創製.

## 第41回反応と合成の進歩シンポジウム (2015.10)

\* 日本大学医学部

榊原紀和\*<sup>1</sup>, 五十嵐淳介\*<sup>2</sup>, 高田麻紀\*<sup>2</sup>, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明, 小西良士\*<sup>2</sup>, 加藤善久\*<sup>1</sup>, 丸山徳見\*<sup>1</sup>, 塚本郁子\*<sup>2</sup>: 血管新生促進剤を指向した2-クロル炭素環オキセタノシンA (COA-CI) の新規誘導体の創製研究.

## 第54回薬学会中国四国支部学術大会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 徳島文理大学香川薬学部\*<sup>2</sup> 香川大学医学部

杉山亨\*<sup>1</sup>, 桑田啓子\*<sup>2</sup>, 今村保忠\*<sup>3</sup>, 出水庸介, 栗原正明, 高野真史\*<sup>1</sup>, 橘高敦史\*<sup>1</sup>: Synthesis of PNA oligomers containing modified deazaguanines for the development of functional PNA.

## 第52回ペプチド討論会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 帝京大学薬学部\*<sup>2</sup> 名古屋大学ITbM\*<sup>3</sup> 工学院大学

古場百合恵\*<sup>1</sup>, 上田篤志\*<sup>1</sup>, 大庭誠\*<sup>1</sup>, 土井光暢\*<sup>2</sup>, 出水庸介, 栗原正明, 田中正一\*<sup>1</sup>: Conformational analysis of peptides composed of chiral cyclic amino acids.

## 第52回ペプチド討論会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科\*<sup>2</sup> 大阪薬科大学

沖津航陽, 服部隆行, 出水庸介, 三澤隆史, 正田卓司, 内藤幹彦, 栗原正明: Development of His-tag fused protein degradation inducer based on protein knockdown strategy.

## 第52回ペプチド討論会 (2015.11)

山下博子, 出水庸介, 三澤隆史, 服部隆行, 大庭誠\*, 田中正一\*, 内藤幹彦, 栗原正明: Development of helix-stabilized cationic peptides with cell-membrane penetrating ability.

## 第52回ペプチド討論会 (2015.11)

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

三澤隆史, 出水庸介, 栗原正明: Design and synthesis of short helical peptides as vitamin D receptor (VDR)-coactivator interaction inhibitors.

## 第52回ペプチド討論会 (2015.11)

出水庸介, 三澤隆史, 諫田泰成, 大岡伸通, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: Development of helical peptide as inhibitors of estrogen receptor-mediated transcription.

## 第52回ペプチド討論会 (2015.11)

榊原紀和\*<sup>1</sup>, 五十嵐淳介\*<sup>2</sup>, 高田麻紀\*<sup>2</sup>, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明, 小西良士\*<sup>2</sup>, 加藤善久\*<sup>1</sup>, 丸山徳見\*<sup>1</sup>, 塚本郁子\*<sup>2</sup>: 血管新生促進作用を有する新規2-クロル炭素環オキセタノシンA (COA-CI) 誘導体の創製.

## 第33回メデイシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

\*<sup>1</sup> 徳島文理大学香川薬学部\*<sup>2</sup> 香川大学医学部

杉山亨<sup>\*1</sup>, 桑田啓子<sup>\*2</sup>, 今村保忠<sup>\*3</sup>, 出水庸介, 栗原正明, 高野真史<sup>\*1</sup>, 橘高敦史<sup>\*1</sup>: 修飾デアザグアニン含有PNAオリゴマーの合成.

第33回 メディシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

<sup>\*1</sup> 帝京大学薬学部

<sup>\*2</sup> 名古屋大学ITbM

<sup>\*3</sup> 工学院大学

正田卓司, 加藤雅士, 藤里卓磨, 三澤隆史, 出水庸介, 井上英史<sup>\*</sup>, 内藤幹彦, 栗原正明: ラロキシフェン骨格を有する新規エストロゲン受容体分解誘導剤の開発.

第33回 メディシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

<sup>\*</sup> 東京薬科大学

藤里卓磨, 正田卓司, 大岡伸通, 井上英史<sup>\*</sup>, 内藤幹彦, 栗原正明: Naphthoflavoneを利用した新規プロテインノックダウン法の開発.

第33回 メディシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

<sup>\*</sup> 東京薬科大学

依岡桃子, 三澤隆史, 出水庸介, 大岡伸通, 諫田泰成, 横島誠<sup>\*1</sup>, 南雲紳史<sup>\*2</sup>, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容体転写阻害剤および分解誘導剤の創製.

第33回 メディシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

<sup>\*1</sup> 日本大学医学部

<sup>\*2</sup> 工学院大学

三澤隆史, 依岡桃子, 出水庸介, 谷内出友美<sup>\*1</sup>, 大岡伸通, 木下恵愛, 野尻久雄<sup>\*2</sup>, 橘高敦史<sup>\*2</sup>, 横島誠<sup>\*3</sup>, 内藤幹彦, 栗原正明: ノンセコステロイド型ビタミンD受容体リガンドの創製—官能基変換による活性制御—.

第33回 メディシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

<sup>\*1</sup> 東京大学分子細胞生物学研究所

<sup>\*2</sup> 帝京大学薬学部

<sup>\*3</sup> 日本大学医学部

出水庸介, 三澤隆史, 諫田泰成, 大岡伸通, 関野祐子, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容体を標的とした転写活性化阻害および分解誘導ペプチドの創製.

第33回 メディシナルケミストリーシンポジウム (2015.11)

榊原紀和<sup>\*1</sup>, 五十嵐淳介<sup>\*2</sup>, 高田麻紀<sup>\*2</sup>, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明, 小西良士<sup>\*2</sup>, 加藤善久<sup>\*1</sup>, 丸山徳見<sup>\*1</sup>, 塚本郁子<sup>\*2</sup>: 2-クロール炭素環オキセタノシンA (COA-Cl) の新規誘導体の合成とその血管新生促進作用.

第45回複素環化学討論会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 徳島文理大学香川薬学部

<sup>\*2</sup> 香川大学医学部

出水庸介, 山下博子, 三澤隆史, 大庭誠<sup>\*</sup>, 田中正一<sup>\*</sup>, 栗原正明: グアニジノ基を有する環状アミノ酸の合成と細胞膜透過性ペプチドへの応用.

第45回複素環化学討論会 (2015.11)

<sup>\*</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

野尻久雄<sup>\*</sup>, 村田拓哉<sup>\*</sup>, 橘高敦史<sup>\*</sup>, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明: ノンセコステロイド型VDRリガンドによるATRA耐性急性前骨髄球性白血病細胞の分化誘導.

第36回日本臨床薬理学会学術総会 (2015.12)

<sup>\*</sup> 帝京大学薬学部

出水庸介, 大岡伸通, 三澤隆史, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容体分解誘導ペプチドの創製.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

三澤隆史, 山下博子, 加藤巧馬<sup>\*</sup>, 服部隆行, 大庭誠<sup>\*</sup>, 田中正一<sup>\*</sup>, 内藤幹彦, 出水庸介, 栗原正明: ヘリカルプロモーター導入によるオリゴアルギニンの構造制御と膜透過能への効果.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

山下博子, 出水庸介, 加藤巧馬<sup>\*</sup>, 大岡伸通, 三澤隆史, 服部隆行, 田中正一<sup>\*</sup>, 内藤幹彦, 大庭誠<sup>\*</sup>, 栗原正明: 環境応答型二次構造変化を利用した細胞膜高透過性ペプチドの開発.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

沖津航陽, 服部隆行, 出水庸介, 三澤隆史, 正田卓司, 内藤幹彦, 栗原正明: Hisタグタンパク質分解誘導分子の開発.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

小澤佑斗, 出水庸介, 三澤隆史, 菊池裕, 栗原正明: 二次構造制御に基づく抗菌ペプチドフォルダマーの開発.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

正田卓司, 加藤雅士, 藤里卓磨, 三澤隆史, 出水庸介, 井上英史\*, 内藤幹彦, 栗原正明: エストロゲン受容体分解活性を有するラロキシフェン誘導体の開発.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

\* 東京薬科大学

古場百合恵<sup>\*1</sup>, 上田篤志<sup>\*1</sup>, 大庭誠<sup>\*1</sup>, 土井光暢<sup>\*2</sup>, 出水庸介, 栗原正明, 田中正一<sup>\*1</sup>: エチレンアセタールを有するキラル5員環アミノ酸を含有するペプチドのヘリカル二次構造.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

<sup>\*2</sup> 大阪薬科大学

杉山亨<sup>\*1</sup>, 桑田啓子<sup>\*2</sup>, 今村保忠<sup>\*3</sup>, 出水庸介, 栗原正明, 高野真史<sup>\*1</sup>, 橘高敦史<sup>\*1</sup>: デアザグアニン誘導体を持つPNAの合成.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 帝京大学薬学部

<sup>\*2</sup> 名古屋大学ITbM

<sup>\*3</sup> 工学院大学

藤里卓磨, 正田卓司, 大岡伸通, 井上英史\*, 内藤幹彦, 栗原正明: 芳香族炭化水素受容体のユビキチンリガーゼ活性を利用した新規プロテインノックダウン法の開発.

日本薬学会第136回年会 (2016.3)

\* 東京薬科大学

Misawa T, Demizu Y, Kurihara M: Structure-activity relationship analysis of short helical peptides as VDR-coactivator interaction inhibitors.

第43回構造活性相関シンポジウム, 第10回薬物の分子設

計と開発に関する日中シンポジウム (2015.9)

Oba M\*, Furukawa K\*, Kato T\*, Demizu Y, Yamashita H, Kurihara M, Tanaka M\*: Cell-penetrating ability and plasmid DNA delivery using fluorescein-labeled arginine-rich peptides.

The 11th Australian Peptide Conference 2015 (2015.10)

\* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

Demizu Y, Misawa T, Kanda Y, Sekino Y, Kurihara M: Development of cell-penetrating fragment conjugated helical peptides as inhibitors of estrogen receptor-mediated transcription.

The 11th Australian Peptide Conference 2015 (2015.10)

Demizu Y, Misawa T, Kurihara M: Development of stabilized helical peptides and their functionalization.

13th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (2015.11)

Shoda T, Kato M, Okuhira K, Demizu Y, Inoue H\*, Naito M, Kurihara M: Design, synthesis and evaluation of tamoxifen derivatives as new selective estrogen receptor down-regulators.

PACIFICHEM 2015 (2015.12)

\* 東京薬科大学

Misawa T, Demizu Y, Kurihara M: Structural development of stapled short helical peptides as vitamin D receptor (VDR)-coactivator interaction inhibitors.

PACIFICHEM 2015 (2015.12)

蜂須賀暁子, 曾我慶介, 最上(西巻)知子, 花尻(木倉)瑠理: 新規流通危険ドラッグのエクオリン/受容体共発現組換え細胞を用いた薬理活性評価.

日本法中毒学会第34年会 (2015.6)

蜂須賀暁子: 食品及び空気中の放射性物質の測定法.

フォーラム2015: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2015.9)

曾我慶介, 亀井俊之, 蜂須賀暁子, 最上(西巻)知子: 食品中の放射性物質トリチウム試験法の検討.

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

曾我慶介, 亀井俊之, 蜂須賀暁子, 最上(西巻)知子: 食品中自由水に含まれるトリチウムの共沸蒸留による分離・分析法.

日本薬学会第136年会(2016.3)

中村公亮, 石垣拓実, 近藤一成, 最上(西巻)知子: 次世代ゲノム編集技術による遺伝子組換え食品の内在性遺伝子発現への影響.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会(2015.5)

石垣拓実, 中村公亮, 近藤一成, 最上(西巻)知子: 遺伝子組換えヒヨコマメ検査法確立に向けたヒヨコマメ内在性遺伝子(CaNCED)特異的検知法の開発.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会(2015.5)

真野潤一<sup>\*1</sup>, 波田野修子<sup>\*2</sup>, 布藤聡<sup>\*2</sup>, 峯岸恭孝<sup>\*3</sup>, 二宮健二<sup>\*4</sup>, 中村公亮, 近藤一成, 手島玲子, 高畠令王奈<sup>\*1</sup>, 橘田和美<sup>\*1</sup>: 食品遺伝子検査を簡易化するダイレクトリアルタイムPCR.

2015年度AOAC International日本セクション年次大会(2015.6)

<sup>\*1</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

<sup>\*2</sup> (株) ファスマック

<sup>\*3</sup> (株) ニッポンジーン

<sup>\*4</sup> (株) 島津製作所

中村公亮, 石垣拓実, 坂田こずえ, 福田のぞみ, 野口秋雄, 穂山浩, 近藤一成, 真野潤一<sup>\*</sup>, 高畠令王奈<sup>\*</sup>, 橘田和美<sup>\*</sup>, 最上(西巻)知子: 未承認遺伝子組換え食品検知法の開発: 未承認遺伝子組換えジャガイモ検知を例に.

第1回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム(2015.9)

<sup>\*</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

中村公亮, 近藤一成, 石垣拓実, 野口秋雄, 坂田こずえ, 福田のぞみ, 大森清美<sup>\*1</sup>, 真野潤一<sup>\*2</sup>, 橘田和美<sup>\*2</sup>, 最上(西巻)知子: 安全性未承認遺伝子組換えパパイヤ(PRSV-HN系統)の検出と検知法開発.

第110回日本食品衛生学会学術講演会(2015.10)

<sup>\*1</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*2</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

野口秋雄, 近藤一成, 最上(西巻)知子: LAMP法を用いた遺伝子組換え作物の簡易検査法の開発.

第67回日本生物工学会大会(2015.10)

野口秋雄, 町井香苗<sup>\*1</sup>, 中村公亮, 坂田こずえ, 福田のぞみ, 石垣拓実, 真野潤一<sup>\*2</sup>, 高畠令王奈<sup>\*2</sup>, 橘田和美<sup>\*2</sup>, 川上浩<sup>\*1</sup>, 近藤一成, 最上(西巻)知子: 遺伝子組換えトウモロコシの簡易粒検査法の開発.

第110回日本食品衛生学会学術講演会(2015.10)

<sup>\*1</sup> 共立女子大学

<sup>\*2</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

坂田こずえ, 近藤一成, 野口秋雄, 中村公亮, 福田のぞみ, 石垣拓実, 最上(西巻)知子: LAM-PCRを用いた組換え作物中の未知領域解析法の検討.

第110回日本食品衛生学会学術講演会(2015.10)

菅野陽平<sup>\*</sup>, 坂田こずえ, 野口秋雄, 中村公亮, 小林友子, 福田のぞみ, 佐藤正幸<sup>\*</sup>, 青塚圭二<sup>\*</sup>, 鈴木智宏<sup>\*</sup>, 最上知子, 手島玲子, 近藤一成: ツキヨタケのPCR-RFLPを用いた迅速同定法の検討(第2報): 加熱, 消化処理サンプルへの適用.

第110回日本食品衛生学会学術講演会(2015.10)

<sup>\*</sup> 北海道立衛生研究所

高畠令王奈<sup>\*1</sup>, 鍵屋ゆかり<sup>\*1</sup>, 峯岸恭孝<sup>\*2</sup>, Sabina Yeasmin<sup>\*3</sup>, 布藤聡<sup>\*4</sup>, 野口秋雄, 近藤一成, 最上(西巻)知子, 真野潤一<sup>\*1</sup>, 橘田和美<sup>\*1</sup>: LAMP法による安全性審査済み遺伝子組換えダイズおよびトウモロコシの網羅的簡易迅速検知法の開発.

第110回日本食品衛生学会学術講演会(2015.10)

<sup>\*1</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

<sup>\*2</sup> (株) ニッポンジーン

<sup>\*3</sup> ダッカ大学

<sup>\*4</sup> (株) ファスマック

真野潤一<sup>\*1</sup>, 西辻泰之<sup>\*2</sup>, 野間聡<sup>\*2</sup>, 菊池洋介<sup>\*2</sup>, 福留真一<sup>\*2</sup>, 川上裕之<sup>\*3</sup>, 佐藤恵美<sup>\*3</sup>, 新畑智也<sup>\*3</sup>, 栗本洋一<sup>\*3</sup>, 布藤聡<sup>\*4</sup>, 野口秋雄, 近藤一成, 最上(西巻)知子, 高畠令王奈<sup>\*1</sup>, 橘田和美<sup>\*1</sup>: リアルタイムPCRによるDNA断片化測定法の改良と市販加工食品の分析.

第110回日本食品衛生学会学術講演会(2015.10)

\*<sup>1</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*<sup>2</sup> 日清製粉グループ本社

\*<sup>3</sup> 日本製粉

\*<sup>4</sup> (株) ファスマック

近藤一成：健康食品の安全性確保に関する試験研究。  
第13回食品安全フォーラム (2015.11)

福田 (佐藤) のぞみ, 近藤一成, 坂田こずえ, 中村公亮, 野口秋雄, 最上 (西巻) 知子：遺伝毒性試験および全ゲノム解析を用いたCRISPR/Cas9のDNA2本鎖切断ポテンシャル。

第38回日本分子生物学会年会 (2015.12)

野口秋雄, 中村公亮, 坂田こずえ, 福田のぞみ, 石垣拓実, 真野潤一\*, 高島令王奈\*, 橘田和美\*, 近藤一成, 最上 (西巻) 知子：遺伝子組換えトウモロコシの新規スクリーニング検査法の妥当性評価。

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

中村公亮, 近藤一成, 穂山浩, 石垣拓実, 野口秋雄, 坂田こずえ, 福田のぞみ, 大森清美\*<sup>1</sup>, 布施谷実聡\*<sup>2</sup>, 川上浩\*<sup>2</sup>, 田中秀典\*<sup>3</sup>, 明石良\*<sup>3</sup>, 真野潤一\*<sup>4</sup>, 橘田和美\*<sup>4</sup>, 最上 (西巻) 知子：我が国における未承認遺伝子組換えパパイヤの食品への混入に関する事例と検知法開発の現状。

第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

\*<sup>1</sup> 神奈川県衛生研究所

\*<sup>2</sup> 共立女子大学

\*<sup>3</sup> 宮崎大学

\*<sup>4</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

Nakamura K, Ishigaki T, Hanada K\*<sup>1</sup>, Akimoto S\*<sup>2</sup>, Kondo K, Nishimaki-Mogami T: DNA methylation pattern analysis of common plant virus promoter used to develop genetically modified crops.  
Pacifichem 2015 (2015.12)

\*<sup>1</sup> (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

\*<sup>2</sup> (株) GLサイエンス

中村公亮, 石垣拓実, 近藤一成, 最上 (西巻) 知子：汎用性ウイルスプロモーター導入によるクロマチンループ内の内在性遺伝子発現への影響。

日本薬学会第136年会 (2016.3)

土切美穂\*, 安達玲子, 酒井信夫, 板垣宏\*, 最上 (西巻) 知子：さく河性及び陸封性サケ・マス類のアレルゲンタンパク質に関する検討。

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

\* 横浜国立大学大学院工学府

安達玲子：アレルゲンを含む食品の表示と検査法, および最近の話題について。

第13回食品安全フォーラム (2015.11)

Adachi R, Sakai S, Akiyama H, Nishimaki-Mogami T: Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting food allergens in processed food in Japan.  
Pacifichem 2015 (2015.12)

安達玲子：食物アレルゲンの表示制度と分析法の科学。  
日本薬学会第136年会 (2016.3)

安達玲子, 木村美恵, 酒井信夫, 最上 (西巻) 知子：タンパク質経皮感作に対する酸化チタンナノマテリアルの影響。

日本薬学会第136年会 (2016.3)

木村美恵, 安達玲子, 酒井信夫, 手島玲子, 最上 (西巻) 知子：マウスモデル系を用いたタンパク質経皮感作性試験における陽性対照物質の検討。

日本薬学会第136年会 (2016.3)

青木良子, 鈴木菜穂, 前田初代, 丸野有利子, 天沼喜美子, 春日文字：EudraVigilanceを用いた市販後副作用報告の経時的調査—糖尿病治療薬SGLT2阻害薬を例として。

日本薬学会第136年会 (2016.3)

Kubota K, Amanuma H, Yanagisawa H\*<sup>1</sup>, Shimojima M\*<sup>2</sup>, Yamashita T\*<sup>3</sup>, Sakurai Y\*<sup>4</sup>, Komatsu M\*<sup>4</sup>, Kasuga F: Estimating the burden of foodborne illness for Campylobacter, Salmonella and Vibrio parahaemolyticus in Japan, 2006-2012 (日本におけるカンピロバクター, サルモネラおよび腸炎ビブリオの食品



由来感染症被害実態の推定, 2006-2012).

International Association for Food Protection, 2015 Annual Meeting (2015.7)

\*<sup>1</sup> (株) ミロクメディカルラボラトリー

\*<sup>2</sup> (株) ビー・エム・エル

\*<sup>3</sup> LSIメディエンス (株)

\*<sup>4</sup> 宮城県医師会健康センター

Kubota K, Amanuma H, Yanagisawa H<sup>\*1</sup>, Shimojima M<sup>\*2</sup>, Yamashita T<sup>\*3</sup>, Sakurai Y<sup>\*4</sup>, Komatsu M<sup>\*4</sup>, Kasuga F: Estimating the Burden of Foodborne Illness for *Campylobacter*, *Salmonella* and *Vibrio parahaemolyticus* in Japan from Laboratory Confirmed Numbers of Infections and Data from Telephone Surveys (臨床検査機関での菌検出数と住民電話調査データからの日本におけるカンピロバクター, サルモネラおよび腸炎ビブリオの食品由来感染症被害実態の推定).

International Conference on Emerging Infectious Diseases 2015 (2015.8)

\*<sup>1</sup> (株) ミロクメディカルラボラトリー

\*<sup>2</sup> (株) ビー・エム・エル

\*<sup>3</sup> LSIメディエンス (株)

\*<sup>4</sup> 宮城県医師会健康センター

窪田邦宏, 天沼宏, 春日文字: アジアから欧州各国に輸出される食品の微生物汚染の状況 -RASFF通知データベースを利用した分析-

第36回日本食品微生物学会学術総会 (2015.11)

中島一敏<sup>\*1,2,4</sup>, 砂川富正<sup>\*2</sup>, 大石和徳<sup>\*2</sup>, 谷口清州<sup>\*3</sup>, 齋藤智也<sup>\*4</sup>, 緒方剛<sup>\*5</sup>, 山口亮<sup>\*6</sup>, 中瀬克己<sup>\*7</sup>, 三崎貴子<sup>\*8</sup>, 鈴木智之<sup>\*9</sup>, 調恒明<sup>\*10</sup>, 加來浩器<sup>\*11</sup>, 杉下由行<sup>\*12</sup>, 窪田邦宏, 金谷泰宏<sup>\*4</sup>: 我が国の健康危機管理に イベントベースサーベイランス (EBS) は必要か -ワークショップ報告-

第74回公衆衛生学会総会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 東北大学病院検査部

\*<sup>2</sup> 国立感染症研究所感染症疫学センター

\*<sup>3</sup> 国立病院機構三重病院臨床研究部

\*<sup>4</sup> 国立保健医療科学院健康危機管理研究部

\*<sup>5</sup> 茨城県古河保健所

\*<sup>6</sup> 北海道釧路保健所

\*<sup>7</sup> 岡山大学大学院医歯薬総合研究科

\*<sup>8</sup> 川崎市健康安全研究所

\*<sup>9</sup> 滋賀県衛生科学センター

\*<sup>10</sup> 山口県環境保健センター

\*<sup>11</sup> 防衛医科大学校防衛医学研究センター

\*<sup>12</sup> 東京都中央区保健所健康推進課

佐久川さつき<sup>\*1</sup>, 登田美桜, 仲間幸俊<sup>\*1</sup>, 高嶺朝典<sup>\*1</sup>, 豊福肇<sup>\*2</sup>, 大城直雅: 沖縄県における魚類食中毒シゲテラの傾向.

第110回日本食品衛生学会学術講演会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 沖縄県衛生環境研究所

\*<sup>2</sup> 山口大学大学院総合獣医学部

Toda M, Sakugawa S<sup>\*1</sup>, Nakama Y<sup>\*1</sup>, Takamine T<sup>\*1</sup>, Toyofuku H<sup>\*2</sup>, Oshiro N: Trends of Ciguatera fish poisonings in Japan.

Pacificchem 2015 (2015.12)

\*<sup>1</sup> Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment

\*<sup>2</sup> Yamaguchi University Joint Faculty of Veterinary Medicine

畝山智香子: 食品中化学物質の安全性について.

第118回日本小児科学会学術集会 (2015.4)

畝山智香子: 「放射線と食品のリスク～食の安全を確保するためには～」.

第43回日本放射線技術学会秋季学術大会 (2015.10)

Kajinami K<sup>\*1</sup>, Akao H<sup>\*1</sup>, Sai K, Maekawa K, JPDSC<sup>\*2</sup>, Saito Y: Genetic background of stain-related myopathy in Japanese.

第79回日本循環器学会学術集会 (2015.4)

\*<sup>1</sup> 金沢医科大学

\*<sup>2</sup> Japanese Pharmacogenomics Data Science Consortium

齊藤公亮, 石川将己, 浦田政代, 村山真由子, 妹尾勇弥, 山田弘\*, 中津則之\*, 前川京子, 齋藤嘉朗: リピドミクスを用いた薬剤性肝リン脂質症の血中バイオマーカー探索.

第57回日本脂質生化学会 (2015.5)

\* (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

中村亮介, 鹿庭なほ子, 上田真由美<sup>\*1</sup>, 岡本 (内田) 好海, 杉山永見子, 高橋幸利<sup>\*2</sup>, 古谷博和<sup>\*3</sup>, 矢上晶子<sup>\*4</sup>, 松倉節子<sup>\*5</sup>, 池澤善郎<sup>\*5</sup>, 松永佳世子<sup>\*4</sup>, 徳永勝士<sup>\*6</sup>, 外園千恵<sup>\*1</sup>, 相原道子<sup>\*5</sup>, 木下茂<sup>\*1</sup>, 斎藤嘉朗: 重症眼粘膜障害を伴うSJS/TENの発症と関連する被疑薬およびHLA型について.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

<sup>\*1</sup> 京都府立医科大学

<sup>\*2</sup> 静岡てんかん・神経医療センター

<sup>\*3</sup> 高知大学

<sup>\*4</sup> 藤田保健衛生大学

<sup>\*5</sup> 横浜市立大学

<sup>\*6</sup> 東京大学

秋山晴代<sup>\*1</sup>, 政岡智佳<sup>\*1</sup>, 中村亮介, 小野佳代<sup>\*2</sup>, 田中裕<sup>\*2</sup>, 甲斐茂美<sup>\*1</sup>, 栗原和幸<sup>\*2</sup>, 宮澤真紀<sup>\*1</sup>: EXiLE法を用いた経口免疫療法実施時における減感作状態の評価法の検討.

第64回日本アレルギー学会学術大会 (2015.5)

<sup>\*1</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*2</sup> 神奈川県立こども医療センター

斎藤嘉朗, 前川京子, 齊藤公亮, 中村亮介, 熊谷雄治<sup>\*</sup>: 国内の動向: 臨床試料を用いた安全性バイオマーカー探索と検証.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

<sup>\*</sup> 北里大学

斎藤嘉朗, 齊藤公亮, 前川京子: Metabolomicsの安全性バイオマーカー研究への応用.

第22回HAB研究機構学術年会 (2015.6)

Maekawa K, Matsuzawa Y, Adachi M<sup>\*</sup>, Kuroki R<sup>\*</sup>, Saito Y: Purification of cytochrome P450 2C9.1, 2C9.3 and 2C9.30 expressed in *E. coli* and their activities toward arachidonic acid in vitro.

19th ICCP450 2015 (2015.6)

<sup>\*</sup> Japan Atomic Energy Agency

齊藤公亮, 石川将己, 山田弘<sup>\*</sup>, 中津則之<sup>\*</sup>, 前川京子, 斎藤嘉朗: メタボロミクスを用いた薬物性肝線維化マーカーの探索.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

<sup>\*</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

佐井君江, 中村亮介, 今任拓也, 岡本 (内田) 好海, 梶波康二<sup>\*1</sup>, 松永佳世子<sup>\*2</sup>, 相原道子<sup>\*3</sup>, 斎藤嘉朗: 重篤副作用発症における感染症併発の影響 — 横紋筋融解症及び重症薬疹の事例 —.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6.7)

<sup>\*1</sup> 金沢医科大学

<sup>\*2</sup> 藤田保健衛生大

<sup>\*3</sup> 横浜市立大学

鈴木慶幸<sup>\*1</sup>, 小松弘幸<sup>\*1</sup>, 門田利人<sup>\*1</sup>, 及川剛<sup>\*2</sup>, 田口景子<sup>\*2</sup>, 菅谷健<sup>\*2</sup>, 斎藤嘉朗, 前川京子, 清水茂一<sup>\*1</sup>: 各種薬剤性急性腎障害ラットにおける尿中L-FABPと他の尿中腎障害バイオマーカーの経時的変化.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6.7)

<sup>\*1</sup> (株) シミックバイオリサーチセンター

<sup>\*2</sup> シミックホールディングス (株)

佐井君江, 今任拓也, 斎藤嘉朗: 医療情報データベースを用いた行政施策の医療現場における反映・効果の評価. 医療薬学フォーラム2015 (2015.7)

斎藤嘉朗: 医薬品の開発時における新たな薬物相互作用ガイドラインの最終案について.

第158回日本獣医学会学術大会 (2015.9)

佐井君江, 梶波康二<sup>\*</sup>, 赤尾浩慶<sup>\*</sup>, 今任拓也, 松澤由美子, 前川京子, 斎藤嘉朗: 日本人スタチン誘因性筋障害発症と関連するHLA遺伝子型.

第22回日本免疫毒性学会学術年会 (2015.9)

<sup>\*</sup> 金沢医科大学

中村亮介, 岡本 (内田) 好海, 松澤由美子, 石井明子, 斎藤嘉朗: EXiLE法を用いたモデル抗原のIgEエピトープ解析.

第22回日本免疫毒性学会学術年会 (2015.9)

Takikawa H<sup>\*</sup>, Aiso M<sup>\*</sup>, Maekawa K: Recent status of DILI in Japan.

第23回日本消化器関連学会週間 (2015.10)

<sup>\*</sup> 帝京大学医学部

Takikawa H<sup>\*1</sup>, Aiso M<sup>\*1</sup>, Tanaka A<sup>\*1</sup>, JPDSC<sup>\*2</sup>,  
Maekawa K, Saito Y: A survey of drug-induced liver  
injury (DILI) cases in Japan.  
European Gastroenterology Week 2015 (2015.10)

<sup>\*1</sup> Teikyo University School of Medicine

<sup>\*2</sup> The Japan Pharmacogenomics Data Science  
Consortium

斎藤嘉朗, 石井明子: バイオ医薬品が関与する薬物相互  
作用の事例と評価.

日本薬物動態学会第30回年会 (2015.11)

Kajinami K<sup>\*1</sup>, Akao H<sup>\*1</sup>, Sai K, Maekawa K, JPDSC<sup>\*2</sup>,  
Saito Y: Asian-specific HLA Genotypes as Genetic  
Background of Stain-related Myopathy in Japanese.  
AHA2015 (2015.11)

<sup>\*1</sup> 金沢医科大学

<sup>\*2</sup> Japanese Pharmacogenomics Data Science  
Consortium

佐井君江, 中村亮介, 斎藤嘉朗: 日本人における重篤副  
作用の発症回避に向けたゲノムマーカー探索 - 重症薬  
疹及び横紋筋融解症の事例 -.

第25回日本医療薬学会年会 (2015.11)

前川京子, 桶本和男, 嶽本和久, 豊島克子, 浦田政代,  
村山真由子, 石川将己, 齊藤公亮, 熊谷雄治<sup>\*</sup>, 斎藤嘉  
朗: 網羅的リポドミクス解析により明らかになった健常  
日本人血漿中の脂質代謝物レベルに関する男女差及び年  
齢差.

日本薬物動態学会第30回年会 (2015.11)

<sup>\*</sup> 北里大学

Saito K, Maekawa K, Kinchen J<sup>\*1</sup>, Kumagai Y<sup>\*2</sup>,  
Saito Y: Gender- and Age-associated differences in  
serum metabolite profiles among Japanese healthy  
populations.

日本薬物動態学会第30回年会 (2015.11)

<sup>\*1</sup> Metabolon, Inc.

<sup>\*2</sup> Kitasato University School of Medicine

佐井君江, 中村亮介, 今任拓也, 岡本 (内田) 好海, 梶  
波康二<sup>\*1</sup>, 松永佳世子<sup>\*2</sup>, 相原道子<sup>\*3</sup>, 斎藤嘉朗: 重篤

副作用の発症・重篤性と感染症併発との関連— 横紋筋  
融解症及び重症薬疹との比較 —.

第36回日本臨床薬理学会学術総会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 金沢医科大学

<sup>\*2</sup> 藤田保健衛生大学

<sup>\*3</sup> 横浜市立大学

斎藤嘉朗, 今任拓也, 伊藤幸子, 杉山永見子, 佐井君江:  
東及び東南アジア諸国における薬物動態・薬力学関連遺  
伝子多型の民族差.

第36回日本臨床薬理学会学術総会 (2015.12)

今任拓也, 佐井君江, 瀬川勝智, 木村通男<sup>\*</sup>, 堀雄史<sup>\*</sup>,  
川上純一<sup>\*</sup>, 斎藤嘉朗: 医療情報データベースを用いた  
SSRIとスタチン系薬剤の併用による糖尿病リスクの検  
討.

第36回日本臨床薬理学会学術総会 (2015.12)

<sup>\*</sup> 浜松医科大学

桶本和男, 前川京子, 田島陽子, 頭金正博<sup>\*</sup>, 斎藤嘉  
朗: Cross-classification of human urinary lipidome by  
gender, age, and body mass index.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会  
BMB2015 (2015.12)

<sup>\*</sup> 名古屋市立大学薬学部

安達基泰<sup>\*</sup>, 黒木良太<sup>\*</sup>, 前川京子, 松澤由美子, 斎藤嘉朗:  
ヒト由来薬物代謝酵素CYP2C9の一塩基置換体 (\*3及  
び\*30) と抗高血圧薬ロサルタンとの複合体のX線結晶  
構造解析.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会  
BMB2015 (2015.12)

<sup>\*</sup> 日本原子力研究開発機構

齊藤公亮, 前川京子, Jason Kinchen<sup>\*1</sup>, 熊谷雄治<sup>\*2</sup>,  
斎藤嘉朗: 血清中代謝物レベルの人種差.

第36回日本臨床薬理学会学術総会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> Metabolon, Inc.

<sup>\*2</sup> 北里大学

Nakamura R, Kaniwa N, Ueta M<sup>\*1</sup>, Okamoto-Uchida Y,  
Sugiyama E, Maekawa K, Takahashi Y<sup>\*2</sup>, Furuya H<sup>\*3</sup>,

Yagami A<sup>\*4</sup>, Matsukura S<sup>\*5</sup>, Ikezawa Z<sup>\*5</sup>, Matsunaga K<sup>\*4</sup>, Sotozono C<sup>\*1</sup>, Aihara M<sup>\*5</sup>, Kinoshita S<sup>\*1</sup>, Saito Y: Drugs and HLA types associated with Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis with severe ocular surface involvements in Japanese patients.

1st International Stevens-Johnson Syndrome Symposium (2016.1)

<sup>\*1</sup> Kyoto Prefectural University of Medicine

<sup>\*2</sup> Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders

<sup>\*3</sup> Kochi Medical School

<sup>\*4</sup> Fujita Health University

<sup>\*5</sup> Yokohama City University

斎藤嘉朗, 佐井君江, 今任拓也, 頭金正博<sup>\*1</sup>, 渡邊裕司<sup>\*2</sup>: 日中韓台の添付文書構造と薬物動態・副作用情報の比較. 日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 名古屋市立大学

<sup>\*2</sup> 浜松医科大学

佐井君江, 今任拓也, 深澤ちさと<sup>\*</sup>, 日野村靖<sup>\*</sup>, 斎藤嘉朗: 副作用報告データベースを用いた感染症併発と重症薬疹および横紋筋融解症との関連解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 日本医療情報センター

市原麻由<sup>\*</sup>, 佐井君江, 平澤典保<sup>\*</sup>, 斎藤嘉朗: 副作用報告データベース (JADER) を用いたデノスマブの低カルシウム血症に対する行政施策の効果の解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 東北大学大学院薬学研究科

今任拓也, 佐井君江, 深澤ちさと<sup>\*</sup>, 日野村靖<sup>\*</sup>, 斎藤嘉朗: 副作用報告データベースを用いた感染症併発と薬物性肝障害および間質性肺疾患との関連解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 日本医療情報センター

前川京子, 松澤由美子, 斎藤嘉朗, 谷内田真一<sup>\*</sup>: 日本人乳がん患者の腫瘍部, 及び非がん部におけるオーファンプ450mRNA発現量と酸化脂肪酸代謝物レベル.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> (国研) 国立がん研究センター

宮下雪子<sup>\*</sup>, 上田哲也<sup>\*</sup>, 中村亮介, 斎藤嘉朗, 前川京子: 全自動遺伝子検査装置を使用した抗てんかん薬に対する重症薬疹発症関連SNP解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> プレシジョン・システム・サイエンス (株)

河原崎正貴<sup>\*1</sup>, 前川京子, 内尾こずえ<sup>\*2</sup>, 根本直<sup>\*3</sup>, 福岡秀興<sup>\*4</sup>, 斎藤嘉朗: 腎疾患モデルラットにおける血漿の脂質メタボローム解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> マルハニチロ(株)

<sup>\*2</sup> (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

<sup>\*3</sup> 産業技術総合研究所

<sup>\*4</sup> 早稲田大学

前川京子, 齊藤公亮, 桶本和男, 嶽本和久, 豊島克子, 石川将己, 田中理英子<sup>\*</sup>, 熊谷雄治<sup>\*</sup>, 斎藤嘉朗: 健康日本人, 白人及び黒人における血漿中の脂質代謝物レベルの相違.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*</sup> 北里大学

Kadota T<sup>\*1</sup>, Suzuki Y<sup>\*1</sup>, Komatsu H<sup>\*1</sup>, Oikawa T<sup>\*2</sup>, Sugaya T<sup>\*2</sup>, Saito Y, Maekawa K: Comparison of Time Course of Urinary Liver-type Fatty Acid-Binding Protein (L-FABP) with Other Urinary Nephrotoxicity Biomarkers of Drug-induced Acute Kidney Injury in Rats.

The Society of Toxicology 55th Annual Meeting (2016.3)

<sup>\*1</sup> CMIC BIORESEARCH CENTER Co., Ltd.

<sup>\*2</sup> CMIC HOLDINGS Co., Ltd.

岡本 (内田) 好海, 中村亮介, 千貫祐子<sup>\*1</sup>, 若林翼<sup>\*2</sup>, 打田光宏<sup>\*2</sup>, 土屋敏行<sup>\*2</sup>, 斎藤嘉朗, 森田栄伸<sup>\*1</sup>: セルベーストアッセイによる牛肉アレルギー患者血清中IgEの糖鎖抗原への反応性の解析.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 島根大学

\*<sup>2</sup> MeijiSeikaファルマ (株)

Hirabayashi Y, Yoon BI<sup>\*1</sup>, Tsuboi I<sup>\*2</sup>, Kanno J, Trosko JE<sup>\*3</sup>, Inoue T: Connexin 32 maintains stemness of hematopoiesis: Maintaining cell cycling ratio and reconstitution capability.

The 13th Annual meeting for the International Society for Stem Cell Research (ISSCR) (2015.6)

\*<sup>1</sup> Kangwon National University

\*<sup>2</sup> Nihon University

\*<sup>3</sup> Michigan State University

Kanno J: Construction of "Dynamic Biomarkers" by Percellome Toxicology based on a new Concept of "Signal Toxicity".

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX 2015) (2015.6)

菅野純, 高橋祐次, 高木篤也, 小川幸男, 広瀬明彦, 石丸直澄<sup>\*1</sup>, 今井田克己<sup>\*2</sup>: Taquann 直噴全身暴露吸入法によるナノマテリアル有害性評価.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\*<sup>1</sup> 徳島大学

\*<sup>2</sup> 香川大学

津田洋幸\*, 徐結苟\*, 酒々井真澄\*, 二口充\*, 深町勝巳\*, 広瀬明彦, 菅野純: 多種のカーボンナノチューブの短・中期安全性評価手法の提案.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\* 名古屋市立大学

北嶋聡, 種村健太郎\*, 菅野純: 医療現場への還元に向けたPercellome Toxicogenomicsによる中枢神経毒性の動的バイオマーカー抽出研究.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\* 東北大学

北嶋聡, 種村健太郎<sup>\*1</sup>, 古川佑介, 小川幸男, 高橋祐次, 大西誠<sup>\*2</sup>, 相磯成敏<sup>\*2</sup>, 相崎健一, 菅野純: シックハウス症候群レベルの極低濃度暴露の際の海馬におけるPercellome法による吸入トキシコゲノミクスと遅発性中枢影響解析.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\*<sup>1</sup> 東北大学

\*<sup>2</sup> 日本バイオアッセイ研究センター

Tsuda H\*, Jiegou Xu\*, David B Alexander\*, William T Alexander\*, Numano T\*, Suzui M\*, Kanno J, Hirose A: Involvement of macrophage in inducing proliferative and neoplastic lesion development of the pleura of rats intrapulmonary treated with multi-walled carbon nanotubes.

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX 2015) (2015.6)

\* Nagoya City University

Taquahashi Y, Takagi A, Tsuji M, Morita K, Ogawa Y, Kanno J: Development of High Dispersion-Small Scale Whole Body Inhalation System for Nanomaterials (Taquann System): Application to Multi-wall Carbon Nanotube.

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX 2015) (2015.6)

Kitajima S, Aisaki K, Kanno J: Dynamic biomarkers translatable to clinical outcomes generated by Percellome Toxicogenomics.

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX 2015) (2015.6)

菅野純, 相崎健一, 北嶋聡: Percellome Toxicogenomicsにおける動的バイオマーカー (Dynamic Biomarker) のカタログ化とその毒性予測利用.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.7)

平林容子, 壺井功<sup>\*1</sup>, 五十嵐勝秀<sup>\*2</sup>, 菅野純, 楠洋一郎<sup>\*3</sup>: 放射線障害の未分化造血幹・前駆細胞に局限した照射週齢に依存しない遷延性変化とその加齢影響: 細胞動態と遺伝子発現プロファイル.

第42回日本毒性学会 (2015.7)

\*<sup>1</sup> 日本大学

\*<sup>2</sup> 星薬科大学

\*<sup>3</sup> 放射線影響研究所

菅野純, 種村健太郎\*: ヒトの急性中毒症状を動物実験で再現できるかー有機リン剤等曝露後の遅発性毒性の発現実験よりー.

## 第37回日本中毒学会総会・学術集会 (2015.7)

\* 東北大学

菅野純：シグナル毒性の概念の、内分泌かく乱化学物質問題や関連する「低用量，早期暴露-遅発影響」型の毒性の研究計画への導入について。

環境省平成27年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー (EXTEND2010) (2015.8)

Kanno J, Kitajima S, Aisaki K: Percellome Toxicogenomics for Mechanistic Analysis Towards Chronic Toxicity by a Newly Designed Repeated Dose Study.

51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX2015) (2015.9)

平林容子, 壺井功<sup>\*1</sup>, 菅野純, 楠陽一郎<sup>\*2</sup>: 若齢期単回照射後に長期に遺残する マウス造血幹細胞分画の倍加時間の延長。

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 日本大学\*<sup>2</sup> 放射線影響研究所

平林容子, 壺井功<sup>\*1</sup>, 尹秉一<sup>\*2</sup>, 菅野純, 相澤信<sup>\*1</sup>: Role of connexin 32 in hematopoiesis: maintenance of the capability to reconstitute the bone marrow.

第77回日本血液学会総会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 日本大学\*<sup>2</sup> 江原大学

原田智紀<sup>\*</sup>, 壺井功<sup>\*</sup>, 平林容子, 平林幸生<sup>\*</sup>, 菅野純, 相澤信<sup>\*</sup>: Mechanism for sustaining polycythemia in mice under hypoxic condition.

第77回日本血液学会総会 (2015.10)

\* 日本大学

Kanno J: Important attributes of nanomaterials in predicting their long-term effects: In vivo studies.

7th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health (NanOEH 2015) (2015.10)

Kanno J, Kitajima S, Tanemura K, Aisaki K: "Signal

Toxicity" to study Endocrine Disruptors Issues and Children's Toxicology, and to make molecular-based linkage with Classical Toxicology.

2nd Malaysian Congress of Toxicology (MyCOT2015) (2015.10)

Kanno J: Percellome Toxicogenomics Project.

9th Congress of Toxicology in Developing Countries (CTDC9) (2015.11)

Kanno J: Introduction of Percellome Project with special reference to the concept of "signal toxicity".

ECETOC Workshop "The Role of Epigenetics in Reproductive Toxicity" (2015.11)

Kanno J: The concept of "repeated exposure" and possible links to epigenetic regulations-with repeated dose studies introducing baseline responses and transient responses with possible link to epigenetics.

ECETOC Workshop "The Role of Epigenetics in Reproductive Toxicity" (2015.11)

Kanno J, Kitajima S, Tanemura K\*: The Concept of "Signal Toxicity" for the Planning of Research on Endocrine Disrupting Chemicals Issues.

The 63rd NIBB Conference "Environment to Bioresponse" (2015.12)

\* Tohoku University

平林容子, 壺井功<sup>\*1</sup>, 五十嵐勝秀<sup>\*2</sup>, 菅野純, 楠陽一郎<sup>\*3</sup>: マウス造血幹・前駆細胞に局限して長期に遺残する放射線の遷延効果と加齢表徴: 造血幹細胞分画の倍加時間の延長。

BMB2015 (第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会 合同大会) (2015.12)

\*<sup>1</sup> 日本大学\*<sup>2</sup> 星薬科大学\*<sup>3</sup> 放射線影響研究所

Takahashi Y, Yasuhiko Y, Koike-Ikeno E, Kanno J: Rab23, a negative regulator of Shh signaling, modulates intervertebral disc/vertebral body (IVD/VB) patterning and neural arch morphogenesis in mouse vertebral column formation.

第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会

合同大会 (2015.12)

Okubo Y, Ohtake F, Igarashi K<sup>\*1</sup>, Yasuhiko Y, Saga Y<sup>\*2</sup>, Kanno J: Cleaved Dll1 intracellular domain fine-tunes DRG development as the reverse signal of Notch.

第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会  
合同大会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> Hoshi University

<sup>\*2</sup> National Institute of Genetics

菅野純：OECD EDTA-AG/EAGMST におけるAOPと、  
Toxicogenomic応用の試み。

環境ホルモン学会第18回研究発表会 (2015.12)

種村健太郎<sup>\*</sup>，古川祐介，齊藤洋克<sup>\*</sup>，白形芳樹<sup>\*</sup>，原健  
士朗<sup>\*</sup>，北嶋聡，菅野純：幼若期マウスへのネオニコチ  
ノイド系農薬投与による神経行動毒性発現。

第18回環境ホルモン学会研究発表会 (2015.12)

<sup>\*</sup> 東北大学

菅野純：代替試験法の問題点と今後の方向性 -毒性学的  
観点からの考察-

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

菅野純：複合影響の考え方-マウンテン・オブ・ハビネ  
スから「ホルミシス」まで-

化学物質の安全管理に関するシンポジウム-複数化学物  
質のリスク評価- (2016.2)

Hirabayashi Y, Tsuboi I<sup>\*1</sup>, Kuramoto K<sup>\*2</sup>, Kusunoki  
Y<sup>\*3</sup>: Deceleration of cell cycle of primitive  
hematopoietic progenitors (CFU-S13) from senescent  
mice at steady state was reactively accelerated after  
2-Gy whole-body irradiation.

Society of Toxicology 55th Annual Meeting &  
ToxExpo (2016.3)

<sup>\*1</sup> Nihon University

<sup>\*2</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

<sup>\*3</sup> Radiation Effects Research Foundation

Kanno J: Percellome Project for Mechanistic Analysis  
of Chronic Toxicity by a New Concept of Repeated  
Dose Study.

Society of Toxicology 55th Annual Meeting (2016.3)

Sekino Y: Regulatory Science on the Application of  
Human-iPSC Derived Cardiomyocytes to the Safety  
Pharmacology.

2015 International WIC Institute Workshop on Brain  
Big Data Based Wisdom Service (2015.12)

Sekino Y: Current Situation and Future Plan in Japan  
iPS Cardiac Safety Assessment (J-iCSA).

15th Annual Meeting of the Safety Pharmacology  
Society (2015.10)

Sekino Y: Regulatory and safety pharmacology in  
Japan.

4th International Workshop (CSPS) China Safety  
Pharmacology Society (2015.5)

関野祐子：次世代の医薬品安全性評価法の確立と公定化  
へのプロセス。

iPS細胞を用いた疾患・創薬研究 (2015.12)

関野祐子：ヒトiPS由来分化心筋細胞と安全性薬理の最  
新動向。

安全性評価研究会2015年冬のセミナー (2015.11)

関野祐子：医薬品安全評価の国際ルールのイニシアテ  
ィブ。

第3回JMACシンポジウム (2015.11)

関野祐子：iPSC由来心筋細胞を用いた安全性評価試験  
法の公定化に向けての世界的連携。

第5回レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2015.9)

関野祐子：薬理部の研究紹介とヒトiPSC由来分化細胞  
を使った最新の安全性スクリーニング。

第35回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会 (2015.9)

関野祐子：ヒトiPS細胞の分化技術進歩と医薬品安全性  
評価試験法ガイドライン改訂。

平成27年度国立医薬品食品衛生研究所シンポジウム  
(2015.7)

関野祐子：ヒトiPS細胞由来分化細胞の医薬品安全性  
評価法への活用と国際協調の動き。

医療薬学フォーラム2015/第23回クリニカルファーマ  
シーシンポジウム (2015.7)

関野祐子，諫田泰成：ヒトiPS心筋細胞を利用した催不

整脈リスク強化とICH57B改訂に関する国際動向について。

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

Shirao T\*, Koganezawa N\*, Ishizuka Y\*, Yamazaki H\*, Sekino Y: Toxic Effects of Astemizole on Neurite Growth and Synaptogenesis of CNS Neurons.

55th Annual Meeting of Society for Toxicology (2016.3)

\* Gunma University

Yoshida S\*<sup>1</sup>, Hozumi N\*<sup>1</sup>, Fueta Y\*<sup>2</sup>, Ueno S\*<sup>2</sup>, Sekino Y: Prenatal Administration of Valproic Acid Alters Both the Purkinje Cell Dendrites and the Granule Cell Proliferation in Rat Developing Cerebellum.

55th Annual Meeting of Society for Toxicology (2016.3)

\*<sup>1</sup> Toyohashi University of Technology

\*<sup>2</sup> University of Occupation and Environmental Health

Fueta Y\*<sup>1</sup>, Sekino Y, Yoshida S\*<sup>2</sup>, Ueno S\*<sup>1</sup>: Prenatal Single Administration of Tributyltin Alters Developmental Transient of Spontaneous Behaviors and Basic Excitability in the Hippocampal Slices of Immature Rats.

55th Annual Meeting of Society for Toxicology (2016.3)

\*<sup>1</sup> University of Occupation and Environmental Health

\*<sup>2</sup> Toyohashi University of Technology

吉田祥子\*<sup>1</sup>, 笛田由紀子\*<sup>2</sup>, 上野晋\*<sup>2</sup>, 関野祐子: Prenatal administration of valproic acid or SAHA alters the development of Purkinje cell dendrites and network formation in rat cerebellum.

第58回日本神経化学会大会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> 豊橋技術科学大学

\*<sup>2</sup> 産業医科大学

笛田由紀子\*<sup>1</sup>, 関野祐子, 吉田祥子\*<sup>2</sup>, 上野晋\*<sup>1</sup>: Prenatal administration of valproic acid or tributyltin alters developmental transient of hippocampal excitability in juvenile rats.

第58回日本神経化学会大会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> 産業医科大学

\*<sup>2</sup> 豊橋技術科学大学

関野祐子: Pioneer discovery of the CA2 function in the hippocampus.

第58回日本神経化学会大会 (2015.9)

Sato K, Shigemoto-Mogami Y, Hoshikawa K, Sekino Y: Microglia have roles in both of maturation and break down of the barrier function of blood brain barrier.

GLIA2015 (2015.7)

Koganezawa N\*, Ohara Y\*, Yamazaki H\*, Roppongi RT\*, Sato K, Sekino Y, Shirao T\*: Slow axonal growth of human iPSC-derived neurons.

International Society for Neurochemistry 2015 (2015.8)

\* Gunma University

Shigemoto-Mogami Y, Hoshikawa Y, Sekino Y, Sato K: Microglia affect blood-brain barrier function via cytokines and chemokines release.

第38回日本神経科学大会 (2015.8)

Takahashi K, Irie T, Sekino Y, Sato K: Study about the mechanisms for the regulation of glial excitatory amino-acid transporter EAAT2 function by docosahexanoic acid.

第38回日本神経科学大会 (2015.8)

Sato K, Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Ikegaya Y\*<sup>1</sup>, Koyama R\*<sup>1</sup>, Miyamoto N\*<sup>2</sup>, Shirao T\*<sup>3</sup>, Sekino Y: iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System (iNCENS): A research project for developing new in vitro safety pharmacological evaluation systems using human-induced pluripotent stem cells.

第38回日本神経科学大会 (2015.8)

\*<sup>1</sup> University of Tokyo

\*<sup>2</sup> Eisai Co. Ltd

\*<sup>3</sup> Gunma University

Shigemoto-Mogami Y, Hoshikawa K, Sekino Y, Sato K: Microglia regulate the cytokine/chemokine dynamics in the brain and enhance the functional maturation of blood-brain barrier.

第58回日本神経化学会大会 (2015.9)

Sato K, Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Shimizu H, Ikegaya Y\*<sup>1</sup>, Koyama R\*<sup>1</sup>, Hiragi T\*<sup>1</sup>, Miyamoto N\*<sup>2</sup>,



Shirao T<sup>\*3</sup>, Sekino Y: iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System (iNCENS): A project to establish the CNS safety pharmacological evaluation of the risks of cognitive impairment and epilepsy by in vitro use of human-induced pluripotent stem cell-derived neurons. 15th Annual Meeting of the Safety Pharmacology Society (2015.9)

\*<sup>1</sup> University of Tokyo

\*<sup>2</sup> Eisai Co. Ltd

\*<sup>3</sup> Gunma University

Hoshikawa K, Takahashi K, Irie T, Sekino Y, Sato K: Study about the mechanisms of DHA-induced enhancement of glial excitatory amino-acid transporter EAAT2 function.

第58回日本神経化学会大会 (2015.9)

Sato K: iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System (iNCENS) project-An attempt to evolve the CNS safety pharmacological evaluation by in vitro use of human-induced pluripotent stem cell-derived neurons.

第58回日本神経化学会大会 iNCENS/JSN joint symposium 'Progress in the CNS non-clinical study achieved by iPS technique' (2015.9)

佐藤薫, 清水英雄, 小針彩奈<sup>\*1</sup>, 花村健次<sup>\*2</sup>, 白尾智明<sup>\*2</sup>, 田辺光男<sup>\*1</sup>, 関野祐子: 神経細胞の微細構造イメージングに基づく中枢神経系有害反応 in vitro 評価系の開発. 第24回日本バイオイメージング学会学術集会 (2015.9)

\*<sup>1</sup> 北里大学

\*<sup>2</sup> 群馬大学

Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Shimizu H, Chujo K, Hoshikawa K, Okada Y<sup>\*1</sup>, Okano H<sup>\*2</sup>, Sekino Y, Sato K: Comparison of the NMDA receptor expression and the extent of excitotoxicity in human induced pluripotent stem cell (hiPSC)-derived neurons.

CBI 学会2015年大会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 愛知医科大学

\*<sup>2</sup> 慶應大学

Shigemoto-Mogami Y, Sato K, Hoshikawa K, Kikura-Hanajiri R, Hakamatsuka T, Sekino Y: Evaluation of

drug-induced CB2 cannabinoid receptor activity in the CNS using the ERK1/2 phosphorylation pathway of microglial cells.

CBI学会2015年大会 (2015.10)

Sato K, Shigemoto-Mogami Y, Hoshikawa Y, Sekino Y: Microglia affect functional maturation and inflammation-induced breakdown of the blood brain barrier by modulating the dynamics of cytokines and chemokines.

Society for Neuroscience 2015 (2015.10)

高橋華奈子, 重本-最上由香里, 清水英雄, 中條かおり, 干川和枝, 岡田洋平<sup>\*1</sup>, 岡野栄之<sup>\*2</sup>, 関野祐子, 佐藤薫: ヒトiPS細胞由来神経細胞標本の機能的NMDA受容体発現とグルタミン酸興奮毒性発現の株間比較.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 愛知医科大学

\*<sup>2</sup> 慶應大学

佐藤薫, 高橋華奈子, 重本-最上由香里, 清水英雄, 池谷裕二<sup>\*1</sup>, 小山隆太<sup>\*1</sup>, 平木俊光<sup>\*1</sup>, 宮本憲優<sup>\*2</sup>, 花村健二<sup>\*3</sup>, 小金澤紀子<sup>\*3</sup>, 白尾智明<sup>\*3</sup>, 関野祐子: iNCENS (iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System) プロジェクトーヒトiPS 細胞由来神経細胞を用いた認知機能障害リスクおよび神経異常活動リスク予測評価系確立の試み.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 東京大学

\*<sup>2</sup> エーザイ (株)

\*<sup>3</sup> 群馬大学

重本-最上由香里, 片倉明日美\*, 長谷川陽介\*, 関野祐子, 田辺光男\*, 佐藤薫: 神経幹細胞塊から機能的神経細胞を効率的に分化誘導するプロトコルの検討と分化に伴う機能的受容体分布変化.

日本薬学会第136年会 (2016.3)

\* 北里大学

佐藤薫: ミクログリアの中枢神経系発達機能とその創薬・治療への応用.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

林真理子\*, 安井正人\*, 佐藤薫: グルタミン酸トラン

スポーツターの局在制御とヒアルロン酸.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\* 慶應大学

清水英雄, 小針彩奈<sup>\*1</sup>, 須知由未子<sup>\*1</sup>, 花村健次<sup>\*2</sup>, 白尾智明<sup>\*2</sup>, 田辺光男<sup>\*1</sup>, 関野祐子, 佐藤薫: シナプスイメージングに基づく中枢神経系有害反応のin vitro評価のための新規パラメータ確立の試み.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

<sup>\*1</sup> 北里大学

<sup>\*2</sup> 群馬大学

重本-最上由香里, 干川和枝, 関野祐子, 佐藤薫: 活性化型ミクログリアが引き起こす血液脳関門のバリア崩壊過程におけるサイトカイン・ケモカイン動態の解析.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

高橋華奈子, 笠原のぞみ\*, 小原悠\*, 高瀬将弘\*, 中條かおり, 関野祐子, 田辺光男\*, 佐藤薫: Neurosphere維持期間が神経分化に及ぼす影響.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\* 北里大学

Hirata N, Demizu Y, Kurihara M, Sekino Y, Kanda Y: Estrogen induces proliferation of breast cancer stem cells via NO/sGC/cGMP signaling pathway.

第13回幹細胞シンポジウム (2015.5)

黒川洵子<sup>\*1</sup>, 芦原貴司<sup>\*2</sup>, 諫田泰成, 古川哲史<sup>\*1</sup>: ペーシング可能なヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いたQT延長薬剤の作用解析.

第10回トランスポーター研究会年会 (2015.6)

<sup>\*1</sup> 東京医科歯科大学

<sup>\*2</sup> 滋賀医科大学

諫田泰成: エストロゲンによる NO シグナルを介した乳癌幹細胞の増殖機構.

生命科学研究会 (2015.6)

山田茂, 古武弥一郎\*, 中野瑞穂, 関野祐子, 諫田泰成: ミトコンドリア品質管理に対するトリブチルスズの影響.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.7)

\* 広島大学

石田慶士<sup>\*1</sup>, 古武弥一郎<sup>\*1</sup>, 青木香織<sup>\*1</sup>, 瀧下智子<sup>\*1</sup>, 木村朋紀<sup>\*2</sup>, 諫田泰成, 太田茂<sup>\*1</sup>: 有機スズ神経毒性に關与する核呼吸因子-1(NRF-1)阻害機構の解明.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> 広島大学

<sup>\*2</sup> 摂南大学

平田尚也, 山田茂, 出水庸介, 栗原正明, 関野祐子, 諫田泰成: エストロゲンによるNOを介した乳癌幹細胞の増殖機構.

第132回日本薬理学会関東部会 (2015.7)

芦原貴司<sup>\*1</sup>, 黒川洵子<sup>\*2</sup>, 諫田泰成, 関野祐子, 原口亮<sup>\*3</sup>, 稲田慎<sup>\*3</sup>, 中沢一雄<sup>\*3</sup>, 堀江稔<sup>\*1</sup>: In SilicoヒトiPS細胞由来心筋細胞の構築と不整脈研究への応用可能性.

第51回日本小児循環器学会総会 (2015.7)

<sup>\*1</sup> 滋賀医科大学

<sup>\*2</sup> 東京医科歯科大学

<sup>\*3</sup> 国立循環器病研究センター

諫田泰成: 化学物質のin vitro 発達神経毒性評価に向けた取り組み.

第34回生体と金属・化学物質に関する研究会 (チョークトーク2015) (2015.8)

黒川洵子\*, 諫田泰成, 古川哲史\*: ヒトが創った心臓: iPS細胞から大人の心筋細胞を創る秘蔵のレシピ公開. 生体機能と創薬シンポジウム2015 (2015.8)

\* 東京医科歯科大学

児玉昌美<sup>\*1</sup>, 李敏<sup>\*1</sup>, 芦原貴司<sup>\*2</sup>, 諫田泰成, 関野祐子, 古川哲史<sup>\*1</sup>, 黒川洵子<sup>\*1</sup>: ヒトカリウムチャンネル遺伝子導入によるヒトiPS細胞由来心筋細胞の成熟化のメカニズム-発現レベルからの考察-

生体機能と創薬シンポジウム2015 (2015.8)

<sup>\*1</sup> 東京医科歯科大学

<sup>\*2</sup> 滋賀医科大学

石田慶士<sup>\*1</sup>, 古武弥一郎<sup>\*1</sup>, 青木香織<sup>\*1</sup>, 瀧下智子<sup>\*1</sup>, 木村朋紀<sup>\*2</sup>, 諫田泰成, 太田茂<sup>\*1</sup>: 低濃度トリブチルスズ

ズによるニューロン脆弱化機構の解明.

第10回メタルバイオサイエンス研究会 (2015.8)

\*<sup>1</sup> 広島大学

\*<sup>2</sup> 摂南大学

山田茂, 古武弥一郎\*, 関野祐子, 諫田泰成: ミトコンドリア品質管理に対するトリプチルスズの新たな毒性作用.

第58回日本神経化学会 (2015.9)

\* 広島大学

麻薙美紀, 山田茂, 古武弥一郎, 板垣宏, 関野祐子, 諫田泰成: ヒト未分化細胞を用いた化学物質の毒性評価. フォーラム2015衛生薬学・環境トキシコロジー (2015.9)

諫田泰成: ヒトiPS細胞を利用した医薬品の心臓安全性評価系の開発と国際標準化.

安全性評価研究会・夏のフォーラム2015 (2015.9)

平田尚也, 諫田泰成: 前立腺癌幹細胞に対するスフィンゴシン1リン酸の機能.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

平田尚也, 関野祐子, 諫田泰成: スフィンゴシン1リン酸によるNotch3を介したグリオーマ幹細胞の増殖.

第133回日本薬理学会関東部会 (2015.10)

山田茂, 関野祐子, 諫田泰成: ミトコンドリア品質低下を介した有機スズの新規毒性メカニズム.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 BMB2015 (2015.12)

諫田泰成: ヒト未分化細胞のエネルギー代謝に基づく環境ホルモンの毒性評価.

第18回環境ホルモン学会シンポジウム (2015.12)

諫田泰成: GPCRによるリガンド非依存的なNotchシグナルの活性化機構.

第38回分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会 BMB2015 (2015.12)

山崎大樹, 安藤博之\*<sup>1</sup>, 吉永貴史\*<sup>2</sup>, 山本渉\*<sup>3</sup>, 朝倉圭一\*<sup>4</sup>, 谷口智彦\*<sup>2</sup>, 宇田宗晃\*<sup>1</sup>, 諫田泰成, 長田智治\*<sup>5</sup>, 林誠治\*<sup>4</sup>, 宮本憲優\*<sup>2</sup>, 葛西智恵子\*<sup>6</sup>, 田洪弘行\*<sup>7</sup>, 犬塚隆志\*<sup>8</sup>, 杉山篤\*<sup>9</sup>, 澤田光平\*<sup>2</sup>, 関野祐子: ヒト

iPS細胞由来分化心筋細胞を用いたTdPリスク評価 - JiCSA60化合物を用いて - .

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> JiCSA, 小野薬品工業 (株)

\*<sup>2</sup> JiCSA, エーザイ (株)

\*<sup>3</sup> JiCSA, 帝人ファーマ

\*<sup>4</sup> JiCSA, 日本新薬 (株)

\*<sup>5</sup> JiCSA, LSIメディエンス

\*<sup>6</sup> JiCSA, アステラス製薬

\*<sup>7</sup> JiCSA, イナリサーチ

\*<sup>8</sup> (一社) 日本薬理評価機構

\*<sup>9</sup> 東邦大学

山田茂, 麻薙美紀\*, 平田尚也, 板垣宏\*, 関野祐子, 諫田泰成: ヒトiPS細胞のミトコンドリアダイナミクスを用いた細胞毒性評価.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\* 横浜国立大学

麻薙美紀\*, 山田茂, 平田尚也, 板垣宏\*, 関野祐子, 諫田泰成: ヒト未分化細胞を用いた発達神経毒性評価の試み.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\* 横浜国立大学

木村麗子\*<sup>1</sup>, 児玉昌美\*<sup>1</sup>, 古谷和春\*<sup>2</sup>, 諫田泰成, 倉智嘉久\*<sup>2</sup>, 関野祐子, 古川哲史\*<sup>1</sup>, 黒川洵子\*<sup>1</sup>: ヒトiPS細胞由来心筋の活動電位形成に関連する遺伝子の定量的発現解析におけるリファレンス遺伝子の選定.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 東京医科歯科大学

\*<sup>2</sup> 大阪大学

林英里奈\*<sup>1</sup>, 木村麗子\*<sup>1</sup>, 李敏\*<sup>1</sup>, 安藤朋子\*<sup>1</sup>, 芦原貴司\*<sup>2</sup>, 関野祐子, 古川哲史\*<sup>1</sup>, 諫田泰成, 黒川洵子\*<sup>1</sup>: 内向き整流性カリウムチャンネルを過剰発現させたヒト iPS 由来心筋細胞を用いた薬理作用解析.

第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> 東京医科歯科大学

\*<sup>2</sup> 滋賀医科大学

井出吉紀, 小林真里子, 山崎大樹, 諫田泰成, 関野祐子:

ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた新しい安全性薬理試験法：膜電位感受性色素イメージング (VSO) と多点電極 (MEA) の同時計測による検証実験。  
第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

平田尚也, 関野祐子, 諫田泰成：リゾフォスファチジンはトリプルネガティブ乳癌幹細胞の増殖を誘導する。  
第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

久保祐亮, 山田茂, 犬塚隆志\*, 諫田泰成, 関野祐子：創薬応用を目指したヒトiPS細胞からGABA作動性神経細胞への効率的な分化誘導法の確立。  
第15回日本再生医療学会総会 (2016.3)

\* (一社) 日本薬理評価機構

諫田泰成：リゾリン脂質による乳癌幹細胞の増殖制御と創薬応用。  
第136回日本薬学会シンポジウム (2016.3)

諫田泰成：ヒトiPS細胞技術を用いた次世代心臓安全性評価: JiCSAの取り組み。  
第89回日本薬理学会年会 (2016.3)

井出吉紀, 市川道教\*, 小林真里子, 坪倉健司\*, 山崎大樹, 諫田泰成, 関野祐子：ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価のための無染色イメージング技術の開発。  
第93回日本生理学会大会 (2016.3)

\* ブレインビジョン (株)

Ashihara T<sup>\*1</sup>, Kurokawa J<sup>\*2</sup>, Kanda Y, Haraguchi R<sup>\*3</sup>, Nakazawa K<sup>\*3</sup>, Horie M<sup>\*1</sup>: Spiral wave behaviors and antiarrhythmic drug efficacy in human induced pluripotent stem cell-derived myocardial sheet are different from those in original heart: A simulation study.  
Heart Rhythm 2015 Scientific Sessions (2015.5)

\*1 滋賀医科大学

\*2 東京医科歯科大学

\*3 国立循環器病研究センター

Kanda Y: S1P induces proliferation of cancer stem cells via a ligand-independent Notch activation.  
FASEB Summer research conference (2015.8)

Kanda Y, Li M<sup>\*1</sup>, Ashihara T<sup>\*2</sup>, Sekino Y, Furukawa T<sup>\*1</sup>, Kurokawa J<sup>\*1</sup>: Assessment of drug-induced QT prolongation using human iPS cell-derived mature cardiomyocytes.

15th Annual Meeting of the Safety Pharmacology Society (2015.9)

\*1 東京医科歯科大学

\*2 滋賀医科大学

Kanda Y, Yamada Y, Sekino Y: Toxicity Assessment by Mitochondrial Dynamics in Human iPS Cells.  
55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

山崎大樹：血管平滑筋の小胞体カウンターイオンチャネルを介した血圧調節機構。  
第57回日本平滑筋学会総会 (2015.8)

山崎大樹, 張願書<sup>\*1</sup>, 駒崎伸二<sup>\*2</sup>, 竹内綾子<sup>\*3</sup>, 王朝弘<sup>\*1</sup>, 趙成珠<sup>\*1</sup>, Ki Ho Park<sup>\*4</sup>, 西美幸<sup>\*1</sup>, 松岡達<sup>\*3</sup>, Jianjie Ma<sup>\*4</sup>, 竹島浩<sup>\*1</sup>: TRIC-A欠損によるイソプロテレノール誘発性心臓線維化。  
生理学研究所研究会2015心臓・血管系の包括的な機能統合研究 (2015.10)

\*1 京都大学

\*2 埼玉医科大学

\*3 福井大学

\*4 Ohio State University

Yamazaki D, Takeuchi A<sup>\*1</sup>, Zhao C<sup>\*2</sup>, Nishi M<sup>\*2</sup>, Matsuoka S<sup>\*1</sup>, Takeshima H<sup>\*2</sup>: Beta-adrenergic stimulation induced cardiac fibrosis in Tric-a-knockout mice.  
第93回日本生理学会大会 (2016.3)

\*1 Fukui University

\*2 Kyoto University

Lin P<sup>\*1</sup>, Cai C<sup>\*1</sup>, Zhu H<sup>\*1</sup>, Ko JK<sup>\*1</sup>, Hwang M<sup>\*1</sup>, Pan Z<sup>\*1</sup>, Tan T<sup>\*1</sup>, Yamazaki D, Takeshima H<sup>\*2</sup>, Korichneva I<sup>\*1</sup>, Ma J<sup>\*1</sup>: Zinc binding to MG53 facilitates repair of injury to cell membrane.  
60th Biophysical Society Annual Meeting (2016.2)

\*1 Ohio State University

\*<sup>2</sup> Kyoto University

Zhao C<sup>\*1</sup>, Qian N<sup>\*1</sup>, Ichimura A<sup>\*1</sup>, Yamazaki D, Asagiri M<sup>\*1</sup>, Yamamoto K<sup>\*1</sup>, Komazaki S<sup>\*2</sup>, Nishi M<sup>\*1</sup>, Takeshima H<sup>\*1</sup>: Compromised collagen production in Tric-b-knockout osteoblast.

60th Biophysical Society Annual Meeting (2016.2)

\*<sup>1</sup> Kyoto University

\*<sup>2</sup> Saitama Medical University

石田誠一：肝細胞を用いたin vitro毒性試験法開発の取り組み.

日本化学会第96春季年会 (2016.3)

Ishida S, Horiuchi S, Kuroda Y, Ishida R, Uchida S, Kim SR, Sekino Y: Evaluation of applicability of human iPS cell-derived hepatocyte to the safety test of chemical compound or drug.

CiRA / ISSCR International Symposium 2016 (2016.3)

石田誠一：肝実質細胞前駆細胞HepaRGと星細胞の共培養による生体を模倣したin vitro培養系構築.

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

Ishida S, Horiuchi S, Kuroda Y, Ishida R, Uchida S, Kim SR, Sekino Y: Evaluation of drug metabolism activities in human iPS cell-derived hepatocytes.

第30回日本薬物動態学会年会 (2015.11)

石田誠一, 堀内新一郎, 原詳子<sup>\*1</sup>, 黒田幸恵, 内田翔子, 石田里穂, 金秀良, 松浦知和<sup>\*2</sup>, 小嶋聡一<sup>\*1</sup>, 関野祐子: VECELL培養器による培養の星細胞への脱活性化効果.

第29回肝臓洞壁細胞研究会学術集会 (2015.10)

\*<sup>1</sup> 理化学研究所

\*<sup>2</sup> 東京慈恵医科大学

Ishida S, Horiuchi S, Kubo T<sup>\*</sup>, Kuroda Y, Ishida R, Uchida S, Kim SR, Sekino Y: Evaluation of applicability of Human iPS cell-derived Hepatocyte to Pharmacokinetic Studies.

CBI学会2015年大会 (2015.10)

\* 国立がんセンター

石田誠一：細胞を用いた薬物安全性評価.

細胞アッセイ研究会第3回討論会 (2015.9)

Ishida S: Contribution of Human iPS Cell-derived Hepatocytes to Drug Safety.

iForum 2015 (2015.9)

石田誠一：iPS細胞由来の肝細胞などを用いた医薬品の安全性に関わるスクリーニングとデータの扱い.

JASIS2015 (2015.9)

石田誠一：iPS細胞由来肝細胞の現状とその薬物安全性評価への応用の可能性.

TaKaRa Gene & Cell Academy Symposium (2015.7)

石田誠一, 堀内新一郎, 黒田幸恵, 石田里穂, 内田翔子, 関野祐子：市販ヒトiPSC細胞由来肝細胞の薬物代謝能と毒性応答の評価報告.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

石田誠一, 黒田幸恵, 石田里穂, 内田翔子, 児玉亮<sup>\*</sup>, 金秀良, 堀内新一郎, 関野祐子：酸素透過性VECELL 96 wellプレートをを用いた薬物性肝障害評価系の検討.

第22回HAB研究機構学術年会 (2015.6)

\* ベセル (株)

石田誠一：ヒトiPS細胞の創薬応用への期待と動き.

第22回HAB研究機構学術年会 (2015.6)

宇佐見誠, 高松美奈<sup>\*1</sup>, 風間崇吾<sup>\*1</sup>, 満長克祥<sup>\*2</sup>, 入江智彦, 宮島敦子, 土井守<sup>\*3</sup>：化学物質が培養ラット神経堤細胞の増殖に及ぼす影響に関する研究.

第55回日本先天異常学会学術集会・第38回日本小児遺伝学会学術集会 (2015.7)

\*<sup>1</sup> 麻布大学

\*<sup>2</sup> 東邦大学

\*<sup>3</sup> 岐阜大学

Toyoda T, Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Ogawa K: Expression of  $\gamma$  H2AX as a biomarker of genotoxic carcinogen in the urinary bladder of rats.

American Association for Cancer Research Annual Meeting 2015 (2015.4)

曹永晩, 水田保子, 豊田武士, 赤木純一, 平田直, 鈴木勇, 小川久美子：F344ラットにおける硫酸アルミニウ

ムカリウムの90日間反復投与毒性試験及びクエン酸共投与の影響.

日本食品化学学会第21回総会・学術大会 (2015.5)

Ogawa K: Pathology and molecular carcinogenesis: Histopathological analysis of molecular mechanism in the urinary bladder carcinogenesis for toxicological evaluation.

ASIATOX 2015 (2015.6)

Cho YM, Mizuta Y, Toyoda T, Akagi J, Hirata T, Suzuki I, Ogawa K: A 13-week subchronic toxicity study of aluminum potassium sulfate and co-administration of sodium citrate in F344 rats.

ASIATOX 2015 (2015.6)

桑田和倫, 井上薫, 高橋美和, 市村亮平, 森川朋美, 児玉幸夫, 吉田緑: Acifluorfen誘発肝障害へのCARの関与. 第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

曹永晩, 水田保子, 豊田武士, 赤木純一, 平田直, 安達玲子, 木村美恵, 最上(西巻)知子, 小川久美子: ナノ銀の経皮曝露によるアジュバント作用のマウスモデル実験系を用いた検討.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

高橋美和, 市村亮平, 井上薫, 森川朋美, 渡辺元\*, 吉田緑: 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE) 新生児期曝露による発達期視床下部のkiss1発現低下.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\* 東京農工大学

豊田武士, 曹永晩, 赤木純一, 水田保子, 平田直, 西川秋佳, 小川久美子: DNA二重鎖切断マーカー ( $\gamma$ H2AX) を指標とした遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

平田直, 曹永晩, 豊田武士, 赤木純一, 鈴木勇, 西川秋佳, 小川久美子: p53<sup>-/-</sup> *gpt* deltaマウスにおける1,2-dichloropropane及びdichloromethaneの強制経口投与による*in vivo*変異原性試験.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

土屋卓磨, 石井雄二, 高須伸二, 木島綾希, 横尾諭, 小川久美子, 梅村隆志: 酸化ストレス産生物質の複合投与による酸化的DNA損傷並びに遺伝子突然変異への加算

効果.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

田崎雅子, 黒岩有一, 井上知紀, 日比大介, 松下幸平, 石井雄二, 能美健彦, 西川秋佳, 梅村隆志: 異なる経路で酸化ストレスを発生する非遺伝毒性肝発がん物質によるp53遺伝子欠損*gpt* deltaマウス肝DNA中の酸化的DNA損傷と*in vivo*変異原性.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

木島綾希, 石井雄二, 高須伸二, 横尾諭, 土屋卓磨, 児玉幸夫, 小川久美子, 梅村隆志: 腎発がん剤ニトロフランチインの遺伝毒性発現機序における酸化ストレスの関与.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

代田真理子\*, 吉田緑: 幼若動物を用いた毒性評価において認識すべき発達期の繁殖生物学の特徴.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\* 麻布大学

梅村隆志: *gpt* deltaラットを用いた中期発がん評価系の開発.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

野村幸世\*, 豊田武士, 長田梨比人\*, 市田晃彦\*, 大津洋\*, 石橋祐子\*, 愛甲丞\*, 菅原寧彦\*, 國土典弘\*, 瀬戸泰之\*: 胃癌, 膵癌, 乳がん早期発見バイオマーカーとしての血清TFF3の起源とその上昇機序の解明.

第70回日本消化器外科学会総会 (2015.7)

\* 東京大学

吉田緑, 小川久美子, 西川秋佳: エストロゲン類臨界期曝露による生殖内分泌機能の遅発影響の主原因としての視床下部キスペプチンニューロンの部位特異的变化.

第30回発癌病理研究会 (2015.8)

小川久美子, 高須伸二: 未規制難燃剤の毒性評価. 環境科学会2015年会 (2015.9)

Takasu S, Ishii Y, Kijima A, Yokoo Y, Tsuchiya T, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T: The effects of a high-fat diet on *in vivo* mutagenicity induced by heterocyclic amines in the colon of *gpt* delta rats.

51st Congress of the European Societies of Toxicology

(2015.9)

Ishii Y, Kuroda K, Takasu S, Yokoo Y, Tsuchiya T, Kijima A, Nohmi T, Ogawa K, Umemura T: Contribution of cell proliferation possibly due to inactivation of protein phosphatase 2A to gene mutations induced by estragole.

51st Congress of the European Societies of Toxicology (2015.9)

豊田武士, 曹永晩, 赤木純一, 平田直, 西川秋佳, 小川久美子:  $\gamma$  H2AX免疫染色による遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

赤木純一, 横井雅幸\*, 曹永晩, 豊田武士, 花岡文雄\*, 小川久美子: Pol  $\eta$ ,  $\iota$ ,  $\kappa$  三重欠損細胞の変異原に対する高感受性は遺伝毒性の指標として有用である.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

\* 学習院大学

石井雄二, 高須伸二, 木島綾希, 横尾諭, 土屋卓磨, 小川久美子, 梅村隆志: 遺伝毒性肝発がん物質エストラゴールの突然変異誘発性におけるフルメキン併用投与の影響.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

高須伸二, 石井雄二, 木島綾希, 横尾諭, 土屋卓磨, 小川久美子, 梅村隆志: *gpt delta*マウスを用いた decabromodiphenyl etherの*in vivo*遺伝毒性の検討.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

松下幸平, 木島綾希, 高須伸二, 石井雄二, 黒田顕, 能美健彦\*, 梅村隆志: F344系*gpt delta*ラットの自然発生腫瘍スペクトラム.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* (国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所

赤木純一, 横井雅幸\*, 曹永晩, 豊田武士, 大森治夫\*, 花岡文雄\*, 小川久美子: 損傷乗り越え型DNAポリメラーゼ  $\eta$ ・ $\iota$ ・ $\kappa$  三重欠損細胞は様々な機序の遺伝毒性物質に感受性を示し, 遺伝毒性物質のスクリーニングに有用である.

第38回日本分子生物学会年会 (2015.12)

\* 学習院大学

桑田和倫, 井上薫, 高橋美和, 市村亮平, 森川朋美, 児玉幸夫, 吉田緑\*: Acifluorfen誘発肝腫瘍へのCARの関与.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

\* 食品安全委員会

田崎雅子, 黒岩有一, 井上知紀, 日比大介, 松下幸平, 木島綾希, 西川秋佳, 梅村隆志: ピペロニルブトキシドの Maus 肝発がん過程における酸化ストレスの関与.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

松下幸平, 高須伸二, 黒田顕, 石井雄二, 木島綾希, 北浦敬介\*, 佐藤亮\*, 松本智志\*, 梅村隆志: 腎障害に伴う浸透圧性腎症の病態増悪機序の解明-2.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

\* (株) 大塚製薬

横尾諭, 木島綾希, 石井雄二, 高須伸二, 土屋卓磨, 小川久美子, 梅村隆志: ヒト大腸発がん動物モデルを用いた Nrf2 遺伝子多型がもたらす大腸発がんリスク.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

曹永晩, 水田保子, 豊田武士, 赤木純一, 平田直, 曾根瑞季, 安達玲子, 木村美恵, 最上(西巻)知子, 小川久美子: 経皮曝露したナノ銀のアジュバント効果解析.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

平田直, 曹永晩, 豊田武士, 赤木純一, 曾根瑞季, 中村孝志<sup>\*1</sup>, 沼澤聡<sup>\*2</sup>, 小川久美子: ラット肝臓における DEN 誘発遺伝毒性に対する MTBITC による抑制効果とその作用メカニズムの解析.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

\*<sup>1</sup> 京都府立大学

\*<sup>2</sup> 昭和大学

石井雄二, 高須伸二, 横尾諭, 土屋卓磨, 木島綾希, 小川久美子, 梅村隆志: 肝発がん物質エストラゴールの突然変異誘発過程における細胞増殖発現機序の検討.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

土屋卓磨, 石井雄二, 高須伸二, 木島綾希, 横尾諭, 小川久美子, 梅村隆志: 酸化的DNA 損傷を引き起こす腎

発がん物質による遺伝子突然変異.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

曾根瑞季, 豊田武士, 曹永晩, 赤木純一, 水田保子, 平田直, 西川秋佳, 小川久美子:  $\gamma$ H2AX を用いた遺伝毒性膀胱発がん物質の早期検出系構築- マウスでの検討.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

豊田武士, 曹永晩, 赤木純一, 水田保子, 西川秋佳, 小川久美子: 高脂血症ラットを用いた不確実係数の妥当性の検証.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

高須伸二, 石井雄二, 横尾諭, 土屋卓磨, 木島綾希, 小川久美子, 梅村隆志: Tris(2,3-dibromopropyl) isocyanurate の28日間反復投与毒性試験.

第32回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2016.1)

Suzuki I, Cho YM, Hirata T, Toyoda T, Akagi J, Nishikawa A, Nakamura Y\*, Ogawa K: Chemomodulatory action of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate on carcinogenesis in rats.

55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

\* Kyoto Prefectural University

Kuwata K, Inoue K, Takahashi M, Ichimura R, Morikawa T, Kodama Y, Yoshida M: Mouse CAR is mainly involved in liver injury and tumor development induced by the protoporphyrinogen oxidase inhibitor herbicide acifluorfen.

55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

Hibi D, Yokoo Y, Tsuchiya T, Ishii Y, Takasu S, Kijima A, Ogawa K, Umemura T: Lack of involvement of mutagenicity in the modes of action underlying furan-induced hepatocarcinogenesis.

55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

Hirata T, Cho YM, Suzuki I, Toyoda T, Akagi J, Nakamura Y\*<sup>1</sup>, Numazawa S\*<sup>2</sup>, Ogawa K: The possible mechanism of chemopreventive action of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate in human esophageal epithelial cells.

55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

\*<sup>1</sup> Kyoto Prefectural University

\*<sup>2</sup> Showa University

Cho YM, Mizuta Y, Toyoda T, Akagi J, Hirata T, Adachi R, Kimura Y, Nishimaki-Mogami T, Ogawa K: Evaluation of the adjuvant effects of transcutaneously exposed silver nanoparticles with different size in mouse model.

55th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2016.3)

Honma M: Trend and Progress of OECD Genotoxicity Testing Guidelines.

39th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society of India (2015.5)

Honma M, Ukai A, Hamasaki K\*, Kodama Y\*, Noda A\*, Kusunoki Y\*: Genome mapping of chromosome regions damaged by ionizing irradiation of human blood T-cells, using CGH-microarray analysis.

15th International Congress of Radiation Research (2015.5)

\* (公財) 放射線影響研究所

Grúz P, Shimizu M\*, Hosoda A\*, Kojo A\*, Usui Y\*, Sugiyama K, Honma, M: Mutagenicity of polyunsaturated fatty acid peroxidation products in the standard Ames assay.

12th Asian Congress of Nutrition (2015.5)

\* Tokyo Healthcare University

清水雅富\*, グルーズ ピーター, 細田明美\*, 碓井之雄\*, 杉山圭一, 本間正充:  $\omega$ -3系多価不飽和脂肪酸の過酸化反応によって産生されるアルデヒド類による変異原性試験.

第57回 日本脂質生化学会 (2015.5)

\* 東京医療保健大学

本間正充: OECDテストガイドラインの変更点.

JEMS・MMS研究会第66回定例会 (2015.6)



堀端克良：共同研究報告 I：Pig-a アッセイ。  
JEMS・MMS研究会第66回定例会（2015.6）

Honma M: Ames QSAR Collaborative Study.  
ICCA-LRI workshop (2015.6)

Takeiri A<sup>\*1</sup>, Wada NA<sup>\*1</sup>, Motoyama S<sup>\*1</sup>, Matsuzaki K<sup>\*1</sup>, Tateishi H<sup>\*2</sup>, Matsumoto K<sup>\*2</sup>, Niimi N, Sassa A, Grúz P, Masumura K, Yamada M, Mishima M<sup>\*1</sup>, Jishage K<sup>\*1</sup>, Nohmi T: Sensitivity of inactivated DNA polymerase kappa knock-in mice to mitomycin C.  
The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (2015.6)

<sup>\*1</sup> Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

<sup>\*2</sup> Chugai Research Institute for Medical Science, Inc.

Yamada M, Takamune M, Matsuda T\*: Application of a next generation sequencer to a novel mutation test.

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (2015.6)

\* Kyoto University

萩尾宗一郎<sup>\*1</sup>, 小川いづみ<sup>\*1</sup>, 阿部正義<sup>\*1</sup>, 林清吾<sup>\*1</sup>, 辻菜穂<sup>\*1</sup>, 黒田雄介<sup>\*1</sup>, 古川賢<sup>\*1</sup>, 八木孝司<sup>\*2</sup>, 本間正充, 増村健一：gpt deltaマウスを用いたアクリルアミドの生殖細胞遺伝子突然変異の解析。  
第42回日本毒性学会学術年会（2015.6）

<sup>\*1</sup> 日産化学工業（株）

<sup>\*2</sup> 大阪府立大学

安井学, 佐々彰, 鴨下渚, 本間正充：DNA損傷1分子の部位特異的なゲノム導入とその遺伝的影響の解析。  
第29回宇宙生物科学会（2015.9）

Honma M, Suzuki T: DNA Double Strand Break Repair in BLM Deficient Human Cells.  
46th Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society (2015.9)

Horibata K, Yamada M, Ukai A, Kimoto T<sup>\*1</sup>, Chikura S<sup>\*1</sup>, Miura D<sup>\*1</sup>, Itoh S<sup>\*2</sup>, Muto S<sup>\*3</sup>, Uno Y<sup>\*3</sup>, Sanada H<sup>\*4</sup>, Takashima R<sup>\*5</sup>, Shigano M<sup>\*5</sup>, Takasawa H<sup>\*5</sup>, Hamada S<sup>\*5</sup>, Yamamoto M<sup>\*6</sup>, Hori H<sup>\*7</sup>, Tsutsumi E<sup>\*7</sup>,

Wada K<sup>\*8</sup>, Maeda A<sup>\*9</sup>, Kikuzuki R<sup>\*10</sup>, Ogiwara Y<sup>\*10</sup>, Kyoya T<sup>\*11</sup>, Adachi H<sup>\*12</sup>, Uematsu Y<sup>\*12</sup>, Yoshida I<sup>\*13</sup>, Narumi K<sup>\*14</sup>, Fujiishi Y<sup>\*14</sup>, Fukuda T<sup>\*15</sup>, Suzuki Y<sup>\*15</sup>, Goto K<sup>\*15</sup>, Morita T, Honma M: Interlaboratory Trial of the PIGRET Assay As a Short-term Genotoxicity Test: Collaborative Study by Mammalian Mutagenicity Study (MMS) Group of Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS).

46th Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society (2015.9)

<sup>\*1</sup> Teijin Pharma

<sup>\*2</sup> Daiichi Sankyo

<sup>\*3</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma

<sup>\*4</sup> Kaken Pharmaceutical

<sup>\*5</sup> LSI Medience

<sup>\*6</sup> Astellas Pharma

<sup>\*7</sup> Suntory Business Expert

<sup>\*8</sup> The Institute of Environmental Toxicology

<sup>\*9</sup> Toray Industries

<sup>\*10</sup> Taisho Pharmaceutical

<sup>\*11</sup> Kumiai Chemical Industry

<sup>\*12</sup> Sumitomo Dainippon Pharma

<sup>\*13</sup> Takeda Pharmaceutical

<sup>\*14</sup> Yakult Honsha

<sup>\*15</sup> BoZo Research Center

Sugiyama K, Furusawa H, Honma M: Molecular breeding of yeasts for detection of DNA methyltransferase inhibitor.

46th Annual Meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society (2015.9)

増村健一, 森田健, 本間正充：トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験における*in vivo*変異原性と発がん性の相関に関する研究。

第74回日本癌学会学術総会（2015.10）

本間正充：部位特異的損傷をゲノム中に導入したヒト細胞における突然変異誘発機構の研究（日本環境変異原学会学会賞受賞講演）。

日本環境変異原学会第44回大会（2015.11）

本間正充：遺伝毒性試験ガイドライン策定への貢献（望月喜多司記念賞受賞講演）。

日本環境変異原学会第44回大会（2015.11）

本間正充：我々はこれまでどれだけ危険な食品を食べてきたのだろうか？ -食品中に含まれる発がん物質の評価-

日本環境変異原学会第44回大会市民公開講座 食の安全 -リスクをどう考えたら良いのか- (2015.11)

森田健, 濱田修一\*, 増村健一, 本間正充：*In vitro*および*in vivo*遺伝毒性試験の組合せによる齧歯類発がん物質の検出力。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* LSIメディエンス (株)

増村健一：アクリルアミドの生殖細胞における変異原性の検討。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

増村健一, 鶴飼明子, 豊田尚美, 権藤洋一\*, 能美健彦, 本間正充：マウス全エキソーム解析によるENU誘発生殖細胞変異スペクトルの解析。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* 理化学研究所バイオリソースセンター

青木康展<sup>\*1</sup>, 中島大介<sup>\*1</sup>, 松本みちよ<sup>\*1</sup>, 松本理<sup>\*1</sup>, 柳澤利枝<sup>\*2</sup>, 後藤純雄<sup>\*3</sup>, 増村健一, 能美健彦：都市大気浮粒子抽出物が*gpt delta*マウス肺で示す変異原性と突然変異スペクトル。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\*1 国立環境研究所環境リスク研究センター

\*2 国立環境研究所環境健康研究センター

\*3 麻布大学生命・環境科学部

本山茂記<sup>\*1</sup>, 竹入章<sup>\*1</sup>, 松尾沙織里<sup>\*1</sup>, 和田直子<sup>\*2</sup>, 寺社下浩一<sup>\*2</sup>, 三島雅之<sup>\*1</sup>, 新見直子, Petr Grúz, 増村健一, 山田雅巳, 能美健彦：DNA polymerase kappaは*in vivo*において, cisplatinに対する損傷乗越えDNA複製に関与する。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\*1 中外製薬 (株) 研究本部

\*2 (株) 中外医科学研究所

萩尾宗一郎<sup>\*1</sup>, 阿部正義<sup>\*1</sup>, 林清吾<sup>\*1</sup>, 辻菜穂<sup>\*1</sup>, 黒田雄介<sup>\*1</sup>, 古川賢<sup>\*1</sup>, 八木孝司<sup>\*2</sup>, 本間正充, 増村健一：*gpt delta*マウスの生殖細胞におけるアクリルアミド誘発

突然変異の解析。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\*1 日産化学工業 (株) 安全性研究部

\*2 大阪府立大学大学院理学系研究科

松田知成\*, 松田俊\*, 山田雅巳：SMRT DNAシーケンサーを用いた突然変異検出法の開発。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* 京都大学

佐々彰, 鴨下渚, 兼丸祐紀, 本間正充, 安井学：ヌクレオチド除去修復は酸化的クラスター DNA損傷によって誘発される突然変異を抑制する。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

佐々彰, 鴨下渚, 兼丸祐紀, 本間正充, 安井学：ヒトリンパ球細胞のゲノムに導入したシトシン修飾体の潜在的な突然変異誘発能。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

杉山圭一, 古沢博子, 本間正充：酵母をプラットフォームとしたエピジェネティック変異原検出系構築の試み。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

堀端克良, 山田雅巳, 鶴飼明子, 木本崇文<sup>\*1</sup>, 千蔵さつき<sup>\*1</sup>, 三浦大志郎<sup>\*1</sup>, 伊東悟<sup>\*2</sup>, 武藤重治<sup>\*3</sup>, 宇野芳文<sup>\*3</sup>, 真田尚和<sup>\*4</sup>, 高島理恵<sup>\*5</sup>, 志賀野美幸<sup>\*5</sup>, 高沢博修<sup>\*5</sup>, 濱田修一<sup>\*5</sup>, 山本美佳<sup>\*6</sup>, 堀妃佐子<sup>\*7</sup>, 堤絵梨<sup>\*7</sup>, 和田邦生<sup>\*8</sup>, 前田晃央<sup>\*9</sup>, 菊月隆太<sup>\*10</sup>, 荻原庸介<sup>\*10</sup>, 京谷恭弘<sup>\*11</sup>, 足立秀樹<sup>\*13</sup>, 上松泰明<sup>\*12</sup>, 吉田唯真<sup>\*13</sup>, 成見香瑞範<sup>\*14</sup>, 藤石洋平<sup>\*14</sup>, 福田隆之<sup>\*15</sup>, 鈴木裕太<sup>\*15</sup>, 後藤玄<sup>\*15</sup>, 森田健, 本間正充：*Pig-a*/PIGRETアッセイの短期試験としての有用性：MMS共同研究報告。

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\*1 帝人ファーマ

\*2 第一三共

\*3 田辺三菱製薬

\*4 科研製薬

\*5 LSIメディエンス

\*6 アステラス製薬

\*7 サントリー

\*8 残農研

\*9 東レ

\*10 大正製薬

\*<sup>11</sup> クミアイ化学

\*<sup>12</sup> 大日本住友製薬

\*<sup>13</sup> 武田薬品工業

\*<sup>14</sup> ヤクルト本社

\*<sup>15</sup> ボゾリサーチセンター

山田雅巳, 大杉直弘<sup>\*1</sup>, 高木久宜<sup>\*1</sup>, 和田邦生<sup>\*2</sup>, 松元郷六<sup>\*2</sup>, 大隅友香<sup>\*3</sup>, 真田尚和<sup>\*3</sup>, 百南綾華<sup>\*4</sup>, 堤絵梨<sup>\*4</sup>, 堀妃佐子<sup>\*4</sup>, 赤沼三恵<sup>\*5</sup>, 増村健一, 本間正充: ICHガイドラインS2 (R1) における*in vivo*試験組合せの検討. 日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 日本エスエルシー (株)

\*<sup>2</sup> (一財) 残留農薬研究所

\*<sup>3</sup> 科研製薬 (株)

\*<sup>4</sup> サントリービジネスエキスパート (株)

\*<sup>5</sup> (株) クレハ

須井哉\*, 川上久美子\*, 根岸沙記\*, 増淵恵美\*, 園原啓太\*, 山田雅巳: ハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法の検討10.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* 一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所

本間正充: ICH-M7ガイドラインとExpert Review. 微生物変異試験研究会第53回定例会 (2015.11)

堀端克良: *Pig-a*アッセイ.

JEMS・MMS研究会第67回定例会 (2015.11)

杉山圭一, 古沢博子, 本間正充: *In vivo* DNAメチル化酵素阻害可視化システムの開発.

第88回日本生化学会大会 (2015.12)

Sugiyama K, Furusawa H, Honma M: Epigenetic modifiers are visibly detectable by human DNMTs transgenic yeast.

International Symposium for RIKEN Epigenetics Program, (2016.2)

杉山圭一, 古沢博子, 清水雅富\*, 本間正充: 酵母凝集反応を利用した新規なエピ変異原可視化検出系の開発.

日本農芸化学会2016年度大会 (2016.3)

\* 東京医療保健大学

Masumura K, Toyoda-Hokaiwado N, Ukai A, Gondo Y\*, Honma M, Nohmi T: Analysis of inherited germline mutations of ENU-treated mice by whole exome sequencing.

Society of Toxicology 55th Annual meeting (2016.3)

\* RIKEN BioResource Center

Honma M, Kanemaru Y, Kamoshita N, Suzuki T, Arakawa T\*, Yasui M: Tracing the fate of site-specifically introduced oxidative DNA damage in the human genome.

14th International Workshop on Radiation Damage to DNA (2016.3)

\* 北海道医療保健大学

Morita T: GHS classification of CMR substances in EU and Japan.

AsiaTox 2015 (2015.6)

森田健: CMR物質のGHS分類比較: EUと日本.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

森田健: LD50値による毒性評価と行政利用.

第37回日本中毒学会 (2015.7)

Morita T, Hamada S\*, Masumura K, Honma M: Detection of rodent carcinogens and non-carcinogens by *in vivo* erythrocyte micronucleus and transgenic rodent mutation tests.

2015 European Environmental Mutagen and Genomics Society (2015.8)

\* LSI Medience Corporation

Hamada S<sup>\*1</sup>, Morita T, Narumi K<sup>\*2</sup>, Wako Y<sup>\*1</sup>, Kawasaki K<sup>\*1</sup>, Ohyama W<sup>\*2</sup>, Honma M, Hayashi M<sup>\*3</sup>: Detection of hepatocarcinogens by combination of liver micronucleus assay and histopathological examination in 2-week or 4-week repeated dose studies.

46th Environmental Mutagen and Genomics Society (2015.9)

\*<sup>1</sup> LSI Medience Corporation

\*<sup>2</sup> Yakult Honsha

\*<sup>3</sup> Biosafety Research Center

Horibata K, Yamada M, Ukai A, Kimoto T<sup>\*1</sup>, Chikura S<sup>\*1</sup>, Miura D<sup>\*1</sup>, Itoh S<sup>\*2</sup>, Muto S<sup>\*3</sup>, Uno Y<sup>\*3</sup>, Sanada H<sup>\*4</sup>, Takashima R<sup>\*5</sup>, Shigano M<sup>\*5</sup>, Takasawa H<sup>\*5</sup>, Hamada S<sup>\*5</sup>, Yamamoto M<sup>\*6</sup>, Hori H<sup>\*7</sup>, Tsutsumi E<sup>\*7</sup>, Wada K<sup>\*8</sup>, Maeda A<sup>\*9</sup>, Kikuzuki R<sup>\*10</sup>, Ogiwara Y<sup>\*10</sup>, Kyoya T<sup>\*11</sup>, Adachi H<sup>\*12</sup>, Uematsu Y<sup>\*12</sup>, Yoshida I<sup>\*13</sup>, Narumi K<sup>\*14</sup>, Fujiishi Y<sup>\*14</sup>, Fukuda T<sup>\*15</sup>, Suzuki Y<sup>\*15</sup>, Goto K<sup>\*15</sup>, Morita T, Honma M: Interlaboratory Trial of the PIGRET Assay As a Short-term Genotoxicity Test: Collaborative Study by Mammalian Mutagenicity Study (MMS) Group of Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS).

46th Environmental Mutagen and Genomics Society (2015.9)

\*<sup>1</sup> Teijin Pharma

\*<sup>2</sup> Daiichi Sankyo

\*<sup>3</sup> Mitsubishi Tanabe Pharma

\*<sup>4</sup> Kaken Pharma

\*<sup>5</sup> LSI Medience

\*<sup>6</sup> Astellas Pharma

\*<sup>7</sup> Suntory Business Expert

\*<sup>8</sup> The Inst. Env. Tox.

\*<sup>9</sup> Toray Industries

\*<sup>10</sup> Taisho Pharma

\*<sup>11</sup> Kumiai Chemical Ind.

\*<sup>12</sup> Dainippon Sumitomo Pharma

\*<sup>13</sup> Takeda

\*<sup>14</sup> Yakult Honsha

\*<sup>15</sup> Boso Research Center

濱田修一<sup>\*1</sup>, 森田健, 成見香瑞範<sup>\*2</sup>, 涌生ゆみ<sup>\*1</sup>, 川迫一史<sup>\*1</sup>, 大山ワカ子<sup>\*2</sup>, 本間正充, 林真<sup>\*3</sup>: 4週間の反復投与毒性試験結果 (肝臓小核試験および病理組織学的検査) から肝発がん性を予測する.

関西実験動物研究会第128回研究会 (2015.12)

\*<sup>1</sup> LSIメディエンス

\*<sup>2</sup> ヤクルト本社

\*<sup>3</sup> 安評センター

増村健一, 森田健, 本間正充: トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験における*in vivo*変異原性と発がん性の相関に関する研究.

第74回日本癌学会学術総会 (2015.10)

森田健, 濱田修一<sup>\*</sup>, 増村健一, 本間正充: *In vivo*赤血

球小核試験とトランスジェニック齧歯類突然変異試験による齧歯類発がん物質の検出.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* LSIメディエンス

森田健, 畝山智香子: カラメル色素中の4-メチルイミダゾールのリスク評価.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

堀端克良, 山田雅巳, 鶴飼明子, 木本崇文<sup>\*1</sup>, 千蔵さつき<sup>\*1</sup>, 三浦大志郎<sup>\*1</sup>, 伊東悟<sup>\*2</sup>, 武藤重治<sup>\*3</sup>, 宇野芳文<sup>\*3</sup>, 真田尚和<sup>\*4</sup>, 高島理恵<sup>\*5</sup>, 志賀野美幸<sup>\*5</sup>, 高沢博修<sup>\*5</sup>, 濱田修一<sup>\*5</sup>, 山本美佳<sup>\*6</sup>, 堀妃佐子<sup>\*7</sup>, 堤絵梨<sup>\*7</sup>, 和田邦生<sup>\*8</sup>, 前田晃央<sup>\*9</sup>, 菊月隆太<sup>\*10</sup>, 荻原庸介<sup>\*10</sup>, 京谷恭弘<sup>\*11</sup>, 足立秀樹<sup>\*12</sup>, 上松泰明<sup>\*12</sup>, 吉田唯真<sup>\*13</sup>, 成見香瑞範<sup>\*14</sup>, 藤石洋平<sup>\*14</sup>, 福田隆之<sup>\*15</sup>, 鈴木裕太<sup>\*15</sup>, 後藤玄<sup>\*15</sup>, 森田健, 本間正充: PIGRETアッセイの短期試験としての有用性: MMS共同研究報告.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\*<sup>1</sup> 帝人ファーマ

\*<sup>2</sup> 第一三共

\*<sup>3</sup> 田辺三菱製薬

\*<sup>4</sup> 科研製薬

\*<sup>5</sup> LSIメディエンス

\*<sup>6</sup> アステラス製薬

\*<sup>7</sup> サントリー

\*<sup>8</sup> 残農研

\*<sup>9</sup> 東レ

\*<sup>10</sup> 大正製薬

\*<sup>11</sup> クミアイ化学

\*<sup>12</sup> 大日本住友製薬

\*<sup>13</sup> 武田薬品工業

\*<sup>14</sup> ヤクルト本社

\*<sup>15</sup> ボゾリサーチセンター

本田大士<sup>\*</sup>, 藤田侑里香<sup>\*</sup>, 松村奨士<sup>\*</sup>, 川本泰輔<sup>\*</sup>, 伊藤勇一<sup>\*</sup>, 森田健, 西山直宏<sup>\*</sup>: 染色体異常試験の陽性物質リストから有用な偽陽性原料を救えII-数学的手法を用いた大規模選及評価.

日本環境変異原学会第44回大会 (2015.11)

\* 花王

Nishimura T<sup>\*1</sup>, Hirata-Koizumi M, Yamada T<sup>\*2</sup>, Kawamura T, Ono A, Hirose A, Ema M<sup>\*3</sup>: Derivation

of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water.

第55回米国トキシコロジー学会 (2016.3)

\*<sup>1</sup> Teikyo Heisei University

\*<sup>2</sup> National Institute of Technology and Evaluation

\*<sup>3</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

Hirose A, Hirata-Koizumi M, Kawamura T, Matsumoto M, Takahashi M, Nishimaki-Mogami T, Nishimura T<sup>\*1</sup>, Ema M<sup>\*2</sup>, Ono A: Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management.

The 51st EUROTOX2015 (2015.9)

\*<sup>1</sup> Teikyo Heisei University

\*<sup>2</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

Ono A, Matsumoto M, Takahashi M, Kawamura T, Hirata-Koizumi M, Hirose A: Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?.

The 51st EUROTOX 2015 (2015.9)

Hirose A: Metal contaminants in drugs: ICH point of view. The 9th Congress of Toxicology in Developing Countries. (2015.10)

Hirose A, Taquahashi Y, Takagi A, Ogawa Y, Kanno J: Characterization of mesothelioma induction by i.p injection of the MWCNT dispersed with the Taquann method. International Congress on Safety of Engineered Nanoparticles and Nanotechnologies (SENN 2015). (2015.4)

Hirose A, Sakamoto Y<sup>\*1</sup>, Ogata A<sup>\*1</sup>, Yuzawa K<sup>\*1</sup>, Kubo Y<sup>\*1</sup>, Ando H<sup>\*1</sup>, Nagasawa A<sup>\*1</sup>, Nishimura T<sup>\*2</sup>, Inomata A<sup>\*1</sup>, Nakae D<sup>\*3</sup>: Chronic toxicity by repeated intratracheal administration of MWCNT in rat. The 7th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health. (2015.10)

\*<sup>1</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

\*<sup>2</sup> Teikyo Heisei University

\*<sup>3</sup> Tokyo University of Agriculture

Hirose A: Japanese Current Chemical Regulation and

Contribution to the OECD Cooperative Chemicals Assessment Programme (CoCAP).

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (2015.7)

山口宏之<sup>\*1,2</sup>, 小島肇, 竹澤俊明<sup>\*1</sup>: Vitrigel-Eye Irritancy Test (EIT) method: Assessment of predictive performance using 118 test chemicals.

日本組織培養学会第88回大会 (2015.5)

\*<sup>1</sup> 農業生物資源研究所

\*<sup>2</sup> 関東化学 (株)

Kojima H, Kleinstreuer N<sup>\*1</sup>, Schaeffer MW<sup>\*2</sup>, Kim TS<sup>\*3</sup>, Chen W<sup>\*4</sup>, Sozu T<sup>\*5</sup>, Watanabe M<sup>\*6</sup>, Niitsma T<sup>\*6</sup>, Yamashita K<sup>\*7</sup>, Miyazaki H<sup>\*7</sup>, Fukuda T<sup>\*8</sup>, Yamaguchi N<sup>\*8</sup>, Fujiwara S<sup>\*8</sup>, Yamaguchi H<sup>\*9,10</sup>, Takezawa T<sup>\*10</sup>: Validation study of Vitrigel-EIT (Eye Irritancy Test) method.

II International Conference of Alternatives to Animal Experimentation (2015.5)

\*<sup>1</sup> ILS/NICEATM/ICCVAM

\*<sup>2</sup> EURL ECVAM IHCP/JRC/European Commission

\*<sup>3</sup> KOCVAM/MFDS

\*<sup>4</sup> Taiwan Industrial Technology Research Institute

\*<sup>5</sup> Kyoto University

\*<sup>6</sup> Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

\*<sup>7</sup> Daicel Corporation

\*<sup>8</sup> BoZo Research Center Inc.

\*<sup>9</sup> Kanto Chemical Co. Inc.

\*<sup>10</sup> National Institute of Agrobiological Sciences

小島肇: 日本で開発または評価されたOECDテストガイドライン.

生物化学的測定研究会第20回学術集会 (2015.6)

細井一弘<sup>\*</sup>, 小島肇: シンポジウム6 トランスレーションに有用な試験系構築の基本的考え方: ROSアッセイを例にして.

第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

\* 参天製薬 (株)

Kojima H, Kleinstreuer N<sup>\*1</sup>, Schaeffer MW<sup>\*2</sup>, Kim TS<sup>\*3</sup>, Chen W<sup>\*4</sup>, Sozu T<sup>\*5</sup>, Watanabe M<sup>\*6</sup>, Niitsma T<sup>\*6</sup>,

Yamashita K<sup>\*7</sup>, Miyazaki H<sup>\*7</sup>, Fukuda T<sup>\*8</sup>, Yamaguchi N<sup>\*8</sup>, Fujiwara S<sup>\*8</sup>, Yamaguchi H<sup>\*9,10</sup>, Takezawa T<sup>\*10</sup>: 眼刺激性試験代替法Vitrigel-EITのバリデーション研究. 第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

<sup>\*1</sup> ILS/NICEATM/ICCVAM

<sup>\*2</sup> EURL ECVAM IHCP/JRC/European Commission

<sup>\*3</sup> KOCVAM/MFDS

<sup>\*4</sup> Taiwan Industrial Technology Research Institute

<sup>\*5</sup> Kyoto University

<sup>\*6</sup> Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

<sup>\*7</sup> Daicel Corporation

<sup>\*8</sup> BoZo Research Center Inc.

<sup>\*9</sup> Kanto Chemical Co. Inc.

<sup>\*10</sup> National Institute of Agrobiological Sciences

山口宏之<sup>\*12</sup>, 小島肇, 竹澤俊明<sup>\*1</sup>: 高感度なin vitro眼刺激性試験法 Vitrigel-EITの予測性評価. 第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

<sup>\*1</sup> 農業生物資源研究所

<sup>\*2</sup> 関東化学 (株)

伊藤浩太<sup>\*1</sup>, 榊原隆史<sup>\*1</sup>, 越田美<sup>\*1</sup>, 奥村宗平<sup>\*1</sup>, 中山拓生<sup>\*1</sup>, 平賀武夫<sup>\*2</sup>, 小島肇, 松浦正男<sup>\*1</sup>: 牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP法) によるGHS分類2B物質の測定結果. 第42回日本毒性学会学術年会 (2015.6)

<sup>\*1</sup> (株) 化合物安全性研究所

<sup>\*2</sup> 酪農学園大学 獣医学

小島肇: JaCVAM activities update (日本動物実験代替法評価センター) 活動報告.

The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (2015.6)

Kojima H: New SPSF for OECD Test guideline on the in vitro skin sensitization assay.

12th Annual meeting of Korean Society for Alternative to Animal Experiments (2015.8)

Kojima H: The JaCVAM/OECD activities on the comet assay.

11th International Workshop of Comet assay Workshop (2015.9)

Kojima H: The Asian Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences 2016.

16th Annual Congress of European Society of Alternatives to Animal Testing (2015.9)

Kojima H, Oshimura M<sup>\*1</sup>, Imatanaka N<sup>\*2</sup>: Update for Japanese Project "ARCH-Tox" for the Future Chemicals Management Policy: Research and Development of in vitro and in vivo Assays for Internationally Leading Hazard Assessment and Test Methods.

4th annual meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (2015.10)

<sup>\*1</sup> Chromosome Engineering Research Center, Tottori University

<sup>\*2</sup> Chemical Evaluation and Research Institute (CERI)

小島肇: シンポジウム7: 経済産業省プロジェクト「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発: ARCH-Tox」の計画概要. 日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

中山拓人<sup>\*12</sup>, 寒水孝司<sup>\*1</sup>, 山口宏之<sup>\*23</sup>, 竹澤俊明<sup>\*2</sup>, 小島肇: Vitrigel-EIT (Eye Irritancy Test) 法による眼刺激性の判定法の提案.

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

<sup>\*1</sup> 東京理科大学工学部経営工学科

<sup>\*2</sup> 農業生物資源研究所

<sup>\*3</sup> 関東化学 (株)

古川正敏<sup>\*</sup>, 榊原隆史<sup>\*</sup>, 伊藤浩太<sup>\*</sup>, 佐々木啓<sup>\*</sup>, 越田美<sup>\*</sup>, 奥村宗平<sup>\*</sup>, 河村公太郎<sup>\*</sup>, 松浦正男<sup>\*</sup>, 小島肇: 牛摘出角膜を用いた混濁度及び透過性試験法 (BCOP法: 眼刺激性代替法試験) における角膜の病理所見による弱刺激性物質の評価について.

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

<sup>\*</sup> (株) 化合物安全性研究所

加藤義直<sup>\*1</sup>, 山本直樹<sup>\*2</sup>, 佐藤淳<sup>\*1</sup>, 中田悟<sup>\*1</sup>, 小島肇: 不死化ヒト角膜細胞株 (iHCE-NY) を用いた三次元角膜再構築モデルにおける眼刺激性評価方法の検討 ~ 後培養による回復性の評価 ~.

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

\*<sup>1</sup> 日本メナー化粧品（株）総合研究所

\*<sup>2</sup> Pola Chemical Industries, INC.

\*<sup>2</sup> 藤田保健衛生大学共同利用研究施設

成田和人\*, Vo P.T\*, 中川史子\*, 小島肇, 板垣宏\* :  
皮膚感作性試験の偽陰性評価解消に向けた検討：無水フ  
タル酸に対する LP溶媒暴露法.

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

---

\* 横浜国立大学

九十九英恵\*, 松成夏美\*, 小島肇, 板垣宏\* : タンパク  
質のアレルギー性を評価するin vitro試験法の開発.

日本動物実験代替法学会第28回大会 (2015.12)

---

\* 横浜国立大学

小島肇 : OECDで検討されてきたin vitroスクリーニン  
グ法.

環境ホルモン学会第18回研究発表会 (2015.12)

Furukawa M\*, Sakakibara T\*, Ito K\*, Sasaki S\*,  
Koshita M\*<sup>1</sup>, Okumura S\*, Kawamura K\*, Matsuura  
M\*, Kojima H: Histopathological Findings on the  
Cornea in the Bovine Corneal Opacity and Permeability  
Test (BCOP Test) for Alternative to Eye Irritation  
Test.

55th annual meeting of the Society of Toxicology  
(2016.3)

---

\* Safety Research Institute for Chemical Compounds  
Co., Ltd.

Narita K\*, Vo P.T\*, Nakagawa F\*, Kojima H, Itagakai  
H\*: Reducing False Negatives of Chemicals in the in  
vitro Skin Sensitization Test.

55th annual meeting of the Society of Toxicology  
(2016.3)

---

\* Yokohama National University, Japan

Tsukumo H\*<sup>1</sup>, Matsunari N\*<sup>1</sup>, Sugiyama M\*<sup>2</sup>, Toyoda  
A\*<sup>1,2</sup>, Kojima H, Itagakai H\*<sup>1</sup>: Development of an in  
vitro test for Allergenic Potency of Proteins.

55th annual meeting of the Society of Toxicology  
(2016.3)

---

\*<sup>1</sup> Yokohama National University

## レギュラトリーサイエンス関連会議報告

## Meeting Reports Related to Regulatory Science

**会議名：**日米欧三薬局方検討会議

**出席者：**副所長 奥田晴宏

**開催場所，時期：**ロックビル（米国），2015年11月3日～4日

**参加者内訳，人数：**日本，欧州，米国等の専門家 約20名

**会議内容：**欧州薬局方（EP），日本薬局方（JP）並びに米国薬局方（USP）の試験法と医薬品添加物各条について，調和活動を行った。この結果，試験法については，製剤均一性試験法の改正案が，医薬品添加物に関してはポピドン等4品目の修正案が合意，調和された。

**会議名：**日米欧医薬品規制調和国际会議Q11（「原薬の開発と製造ガイドライン」に関する質疑応答集（Q&A））

**出席者：**副所長 奥田晴宏

**開催場所，時期：**オタワ（カナダ），2015年9月14日～18日

**参加者内訳，人数：**日米EU3極およびカナダ政府等の医薬品規制当局及び製薬団体の品質担当者約25名

**会議内容：**日米EU医薬品規制調和国际会議（ICH）の品質ガイドラインQ11「原薬の開発と製造（化学薬品及びバイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）」に関して，原薬製造のための出発物質の選択と妥当性に関する質疑応答集（Q&A）の作成のための議論を行った。16個のQ&Aを作成し，関係者に回覧，コメントを求めることとなった。

**会議名：**国際医薬品一般名専門家会議

**出席者：**副所長 奥田晴宏

**開催場所，時期：**ジュネーブ（スイス），  
第61回2015年4月13日～15日  
第62回2015年10月13日～16日

**参加者内訳，人数：**約15名

**会議内容：**過去半年間に申請された化学薬品および生物薬品原薬に関し，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，継続審議品目に関しても検討を行った。さらに，INN委員会の運営方針，INN策定ルールに関して議論した。

**会議名：**WHOバイオ医薬品標準品の今後の方向性に関する非公式会議

**出席者：**生物薬品部 石井明子

**開催場所，時期：**ジュネーブ（スイス），2015年9月21日～22日

**参加者内訳，人数：**WHO，NIBSC，規制当局（イラン，ドイツ，日本，タイ，EMA，カナダ，韓国，南アフリ

カ，中国，ブラジル），製薬企業関連団体（DCVMN，IFPMA，IGPA，ALIFAR，CBMPQR），局方（EP，インド，日本，USP）計30人

**会議内容：**バイオ医薬品の標準品，特に抗体医薬品のような非天然型タンパク質医薬品の国際標準品策定の意義と位置付けや用途に関して，WHOが実施した事前のアンケート結果と参加者からのプレゼンテーションをもとに議論された。

**会議名：**国際標準化機構TC249第6回全体会議

**出席者：**生薬部 袴塚高志

**開催場所，時期：**北京（中国），2015年6月1日～4日

**参加者内訳，人数：**250名

**会議内容：**国際標準化機構（ISO）TC249（中国伝統医学（仮題）専門委員会）に参加し，東アジア伝統医薬の原料生薬，製品，医療機器の品質と安全性を確保するための国際規格について審議した。また，日本より提案した天然物由来医薬品の製造工程に関する標準案が，ワーキンググループ内で審議された。

**会議名：**2015年度生薬・薬用植物に関する国際調和のための西太平洋地区討論会（FHH）第2分科会

**出席者：**薬品部 合田幸広，生薬部 袴塚高志，政田さやか

**開催場所，時期：**ラインフェルデン（スイス），2015年6月23日～24日

**参加者内訳，人数：**15名

**会議内容：**生薬に関する国際調和のための西太平洋地区会議の第2分科会に参加した。FHHの7つのメンバー国のうち4カ国（日本，韓国，中国，ベトナム）より10名の代表とオブザーバーとしてEP及びUSP関係者が参加し，生薬標準品の確立及び安全性情報の共有方法について議論された。

**会議名：**第13回生薬に関する国際調和のための西太平洋地区会議（FHH）常任委員会

**出席者：**生薬部 袴塚高志，政田さやか

**開催場所，時期：**杭州（中国），2015年12月10日～11日

**参加者内訳，人数：**25名

**会議内容：**生薬に関する国際調和のための西太平洋地区会議の第13回常任委員会に参加した。7つのメンバー国より20名を超える代表が参加し，生薬に関する局方比較，生薬標準品及び植物製剤における安全性情報について重点的に議論された。

**会議名：**第59会期国連麻薬委員会

**出席者：**生薬部 花尻（木倉）瑠理



**開催場所, 時期:** ウィーン (オーストリア), 2016年3月14日~22日

**参加者内訳, 人数:** 麻薬委員会の委員国53カ国 (日本を含む) 及びその他関係諸国・地域の代表者, 約1,200名

**会議内容:** プレナリーや決議案審議 (10課題が提出) と並行して, 翌4月にニューヨークで開催された国連麻薬特別総会 (UNGASS) 成果文書の文言交渉が終日行われた。日豪が共同提出したNPS (危険ドラッグ) 及びATS (覚せい剤等) 対策に関する決議案は, 類似のNPS関連決議案2課題 (米及びベラルーシがそれぞれ提出) と一本化された。また, 日本は, 代替開発に関する決議案 (タイ提出) の提案国となった。その他, 麻薬, 覚せい剤, 大麻, 危険ドラッグ等に関する73にもおよぶサイドイベントが開催された。

**会議名:** ISO/TC 194 (医療機器の生物学的安全性) 総会

**出席者:** 医療機器部 新見伸吾, 宮島敦子, 中岡竜介, 加藤玲子

**開催場所, 時期:** ルンド (スウェーデン), 2015年6月8日~12日

**参加者内訳, 人数:** 日本, ドイツ, 米国, 英国, 韓国等13ヶ国以上, 約150名

**会議内容:** 今回はスウェーデンがホストとなったため, 会議はスウェーデン南部のルンドにあるMedicon Village内の会議施設で行われた。総会及び多数の関連WG会議が開催され, 医療機器及び材料の生物学的安全性評価に関する標準化作業が行われた。昨年度の三島会議で決議された通り, 全てのWGで担当する文書改訂を前提とした議論が行われた。WG 1では国内通知にも引用されているPart 1の改訂案が初めて公開されたため, その内容に対して各国から忌憚のない意見が飛び交い, 今後の改訂作業が難航することが予想された。他のWGでも活発な議論が行われ, 幾つかのWGでは翌年度米国で行われる総会までにWG会議やWeb会議による文書のブラッシュアップを行うこととなった。出席者も, 参加したWG全てで, 我が国の規制などを鑑みた積極的な意見交換を行い, 日本の考えを文書内に取り込んでもらえるよう活動を行った。

**会議名:** ISO/TC 150 (外科用インプラント) 総会及びISO/TC 150/SC 7 (再生医療機器) 会議

**出席者:** 医療機器部 新見伸吾, 中岡竜介, 迫田秀行

**開催場所, 時期:** ベルリン (ドイツ), 2015年9月14日~18日

**参加者内訳, 人数:** 日本, ドイツ, 米国, 英国, 韓国等18ヶ国, 約200名

**会議内容:** 会議では, 整形外科用インプラント, 循環器系医療機器, 電気駆動型医療機器等の植込み型医療機器に関する国際標準化文書作成のための発表及び討議が行われた。中岡はSC 7の国際幹事であるため, 前日の事前打合せ会議から参加した。SC 7では, 日本提案の多孔体生体活性セラミックスへの細胞侵入程度を評価する手法に関する標準化に向けての議論が行われ, さらに修正が必要との判断に至り, 成立までの期間を延長し, そのブラッシュアップ作業を継続することとなった。また, 日本からの新規提案が成立した染色による軟骨再生評価手法についても討議を行い, 今後の方針が決議された。タスクフォースによる原案作成作業が進められている「一般的要求事項」及び「用語集」に関しては, 前者はWG 1の案件として予備登録を行うこと, 引き続き新規提案に向けた議論をWeb会議で行うことなどが決議され, 後者は, 前者の作業を優先し, その正式な新規提案終了後, 活動を開始することが確認された。TC 150直下のWGや他のSCでも, 現在作成が進んでいる各種外科用インプラント関係の標準化作業が行われ, 数件の日本発提案についても活発な議論が行われた。人工関節骨頭衝撃試験法は, ドイツ提案手法も取り込むことで多数の賛成を得ることができたことから, 期限を延長し規格が成立する状況が整えられた。また, カスタムインプラントに関する標準化作業も, 更なる修正を加え, また適用範囲を限定することでその成立が見込まれる状況となった。これらの討議に出席者らは加わり, 活発な意見交換を行った。また, 近年, インプラント作製手法として導入されつつある三次元プリンタの状況を把握する目的で, 日本代表の一人がその標準化を行っているTC 261のLiaison officerに任命された。

**会議名:** 第47回コーデックス残留農薬部会

**出席者:** 食品部 根本了

**開催場所, 時期:** 北京 (中国), 2015年4月13日~18日

**参加者内訳, 人数:** 49加盟国, EU及び8国際組織から232名

**会議内容:** 食品中残留農薬の最大残留基準値 (MRL), 食品のコーデックス分類, マイナー作物等に係るMRL設定促進のためのガイダンス策定, 農薬に関するコーデックス優先リストの策定及び残留農薬分析法のパフォーマンスクライテリア (性能基準) の策定等について議論された。

**会議名:** 第22回コーデックス食品残留動物用医薬品部会

**出席者:** 食品部 坂井隆敏

**開催場所, 時期:** サンホセ (コスタリカ), 2015年4月27日~5月1日

**参加者内訳**、人数：62加盟国，EU及び11国際組織から226名

**会議内容**：「食品中に残留する動物用医薬品の最大残留基準値（MRL）及びリスク管理の勧告」，「はちみつ中の動物用医薬品のMRL設定に関する条項案」，「JECFAによる評価又は再評価を必要とする動物用医薬品の優先順位リスト案」など，食品中残留動物用医薬品のリスク管理に関する種々の議題について議論がなされた。

**会議名**：第37回コーデックス分析・サンプリング法部会  
**出席者**：食品部 渡邊敬浩

**開催場所**，**時期**：ブダペスト（ハンガリー），2016年2月22日～26日

**参加者内訳**，**人数**：47加盟国，EU及び17国際組織から154名

**会議内容**：特別用途食品を対象とするものを中心に，更新を含め約40の分析法が承認された。承認時には分析対象の明確化や分析法の汎用性が議論となった。Codex STAN 234の更新と多成分の和を求める分析法の性能規準設定に関する作業は継続となった。また，CAC/GL-54と50の改訂につながる作業を開始することとなった。

**会議名**：第48回コーデックス食品添加物部会

**出席者**：食品添加物部 佐藤恭子

**開催場所**，**時期**：西安（中国），2016年3月14日～18日

**参加者内訳**，**人数**：48加盟国，1加盟機関（EU），31国際機関

**会議内容**：コーデックス委員会（CAC）と他の委員会からの付託事項，コーデックス規格における食品添加物及び加工助剤の食品中の最大濃度の承認／改定，個別食品規格の食品添加物条項と食品添加物のコーデックス一般規格（GSFA）の関連条項の整合，食品分類01.2～08.4（食品分類04.1.2.4，04.2.2.4，04.2.2.5，04.2.2.6，05.1.1，05.1.3及び05.1.4を除く）の表1及び2の食品添加物条項，食品分類08.3.2，特に対応する個別食品規格に該当する製品におけるナイシン（INS 234）の使用，パブリカ抽出物（INS 160c（ii））の使用及び使用濃度，食品添加物条項の新規／改定の提案，食品分類01.1「乳及び乳飲料」及びそのサブカテゴリーの改定案の提案，ブドウ酒の製造における特定の食品添加物の使用に関する討議文書，JECFAによる評価のための食品添加物の優先リストへの追加及び変更の提案，副次的添加物に関する討議文書等が検討された。

**会議名**：第80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），2015年6月16日～25日

**参加者内訳**，**人数**：毒性等20名，規格等16名，事務局等7名の合計43名

**会議内容**：食品添加物ではステアリン酸マグネシウム，PVA-PEGグラフトコポリマー，各種酵素の安全性評価が行われ，添加物規格の作成や見直しが行われた。また，食品汚染物ではnon-dioxin-like PCBs及びピロリジジナルカロイドのリスク評価が行われた。

**会議名**：天然資源の開発利用に関する日米会議（UJNR）有害微生物専門部会

**出席者**：食品衛生管理部 五十君静信，朝倉宏

**開催場所**，**時期**：東京・長崎（日本），2016年1月25日～29日

**参加者内訳**，**人数**：日本，アメリカ 16名

**会議内容**：食品衛生に係わる有害微生物をテーマに，毎年日米交互に開催されており，今年度は第50回合同部会を東京で開催し，スタディーツアーでは長崎の食品および微生物に関連する施設を視察した。

**会議名**：第34回コーデックス魚類・水産製品部会（CCFFP）

**出席者**：安全情報部 登田美桜

**開催場所**，**時期**：オーレスン（ノルウェー），2015年10月19日～24日

**参加者内訳**，**人数**：49加盟国，1地域政府間機関，1国際機関

**会議内容**：第34回CCFFPでは「魚類及び水産製品に関する実施規範原案（フィッシュソースのセクション）」，「急速冷凍ホタテの実施規範原案」，「魚類及び水産製品に関する実施規範原案（チョウザメキャビアのセクション）」，「魚類及び水産製品に関する規格における食品添加物条項案」，「窒素係数に関する討議文書」，「ヒスタミンに関する討議文書」，「コーデックス魚類・水産製品部会の今後の活動について」等について討議を行い，ヒスタミンに関する議題を除いた全ての議題について最終合意をし，2016年総会での承認を諮ることとなった。今後CCFFPは基本的に休会とするが，例外的にヒスタミンについては新規課題としての承認を総会に諮り，承認後は電子作業部会にて議論するとともに必要に応じて物理的作業部会の開催の可能性も含むこととなった。

**会議名**：第2回工業用ナノ粒子及びナノテクノロジーの安全性にかかる国際会議/ナノソリューションズ国際諮問会議

**出席者：**毒性部 菅野純

**開催場所，時期：**ヘルシンキ（フィンランド），2015年4月7日～18日

**参加者内訳，人数：**約50名

**会議内容：**EUのFP7（Seventh Framework Programme）の一つであるNANOSOLUTIONSの概要説明に始まり，各研究分担班の成果発表を受け，それらに対する問題点，及び，今後の研究の方向性に関するコメントを，国際アドバイザーとして，他国からの国際アドバイザー7名と共に提示した。また，アドバイザー及び研究分担者との意見・情報交換を行った。

**会議名：**第29回OECD GLP作業部会（OECD 29th Meeting of the Working Group on GLP）

**出席者：**毒性部 山本雅也

**開催場所，時期：**パリ（フランス），2015年4月16日～17日

**参加者内訳，人数：**OECD加盟国，試験結果相互受け入れ制度参加非加盟国，オブザーバー参加国 約50名

**会議内容：**2013年現地評価訪問報告，2014年現地評価訪問計画，GLP原則及びそれに関連する規定文書等に基づく必要な規定類の整備，各国のGLP適合施設に係る情報交換，査察官のトレーニングコースの実施結果，計画等について議論を行った。

**会議名：**ナノマテリアル暴露による免疫毒性にかかるリスク評価のためのWHO/IPCS環境保健クライテリア文書に関する会議

**出席者：**毒性部 菅野純

**開催場所，時期：**ビルトホーフエン（オランダ），2015年4月8日～9日

**参加者内訳，人数：**14名

**会議内容：**頭記文書の発行に向け，内容の概要確認，各章の分担執筆者の選定，原稿の取り扱い，予定脱稿日に関する決定を行った。

**会議名：**第8回OECD分子スクリーニングとトキシコゲノミクス拡大アドバイザーグループ会合（the 8th Meeting of the Extended Advisory Group on Molecular Screening）

**出席者：**毒性部 菅野純

**開催場所，時期：**パリ（フランス），2015年6月16日～19日

**参加者内訳，人数：**40名（OECD加盟国，NIEHS，関連利益団体等（BIAC，JRC，ICAPO，NGOs，etc））

**会議内容：**OECD/IPCSにおいて組織された分子スクリーニングとトキシコゲノミクス拡大アドバイザーグ

ループ会合に出席した。化学物質の毒性影響が発現するまでの過程（AOP）の知見に基づく手法開発の進捗報告，ワークプランの提案のレビューと承認等が行われた。

**会議名：**OECD吸入試験ガイドライン改定専門家会議

**出席者：**毒性部 菅野純

**開催場所，時期：**ワシントン（米国），2015年9月20日～24日

**参加者内訳，人数：**40名（OECD加盟国，EC，US/EPA，関連利益団体等（ECETOC，BIAC，ICAPO，etc））

**会議内容：**ナノ材料の吸入試験ガイドライン及びガイダンスのための論議が進められた。まず，肺胞洗浄（BAL）の実現可能性実験（Feasibility study）について，必須測定項目と推奨測定項目の選定を含めて論議された。次に，肺及び他臓器の負荷量（burden）の分析に関する実現可能性実験の内容について論議された。さらに，TG413及びTG412の改定に関する論議が行われた。最後の改定の論点に関しては，BAL，肺負荷量測定との組み合わせ方，回復群にも同様の測定を行うか否か，などが問題となった。通常のカス状検体に対する吸入毒性試験のために用意されたプロトコルの範囲で確保される動物数に対して，測定項目数が相当数増加することから，一匹の肺を左右或いは肺葉に分けて測定項目増に対応する案や，実質的にカス状検体の2回分の実験を行う案が提示され，結論は持ち越された。

**会議名：**内分泌かく乱化学物質の試験及び評価に関する第五回アドバイザーグループ会合（the 5th Meeting of the Advisory Group on Endocrine Disrupter Testing and Assessment（EDTA /AG））

**出席者：**毒性部 菅野純

**開催場所，時期：**パリ（フランス），2015年10月7日～10日

**参加者内訳，人数：**40名（OECD加盟国，EC，US/EPA，関連利益団体等（ECETOC，BIAC，ICAPO，etc））

**会議内容：**内分泌かく乱化学物質の試験及び評価に関するテストガイドライン作成を目的として，OECD/WNT（Working Group of the National Coordinators for the Test Guidelines）の提言を受けて開催された内分泌かく乱化学物質の試験及び評価に関する第四回アドバイザーグループ会合にビューローとして招聘された。ヒト健康影響に関する現状と展望を報告，OECDガイダンスドキュメントの作成方針，内分泌かく乱化学物質の評価のためのAOPについて論議を重ねた。

**会議名：**81st Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives（JECFA）（第81回FAO/WHO合同食品添加

物専門家会議－動物用医薬品)

出席者：病理部 小川久美子

開催場所，時期：ローマ（イタリア），2015年11月17日～26日

参加者内訳，人数：計31名（米国・イタリア各6名，カナダ5名，フランス・スイス・オーストラリア・ブラジル各2名，英国・スペイン・オランダ・ドイツ・韓国・日本各1名）

会議内容：FAOで開催された第81回FAO/WHO合同食品添加物専門家会議－動物用医薬品部会に出席し，新規1剤，再評価3剤およびJMPRにて審議済みであり，新たに動物用医薬品として審査する2剤について議論し，1日許容摂取量（ADI）の設定と急性参照用量（ARfD）設定の必要性の討議ならびにレポートの作成等に参加した。

会議名：日米EU医薬品規制調和国際会議（ICHジャクソンビル会議）

出席者：病理部 小川久美子

開催場所，時期：ジャクソンビル（米国），2015年12月7日～10日

参加者内訳，人数：SIへの参加者は17名（日本6名，米国5名，EU 3名，カナダ・スイス・韓国各1名），全体は150名以上

会議内容：ハイアットリージェンシー・ジャクソンビルリバーフロントホテルにて開催された，日米EU医薬品規制調和国際会議のヒト医薬品のげっ歯類を用いたがん原性試験の改訂に関する専門家・実施作業部会に参加し，実施中の2年間ラットがん原性試験の省略に関するがん原性評価文書について意見交換し，今後の方針について議論した。

会議名：IARC（International Agency for Research on Cancer：国際がん研究機関）評価書115巻ワーキンググループ

出席者：病理部 小川久美子

開催場所，時期：リヨン（フランス），2016年2月2日～9日

参加者内訳，人数：計31名（メンバー+専門家25名：米国13名，日本3名，英国2名，オランダ2名，ドイツ・チェコ・ポルトガル・オーストラリア・フランス各1名，オブザーバー6名：ベルギー2名，米国・トルコ・イスラエル・フランス各1名）

会議内容：IARCで開催された評価書115巻-工業化合物等に関するがん原性評価ワーキンググループに出席し，7物質のヒトへのがん原性ハザード評価に参加した。動物発がんデータのサブグループに所属し，議論に参画す

るとともに担当1物質についてモノグラフ草稿およびサマリーの作成を行った。

会議名：健康環境科学研究所（HESI）が主催する遺伝毒性試験委員会（GTTC）の会議

出席者：変異遺伝部 本間正充，増村健一

開催場所，時期：ワシントンDC（米国），2015年4月13日～16日

参加者内訳，人数：60名

会議内容：遺伝毒性試験において各国共通の問題となっている定量的評価，既存試験データ評価法，ナノ物質の遺伝毒性評価，新たな遺伝毒性評価戦略，生殖細胞遺伝毒性評価法について議論を行った。

会議名：第10回(Q)SARアプリケーション・ツールボックス・マネジメント・グループ会議

出席者：安全性予測評価部 小野敦

開催場所，時期：パリ（フランス），2015年6月10日～11日

参加者内訳，人数：OECD加盟国，欧州化学物質庁，50名

会議内容：OECD QSARアプリケーション・ツールボックスの今後の開発方針や現在の開発状況について議論を行った。次期バージョンにおいてデータベースやプロファイラーの信頼性スコアを付与する計画について，信頼性の判断基準について引き続き検討することとなった。関連して，新たにデータ提供があったデータについて，信頼性について検討すべきとの意見があった。新たな機能として解析ワークフローを自動実行する機能について説明がされた。新たな登録データベースの提案として，ECHAよりDrugBankの構造式とウェブリンクの登録が提案され合意された。事務局からTFHAにおける新たなプロジェクトであるIATAケーススタディプロジェクトにおいて，今後，Toolboxを使ったケーススタディ作成を共同で進めたいとの提案が行われた。

会議名：第13回OECD-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非動物試験検証管理グループ会議

出席者：安全性予測評価部 小野敦

開催場所，時期：ブタペスト（ハンガリー），2015年12月1日～3日

参加者内訳，人数：OECD加盟国30名

会議内容：第13回VMG-NA会合において，各国で進められている内分泌かく乱物質のin vitro評価法のバリデーション試験の進捗やガイドライン案及び関連する最新動向について議論を行った。我が国から提出したAR

STTA (AR Ecoscreen) のバリデーションレポート及びガイドライン案に対する第1回目のWNTコメントへの対応案について議論が行われ、合意内容に従う修正案を第2回のコメント募集のためWNTに提出することとなった。オランダより提案されたER CALUXアッセイについて、TG455への追加に合意を得た。その他、韓国で進められているARアッセイのバリデーション進捗状況、被験物質の溶解性の取扱を含むin vitroアッセイの基本方針ガイダンスの作成状況等について議論された。

**会議名：**第27回OECDテストガイドラインナショナルコーディネーター会議 (WNT-27)

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇

**開催場所、時期：**パリ (フランス), 2015年4月14日～17日

**参加者内訳、人数：**OECD加盟国の代表, OECD職員約30名

**会議内容：**日本から提案していた眼刺激試験代替法STE法、内分泌かく乱スクリーニングER-STTA (改訂TG455) がテストガイドラインとして、形質転換試験Bhas法がガイダンスとして承認された。

**会議名：**欧州動物実験代替法評価センター第41回科学諮問会議

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇

**開催場所、時期：**イスプラ (イタリア), 2015年5月6日～7日

**参加者内訳、人数：**欧州の毒性試験専門家および欧州動物実験代替法評価センター EURL ECVAM職員 約20名

**会議内容：**EURL ECVAMが作成を進めているバリデーションガイダンスに関するワークショップに参加した。

**会議名：**OECD生体内変化専門家会議

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇, 薬理部 石田誠一  
**開催場所、時期：**パリ (フランス), 2015年5月11日～12日

**参加者内訳、人数：**OECD加盟国の代表, OECD職員約10名

**会議内容：**欧州動物実験代替法評価センター EURL ECVAMが提案した肝酵素活性誘導試験のTG案について議論した。

**会議名：**OECD第8回ハザードタスクフォース及び分子スクリーニング及びトキシコゲノミクス諮問委員会会議

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇, 広瀬明彦

**開催場所、時期：**パリ (フランス), 2015年6月16～18

日

**参加者内訳、人数：**OECD加盟国の代表, OECD職員約30名

**会議内容：**日本から提案した方法も含む種々の試験法に関するAOP (有害性作用機構) について、各国の研究者と意見交換及び情報収集した。

**会議名：**動物実験代替法のバリデーション管理に関する国際ワークショップ

**出席者：**センター長 西川秋佳, 安全性予測評価部 小島肇

**開催場所、時期：**済州島 (韓国) 2015年6月23日

**参加者内訳、人数：**各国のバリデーションセンター代表約10名

**会議内容：**韓国動物実験代替法評価センター (KoCVAM) が韓国の代替法に関する動向を発表し、バリデーションの進め方について議論した。

**会議名：**日米代替法評価センター協力会議

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇

**開催場所、時期：**ノースカロライナ (米国), 平成27年9月30日

**参加者内訳、人数：**NICEATM職員 2名

**会議内容：**日米の代替法センターの現状が報告され、課題などについて話し合った。

**会議名：**OECD眼刺激性・腐食性専門家会議

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇

**開催場所、時期：**パリ (フランス), 平成27年11月10日～11日

**参加者内訳、人数：**OECD加盟国の眼刺激性/腐食性試験専門家, OECD職員 約20名

**会議内容：**鶏摘出眼球試験のテストガイドライン (TG438) の改訂および眼刺激性試験代替法の組合せに関する議題について検討した。これらの議題とは無関係であるが、事務局に依頼して日本の活動を紹介できた。

**会議名：**代替法国際協調会議

**出席者：**安全性予測評価部 小島肇

**開催場所、時期：**イスプラ (イタリア), 平成27年11月12日～13日

**参加者内訳、人数：**OECD加盟国の形質転換専門家, OECD職員 約20名

**会議内容：**これまでの日米欧加韓の専門家に加え、今回より中国とブラジルの関係者も参加していた。各国より昨今の動向が報告されるとともに、新たな覚書の調印について意見交換がなされた。

会議名：第5回動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議 (VICH)

出席者：安全性予測評価部 小島肇

開催場所，時期：東京（日本），平成27年10月27日～29日

参加者内訳，人数：VICH各国の代表 約100名

会議内容：セッション5：動物用医薬品の試験法における動物福祉の寄与にて，Message from JSAAE and JaCVAM on international organizationsという演題で発表した。

会議名：OECD皮膚感作性専門家会議

出席者：安全性予測評価部 小島肇

開催場所，時期：パリ（フランス）平成27年10月14日～15日

参加者内訳，人数：OECD加盟国の皮膚感作性試験専門家，OECD職員 約20名

会議内容：日本からOECDに提案している皮膚感作性試験代替法h-CLATおよびIL-8Luc アッセイが専門家会議で議論された。h-CLATについてはテストガイドライン案についても検討された。結果として，h-CLATガイドライン案は専門家間で合意を得ることができた。

会議名：JaCVAM顧問会議

出席者：安全性予測評価部 小島肇

開催場所，時期：東京（日本），平成28年1月21日

参加者内訳，人数：JaCVAM顧問委員，運営委員 約20名

会議内容：平成27年度のJaCVAMの活動を顧問会議で報告し，意見および助言を頂いた。

会議名：日米EU医薬品規制調和国際会議 (Q3D EWG)

出席者：安全性予測評価部 広瀬明彦

開催場所，時期：ストラスブール（フランス），2015年5月31日～6月6日

参加者内訳，人数：EU, EFPIA, FDA, PhRMA, PMDA, NIHS, JPMA, IPEC, EFTA, WHO, Health CANADAなど 約30名 (Q3D参加者のみ)

会議内容：日米EU医薬品規制調和国際会議で，医薬品の金属不純物についてのガイドライン作成に関するQ3D専門家会合に参加し討議に加わった。全部で9つのモジュール／ドキュメントを作成する計画のうち，7つのトレーニング用モジュールについては，ほぼ最終化することができた。残りのケーススタディドキュメント及びFAQドキュメントについては，追加作業が必要となり，今後，2週毎の電話会議を行って2015年第3四半期に全部のモジュールを完成させることとなった。

会議名：第1回OECD IATAケーススタディプロジェクト会議

出席者：安全性予測評価部 広瀬明彦，山田隆志

開催場所，時期：パリ（フランス），2015年11月19日～20日

参加者内訳，人数：OECD加盟国，産業界，欧州化学物質庁，約20名

会議内容：フランス・パリ（OECD事務局）において開催されたOECDの第6回OECD化学物質共同評価会議に参加し，我が国から提出された6物質に対する評価文書案に対するの合意を得た他，OECD加盟各国から提出された高生産量化学物質を中心とした化学物質評価文書案について討議に参加した。フランス国・パリ市において開催されたOECD第1回IATAケーススタディプロジェクト会議に参加し，日本が担当したIATAケーススタディレポート2報とカナダが担当したレポート2報について，加盟国の専門家からのコメントに対応した修正案を検討し，最終化を行うと共に，今後OECDとして化学物質のカテゴリー評価におけるIATA評価レポートの有用性や，評価ガイダンスを作成する際に必要な事項について討議を行った。AOPを用いた評価や不確実性を加味した評価の重要性が認識された。今後も引き続き，ケーススタディによる事例の蓄積を行って行くため，次年度に加盟国（日本も含む）から提案されるケーススタディの紹介や，日本の既存化学物質点検物質リストを基に，加盟国との共同作業を行うための提案を行った。

会議名：OECD第15回工業用ナノ材料作業部会本会議とリスク評価・レギュラトリプログラムグループおよび試験評価法グループ会合

出席者：安全性予測評価部 広瀬明彦，生活衛生化学部 小林憲弘

開催場所，時期：パリ（フランス），2015年11月2日～6日

参加者内訳，人数：OECD加盟国，欧州委員会および産業界からの代表，OECD事務局，約100名

会議内容：本会議に先立って行われたグループ会合では，OECDスポンサーシッププログラムの一環として行ってきた工業ナノ材料の安全性の試験と評価に関して，5つのナノ材料（フラーレン，単層カーボンナノチューブ，多層カーボンナノチューブ，二酸化ケイ素および酸化亜鉛）のドシエの要約文書が秘匿解除に向けた手続きに進むことが了承された。また，本会議では，2017-2020の作業計画について議論が行われ，リスク評価や曝露評価の重要性とともに試験法のガイドライン開発や改定作業の優先度について議論が行われた。

会議名：第8回OECDハザードタスクフォース会合

出席者：安全性予測評価部 広瀬明彦

開催場所，時期：パリ（フランス），2015年6月15日～16日

参加者内訳，人数：OECD加盟国，産業界，欧州化学物質庁，約20名

会議内容：フランス・パリ（OECD事務局）において開催された。OECDハザードタスクフォース会議に参加し，加盟各国で行っている化学物質共同評価プログラムの中で今年から始まった包括的試験及び評価手法（IATA）におけるケースステディプロジェクト活動において日本の新規提案を行い，多くの国からの賛同が得られた。

## 各審議会、委員会等について

## Committee Members List in Fiscal Year 2015

## ○厚生労働省

## 薬事・食品衛生審議会

## 薬事分科会

日本薬局方部会：川西徹

医薬品第一部会：奥田晴宏，内藤幹彦

血液事業部会安全技術調査会：内田恵理子

医療機器・体外診断薬部会：新見伸吾，石井明子

医薬品再評価部会：新見伸吾

再生医療等製品・生物由来技術部会：佐藤陽治，新見伸吾

動物用組換えDNA技術応用医薬品調査会：新見伸吾，五十君静信

要指導・一般用医薬品部会：阿曾幸男

化粧品・医薬部外品部会：栗原正明，西川秋佳

医薬品等安全対策部会：新見伸吾

医療機器・再生医療等製品安全対策部会：内田恵理子，新見伸吾

指定薬物部会：花尻（木倉）瑠理，関野祐子

毒物劇物部会：栗原正明

取扱技術基準等調査部会：森田健

毒物劇物調査会：栗原正明，森田健，高橋祐次，石田誠一

## 化学物質安全対策部会

化学物質調査会：西川秋佳，菅野純，高木篤也，小川久美子

PRTR対象物質調査会：森田健，菅野純

家庭用品安全対策調査会：畝山智香子，高木篤也

動物用医薬品等部会：袴塚高志，西川秋佳

動物用一般用医薬品調査会：袴塚高志

動物用医薬品残留問題調査会：根本了

## 食品衛生分科会

食品規格部会：寺嶋淳，春日文子，小川久美子

食中毒部会：五十君静信，野田衛，寺嶋淳

乳肉水産食品部会：野田衛，寺嶋淳

添加物部会：穂山浩，杉本直樹，小川久美子

農薬・動物用医薬品部会：根本了

器具・容器包装部会：六鹿元雄

新開発食品調査部会遺伝子組換え食品等調査会：五十君静信

## 厚生科学審議会

## 再生医療等評価部会

遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会：内田恵理子

平成27年度厚生労働省獣医系技術職員採用試験問題（専門）作成委員：五十君静信，寺嶋淳，大西貴弘，工藤由起子，春日文子，窪田邦宏，北嶋聡，高橋祐次

皮膚適用製剤生物学的同毒性試験ガイドライン検討委員会：香取典子，坂本知昭

水道水質検査精度管理検討会：久保田領志，小林憲弘

水質基準逐次改正検討会：広瀬明彦

水道水質検査法検討会：小林憲弘

水道における微生物問題検討会：小林憲弘

化学物質安全性評価委員会：宇佐見誠，梅村隆志，安井学，杉山圭一，増村健一，広瀬明彦，小野敦

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：山本雅也，宇佐見誠，梅村隆志，本間正充，杉山圭一，増村健一，山田雅巳，広瀬明彦，小野敦

家庭用品専門家会議：五十嵐良明，森田健，高木篤也

化学物質GLP評価会議：西川秋佳，宇佐見誠，梅村隆志，本間正充，山田雅巳，小野敦

化審法施行状況検討会：菅野純，本間正充，広瀬明彦

化審法GLP査察官：山本雅也，増村健一，杉山圭一，山田雅巳，安井学，堀端克良，小野敦

医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議：西川秋佳

次世代医療機器評価指標検討会：佐藤陽治，新見伸吾

次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成審査ワーキンググループ事務局：佐藤陽治，澤田留美，河野健，新見伸吾，龍島由二，植松美幸，宮島敦子，中岡竜介，迫田秀行，加藤玲子

日本薬局方外生薬規格検討委員会：合田幸広，袴塚高志，丸山卓郎

医薬部外品原料規格検討委員会：五十嵐良明，坂本知昭

依存性薬物検討会：花尻（木倉）瑠理，関野祐子

放射性医薬品基準改正検討委員会：阿曾幸男，蜂須賀暁子

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，袴塚高志，西川秋佳，関野祐子，小川久美子

医薬品添加物規格検討委員会：阿曾幸男，坂本知昭

偽造医薬品・指定薬物対策推進会議：奥田晴宏，花尻（木倉）瑠理

食品添加物安全性評価検討会：佐藤恭子，西川秋佳，菅野純，関野祐子，小川久美子，本間正充，広瀬明彦

残留農薬等公示分析法検討会：穂山浩，根本了，坂井隆敏

残留農薬等分析法検討会：穂山浩，根本了，坂井隆敏，志田（齊藤）静夏，菊地博之

加工食品中の残留農薬等分析法検討会：根本了，坂井隆敏

食品用器具及び容器包装の規制のあり方に係る検討会：穂山浩，六鹿元雄，合田幸広，広瀬明彦

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：本間正充，山田雅巳  
 安衛法GLP査察専門家：梅村隆志，山田雅巳，小野敦  
 化学物質のリスク評価検討会：西川秋佳  
 殺虫剤指針等検討委員会：坂本知昭，秋山卓美，西川秋佳，小川幸男  
 有害性評価小検討会：西川秋佳，  
 ナノ医薬品に関する勉強会：川西徹，奥田晴宏，合田幸広，加藤くみ子  
 今後の化学物質管理政策に関する検討会：広瀬明彦  
 総合衛生管理製造過程に関する評価検討会：五十君静信，工藤由起子  
 発がん性評価ワーキンググループ：西川秋佳，小川久美子  
 シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会：酒井信夫，西川秋佳，広瀬明彦  
 健康危機管理調整会議：春日文子  
 食品製造におけるHACCPによる衛生管理のための調査及び手引作成事業に係る提案書技術審査委員会：五十君静信  
 遺伝毒性評価ワーキンググループ：本間正充，山田雅巳  
 GHS分類検討委員会：森田健  
 リスク評価のための有害性評価委員会：小川久美子，曹永晩，山田雅巳  
 厚生労働科学研究「医薬品等規制調和・評価研究事業」「地球規模保健課題解決推進のための研究事業」事前評価委員会委員：川西徹  
 国産医療機器創出促進基盤整備等事業評価委員会構成員：新見伸吾  
 国民が受ける医療の質の向上のための医療機器の研究開発及び普及の促進に関する協議のためのワーキンググループ：新見伸吾  
 国立保健医療科学院薬事衛生管理研修運営委員会委員：香取典子，坂本知昭，小出達夫，中岡竜介，植松美幸  
 国立保健医療科学院食肉衛生検査研修運営委員会：五十君静信，岡田由美子  
 国立保健医療科学院食品衛生監視指導研修・食品衛生危機管理研修合同運営委員会：五十君静信，大城直雅，百瀬愛佳，上間匡，寺嶋淳  
 国立保健医療科学院健康危機管理情報支援事業運営実行委員会：春日文子，窪田邦宏  
 個人輸入・指定薬物等に係るホームページを活用した広報業務に係る提案書技術審査委員会：花尻（木倉）瑠理  
 変異原性試験等結果検討委員候補者：西川秋佳，本間正充，山田雅巳，杉山圭一  
 がん原性試験指針検討委員候補者：西川秋佳

## ○人事院

国家公務員採用 I 種試験（理工Ⅳ）試験専門委員：内藤幹彦  
 国家公務員採用 I 種試験（薬学）試験専門委員：佐藤陽治

## ○内閣府

日本学術会議連携会員：関野祐子，菅野純，春日文子  
 食品安全委員会  
 添加物専門調査会：梅村隆志，山田雅巳，穂山浩，宇佐見誠，佐藤恭子，高須伸二  
 栄養成分関連添加物WG：合田幸広，梅村隆志，高須伸二  
 農薬専門調査会：森田健，西川秋佳，高木篤也，井上薫，本間正充，増村健一，小野敦  
 動物用医薬品専門調査会：小川久美子  
 器具・容器包装専門調査会：六鹿元雄，小野敦  
 汚染物質等専門調査会：増村健一，齋藤嘉朗  
 加熱時に生じるアクリルアミドワーキンググループ：増村健一  
 微生物・ウイルス専門調査会：野田衛，工藤由起子，大西貴弘  
 かび毒・自然毒等専門調査会：合田幸広，渡辺麻衣子，杉山圭一  
 遺伝子組換え食品等専門調査会：岡田由美子，近藤一成  
 新開発食品専門調査会：本間正充，佐藤恭子  
 肥料・飼料等専門調査会：宮島敦子，山田雅巳  
 「動物用再生医療等製品のリスク評価ガイドライン案を検討するための基礎的調査」検討会委員：佐藤陽治  
 いわゆる「健康食品」に関する検討ワーキンググループ：合田幸広，齋藤嘉朗  
 消費者委員会  
 食品表示部会：安達玲子  
 新開発食品調査部会新開発食品評価第一調査会：佐藤恭子  
 高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループ：梅村隆志  
 化学物質の安全管理に関するシンポジウム実行委員会：菅野純  
 次世代医療機器開発推進協議会：奥田晴宏  
 基礎医学委員会  
 IUPS分科会：関野祐子  
 薬学委員会  
 食料科学委員会・基礎医学委員会・薬学委員会合同トキシコロジー分科会：関野祐子  
 研究・調査企画会議プログラム評価部会：川西徹

## ○消費者庁

機能性表示食品制度における機能性関与成分の取扱い等に関する検討会：合田幸広

## ○環境省

中央環境審議会

環境保健部会：西川秋佳, 菅野純

化学物質審査小委員会, 水銀に関する水俣条約対応検討小委員会及び化学物質評価専門委員会委員：菅野純

水環境部会：西川秋佳

環境基準健康項目専門委員会：広瀬明彦

平成27年度非食用農作物専用農薬安全性評価検討会：平林容子

ダイオキシン類環境測定調査受注資格審査検討会：堤智昭

平成27年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会：西川秋佳

大気経路農薬暴露吸入毒性部会委員：小川久美子

平成27年度新規POPs等研究会：広瀬明彦

ナノ材料の環境影響評価に関する検討委員会：広瀬明彦

東京電力福島第一原子力発電所事故に伴う住民の健康管理のあり方に関する専門家会議：春日文子

環境測定分析検討会 統一精度管理調査部会：小林憲弘

水環境におけるリスク管理に関する検討会：小林憲弘

## ○原子力規制庁

帰還に向けた安全・安心対策に関する検討チーム：春日文子

## ○農林水産省

農業資材審議会

飼料分科会：佐藤恭子, 北嶋聡

飼料安全部会：佐藤恭子, 北嶋聡

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：新見伸吾, 五十君静信

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13条第1項の規定に基づく拡散防止措置の確認に先立ち意見を聞く学識経験者：新見伸吾, 五十君静信

レギュラトリーサイエンス新技術開発事業審査委員会：合田幸広, 五十君静信

平成27年度委託プロジェクト研究「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」運営委員：五十君静信

平成27年度委託プロジェクト研究「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」審査委員：五十君静信

データ収集技術等小委員会：渡邊敬浩

獣医事審議会：春日文子

農業と生物機能の高度利用による新価値創造に関する研究会：石井明子

動物用再生医療等製品の安全性試験等開発事業検討委員会委員：佐藤陽治

## ○経済産業省

日本工業標準調査会標準部会医療用具技術専門委員会：新見伸吾

試薬JIS改正原案作成委員会：坂本知昭, 佐藤恭子  
分析化学用語（分析機器部門）改正原案作成委員会：坂本知昭

JIS K 0117赤外分光分析方法通則改正原案作成委員会：坂本知昭

「ナノ材料の安全・安心確保のための国際先導的安全評価技術の開発」プロジェクト推進委員会：広瀬明彦

ナノ物質の管理に関する検討会リスク評価WG：広瀬明彦

化審法リスク評価におけるQSAR等の活用検討会：広瀬明彦, 小野敦

化審法のスクリーニング評価に関する検討会：森田健, 広瀬明彦, 小野敦

相談員制度の運用に係る実務者会合：春日文子

## ○文部科学省

科学技術・学術審議会：春日文子

総合政策特別委員会：春日文子

研究計画・評価分科会：春日文子

地球観測推進部会：春日文子

平成27年度学校給食表彰における被表彰者の審査委員：春日文子

## ○国土交通省

固体ばら積み貨物査定検討ワーキンググループ委員：森田健

## ○独立行政法人医薬品医療機器総合機構

運営評議会：川西徹

審査・安全業務委員会：川西徹

日本薬局方原案審議委員会総合委員会：川西徹, 奥田晴宏, 合田幸広, 袴塚高志, 菊池裕, 栗原正明

総合小委員会：川西徹, 奥田晴宏, 合田幸広, 伊豆津健

一、香取典子、坂本知昭、袴塚高志、栗原正明  
日本薬局方原案審議委員会標準品委員会：香取典子、加藤くみ子、石井明子  
化学薬品委員会(1)：奥田晴宏、合田幸広、香取典子、加藤くみ子、小出達夫、出水庸介  
化学薬品委員会(2)：奥田晴宏、合田幸広、坂本知昭、花尻(木倉)瑠理  
製法問題小委員会：川西徹、奥田晴宏、合田幸広、阿曾幸男、香取典子、石井明子、袴塚高志  
試薬検討会(化学1)：奥田晴宏  
抗生物質委員会：香取典子  
生薬等A委員会：袴塚高志、丸山卓郎  
生薬等B委員会：合田幸広、袴塚高志  
製剤委員会：川西徹、伊豆津健一、柴田寛子、加藤くみ子  
製剤WG：伊豆津健一  
Inhalation WG：吉田寛幸  
国際調和検討委員会：川西徹、奥田晴宏、菊池裕  
理化学試験法委員会：加藤くみ子、花尻(木倉)瑠理、杉本直樹  
理化学試験法委員会近赤外WG：坂本知昭  
理化学試験法委員会クロマトグラフィーWG：香取典子、花尻(木倉)瑠理  
JIS K8005原案作成委員会：香取典子、坂本知昭  
生物薬品委員会：石井明子、日向昌司、原園景、内田恵理子、橋井則貴、多田稔  
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：奥田晴宏、合田幸広、栗原正明、出水庸介、正田卓司、中野達也、橋井則貴、志田(齊藤)静夏  
生物試験法委員会：菊池裕、窪崎敦隆  
無菌製剤関連情報WG：菊池裕  
物性試験法委員会：阿曾幸男、宮崎玉樹  
医薬品一般名称に係る専門協議：奥田晴宏、橋井則貴、内田恵理子、栗原正明、正田卓司、大野彰子、中野達也、小島肇、石井明子  
GLP専門協議委員：新見伸吾、西川秋佳、高木篤也、小川久美子、本間正充、広瀬明彦  
医療機器承認基準等審議委員会：鈴木孝昌、靛島由二  
日本薬局方溶出試験WG：伊豆津健一  
専門委員：川西徹、奥田晴宏、合田幸広、香取典子、阿曾幸男、宮崎玉樹、伊豆津健一、柴田寛子、坂本知昭、小出達夫、加藤くみ子、吉田寛幸、石井明子、橋井則貴、鈴木琢雄、原園景、多田稔、日向昌司、袴塚高志、丸山卓郎、花尻(木倉)瑠理、佐藤陽治、三浦巧、安田智、内田恵理子、鈴木孝昌、新見伸吾、靛島由二、中岡竜介、志田(齊藤)静夏、佐藤恭子、杉本直樹、菊池裕、栗原

正明、大野彰子、出水庸介、正田卓司、齋藤嘉朗、中野達也、西川秋佳、菅野純、平林容子、小川幸男、高木篤也、小川久美子、梅村隆志、関野祐子、本間正充、山田雅巳、小島肇、小野敦、森田健  
科学委員会委員：西川秋佳  
科学委員会専門部会：合田幸広、佐藤陽治、新見伸吾

#### ○国立研究開発法人・独立行政法人

国民生活センター商品テスト分析・評価委員会：合田幸広  
農業・食品産業技術総合研究機構「戦略的イノベーション創造プログラム次世代農林水産業創造技術」書類審査専門委員：五十君静信  
革新的技術創造促進事業(異分野融合共同研究)工学との連携による農林水産物由来の物質を用いた高機能性素材等の開発専門委員：広瀬明彦  
物質・材料研究機構生体材料研究センターVAMAS・TEMPS国内委員会：靛島由二  
放射線医学総合研究所内部評価委員会業務運営評価部会：春日文子  
科学技術振興機構総括実施型研究における研究領域の選定及び研究総括の指定に係る調査等：関野祐子  
科学技術振興機構先端計測分析技術・機器開発推進委員会(放射線計測領域分科会)委員：松田りえ子  
科学技術振興機構健康健康研究成果の実用化加速のための研究・開発システム関連の隘路解消を支援するプログラム推進委員会委員：川西徹  
科学技術振興機構先産学共同実用化開発事業評価委員会専門委員：松田りえ子  
日本学術振興会科学研究費委員会：石井明子、内山奈穂子、植松美幸、内藤幹彦、齋藤嘉朗、関野祐子、諫田泰成  
日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員及び国際事業委員会書面審査員：内田恵理子、最上知子  
日本学術振興会産学協力研究委員会第182委員会：坂本知昭  
大学共同利用機関法人情報システム研究機構経営評議会：春日文子  
大学評価・学位授与機構国立大学教育評価委員会専門委員：関野祐子  
日本スポーツ振興センター平成27年度食中毒防止に関する実態調査委員会：寺嶋淳、春日文子  
国立成育医療研究センター共同研究員：三浦巧  
医薬基盤・健康・栄養研究所運営評議会：川西徹  
医薬基盤・健康・栄養研究所人事委員会外部委員：川西徹  
医薬基盤・健康・栄養研究所基盤の研究等外部評価委員：

川西徹

医薬基盤・健康・栄養研究所医薬推進研究評価委員会専門委員：奥田晴宏，佐藤陽治，鈴木孝昌，内田恵理子

医薬基盤・健康・栄養研究所実用化研究評価委員会専門委員：奥田晴宏，佐藤陽治，内田恵理子

医薬基盤・健康・栄養研究所霊長類医科学研究センター共同利用施設運営委員会：菅野純

医薬基盤・健康・栄養研究所医薬推進研究評価委員会：川西徹，薮島由二

産業技術総合研究所ナノ材料の安全・安心確保のための国際先導的安全評価技術の開発推進委員会：菅野純

産業技術総合研究所ナノテクノロジー標準化国内審議委員会委員：菅野純

産業技術総合研究所NEDO技術委員：関野祐子

製品評価技術基盤機構製品からのVOC等放散事故原因究明技術強化委員会：酒井信夫

新エネルギー・産業技術総合開発機構NEDO「次世代機能代替技術の研究開発」事後評価委員：佐藤陽治

新エネルギー・産業技術総合開発機構NEDO評価委員：小島肇

新エネルギー・産業技術総合開発機構国際基準化に向けた心毒性評価法確立のための細胞製造・計測技術の開発のプロジェクトリーダー：関野祐子

新エネルギー・産業技術総合開発機構分野横断的公募事業に係る事前書面審査員（ピアレビュー）：小島肇

日本医療研究開発機構医薬推進研究評価委員会委員：川西徹

日本医療研究開発機構再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業（再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システム）運営委員会委員：佐藤陽治

日本医療研究開発機構革新的先端研究開発支援事業「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域の評価委員：最上知子

日本医療研究開発機構革新的先端研究開発支援事業「人口多能性幹細胞（iPS細胞）作製・制御等の医療基盤技術」研究開発領域評価委員：関野祐子

日本医療研究開発機構未来医療を実現する医療機器・システム研究開発事業プログラムオフィサー：佐藤陽治

日本医療研究開発機構再生医療の実現化ハイウェイ課題運営委員会委員：佐藤陽治

日本医療研究開発機構再生医療実現拠点ネットワークプログラム研究開発課題評価委員会外部専門家：佐藤陽治

日本医療研究開発機構医療機器開発推進研究事業専門委員：佐藤陽治

国立環境研究所平成27年度環境リスク評価委員会曝露評価分科会：堤智昭

国立環境研究所平成27年度有害大気汚染物質の健康リス

ク評価手法等に関する検討会：広瀬明彦

#### ○国際機関

FAO / WHO 合同食品規格計画（コーデックス委員会）食品添加物部会（CCFA）：佐藤恭子

FAO / WHO 合同食品規格計画（コーデックス委員会）分析法サンプリング部会（CCMAS）：渡邊敬浩

FAO / WHO 合同食品規格計画（コーデックス委員会）残留農薬部会（CCPR）：根本了

FAO / WHO 合同食品規格計画（コーデックス委員会）食品残留動物用医薬品部会（CCRVD）：坂井隆敏

FAO / WHO 合同食品規格計画（コーデックス委員会）食品汚染物質部会（CCCF）：登田美桜

FAO / WHO 合同食品規格計画（コーデックス委員会）魚類・水産製品部会（CCFFP）：登田美桜

FAO / WHO 合同食品添加物専門家委員会（JECFA）：小川久美子，梅村隆志，河村葉子

OECD: Expert group on biotransformation assays：石田誠一

OECD: Expert group on genotoxicity：本間正充

OECD: Expert group on transgenic rodent in vivo gene mutation assays：本間正充

OECD Working Group of National Co-ordinators of the Test Guidelines Programme：北嶋聡，小島肇

OECD-EDTA（内分泌かく乱物質タスクフォース）非動物試験バリデーションマネジメント委員会：小島肇，小野敦

OECD: Expert group on skin irritation testing：小島肇

OECD: Expert group on eye irritation testing：小島肇

OECD: Expert group on cell transformation assay：小島肇

OECD: Expert group on skin sensitization assay：小島肇

OECD: QSAR Toolbox Management Group：小野敦

OECD: Extended Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics：菅野純，広瀬明彦，小島肇，小野敦

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：奥田晴宏

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

WHO International Pharmacopoeia, Pharmaceutical preparationパネルメンバー：川西徹，奥田晴宏

WHO国際食品安全行政ネットワークと食品安全システム（INFOSAN）会合：窪田邦宏

ICH Q3C「医薬品の残留溶媒ガイドライン」R6専門

業部会：広瀬明彦，香取典子  
 ICH Q3D「金属不純物ガイドライン」専門作業部会：広瀬明彦  
 ICH Q11「Q&A：原薬製造における出発物質の選択と妥当性」実施作業部会：奥田晴宏  
 ICH S1「がん原性試験に関する研究」専門作業部会：西川秋佳，小川久美子  
 ICH S3A「トキシコキネティクスに関するガイダンス」マイクロサンプリングQ&A専門作業部会：齋藤嘉朗，香取典子  
 ICH M7「医薬品中DNA反応性不純物に関するガイドライン」専門作業部会：本間正充，阿曾幸男  
 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  
 IPCS / WHO Peer review board of International Chemical Safety Cards（ICSCs）：森田健  
 ICCR（化粧品国際規制会議）動物実験代替法バリデーションワーキンググループ：小島肇  
 ICCR Nanotechnology Joint Working Group on Safety Approachesメンバー：広瀬明彦  
 ICCR Industry-Regulators Traces Working Group：五十嵐良明，秋山卓美  
 ICCR Microbial Contaminants Working Group：菊池裕  
 ICSU（国際科学会議）Committee on Scientific Planning and Reviewメンバー：春日文子  
 OECD / E DTA\_AG（Endocrine Disruptors Testing and Assessment Advisory Group）専門委員：菅野純  
 OECD / IPCS Toxicogenomics専門委員：菅野純  
 OECD Inhalation Expert meeting member：菅野純  
 OECD Meeting on Categorization of MN Experts：菅野純  
 European Commission evaluation of H2020 remote evaluation expert：菅野純  
 FHH Standing Committee：袴塚高志  
 FHH Sub-committee II：袴塚高志  
 VICH急性参照用量ワーキンググループ：小川久美子  
 IARC Monograph 111 Meetingメンバー：小林憲弘

#### ○都道府県

福島県「県民健康管理調査」検討委員会：春日文子  
 福島県甲状腺検査評価部会：春日文子  
 東京都食品安全審議会：畝山智香子  
 東京都食品安全情報評価委員会：穂山浩，寺嶋淳，広瀬明彦  
 東京都情報選定専門委員会：穂山浩

東京都薬物情報評価委員会：合田幸広  
 東京都健康安全研究センター研究評価会議：川西徹  
 東京都環境保健対策専門委員会化学物質保健対策分科会：松田りえ子  
 富山県薬事研究所外部評価委員会：合田幸広  
 山梨県食の安全・安心審議会：登田美桜  
 大阪府薬物指定審査会：合田幸広  
 兵庫県立健康生活科学研究所（健康科学研究センター）研究アドバイザー：小林憲弘

#### ○ヒューマンサイエンス振興財団

評議員：川西徹

#### ○その他

ISO/TC34/SC9国内対策委員：五十君静信  
 ISO/TC106国際規格作成委員：靄島由二  
 ISO/TC146/SC6国内対策委員：酒井信夫  
 ISO/TC150/SC7国際幹事：中岡竜介  
 幹事国業務（ISO/TC150/SC7）委員会：新見伸吾，中岡竜介  
 ISO/TC150 国内委員：中岡竜介，迫田秀行  
 ISO/TC194 国内委員：澤田留美，新見伸吾，靄島由二，中岡竜介，加藤玲子，宮島敦子，菊池裕  
 ISO/TC198 国内委員：菊池裕  
 ISO/TC34/SC16遺伝子組換え体等規格専門分科会：近藤一成  
 ISO/TC249中国伝統医学（仮題）専門委員会：袴塚高志  
 ISO/TC249生薬分科会／伝統薬製剤分科会：袴塚高志  
 ISO上層対応委員会：中岡竜介  
 標準化調査研究企画委員会：穂山浩  
 国際規格回答原案作成等調査ISO/TC106分科会：靄島由二  
 香港生薬標準国際諮問委員会：合田幸広  
 危険物等海上運送国際基準検討委員会危険物UN対応部会：森田健  
 危険物等海上運送国際基準検討委員会危険性評価試験部会：森田健  
 ESAC（ECVAM: European Center for the Validation of Alternative Methods Scientific Advisory Committee）オブザーバー：小島肇  
 SACATM（Scientific Advisory Committee on Alternative Toxicological Methods, USA）オブザーバー：小島肇  
 天然資源の開発利用に関する日米会議（UJNR）有毒微生物専門部会：五十君静信，朝倉宏，寺嶋淳，渡辺麻衣子

## 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, 「化学薬品の品質評価」, 星薬科大学 (2015.5)
- 川西徹, 「医薬品の安全性評価について - 非臨床毒性試験の規制における役割-」, 大阪大学薬学部 (2015.6)
- 川西徹, 「健康・医療戦略におけるレギュラトリーサイエンスの役割」, 大阪大学大学院薬学研究科 (2015.7)
- 合田幸広, 「生薬及び漢方製剤の品質確保」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.6)
- 合田幸広, 「食薬区分と違法ドラッグ」, 漢方薬・生薬認定薬剤師研修会 (2015.9)
- 合田幸広, 「国立衛研薬品部の仕事と研究」, 昭和薬科大学大学院 (2015.10)
- 合田幸広, 「食薬区分と生薬」, 東京農工大学工学部生命工学科 (2015.11) .
- 伊豆津健一, 「錠剤などの生物学的同等性」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.6)
- 阿曾幸男, 「医薬品の安定性」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.6)
- 坂本知昭, 「品質試験検査概論」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.5)
- 坂本知昭, 「分析法バリデーション」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.5)
- 香取典子, 「統計学的評価法」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.5)
- 小出達夫, 「理化学試験機器概論」, 国立保健医療科学院・薬事衛生管理研修 (2015.5)
- 石井明子, 「バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保～抗体医薬品の副作用～」, 高崎健康福祉大学評価医療科学講義 (2015.5)
- 石井明子, 「バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保」, 大阪大学大学院薬学研究科講義 (2015.7)
- 石井明子, 「バイオ医薬品概論」, 横浜市立大学生命医科学研究科講義 (2015.10)
- 日向昌司, 「抗体医薬品の薬効発現に影響する因子に関する研究」, 明治薬科大学薬学部 (2015.5)
- 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」, 平成27年度指定薬物分析研修会議 (2015.11)
- 内山奈穂子, 「危険ドラッグ製品の分析及び成分の同定について」, 平成27年度指定薬物分析研修会議 (2015.11)
- 田中理恵, 「指定薬物の分析法とデータベースについて」, 平成27年度指定薬物分析研修会議 (2015.11)
- 緒方潤, 「植物系危険ドラッグ製品の基原植物について」, 平成27年度指定薬物分析研修会議 (2015.11)
- 佐藤陽治, 「再生医療/細胞治療に用いられる細胞の「品質」とは」, 名古屋市立大学大学院薬学研究科 創薬生命科学特別講義 (2015.6)
- 佐藤陽治, 「再生医療・細胞治療に用いられる細胞の「品質」とは」, 大阪大学大学院薬学系研究科レギュラトリーサイエンス連携講義 (2015.6)
- 佐藤陽治, 「医薬品等レギュラトリーサイエンス概論」, 東京大学大学院薬学系研究科医薬品評価科学講義 (2015.9)
- 佐藤陽治, 「再生医療・細胞治療における「細胞の品質」とは?」, 群馬大学大学院医学系研究科未来医療集中講義演習 (2015.12)
- 澤田留美, 「再生医療等製品の品質・安全性・有効性の確保のための研究」, お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 栄養化学特論 (2016.1)
- 内藤幹彦, 「プロテインノックダウン法の開発と創薬への応用」, 平成27年度慶応大学薬学部 バイオと医療・ゲノム医学 (2015.5)
- 内藤幹彦, 「標的医薬品の創製」, 平成27年度昭和薬科大学講義 (2015.5)

- 内藤幹彦, 「遺伝子治療の歴史と未来」, 平成27年度東京大学薬学部 細胞生物学特論 (2015.9)
- 鈴木孝昌, 「大学院特別講義」, 横浜市立大学大学院 (2015.10)
- 新見伸吾, 「医療機器概論」, 大阪大学大学院薬学研究科 (2015.7)
- 酒井信夫, 「食物アレルギーってなんだ?」, 平成27年度世田谷区立用賀小学校夏季体験的学習講座 (2015.7)
- 河上強志, 「身近な家庭用品の安全性」, 東京農業大学大学院 (2016.1)
- 渡邊敬浩, 「国際的に認められる分析結果の品質」, 平成27年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会 (2015.5)
- 松田りえ子, 「ISO/IEC17025に基づく試験結果の信頼性保証」, 平成27年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会 (2015.5)
- 根本了, 「食品に残留する農薬等の規制と公示試験法について」, 国立保健医療科学院平成27年度短期研修食肉衛生検査研修 (2015.6)
- 渡邊敬浩, 「妥当性確認の理想と現実」, (一社) 食品衛生登録検査機関協会平成27年度精度管理研修会 (2015.7)
- 片岡洋平, 「ミネラルウォーター類の検査に用いられる分析法について」, (一社) 食品衛生登録検査機関協会平成27年度精度管理研修会 (2015.7)
- 穂山浩, 「食品安全分野のレギュラトリーサイエンス」, 大阪大学大学院薬学研究科 (2015.7)
- 根本了, 「残留農薬等試験法について - 畜水産物を中心に -」, 第33回全国食肉衛生検査所協議会理化学部会研修会 (2015.10)
- 穂山浩, 「先端研究成果からの事業化」, 三重大学大学院地域イノベーション学科 (2015.10)
- 穂山浩, 「食品部の紹介」, 昭和薬科大学生の早期体験学習としての研究機関見学 (2015.10)
- 穂山浩, 「食品中アレルゲンのリスク評価」, 東京農工大学工学部 (2015.11)
- 穂山浩, 「食品中の検査方法の国際的なハーモナイゼーション」, (公社) 日本食品衛生協会 2015年度『食品の輸出推進に係る講習会』 (2015.12)
- 穂山浩, 「食品分野のレギュラトリーサイエンス」, 東京大学農学部 (2015.12)
- 渡邊敬浩, 「食品規格への適合を目的とした検査におけるサンプリングの意味と役割」, 平成27年度食品安全に係る科学セミナー (2016.1)
- 根本了, 「食品中の残留農薬等の公示試験法の開発について」, (一社) 研究産業・産業技術振興協会先導技術研究会「食の安全専門調査研究会」 (2016.1)
- 根本了, 「食品中の残留農薬等公示試験法開発に関する最近の動向について」, (一社) 食品衛生登録検査機関協会平成27年度残留農薬等研修会 (2016.1)
- 鍋師裕美, 「食品中の放射性物質への対応について」, 大阪大学薬学部食品安全学講義 (2016.1)
- 渡邊敬浩, 「国際的にも通用する分析結果の品質」, 中国四国厚生局平成27年度検査精度管理業務研修会 (2016.2)
- 渡邊敬浩, 「国際的にも認められる分析結果の品質」, (一社) 食品衛生登録検査機関協会平成27年度業務管理研修会・東京 (2016.2)
- 渡邊敬浩, 「国際的にも認められる分析結果の品質」, (一社) 食品衛生登録検査機関協会平成27年度業務管理研修会・大阪 (2016.2)
- 片岡洋平, 「食品のヒ素分析と摂取量推定」, 第33回土・水研究会・つくば (2016.2)
- 穂山浩, 「食品部の紹介」, 埼玉県の高校生を対象とした所内見学 (2016.2)
- 大概崇, 「天然物概論 (7) 食品と天然物化学」, 千葉大学 (2015.11)
- 杉本直樹, 「天然有機化合物の機器分析法に関する研究」, 明治薬科大学健康薬学コース (2015.5)

- 杉本直樹, 「定量NMRとは?」, 星薬科大学大学院 (2015.10)
- 六鹿元雄, 「食品用器具・容器包装の材質とその特性」, 実践女子大学 (2015.12)
- 六鹿元雄, 阿部裕, 「過マンガン酸カリウム消費量, TOCの実習」, 器具・容器包装研修会 (2015.11)
- 河村葉子, 「食品包装及び包装材料の安全性と法規制」, 日本包装技術協会平成27年度包装アカデミー (2015.9)
- 河村葉子, 「食品添加物の開発と規制」, 東京農工大学 (2015.10)
- 河村葉子, 「食品用器具・容器包装における法規制」, 東京農工大学 (2015.12)
- 朝倉宏, 「家畜微生物学」, 東京農業大学 (2015.4)
- 朝倉宏, 「カンピロバクター食中毒の疫学と食肉・食鳥肉衛生に関わる課題」, 国立保健医療科学院食肉衛生検査研修 (2015.6)
- 朝倉宏, 「浅漬け製造施設におけるリステリア・モノサイトゲネス汚染実態の検証と衛生規範改正前後での指標菌数ならびに菌叢動態の比較解析について」, 帯広畜産大学特別講義 (2015.11)
- 朝倉宏, 「浅漬けやスプラウト等の農産物の衛生管理」, 東京農工大学レギュラトリーサイエンス学 (2015.11)
- 朝倉宏, 「カンピロバクター食中毒の分子疫学」, 岐阜大学大学院獣医学特別実験III実践実習 (2015.12)
- 大城直雅, 「マリンバイオトキシン」, 明治薬科大学特別講義 (2015.4)
- 大城直雅, 「下痢性貝毒 (オカダ酸群) の新規制値と検査法」, 厚生労働省食品安全部平成27年度食品安全行政講習会 (2015.5)
- 大城直雅, 「下痢性貝毒 (オカダ酸群) の新規制値と検査法」, 厚生労働省食品安全部平成27年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会 (2015.5)
- Oshiro N, "Occurrence of ciguatera fish poisonings in Japan and development of LC/MS analysis of ciguatoxins", Graduate Seminar of Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University (2015.9)
- 大城直雅, 「食中毒化学 (海産自然毒)」, 麻布大学特別講義 (2015.12)
- 大城直雅, 「マリンバイオトキシン」, 国立保健医療科学院平成27年度食品衛生危機管理研修 (2016.1)
- 大城直雅, 「下痢性貝毒の分析についての現状と課題」, 平成27年度地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野研修会 (2016.2)
- 岡田由美子, 「リステリア・モノサイトゲネスの試験法」, 国立保健医療科学院平成27年度食品衛生危機管理研修 (2016.1)
- 野田衛, 「ノロウイルスに関する特別講義」, 北里大学特別講義 (2015.9)
- 野田衛, 「ノロウイルスの検査法」, 岩手大学特別講義 (2015.7)
- 野田衛, 「ウイルス性食中毒について」, 明治薬科大学特別講義 (2015.4)
- 野田衛, 「ウイルス性食中毒について」, 国立保健医療科学院平成27年度食品衛生危機管理研修 (2016.1)
- 工藤由起子, 「腸管出血性大腸菌 (6血清群) の検査法の実習」, 日本食品衛生協会 (2015.6)
- 渡辺麻衣子, 「食品真菌の検査 —異物としての真菌とその同定—」, 国立保健医療科学院平成27年度食品衛生危機管理研修 (2016.2)
- 渡辺麻衣子, 「同定ができる標本作製」, 第36回セミナー (NPO法人カビ相談センター) (2016.3)
- 渡辺麻衣子, 「発酵・腐敗・カビ毒 - 食とカビの不思議 -」, 平成27年度第2回サイエンスカフェ (さいたま市保健福祉局) (2016.3)
- 大西貴弘, 「食中毒から身を守ろう～最近話題の食中毒の現状と対策～ 寄生虫性食中毒について」, (一社)川



- 崎市食品衛生協会公開講座 (2015.11)
- 大西貴弘, 「寄生虫による新しい食中毒」, 岐阜大学・獣医学特別実験Ⅲ 実績実習 (2015.12)
- 大西貴弘, 「生食を原因とする新しい寄生虫性食中毒」, 大阪大学薬学部食品安全学特別講義 (2015.12)
- 大西貴弘, 「魚肉における原因不明食中毒の究明と対策」, 国立保健医療科学院平成27年度食品衛生危機管理研修 (2016.1)
- 菊池裕, 「原因不明食中毒と医薬品の微生物学的安全性確保について」, 明治薬科大学薬学部 (2015.4)
- 菊池裕, 「レギュラトリーサイエンス講座薬食衛生微生物分野講義」, 大阪大学大学院薬学研究科 (2015.6)
- 菊池裕, 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み, 「iPS細胞等由来樹状細胞を用いたエンドトキシン等発熱性物質検出法の開発ーオゾン過酸化水素混合ガス滅菌法とエンドトキシン等発熱性物質不活化に関する研究ー」, 平成27年度日本医療研究開発機構研究費創薬基盤推進研究事業研究成果発表会 (2016.2)
- 近藤一成, 「きのこによる食中毒」, 国立保健医療科学院平成27年度短期研修食品衛生危機管理研修 (2016.1)
- 近藤一成, 「次世代遺伝子組換え技術」, 国立保健医療科学院平成27年度短期研修食品衛生危機管理研修 (2016.1)
- 安達玲子, 「基礎から学ぶ特定原材料表示～導入の背景から新しい表示法における取扱いまで～」, 日本食品衛生協会食品衛生研究所食物アレルギー検査実習 (2015.7)
- 春日文子, 「食品安全におけるリスクアセスメント」, 国立感染症研究所FETP初期研修講義 (2015.4)
- 春日文子, 「食品媒介有害微生物のリスクアセスメント・予測微生物学」, 京都大学農学部「食品安全学Ⅱ」講義 (2015.5)
- 青木良子, 「医薬品を安全に使うために, 海外の副作用情報を利用する」, 東北大学薬学部感染症学講義 (2015.11)
- 畝山智香子, 「食の安全と薬学」, 東北大学薬学部 (2015.6)
- 畝山智香子, 「リスクアナリシスによる食品の安全性確保」, 第40, 41期食品保健指導士養成講習会 (2015.7, 2015.11)
- 畝山智香子, 「ほんとうの『食の安全』を考える」, 愛媛大学教育学部 (2015.7)
- 畝山智香子, 「リスク分析と様々なリスク」, 千葉大学園芸学部公開講座食の安全と安心 (2015.10)
- 畝山智香子, 「食品中化学物質のリスク評価について」, 福岡女子大学 (2015.12)
- 畝山智香子, 「食品中化学物質のリスク評価について」, 宮城大学 (2016.1)
- 畝山智香子, 「食品中化学物質のリスク評価」, 平成27年度食品衛生危機管理研修 (2016.2)
- 畝山智香子, 「食品安全リスク分析からみた健康食品」, 消費者庁職員向け勉強会 (2016.2)
- 今任拓也, 「疫学の歴史と考え方」, 帝京平成大学 (2015.6)
- 今任拓也, 「頻度と分布に関する指標」, 帝京平成大学 (2015.6)
- 今任拓也, 「研究デザイン (1)」, 帝京平成大学 (2015.6)
- 今任拓也, 「研究デザイン (2)」, 帝京平成大学 (2015.6)
- 今任拓也, 「偏り, 交絡と因果関係」, 帝京平成大学 (2015.6)
- 今任拓也, 「スクリーニング」, 帝京平成大学 (2015.6)
- 中村亮介, 「医薬品の重篤副作用と発症関連バイオマーカー」, 東北大学 (2015.6)
- 齋藤嘉朗, 「市販後安全対策に関する行政施策について」, 帝京平成大学 (2015.7)
- 齋藤嘉朗, 「遺伝子マーカーについて」, 帝京平成大学 (2015.7)
- 齋藤嘉朗, 「がん患者におけるイリノテカン・ゲムシタビンの薬物動態解析及び関連遺伝子多型解析について」,

帝京平成大学 (2015.7)

齋藤嘉朗, 「重症薬疹発症に関連する遺伝子マーカーについて」, 帝京平成大学 (2015.7)

齋藤嘉朗, 「薬物性肝障害と予測・診断バイオマーカーについて」, 帝京平成大学 (2015.7)

齋藤嘉朗, 「メタボロミクス解析とその副作用マーカー探索への応用」, 帝京平成大学 (2015.7)

佐井君江, 「副作用自発報告データベースについて」, 帝京平成大学 (2015.9)

佐井君江, 「医療情報データベースを用いた副作用検出について」, 帝京平成大学 (2015.9)

佐井君江, 「医療情報データベースの利活用性について」, 帝京平成大学 (2015.9)

齊藤公亮, 「薬学への招待」, 千葉大学 (2015.12)

中村亮介, 「医薬品の重篤副作用～皮膚毒性を中心に～」, 東北大学 (2015.12)

齋藤嘉朗, 「医薬品開発における肝毒性評価」, 東北大学 (2015.12)

齋藤嘉朗, 「医薬品の製造販売後の安全性確保に関する行政施策と医療情報データベースを用いた研究」, 東北大学 (2015.12)

齋藤嘉朗, 「ゲノム薬理学の最前線」, 北里大学大学院 (2016.1)

北嶋聡, 「最先端毒性研究の紹介」, 東京大学農学部獣医学科「毒理学実習」特別講義 (2015.5)

佐藤薫, 「薬はどのようにして作られるか」, 群馬大学医学部応用基礎医学講義 (2015.10)

小川久美子, 「化学物質の安全性はどのように調べられているのか?」, 静岡県立大学大学院月例セミナー (2015.5)

杉山圭一, 「栄養保健」, 東京医科歯科大学 (2015.6)

広瀬明彦, 「化学物質の定量的リスク評価手法<レギュラトリーサイエンス講座>」, 大阪大学大学院薬学研究科 (2015.7)

## 2. 講演

川西徹, 「第十七改正日本薬局方における改正のねらいと今後 - 製法問題検討小委員会での議論に関連して -」, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団日本薬局方に関する研修会 (2015.4)

川西徹, 「17改正薬局方と今後」, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団レギュラトリーサイエンス エキスパート研修会 (2015.11)

合田幸広, 「健康食品の分析から見てきた品質に関する課題と, 機能性表示食品について試験検査センターで出来ること」, 平成27年度日本薬剤師会試験検査センター連絡協議会講演会 (2015.6)

合田幸広, 「生薬・生薬製剤の品質, MSによる成分分析と基原確認」, サーモサイエンティフィックユーザーズフォーラム (2015.7)

合田幸広, 「日本薬局方の最近の取り組み: 第17改正日本薬局方, 化学薬品・生薬等を中心として」, 富山最新トレンドセミナー 2015 (2015.10)

合田幸広, 「日本薬局方生薬等関連のトピックス」, 日本薬剤師会試験検査センター技術研修会 (2015.12)

合田幸広, 「医薬品等の分析・試験法をめぐる話題, 日本薬局方第17改正等について, 生薬等関連の試験法のトピックス」, 第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)

Goda Y, "Introduction of qNMR to the Japanese Pharmacopoeia (JP) for specification of marker compounds used for standardization of herbal medicines", 2015 FHH Sub-Committee 2 meeting, (2015.6)

Goda, Y, "Experience in Japan: Analysis and identification of illegal constituents in health food products implicitly advertizing tonic or slimming effect in the National Institute of Health Sciences", International Conference on Illegal Medicines and Adulterated Dietary Supplements, (2015.9)

Goda Y, "Past, present and future of forum of harmonization of herbal medicines (FHH)", 15th FERCAP International Conference, (2015.11)

合田幸広, 「レギュラトリーサイエンスから見た生薬と薬用資源の課題」, 日本学術会議薬学委員会生物系薬学分科会, 科学・物理化学系薬学分科会講演会 (2016.1)

坂本知昭, 「J-GMPの国際統合化及びグローバル品質保証における品質試験検査の役割と展望」, 平成27年度医薬品・化粧品等品質管理研修会 (2015.10)

坂本知昭, 「医薬品製造及び品質保証の国際動向とPATの展望 ～レギュラトリーサイエンスの観点から～」, 第1回製剤と添加剤研究会シンポジウム (2015.11)

加藤くみ子, 「ナノ医薬品のガイドライン案等の策定へ」, 日本薬物動態学会第30回年会 (2015.11)

加藤くみ子, 「ナノテクノロジー応用医薬品の特性評価研究」, 第26回クロマトグラフィー科学会議 (2015.11)

Sakai-Kato K, "Current initiatives for regulatory science of nanomedicines in Japan", The European Summit for clinical nanomedicines 2015 (2015.6)

加藤くみ子, 「DDS製剤の臨床応用に向けたレギュラトリーサイエンス研究の役割」, 日本薬剤学会第30年会 (2015.5)

加藤くみ子, 「DDS製剤のレギュレーション：ナノ医薬品を中心に」, 大阪医薬品協会技術研究委員会特別講演会, (2015.4)

石井明子, 「バイオ医薬品の開発・品質安全性確保と薬物動態」, 薬物動態談話会4月例会 (2015.4)

石井明子, 「シングルユースシステムを用いて製造されるバイオ医薬品の品質確保に関する提言について」, バイオインダストリー協会 バイオエンジニアリング研究会シングルユース小委員会講演会 (2015.7)

石井明子, 「バイオ医薬品の品質に関する今後の展望」, レギュラトリーサイエンス エキスパート研修会・専門コース 医薬品の製造／品質分野で働くヒトのためのエッセンシャル研修会 (2015.11)

石井明子, 「シングルユースシステムを用いて製造されるバイオ医薬品の品質リスクマネジメント」, バイオリジカルズ (タンパク医薬) 製造技術研究会セミナー (2015.11)

橋井則貴, 「糖タンパク質医薬品の開発動向, 糖鎖解析技術の現状と課題について」, 第6回グライコバイオロジクス研究会 (2015.11)

石井明子, 「バイオシミラー開発における同等性／同質性評価」, 東薬工セミナー バイオシミラーの現状と課題 (2015.12)

石井明子, 「抗体医薬品の品質・有効性・安全性とFc受容体」, バイオインダストリー協会 “未来へのバイオ技術”勉強会 Fc受容体 (FcR) を通して考える抗体医薬品の進化と品質管理 (2015.12)

原園景, 「第十七改正日本薬局方において新たに設けられる生物試験法 (糖鎖試験法等) の一般試験法及び参考情報について」, 第15回日本薬局方に関する研修会 (2016.1)

袴塚高志, "Regulations for quality assurance of Kampo medicines in Japan", 中国広東省暨南大学伝統薬物討論会 (2015.6)

花尻 (木倉) 瑠理, 「合成カンナビノイドの法規制と流通実態変化」, 日本法中毒学会第34年会シンポジウム (2015.6)

袴塚高志, 「生薬関連分野における第17改正日本薬局方の改正内容及び最近の国際動向について」, 薬用植物フォーラム2015 (2015.7)

花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグの法規制と流通実態の変化」, 2015年第2回TMS研究会講演会 (2015.7)

花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグをいかに分析するか」, 第28回バイオメディカル分析科学シンポジウム (2015.8)

政田さやか, 「天然物医薬品の安全性及び品質確保に関する研究」, 日本生薬学会第62回年会 (2015.9)

花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグの実態と対策」, 日本分析化学会第64年会シンポジウム (2015.9)

- 花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグの「危険性」をどう評価するか?」, 衛生薬学・環境トキシコロジーフォーラム2015 (2015.9)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグ流通実態調査における質量分析の役割」, 第40回日本医用マススペクトル学会年会 (2015.9)
- 袴塚高志, 「無承認無許可医薬品と食薬区分について」, 茨城県薬剤師会検査センター医薬品研修会 (2015.10)
- 袴塚高志, 「生薬・生薬製剤に関する最近の話題」, 日本生薬学会関西支部秋期講演会 (2015.10)
- 袴塚高志, 「リスク区分に基づいた生薬・漢方製剤の安全な使用について」, 第44回生薬分析シンポジウム (2015.10)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグによる被害を防ぐために」, 平成27年度関西広域連合危険ドラッグ担当者研修会特別講演 (2015.11)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグの流通実態の変化」, 第52回日本犯罪学会総会特別講演 (2015.11)
- 袴塚高志, 「局方生薬に関する最近の話題」, 第31回生薬に関する懇談会 (2015.12)
- 袴塚高志, 「天然物医薬品の品質・安全性確保のための評価法の戦略的開発」, 平成26年度厚生労働科学研究委託費 創薬基盤推進研究事業 研究成果発表会 (2016.2)
- 丸山卓郎, 「生薬の遺伝子鑑別と指標成分分析 -酸棗仁, 防風-」, 大阪生薬協会技術部会 (2016.2)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「SFE/SFCを用いた生体試料中乱用薬物の分析について」, 第14回SFC研究会講演 (2016.2)
- 袴塚高志, 「生薬ならびに漢方製剤の微生物試験法の現状と将来に向けての展望」, 第31回GMPとバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム -第17改正日本薬局方の最新情報を踏まえて- (2016.3)
- 袴塚高志, 「漢方・生薬製剤の現状と伝統医学国際標準化の動向について」, 奈良県医薬品製造販売業等管理者講習会 (2016.3)
- 袴塚高志, 「生薬・漢方生薬製剤の品質管理に係る国際調和」, 日本漢方生薬製剤協会理事会講演会 (2016.3)
- 袴塚高志, 「医療用漢方製剤の承認申請について」, 日本薬学会第136年会 一般シンポジウム エフェドリンアルカロイド除去麻黄エキスの創薬に向けた取り組み~天然物医薬品の開発におけるプレイクスルーを目指して~ (2016.3)
- 花尻 (木倉) 瑠理, 「危険ドラッグの法規制と流通実態変化」, 第89回日本薬理学会年会教育セミナー (2016.3)
- 佐藤陽治, 「再生医療の新しい法規制と海外の規制」, 第5回ヒューマンサイエンス調査報告書発表会がん等の革新的治療法の欧米での進展と再生医療の規制動向 (2015.7)
- 佐藤陽治, 「細胞を用いた再生医療を患者に届けるための法整備と品質・安全性評価研究」, 平成27年度国立医薬品食品衛生研究所シンポジウム (2015.7)
- 佐藤陽治, 「非臨床試験等の扱いの違いについて」, 蒲郡再生医療産業化サミット2015 (2015.8)
- 佐藤陽治, 「再生医療の造腫瘍性試験について」, 蒲郡再生医療産業化サミット2015 (2015.8)
- 佐藤陽治, 「再生医療等製品/特定細胞加工物の品質・安全性確保のための課題」, 平成27年度神戸再生医療勉強会 (第2回) (2015.8)
- Yasuda S, "Japanese regulations for regenerative medicine and cell-based therapy", KMUTT's Special Seminar on Regenerative Medicine Opportunities in Thailand and Japan (2015.8)
- 佐藤陽治, 「再生・細胞医療製品部の研究紹介—再生医療実用化のための試験法開発—」, 第35回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会「国立医薬品食品衛生研究所における研究活動」 (2015.9)
- 佐藤陽治, 「再生医療等製品 (細胞加工製品) に係る規制の紹介とその造腫瘍性評価の考え方」, ヒューマンサイエンス振興財団規制動向調査班勉強会 (2015.9)
- 佐藤陽治, 「再生医療等製品の製造・品質管理に関する規制と試験法の開発」, BioJapan 2015 (2015.10)

- Sato Y, "Japan's Current Standard for Biological Ingredients: Eligibility of Raw Materials in the Global Development of Cell-Based Therapeutic Products", BioJapan 2015 (2015.10)
- Yusa, K, "Viral Safety for Cell-Based Therapeutic Products", Pathogen Clean Asia Summit 2015, The 3rd Annual viral Safety of Biologics Forum (2015.10)
- 佐藤陽治, 「レギュラトリーサイエンスの視点から見た再生医療—細胞の品質・安全性確保のための課題—」, 関西眼疾患研究会 (2015.11)
- 佐藤陽治, 「再生医療等製品/特定細胞過去物を実用化する上での品質・安全性の考え方」, 第37回日本バイオマテリアル学会大会解説講座 (2015.11)
- Sato Y, "Tumorigenicity Testing for Regenerative Medical Products", DIA Japan 2015 (2015.11)
- Miura T, "The Laws and Regulations for Regenerative Medicine and Cell-Based Therapy in Japan", World Stem Cell Summit 15 (2015.12)
- 佐藤陽治, 「ヒトES/iPS細胞加工製品の実用化についての薬学的視点—細胞の安全性と品質をどう確保するか—」, 名古屋大学第39回創薬科学セミナー (2015.11)
- 佐藤陽治, 「本邦における再生医療等製品・遺伝子治療—新しい規制とその欧米との比較—」, EFPIAバイオ医薬品部会勉強会 (2015.12)
- 佐藤陽治, 「日本における再生医療等製品の規制とその国際比較」, 生産開発科学研究所第120回医工学フォーラム (2016.1)
- 佐藤陽治, 「再生医療等に用いる細胞の品質・安全性評価法の開発」, 日本医療研究開発機構レギュラトリーサイエンス公開シンポジウム (2016.2)
- 佐藤陽治, 「新法適用後の再生医療を取り巻く環境変化」, 日本医療研究開発機構再生医療産業化プロジェクト第2回ユーザーフォーラム (2016.2)
- 佐藤陽治, 「日本における再生医療等製品/特定細胞加工物の規制とその国際比較」, 食品農医薬品安全性評価センター第23回学術講演会 (2016.2)
- 佐藤陽治, 「再生医療等製品(細胞加工製品)の品質・安全性確保」, 薬学振興会先端創薬科学講座セミナーコース2016 (2016.2)
- 遊佐敬介, 「細胞加工品のウイルス安全性について」, 第16回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム (2016.2)
- 内田恵理子, 「遺伝子治療用製品の品質及び安全性の確保に関する指針」, 遺伝子治療臨床試験トレーニングコース (2015.7)
- 齋島由二, 「カラーCLの規格適合性と色素局在性について」, 日本コンタクトレンズ協会主催厚労科研勉強会 (2015.10)
- 齋島由二, 「医療機器(カラーコンタクトレンズ)試験法のトピックス」, 第52回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)
- 齋島由二, 「オゾン - 過酸化水素混合ガスによるエンドトキシンの不活化ならびに殺菌効果」, 第31回GMPとバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム (2016.3)
- 齋島由二, 「医療機器の実用化促進を支援する施策と生体適合性評価の基本的考え方」, 日本化学会第96春季年会 (2016.3)
- 中岡竜介, 「生体安全性評価について」, 第32回医用高分子研究会講座「マテリアル研究から医療機器研究へ」 (2015.11)
- 中岡竜介, 「バイオマテリアルと安全性試験」, 国立大学法人長岡技術科学大学専門職大学院技術経営科システム安全専攻における特別講演 (2015.11)
- 中岡竜介, 「国際幹事経験談及び医療機器分野国際標準化の現状について」, 平成27年度第2回ISO国際標準化研修—上級編 (2016.1)
- 中岡竜介, 「医療機器に関連した国際標準化状況について:ISO/TC 150(外科用インプラント)を中心に」, 「ISO/TC 150(外科用インプラント)とバイオセラミックスの国際標準化の状況」講演会 (2016.1)
- 新見伸吾, 「レギュラトリーサイエンスの実践(医療機器開発)」, 日本薬学会第136年会 (2016.3)

- 新見伸吾, 「医療機器開発支援ネットワークにおける国立医薬品食品衛生研究所の施策」, 第2回全国医療機器開発会議 (2016.1)
- 新見伸吾, 「医療機器部の研究紹介」, 第35回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会 (2015.9)
- 新見伸吾, “Government-private Sector Joint Research Project to Establish and Standardize Immunogenicity Assays in Japan”, 日本薬物動態学会第30回年会 (2015.11)
- 五十嵐良明, 河上強志, 「アレルギー疾患に対する産官学連携を語り合う」, 藤田保健衛生大学「アレルギー疾患対策医療学」講座開設記念講演会 (2015.4)
- 小林憲弘, 「平成27年4月に改正された水道水質検査方法について」, 水道水質基準の動向と水道水質検査法セミナー (2015.5)
- 小林憲弘, 「水道水質基準および検査法の最新動向」, 水道水質分析・環境分析セミナー 2015 (2015.6)
- 小林憲弘, 「水道水質検査を取り巻く現状」, NMIJ標準物質セミナー 2015: 健康を支える水の分析と標準物質 (2015.9)
- 小林憲弘, 「水道法と計量標準との関わり」, 平成27年度第1回国際計量研究連絡委員会 (2015.9)
- 五十嵐良明, 「化粧品安全性評価研究へのICP-MSの応用」, プラズマ分光分析研究会第95回講演会 (2015.10)
- 小林憲弘, 「化学物質による飲料水の水質異常への対応」, 第29回公衆衛生情報研究協議会研究会シンポジウム: 飲料水の危機事案に対する関係機関の連携 (2016.1)
- 小林憲弘, 「水道水質検査法における最新の情報と今後の動向」, 平成27年度地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野研修会 (2016.2)
- 小林憲弘, 「水道水質検査の精度管理について - 検査精度向上のポイント - 」, 平成27年度 飲料水検査精度管理調査に関する研修会 (2016.3)
- 久保田領志, 「平成28年度統一試料を用いた精度管理調査について」, 水道水質検査精度管理に関する研修会 (2016.3)
- 久保田領志, 「水質検査の信頼性に関する取り組みと最新の水質検査について」, 平成27年度神奈川県水道水質検査機関技術研修会 (2016.3)
- Akiyama H, “Risk Analysis on Food Additives in Japan”, International Symposium on Food Additives: Risk Science, Control Measures and Industry Best Practices (2015.7)
- 稲山浩, 「機能性食品の安全性について」, 2015年度先端食品セミナー - 健康機能と食品 - (2015.9)
- 堤智昭, 「食品中のPCBs分析に関する国内外の状況と実態調査」, 第7回PCB講演会 (2016.2)
- 稲山浩, 「現在のグルテン検出限界値と小麦アレルギー患者の状況」, 自由民主党内勉強会 (2016.3)
- 大槻崇, 「食品中の甘味料分析について」, (一社) 食品衛生登録検査機関協会食品添加物研修会 (2015.10)
- 杉本直樹, 「定量NMRとは? 公定法への導入の意義」, CSJ化学フェスタ2015 (2015.10)
- 杉本直樹, 「既存添加物規格化の今後の課題」, 第46回食品添加物フォーラム (2015.8)
- 杉本直樹, 「核磁気共鳴スペクトル測定法の改正と技術革新」, 日本薬学会第136回シンポジウム (2016.3)
- 六鹿元雄, 「食品安全委員会における安全性評価について」, 育児用品衛生連絡協議会講習会 (2015.11)
- 六鹿元雄, 「器具・容器包装に関する厚生労働行政の最近の動向」, 育児用品衛生連絡協議会講習会 (2015.11)
- 阿部裕, 「乳幼児用玩具の実態調査結果」, 育児用品衛生連絡協議会講習会 (2015.11)
- 河村葉子, 「第80回JECFA会議報告」, 日本添加物協会・日本香料工業会 (2015.8)
- 朝倉宏, 「細菌性食中毒について」, 川崎市市民公開講座 (2015.11)

朝倉宏, 「カンピロバクター食中毒と, 食肉・食鳥肉衛生に係る課題点」, 全国地方衛生研究所協議会近畿支部細菌部会研究会 (2015.11)

Asakura H, "Detection and removal of *Listeria monocytogenes* in lightly pickled vegetables at manufacture", ICMSF2015 annual meeting (2015.11)

朝倉宏, 「食鳥肉のカンピロバクター汚染の制御について」, 平成27年度食鳥肉衛生発表会 (2016.1)

大城直雅, 「下痢性貝毒(オカダ酸群)の新規制値と検査法」, 第109回日本食品衛生学会学術講演会教育講演(2015.5)

大城直雅, 「沖縄地区のフグの毒性」, 平成27年度日本水産学会秋季大会ミニシンポジウム「フグ食の安全性確保ー日本沿岸フグ類の分類と毒性の見直し」(2015.9)

大城直雅, 「自然毒食中毒から見た沖縄の地域特性」, 平成27年度沖縄県食品の安全安心講習会「自然毒食中毒を防止し, 正しい知識を身につけよう」(2015.10)

大城直雅, 「魚介類の毒-海洋生物毒による食中毒-」, 平成27年度明治薬科大学市民大学講座「自然と健康を考える」(2015.11)

大城直雅, 「下痢性貝毒の新規制値と検査法~自然毒に対する規制値設定の課題~」, 第52回全国衛生化学技術協議会部門別研究会(食品部門)(2015.12)

大城直雅, 「海産生物毒の性状, 危害性, 分析法」, 岩手大学FAMS成果発表会並びに動物医科学系講演会(2016.3)

岡田由美子, 「リステリア・モノサイトゲネスの試験法と妥当性確認について」, 平成27年度(一社)食品衛生登録検査機関協会微生物研修会(2015.12)

岡田由美子, 「リステリア・モノサイトゲネス等の新しい試験法について」, 第28回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会(2016.2)

上間匡, "Topics on norovirus in Japan", 12th Asian Congress of Nutrition (2015.5)

上間匡, 「ウイルス性食中毒について(ノロウイルス・

E型肝炎ウイルス)」, 川崎市一般公開講座「食中毒から身を守ろう~最近話題の食中毒の現状と対策~」(2015.11)

上間匡, 「食品からのウイルス検出法の現状と課題」, 第36回日本食品微生物学会学術総会(2015.11)

野田衛, 「新型ノロウイルスから身を守ろう」, 明治薬科大学市民大学講座(2015.12)

野田衛, 「ノロウイルスによる食中毒の現状と対策」, 消費者庁:食品に関するリスクコミュニケーション-ノロウイルスによる食中毒を予防しましょう-(2015.12)

野田衛, 「ノロウイルスによる食中毒の現状と課題」, 日本食品衛生協会「ノロウイルスによる食中毒のための対策講習会」(2015.11)

野田衛, 「ノロウイルスによる食中毒の現状と対策」, 消費者庁:食品に関するリスクコミュニケーション-ノロウイルスによる食中毒を予防しましょう-(2015.11)

野田衛, 「ノロウイルスによる食中毒・感染症対策について」, 平成27年度岩手県食の安全安心リスクコミュニケーション:ノロウイルスによる食中毒, 感染症を考えるシンポジウム(2015.11)

野田衛, 「ノロウイルス食中毒の予防と対策」, 福島県食品衛生協会「ノロウイルス食中毒の予防と対策」講習会(2015.10)

野田衛, 「ノロウイルス感染症・食中毒対策」, 横浜市講演会(よこはま西・ビル環境協議会)(2015.6)

野田衛, 「ノロウイルス食中毒・感染症の現状と対策」, 日本薬剤師会平成27年度公衆衛生委員会(2015.5)

工藤由起子, 「清涼飲料水中の汚染原因物質に関する話題」, 生活とカビに関する講演会(2015.6)

工藤由起子, 「食品における腸管出血性大腸菌の検査法」, 衛生微生物技術協議会第36回研究会(2015.7)

蜂須賀暁子, 「食品及び環境試料中の放射性物質の分析法」, 第14回表示・起源分析技術研究懇談会講演会(2016.1)

春日文子, 「国際食品微生物規格委員会 (ICMSF) について」, ifia JAPAN 2015食の安全・科学フォーラム 第14回セミナー&国際シンポジウム (2015.5)

春日文子, 「食品安全のリスクアナリシス」, リスク解析戦略研究センター公開講演会「リスク科学のフロンティア」(2015.6)

青木良子, 「欧米でのRMP実施状況, 実際上の問題点, 改善に向けた検討事項等の調査」, 厚生労働科学研究「医薬品リスク管理計画制度の着実かつ効果的な実施のための基盤的研究」総合研究報告書 (H24-H26年度の研究結果) 報告会 (2015.6)

窪田邦宏, 「食品媒介感染症被害実態の推定」, 厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会 (2016.3)

登田美桜, 「コーデックスにおける近年注目の食品規格の動き」, ifia JAPAN2015 食の安全・科学フォーラム 第14回セミナー&国際シンポジウム (2015.5)

登田美桜, 「食品安全のレギュラトリーサイエンスで求められる専門性とコミュニケーション能力」, 第42回日本毒性学会学術年会就職活動支援プログラム (2015.6・7)

畝山智香子, 「食品中に含まれる様々な発がん物質のリスクについて」, 福島県消費生活課主催「食と放射能」に関する説明会 (2015.6, 2015.7)

畝山智香子, 「ほんとうの“食の安全”を考える」, 家庭科教職員 (食育担当) 対象セミナー『食育を科学的に考える』(2015.7)

畝山智香子, 「ほんとうの『食の安全』ってなんだろう」, 東京都平成27年度学校栄養職員等研修会 (2015.8)

畝山智香子, 「食品安全リスク分析からみた健康食品」, 第35回 社福協健康食品フォーラム (2015.11)

畝山智香子, 「ほんとうの『食の安全』ってなんだろう」, 杉並区栄養職員研修会 (2016.1)

畝山智香子, 「食品安全リスク分析からみた健康食品」, 山梨県食の安全・安心を語る会 (2016.2)

畝山智香子, 「食品中の化学物質のリスク評価について」,

SRMクロスオピニオンセミナー (2016.2)

齋藤嘉朗, 「重篤副作用発症に関連するバイオマーカーの探索研究進捗状況について」, 日本製薬団体連合会「医薬品の安全対策に関する講習会」(2015.9・10)

齋藤嘉朗, 「重症薬疹関連遺伝子研究の最近の動向」, 日本アレルギー学会第2回総合アレルギー講習会 (2015.12)

関野祐子, 「ヒトiPS細胞由来分化心筋細胞を用いた非臨床試験法開発の展望: JiCSAの取り組み」, 第3回霧島会議 (2016.2)

関野祐子, 「ヒトiPS分化細胞を用いた安全性薬理試験法の先導的な開発と国際標準化戦略」, 第1回AMEDレギュラトリーサイエンス公開シンポジウム (2016.2)

関野祐子, 「ヒトiPS細胞の創薬における実用化医薬品安全性評価の改定に向けた国際協調」, iPS細胞ビジネス協議会第18回情報交換会 (2015.11)

関野祐子, 「ヒトiPS分化技術を活用した医薬品安全性評価法の公定化に求められる検証実験について」, 千里ライフサイエンスセミナー J3 (2015.9)

諫田泰成, 「ヒト iPS 細胞由来の成熟心筋細胞の作製と標準化に向けた次世代評価法の開発」, 第3回霧島会議 (2016.2)

諫田泰成, 「ヒトiPS細胞由来心筋細胞による新しい安全性評価法の大規模検証実験: JiCSAの取り組み」, 第1回AMEDレギュラトリーサイエンス公開シンポジウム (2016.2)

佐藤薫, 「非臨床薬理試験においてヒトiPS細胞由来神経細胞を活用するために必要なこと」, 千里ライフサイエンスセミナー J3 (2015.9)

広瀬明彦, 「許容値の考え方」, 日本製薬工業協会ICH M7, Q3Dステップ4ガイドライン説明会 (2015.4)

広瀬明彦, 「Q3C(R6) Maintenance: 医薬品の残留溶媒ガイドライン」, 日本製薬工業協会ICH 日本シンポジウム 2015 (2015.7)

広瀬明彦, 「PDE値を超える場合の妥当性の説明およびガイドラインにない元素の許容レベル」, 日本製薬工業



協会ICH Q3Dガイドラインおよびトレーニングマテリアル説明会 (2016.3)

小島肇, 「動物実験代替法についての各国の動向および最新研究」, 2015年日中化粧品国際交流協会年度交流イベント (2015.6)

小島肇, 西川秋佳, 「JaCVAM update (日本動物実験代替法評価センター) 進捗」, International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM) Coordination meeting (2015.6)

小島肇, 「動物実験代替法の国内外の最新動向」, 皮膚基礎研究クラスターフォーラム第10回教育セミナー (2015.7)

小島肇, 「国立衛研の立場」, 第3期日本化学工業協会LRI研究報告会 (2015.8)

Kojima H, "Development and validation of alternative to animal testings", ITRI seminar (2015.9)

山田隆志, 「化学物質の反復投与毒性を予測するツール: HESS」, 第3期日本化学工業協会LRI研究報告会 (2015.8)

山田隆志, 「化学物質管理におけるin silico評価手法の活用状況」, 2015年度化学品管理のためのQSARセミナー(基礎編) (2015.10)

## 特別講演会

## Special Seminars

## 1. 特別講演会

講師名	所属	講演名	講演日	担当部
Dr. Masahiko Negishi	National Institute of Environmental Health Sciences	Drugs utilize cell signals to regulate CAR in both beneficial and adverse functions	平成 27 年 6 月 16 日	医薬安全科学部
黒澤 努	鹿児島大学客員教授	動物福祉と医療機器の生物学的評価	平成 27 年 7 月 3 日	医療機器部
Dr. rer. nat. Franco H. Falcone	Allergy and Infectious Diseases The University of Nottingham	Development and use of high-throughput, humanised rat basophilic leukaemia reporter systems for assessment of allergic sensitisation	平成 27 年 7 月 30 日	医薬安全科学部
田中 啓二	東京都医学総合研究所所長	タンパク質分解 - 辺境領域から生命科学の中核へ -	平成 27 年 9 月 4 日	医療機器部
田野井慶太郎	東京大学大学院農学生命科学研究科放射性同位元素施設 准教授	福島原発事故による環境・食品の放射性物質汚染の状況	平成 27 年 10 月 23 日	食品部
末松 誠	国立研究開発法人 日本医療研究開発機構	日本医療研究開発機構 (AMED) のミッションと展望	平成 27 年 10 月 28 日	所長 (総務部)
佐藤 洋	内閣府食品安全委員会委員長	"メチル水銀の食品健康影響評価とその後: 食品安全委員会のこれまでとこれから"	平成 27 年 11 月 16 日	所長 (総務部)
Dr. Marilyn A. Huestis	National Institute on Drug Abuse (NIDA), NIH, USA	Novel Psychoactive Substances: the New Face of Drug Abuse	平成 27 年 11 月 18 日	生薬部
矢野 恒夫	大阪大学大学院医学系研究科 招聘教授	PET 分子イメージングのレギュラトリーサイエンス	平成 27 年 11 月 24 日	生化学部

## 2. 所内セミナー

講師名	所属	講演名	講演日
原矢 佑樹	薬品部第四室	原子力間顕微鏡観察法によるリボソームの膜弾性評価	平成 27 年 10 月 28 日
高倉 美智子	生物薬品部第三室	次世代抗体医薬品の薬理・免疫作用評価	"
久保 祐亮	薬理部第二室	創薬応用のためのヒト iPS 細胞由来神経細胞の分化誘導法とトレーサビリティの確立	"
清水 英雄	薬理部第一室	ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 in vitro 医薬品安全性評価法の開発 - In vitro シナプスイメージングに基づく医薬品安全評価法の確立を目指して -	"
大垣 総一郎	薬理部第三室	実用化に向けたヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞の作成	"
草川 森士	再生・細胞医療製品部第一室	再生医療製品に混在する悪性形質転換細胞の高感度検出法 ~ ハイコンテンツイメージングシステムを利用したデジタル軟寒天コロニー形成試験 ~	"
五十君 静信	食品衛生管理部長	細菌研究、時々国際整合性との戦い	平成 28 年 3 月 23 日
新見 伸吾	医療機器部長	国立衛研での 31 年を振り返って (バイオ医薬品から医療機器まで)	"
最上 知子	生化学部長	代謝とレギュラトリーサイエンスの接点を求めて	"
春日 文子	安全情報部長	安全のための研究者として	"
菅野 純	毒性部長	興味のない方のための毒性学	"

## 平成27年度に行った主な研究課題

## Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 2015

## 医薬品審査等業務庁費（厚生労働省）

1. 後発医薬品品質情報提供等推進事業（薬品）  
Quality evaluation studies for generic drugs
2. 後発医薬品品質確保対策事業（薬品）  
Quality sampling and testing programs for generic drugs
3. 日局各条へパリンナトリウム等に含まれる不純物等の規格及び試験法原案の作成及びその検証に関する研究（生物）  
Studies on purity test of heparin products in JP monographs
4. 生薬製剤の規格整備に係る研究（生薬）  
Studies on improvement in standard for crude drug products
5. 次世代医療機器・再生医療等製品評価指標作成事業（医療、再細）  
Development of guidances for the approval process of brand - new medical devices and cellular and tissue-based products
6. JIS規格及び適合性認証基準等原案作成事業（医療）  
Development of Japanese Industrial Standard and approval standards for medical devices
7. 化粧品・医薬部外品成分の分析法に関する調査（生活）  
Studies on the analytical methods for ingredients of cosmetics and quasi drugs
8. 医薬部外品原料の規格に関する調査（生活）  
Studies on standards for ingredients of quasi drugs
9. 後発医薬品品質確保対策事業 化粧品及び医薬部外品の一斉収去試験（生活）  
Survey for quality ascertainment of quasi drugs and cosmetics
10. エンドトキシン試験法における国際標準品の国際共同検定に係る調査研究（衛徴）  
Studies on 3rd international standard for bacterial endotoxin and evaluation of the standard
11. 毒物劇物の指定に係る毒性情報等の調査および評価研究（情報）  
Studies on the toxicological information and evaluation of chemicals for designation of poisonous and deleterious substances
12. 医薬品使用実態調査（医安）  
Drug utilization study
13. 遺伝子多型探索調査事業（医安）  
Examination of international study organizations of pharmacogenetics related to severe adverse drug

reactions

14. 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
15. 構造活性相関手法による有害性評価手法開発（評価）  
Development of quantitative structure activity relationship (QSAR) -based hazard assessment methodologies
16. 急性毒性試験代替法に関する調査（評価）  
Study on alternative to acute toxicity testing

## 食品等試験検査費（厚生労働省）

1. 水道水質検査の精度管理に関する研究（生活）  
Research on the quality control in drinking water examination
2. 水質基準等検査方法検討調査（生活）  
Survey of the analytical methods for drinking water quality control
3. 水道水質検査法に関する技術的知見の収集及び公表用試料の作成（生活）  
Survey of technical information on testing method of drinking water
4. 食品中の放射性物質の摂取量等調査（食品）  
Estimation of dietary intake of radionuclides
5. 環境汚染物質検査（食品）  
Studies on environmental contaminants
6. 食品中の放射性物質実態調査等事業（食品）  
Survey of radioactive materials in foods
7. 農薬等検査データの集計・解析事業（食品）  
Analysis of results of testing for contaminants and pesticides residues in foods
8. 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の開発・検証に関する試験（食品）  
Development and validation of official analytical methods for the introduction of the positive list system for agricultural chemical residues in foods
9. 農薬等の成分でありかつ食品に天然に含有される物質の調査（食品）  
Survey of the substances which are both ingredients of agricultural chemicals and naturally contained in food
10. チョコレート製品中のカドミウム実態調査事業（食品）  
Survey of cadmium in chocolate products
11. 亜麻仁中のシアン化合物実態調査事業（食品）

- Survey of cyanide in linseed products
12. 食品中の食品添加物分析法の検討 (食添)  
Studies of analytical methods for food additives in foods
13. 食品添加物一日摂取量調査 (食添)  
Estimation of daily intake of food additives
14. 既存添加物の成分規格の設定 (食添)  
Research on specifications of natural food additives
15. 国際的に汎用されている添加物の指定に向けた研究 (食添)  
Research on specifications and standards of the food additives used internationally toward the designation
16. 食品添加物の規格基準の設定に関する試験 (食添)  
Establishment of specifications and standards of food additives
17. 塩素殺菌処理された食品中の塩素酸及び亜塩素酸の残存調査研究 (食添)  
A survey on chloric acid and chlorous acid residues in disinfected foods
18. 食品添加物公定書の策定に関わる検討 (食添)  
Studies for Japan's Specifications and Standards for Food Additives
19. 平成27年度食品中の過酢酸製剤実態調査 (食添)  
Survey of peracetic acid preparation in food in FY 2015
20. 器具・容器包装の規格試験へのTOC試験の導入に関する研究 (食添)  
Study for introduction of TOC test into official test method for the utensils and packages
21. 合成樹脂製器具・容器包装の製造に係る製造管理及び品質管理に関する調査 (食添)  
Survey for the manufacturing management and quality management of the manufacturing process for the plastic utensils and packages
22. フタル酸エステル類の溶出挙動に関する研究 (食添)  
Research on the migration of phthalic acid esters
23. 食品添加物の指定等要請に係る事前相談等業務 (食添)  
Consultation for application for designation of food additives and revision of use standards
24. マリントキシン検査外部精度管理 (食管)  
External Investigation of Accuracy Control on Marine Toxin Analysis
25. 貝毒規制に係る試験方法 (食管)  
Official Analysis Method for Shellfish Toxins
26. 食品中の微生物検査における衛生指標菌に関する試験検査 (食管)  
Studies on Indicator Microbes for microbiological examination of foods
27. 製造基準(殺菌温度及び殺菌時間)に関する調査 (食管)  
Studies about the processing standard of foods (sterilization temperature and sterilization time)
28. 豆腐中の微生物に関する試験検査 (食管)  
Studies on the Microbiological assessment at manufacturing processes of Tofu
29. 清涼飲料水の製造基準(除菌)に関する文献等の調査 (食管)  
Studies on the standards for filter-sterilization process during manufacture of soft drink
30. 牛の肝臓の危害に関する試験等調査 (食管)  
Hazard analysis on bovine liver
31. 生食用カキの安全性確保に係る試験法 (食管)  
Evaluation and establishment of methods to control virological safety of oysters
32. 清涼飲料水の細菌試験法見直しに係る試験検査 (衛微)  
Development of bacteria analytical method for soft drinks
33. 水産食品中のヒスタミン生成菌に係る試験検査 (衛微)  
Studies on histamine-producing bacteria in seafood
34. 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
35. 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
36. 安全性未承認GM食品監視対策 (生化)  
Study of unauthorized genetically modified foods for monitoring
37. 遺伝子組換え食品の検査法の外部精度管理について (生化)  
Proficiency test for the detection methods of genetically modified foods
38. 食中毒関連情報調査 (情報, 衛微, 食管)  
Studies on food poisoning information
39. 輸出国における農薬等の使用状況等調査 (情報)  
Studies on pesticides and veterinary drugs usage in food-exporting countries
40. 食品中の製造副生成物に関する調査研究 (情報)  
Studies on processing byproducts in food
41. 輸出国における食品の病原微生物等による汚染状況

## 等調査 (情報)

Studies on microbial contamination of food in exporting countries

## 42. 健康食品に関する安全性確保対策等に係る調査 (情報)

Studies on measures to ensure so-called health food safety

## 43. 諸外国における食品微生物の規格基準に関する調査 (情報)

Studies on microbial standards in food in other countries

## 44. 指定添加物 (5-ウリジル酸二ナトリウム, クエン酸第一鉄ナトリウム, L-リシン L-グルタミン) の安全性に関する調査検討 (毒性)

Studies on safety evaluation of designated food additives, Disodium 5'-uridylylate, Sodium ferrous citrate, L-Lysine L-Glutamate

## 45. 指定添加物の安全性に関する試験 (反復投与毒性試験) (毒性)

Repeated dose toxicity study for safety evaluation of designated food additive

## 46. 指定添加物 (香料) の安全性に関する試験 (反復投与毒性試験2品目: 2,3-ペンタンジオン, trans-2-ヘキセノール) (病理)

Safety evaluation of food additives (90-days repeated dose toxicity studies of 2,3-pentanedione and trans-2-hexenol)

## 47. 指定添加物 (香料) の安全性に関する試験 (反復投与毒性試験1品目: 2-エチルブタナール) (病理)

Safety evaluation of food additives (90-days repeated dose toxicity study of 2-ethylbutanal)

## 48. 指定添加物 (香料) の安全性に関する試験 (反復投与毒性試験7品目: 5-ヘキセニルイソチオシアネート, 2-フランメタンチオール, イソオイゲニルメチルエーテル, バニリンプロピレングリコールアセタール, フルフラールプロピレングリコールアセタール, 2-(4-メチル-5-チアゾリル)エタノール, 5-メチル-3-フェニル-2-ヘキセナール) (病理)

Safety evaluation of food additives (90-days repeated dose toxicity studies of 5-hexenyl isothiocyanate, 2-furanmethanethiol, isoeugenyl methyl ether, vanillin propylene glycol acetal, furfural propylene glycol acetal, 2-(4-methyl-5-thiazolyl)ethanol, 5-methyl-3-phenyl-2-hexenal)

## 49. 食品添加物安全性再評価費・変異原性試験 (変異)

Mutagenicity tests of food additives

## 家庭用品等試験検査費 (厚生労働省)

## 1. 有害物質含有家庭用品の規制基準に関する試験検査 (生活)

Studies for the control of household products containing harmful substances

## 2. 家庭用品による健康被害防止に関する試験検査 (生活)

Studies on the prevention of health hazards due to household products

## 3. 家庭用品からの揮発性有機化合物 (VOC) 放散に関する研究 (生活)

Studies on the emission of volatile organic compounds from household products

## 4. 室内環境汚染全国実態調査 (生活)

Survey of indoor air pollution in Japan

## 5. 家庭用品による製品事故の原因究明に関する調査 (生活)

Investigation on the cause of the accident with household products

## 6. シックハウス (室内空気汚染) 問題に係る規制状況調査 (生活)

Investigation on the VOC regulation review for the improvement of indoor air quality

## 7. 家庭用品等試験検査 (毒性)

Studies on safety evaluation of household products

## 8. 次世代シーケンサを用いたPercellomeトキシコゲノミクス網羅的解析の基盤技術強化に関する調査研究 (毒性)

Enhancement of Percellome toxicogenomics comprehensive analysis by introducing Next-generation sequencer

## 9. Good in vitro Test Method Practice (GIVTMP) のdraftingに必要な文献検索等の調査研究 (薬理)

Studies of draft guideline on Good in vitro Test Method Practice (GIVTMP)

## 10. 難分解性物質に関するスクリーニング毒性等調査 (評価)

Studies on toxicity screening information data set of persistent chemicals

## 11. 化審法等に係る化学物質リスク評価に必要な最新毒性情報更新 (評価)

Update of the latest toxicity information necessary for risk assessment under the Law concerning the Examination and Regulation of Manufacture, etc. of Chemical Substances and others

**化学物質安全対策費(厚生労働省)**

1. 実験動物による急性毒性試験(毒性)  
Acute toxicity studies in laboratory animals
2. 内分泌かく乱化学物質スクリーニング試験(毒性)  
Endocrine toxicological studies by using endocrine disruptor screening tests

**食品健康影響評価技術研究委託費(内閣府食品安全委員会)**

1. 香料の摂取量に関する評価方法の確立に関する研究(食添)  
Studies on the development of evaluation methods for intake of flavors
2. 熱帯性魚類食中毒シガテラのリスク評価のための研究(食管, 情報)  
Studies for the risk assessment of Ciguatera food poisoning
3. 食品摂取により発症する新規アレルギー/アレルギー様反応に関する調査研究(生化)  
Studies for the novel allergies / allergic reactions caused by food constituents
4. 栄養成分・加工助剤に関するリスク評価方法の確立に関する研究(病理, 食品)  
Draft guidelines on safety assessments of nutrients and processing aids
5. 農薬の毒性評価における「毒性プロファイル」と「毒性発現量」の種差を考慮した毒性試験の新たな段階的評価手法の提言 - イヌ慢性毒性試験とマウス発がん性試験の必要性について - (評価, 病理)  
An investigation for the proposal of a new tiered approach for the pesticide hazard evaluation by considering the species differences of "toxicity profile," and "toxic dose".

**消費者政策調査費(内閣府消費者庁)**

1. 即時型食物アレルギーによる健康被害防止のための資料改訂及び各種食物アレルギーに関する解析並びにアレルギー物質を含む食品の検査法の開発及び改良(生化)  
Studies on food allergens, detection methods of food allergens in processed foods, and revision of handbooks for food allergy patients and medical specialists
2. 安全性審査済の遺伝子組換え食品の検査法の確立と妥当性確認試験(スクリーニング検査法妥当性確認, MON87701系統妥当性確認, MON87705系統定性検知法開発)(生化)

Development and validation of detection method for authorized genetically modified foods (Maize screening, soybean MON87701 and MON87460 lines)

**環境保全調査費(環境省)**

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(生活)  
Survey of air pollutants at National Auto - exhaust Monitoring Station in Tokyo

**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 nonpathogenic bacteria-induced infectious diseases

**厚生労働科学研究費補助金(厚生労働省)**

1. 室内濃度指針値見直しスキーム・曝露情報の収集に資する室内空気中化学物質測定方法の開発(副所長)  
Development of the analytical methods used to collect the exposure information of indoor chemicals and to revise indoor concentration guideline values
2. GMP, QMS, GTP及び医薬品添加剤のガイドラインの国際整合化に関する研究(薬品)  
Studies on international harmonization of GMP, QMS, GTP guidelines
3. 乱用薬物の鑑別法に関する研究(生薬, 有機)  
Studies on the method for distinguishing of abused drugs
4. 一般用医薬品における, 化学合成品等のリスク区分の見直しと生薬・漢方製剤の安全使用に関する研究(生薬)  
Studies on reevaluation of risk category of chemical synthetic drugs and on safe use of crude drug products and Kampo products
5. 無承認無許可医薬品の調査・分析及び量的概念を含む専ら医薬品の規制に関する研究(生薬, 薬品, センター長, 病理)  
Studies on monitoring and analysis of illegal drugs and on the regulations of the raw materials exclusively used as pharmaceuticals with the quantitative viewpoints
6. 危険ドラッグ等の乱用薬物に関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究(生薬, 有機, 薬理)  
Studies on analytical methods of new psychoactive

- substances/plants and estimation of their harmful effects on the central nervous system
7. 新規in vitro 評価系とマーカーの開発によるナノマテリアルのリスク評価及びリスク低減化に関する研究 (医療, 生活)  
Study on the new in vitro evaluation system and development of new markers for the the risk assessment and risk reduction of nanomaterials
8. 染毛剤等による皮膚障害の防止方策に関わる調査研究 (生活)  
Research study on the solution of the increase in skin sensitization caused by hair dyes
9. 家庭用品から放散される揮発性有機化合物/準揮発性有機化合物の健康リスク評価モデルの確立に関する研究 (生活)  
Studies on the development of risk assessment model of volatile/semi-volatile organic compounds emitted from household products
10. 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究 (生活, 評価)  
Comprehensive research on the risk evaluation and management of drinking water quality
11. カーボンおよび金属ナノマテリアルによる肺および全身臓器障害と発がん作用の機序解析とそれに基づく中期検索法の開発に関する研究 (生活)  
Development of a medium-term assay system for the lung and multi-organ carcinogenic potential of carbon based and metal nanomaterials
12. 気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究 (生活, 評価)  
Studies on the development of risk assessment method of environmental chemicals in living air by respiratory disorder as indicator
13. 食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究 (食品, 情報)  
Studies on the evaluation of dietary intake of dioxins and other toxic chemicals and the development of the methods to use
14. 食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究 (食品)  
Studies on the safety assessment of agricultural chemical residues in foods
15. 国際食品規格策定プロセスを踏まえた食品衛生規制の国際化戦略に関する研究 (食品, 情報)  
Studies on internationalization of the food safety regulations based on the food standard development process in Codex
16. 食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究 (食添, 変異)  
Study on improvement of specification tests and estimation of daily intake of food additives
17. 食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究 (食添)  
Study on the analysis of chemical substances contained in food contact utensils and packages
18. 既存添加物の安全性確保のための規格基準設定に関する研究 (食品, 食添)  
Study on the establishment of specification and standards for safety assurance of existing natural food additive
19. DART-OT/MSおよびqNMRを用いた迅速かつ簡易な可塑剤分析法の検討 (食添)  
Development of the rapid and simple analysis method for the plasticizers using DART-OT/MS and qNMR
20. 非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究 (食管, 情報)  
Study on the distribution of pathogenic microbes in vegetables and fruits
21. 畜産食品の安全性確保に関する研究 (食管)  
Study on the safety assessment of meats and offal
22. 食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究 (食管)  
Study for virus detection methods in foods
23. 食品中の微生物試験法の開発及びその実効性・妥当性評価に関する研究 (食管)  
Development of the bacterial standard methods for food hygiene and studies on the method validation and quality assurance of test
24. バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理及び国民受容に関する研究 (食管, 生化)  
Studies on risk management and public acceptance of genetically modified foods
25. 食鳥肉におけるカンピロバクター汚染のリスク管理に関する研究 (食管)  
Studies on the development of risk control for *Campylobacter* in poultry meat
26. 広域・複雑化する食中毒に対応する調査方法の開発に関する研究 (食管, 衛微, 情報)  
Studies on development of methods to investigate diffuse and/or complicated foodborne disease outbreaks
27. 野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究 (食管)  
Studies on the hygienic management of game meats
28. マリントキシンのリスク管理に関する研究 (食管)

- Studies for risk management of marine biotoxins
29. 食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究 (食管)  
Studies on the occurrence and hygienic control of drug resistant bacteria from foods
30. 乳幼児用食品におけるカビ毒汚染のリスク評価に関する研究 (衛徴)  
Studies on the risk assessment of mycotoxin in foods for babies
31. 国際的な動向を踏まえた乳及び乳製品の試験法の研究 (衛徴)  
Studies on the methods for the analysis of milk and milk products based on international trend of analysis
32. 食品での新たな病原大腸菌のリスク管理に関する研究 (衛徴)  
Studies on risk management of pathogenic Escherichia coli newly categorized in food
33. 基準値の策定に資する食品汚染カビ毒の実態調査と生体影響評価に関する研究 (衛徴)  
Studies on the actual condition and the assessment of the biological effects of food-borne mycotoxins for the development of reference values in foods
34. QSARによる化学物質の有害性予測の迅速化・高度化に関する研究 (有機)  
Studies on the improvement of the chemical risk-assessment using QSAR
35. 危険ドラッグおよび関連代謝物の有害性予測法の確立と乱用実態把握に関する研究 (有機)  
Studies on establishment of prediction method for law-evading drugs and their actual situation
36. 震災に起因する食品中の放射性物質ならびに有害化学物質の実態に関する研究 (生化, 食品, 情報)  
Studies on the actual conditions of radioactive and hazardous chemical substances in food caused by the earthquake disaster
37. 次世代バイオテクノロジー技術応用食品等の安全性確保に関する研究 (生化)  
Studies on the safety assessment generated by next generation genome editing techniques
38. 抗原性物質への免疫応答に対するナノマテリアル経皮曝露の影響に関する評価手法の開発研究 (生化, 生活)  
Evaluation of the effect of nanomaterials on immune response to transdermal exposure to allergenic materials
39. 我が国で優先すべき生物学的ハザードの特定と管理措置に関する研究 (生化, 食管)  
Investigation of biologically hazardous materials and safety control measures
40. 発芽前後におけるGMダイズの遺伝子発現プロファイリングに関する基盤研究 (生化)  
Studies on gene expression profile of GM maize at germination
41. 機能性化粧品成分の個体差等に基づく安全性評価法の策定に関する研究 (生化, 生活)  
Studies on evaluation of safety for functional cosmetics ingredients focusing on individual sensitivities
42. 遺伝子組換え作物由来のRNAi産物の安全性評価法確立に向けた検出技術の開発 (生化)  
Development of detection method of siRNA from genetically modified crops
43. 食品安全行政における政策立案と政策評価手法等に関する研究 (情報)  
Study on methods for policy-making and policy-evaluation for food safety
44. 食品摂取量の調査方法及び化学物質の暴露量推定方法の研究 (情報)  
Studies on methods of food consumption study and exposure assessment of chemical substances
45. 遺伝毒性・発がん性短・中期包括的試験法の確立と香料の安全性評価への応用に関する研究 (センター長, 病理)  
Development of integrated and comprehensive testing methods for genotoxicity and carcinogenicity and application to safety evaluation of perfume materials
46. AOPおよびIATAに立脚した国際的な安全性評価手法の確立 (センター長, 病理, 変異, 評価)  
Development of international standard for safety evaluation based on AOP and IATA
47. 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 (毒性)  
Studies on the development and improvement of inhalation toxicity methods
48. 受精卵培養液中のフタル酸類の受精卵及び出生児に対する影響評価研究 (毒性)  
Evaluation study of the risk of phthalates in embryonic culture medium to the fertilized eggs and offsprings
49. 化学物質の有害性評価手法の迅速化, 高度化に関する研究 - 新型反復暴露実験と単回暴露実験の網羅的定量的遺伝子発現情報の対比による毒性予測の精緻



- 化と実用版毒性予測評価システムの構築－（毒性）  
A study on acceleration and refinement of the chemical risk assessment－ A comprehensive and quantitative gene-expression data analysis of single dose studies and newly designed repeated dose studies for the refinement of toxicity predication and the technical development of the practical toxicity-prediction/risk-assessment system－
50. ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法に関する研究－全身暴露吸入による毒性評価研究－（毒性）  
Comprehensive studies for establishment of human health risk assessment methodology for nanomaterials-induced toxicities, with a whole-body inhalation exposure
51. 発生-発達期における低用量の化学物質暴露による成熟後の神経行動毒性の誘発メカニズム解明と、その毒性学的評価系構築に資する研究（毒性）  
Studies of the risk assessment for neuro-behavioral toxicity induced by low-dosed chemical exposure at the developmental stage
52. 個体の成長期における毒性メカニズムに基づく新規 *in vitro* 発達神経毒性評価法に関する研究（薬理）  
Studies on *in vitro* developmental neurotoxicity methods for health effects of chemicals on developing individuals
53. 食品中の複数の化学物質による健康影響に関する調査研究（病理、センター長）  
Studies on combined toxicity of chemicals in foods
54. 化学物質の臨界期曝露による生殖内分泌機能の遅発影響に視床下部キスペプチンニューロンの部位特異的変化が果たす役割と閾値に関する研究（病理）  
Site-specific changes and their threshold of neonatal exposure to chemicals on kiss-peptin neuron, a crucial target of delayed effect
55. 食品中遺伝毒性物質の「事実上の閾値」形成におけるDNAポリメラーゼζ（ゼータ）の関与（病理）  
Possible involvement of polymerase zeta in the "practical threshold" of genotoxic substances in food
56. *Polk*欠損マウスを用いた高感度なCYP非依存的ベンゾ【a】ピレン誘発遺伝毒性の評価（病理）  
Evaluation of CYP-independent genotoxicity of benzo[a]pyrene by using *Polk* deficient mice
57. ラット前がん病変の生物学的特徴に基づいた新たな肝発がんバイオマーカーの探索（病理）  
Searching for promising biomarkers of hepatocarcinogenesis based on the biological characterization of rat preneoplastic lesions
58. 畜水産食品に含まれる動物用医薬品等の安全性確保に関する研究（病理）  
Studies on evaluating the effectiveness, ensuring the safety of veterinary drug
59. 化学物質の安全性と発がん性リスク評価のための短・中期バイオアッセイ系の開発（病理）  
Development of the short/medium-term bioassay for the evaluation of the chemical safety and carcinogenicity risk
60. 室内環境中の未規制物質の網羅的解析に関する研究（病理）  
Studies on comprehensive analyses of unregulated chemicals in indoor environment
61. 化学物質のヒト健康リスク評価における（定量的）構造活性相関およびカテゴリーアプローチの実用化に関する研究（変異, 評価）  
A study on applying (Q) SAR and category approaches to risk assessment of industrial chemicals
62. 新規 *in vivo* 遺伝毒性試験である *Pig-a* 遺伝子遺伝毒性試験の胎仔を含めた週齢および性差に関する開発研究（変異）  
Studies on comparative analyses of *Pig-a* gene mutation assays on the differences of age and sex of mice
63. 食品添加物等の遺伝毒性発がんリスク評価のための新戦略法に関する研究（変異）  
A study of the development of strategy for carcinogenic risk assessment with genotoxic mode of action
64. ナノマテリアル曝露による慢性及び遅発毒性評価手法に関する研究（評価, 生活, 生化, 毒性, 変異）  
Studies on the evaluation methodology for chronic and delayed health effects by exposure of nanomaterials
65. 免疫毒性評価試験法 Multi-ImmunoToxicity assay の国際 validation へ向けての検討（評価）  
International validation study on Multi-ImmunoToxicity assay as an immunotoxicity screening
- 医薬品等審査迅速化事業費補助金（厚生労働省）**
1. ナノテクノロジーを基盤とした革新的医薬品に関する評価方法（薬品）  
Establishment of evaluation methods for innovative medicines based on nanotechnology

2. 遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発にむけた安全性, 有効性評価法の確立・ガイドライン作成(再細, 遺医)  
Establishment of safety and efficacy assessment methods and guidelines for gene therapy medicinal products towards clinical development of the products for hereditary intractable diseases
3. 再生医療製品の臨床応用に向けた評価方法の開発・検証(再細, 医療)  
Development and validation of methods for assessing cell/tissue-based products for clinical application
4. ヒト幹細胞加工医薬品等の有効性・安全性の評価方法の開発および人材の育成(再細)  
Translational researches on the assessment of the safety and efficacy of human stem cell-based products
5. 日本での再生医療におけるクリティカルパス・イニシアチブ(再細)  
Critical path initiative for regenerative medicine in Japan
6. iPS細胞やES細胞を加工した再生医療製品の臨床応用に向けた評価方法の開発(再細)  
Development of assay methods for the clinical translation of iPS/ES cell-based therapeutic products
7. 核酸医薬の臨床有効性, 安全性の評価方法の開発(遺医)  
Methods for evaluating safety and efficacy of oligonucleotide therapeutics
8. 低侵襲治療デバイス・マテリアル及びナノバイオデバイス応用革新的医療機器に関する評価方法の策定(医療)  
Assessment methodology for innovative minimally invasive therapeutic devices, materials, and nano-bio diagnostic devices
9. 医療機器レギュラトリーサイエンス機構の創設によるEngineering Based Medicineに基づく非臨床試験評価法の確立(医療)  
Establishment of preclinical evaluation methods by "Engineering Based Medicine" produced from Regulatory Science Institute for Medical

委託研究開発費((国研)日本医療研究開発機構)

(創薬基盤推進研究事業)

1. 医薬品等の品質・安全性確保のための評価法の戦略的開発(薬品, 生物, 生薬, 再細, 遺医, 衛微)

Strategic developmental research on evaluation methods that assure quality and safety of pharmaceutical products

2. Claudin binderの最適化(生物)  
Development of fundamental technologies for the creation of claudin-targeting drug
  3. 薬用植物栽培並びに関連産業振興を指向した薬用植物総合情報データベースの拡充と情報整備に関する研究(生薬)  
Studies on enhancement of 'Comprehensive Medicinal Plant Database' aiming for cultivation of medicinal plants and industrial development
  4. 単味生薬製剤及び西洋ハーブの品質・安全性確保に資する評価手法に関する研究(生薬)  
Studies on evaluation methods for quality and safety assurance of crude drug products consisting of single herb and Western herbal products
  5. 医薬品・医療機器の実用化促進のための評価技術手法の戦略的開発(医安, 遺医, 医療, 有機, 生化, 薬理, 変異)  
Strategic development of evaluation methods for accelerating novel pharmaceuticals and medical devices
  6. 多層的オミックス解析による, がん, 精神疾患, 腎疾患を対象とした医療技術開発(医安)  
Medical technology development of target cancer, mental illness and kidney disease by multi-layered omics analysis
- (医薬品等規制調和・評価研究事業)
1. 医薬品品質保証システムの進歩に対応した日本薬局方の改正のための研究(副所長, 薬品, 生物, 生薬, 有機)  
Studies for revision of Japanese Pharmacopoeia corresponding to advanced pharmaceutical quality assurance system
  2. 核酸・遺伝子を用いた医薬品, ナノテクノロジーを応用したDDS 製剤等の品質及び安全性評価に関する研究(副所長, 薬品, 遺医)  
Studies on evaluation of quality and safety of oligonucleotide therapeutics, gene therapy products, and nanotechnology-based DDS formulations
  3. 医薬品の新規開発と製造変更における品質管理手法に関する研究(副所長, 薬品)  
Study on quality control techniques in a new development and manufacturing change of pharmaceutical products

- |  |  |
|--|--|
| <p>4. 医薬品品質システムにおける医薬品・製造・品質管理手法の系統化及び国際調和に関する研究 (薬品)<br/>Studies on systematization and international harmonization of pharmaceutical manufacturing and quality control in pharmaceutical quality system</p> <p>5. 高機能性薬物キャリアを利用した医薬品の品質確保に関する研究 (薬品)<br/>Studies on quality assurance of drug products using high-functional carriers</p> <p>6. 後発医薬品の同等性等ガイドラインにおける試験方法の改正に関する研究 (薬品)<br/>Studies for revision of bioequivalence guideline for generic pharmaceutical products</p> <p>7. 次世代抗体医薬品等の品質・安全性評価法の開発 (生物, 評価)<br/>Development of evaluation methods for quality and safety of next-generation monoclonal antibody therapeutics</p> <p>8. バイオ医薬品の安全性評価・品質管理に関する研究 (生物, 再細)<br/>Studies on safety evaluation and quality control of biopharmaceuticals</p> <p>9. 生薬及び生薬製剤の規格化と品質・有効性・安全性の確保並びに国際調和等に関する研究 (生薬, 薬品)<br/>Studies on crude drugs and their products for their standardization and for assurance of their quality, efficacy and safety and for their international harmonization</p> <p>10. 再生医療等製品の原料等となる細胞等の品質及び安全性の評価に関する研究 (再細)<br/>Studies on quality and safety assessment of the cells and other materials used for cell-based therapeutic products</p> <p>11. 再生医療実用化加速のための幹細胞等由来製品評価に最低限必須・共通の技術要件・基準に関する研究 (再細)<br/>Identification of the minimum technical requirements/standards for the quality and safety of cell-based therapeutic products and the translation of regenerative/cellular therapy</p> <p>12. コンパニオン診断薬の臨床性能のブリッジングのための評価手法に関する研究 (遺医)<br/>Studies on the method of evaluation of the companion diagnostics for a bridging of their clinical performance</p> <p>13. 遺伝子組換え技術応用医薬品の利用における生物多</p> | <p>様性の確保に係る規制のあり方に関する研究 (遺医)<br/>Study on application of Cartagena Protocol domestic law and related regulations for the use of living modified organisms in gene therapy clinical studies</p> <p>14. 血液製剤のウイルス等安全性確保のための評価技術開発に関する研究 (遺医)<br/>Study on testing and evaluation to ensure the viral safety of blood products</p> <p>15. 革新的医療機器で用いられる医療材料の生体への安全性等の評価方法等に関する研究 (医療)<br/>Study on the safety evaluation methods of medical materials for medical devices with innovative technology</p> <p>16. 医療機器規格の国際標準化を加速する環境整備に関する研究 (医療)<br/>Establishment of frameworks to accelerate international standardization of standards for medical devices</p> <p>17. 化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究 (生活)<br/>Studies on the development of analytical methods for trace impurities and the investigation of their levels in commercially available cosmetics</p> <p>18. 医薬部外品及び化粧品配合成分の安全性確保のための規格等に関する研究 (生化, 生活)<br/>Studies on improvement in standards for ingredients of cosmetics and quasi drugs for safety assurance</p> <p>19. 市販後における重篤副作用 (間質性肺炎, 横紋筋融解症, 重症薬疹等) の発症要因解明と安全対策に関する研究 (医安)<br/>Identification of genomic biomarkers and involvement of infection on the onset of severe drug adverse reactions</p> <p>20. 機能遺伝子多型に係る人種差に関する研究 (医安)<br/>Population differences in genetic polymorphisms related to drug responses</p> <p>21. 医薬品等の市販後安全対策のための医療情報データベースの活用方法に関する薬剤疫学研究 (医安)<br/>Pharmacoepidemiological research using medical information database for post-marketing drug safety</p> <p>22. 東アジア地域での薬剤応答性における民族差と国際共同治験や医薬品使用の実態に関する調査研究 (医安)<br/>Ethnic differences in drug-responses and status of</p> |
|--|--|

- clinical trials/drug utilization among East Asian countries
23. 個別症例安全性報告の国際標準規格の円滑な国内導入に向けた課題の調査・整理等に関する研究 (医安)  
Research for promoting implementation of international standards for individual case safety reports
24. 官民共同による重篤副作用バイオマーカー開発 (医安)  
Development of blood and urine biomarkers for severe adverse reactions.
25. 医薬品の安全性及び品質確保のための医薬品規制に係る国際調和の推進に関する研究 (センター長, 薬理)  
Studies on the acceleration of global harmonization for regulating safety and quality assurance of pharmaceuticals
26. ヒトiPS分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究 (薬理, 遺医)  
The development and international standardization of the next generation toxicity and safety assessment of medicines by utilizing human iPS differentiation cell technology
27. ヒトiPS細胞由来神経細胞等を用いた新規in vitro医薬品安全性評価法の開発 (薬理)  
Development of the new in vitro safety evaluation system using human iPS cell-derived neural cells
28. ヒトiPS細胞由来肝／小腸細胞による再現性のある薬物代謝酵素・トランスポーター等の薬物誘導性評価試験の開発 (薬理)  
Development of drug metabolism-relating gene induction tests using iPS cell derived hepatocytes and intestinal epithelial cells
29. ヒトiPS分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究 (薬理, 評価)  
The development and international standardization of the next generation toxicity and safety assessment of medicines by utilizing human iPS differentiation cell technology
30. ヒトiPS細胞由来心筋細胞株を成人心筋に橋渡しするためのインシリコツールの開発 (薬理)  
Development of in silico tool to bridge the gap between iPS cell-derived cardiomyocytes and human adult cardiomyocytes
31. 新規動物試験代替法の開発, 国際標準化及び普及促進に関する研究 (評価)  
Study for development, international standardization and promoting diffusion on novel alternative to animal testings
- (再生医療実用化研究事業)
1. ヒト幹細胞の造腫瘍性における病態解明とその克服に関する研究 (再細)  
Etiological approaches for prevention of malignant tumors derived from human stem cell-based products
  2. 小児難病患者及び成育疾患患者由来iPS細胞の樹立と薬剤スクリーニング系の確立 (再細)  
Development of the drug screening system using iPS cell lines derived from patients with incurable pediatric diseases or developmental disorders
  3. セル・バンク等を構築する幹細胞等由来製品のウイルス否定試験における評価技術要件に関する研究 (遺医)  
Study on viral safety evaluation of the cell therapy products derived from human stem cells and development of new test methods
  4. 特定細胞加工物／再生医療等製品の品質確保に関する研究 (医療, 再細)  
Studies about quality control of specific cell processed products/products of regenerative medicine etc.
  5. 関節治療を加速する細胞シートによる再生医療の実現 (医療)  
Realization of cartilage regeneration by cell sheet accelerating joint treatment
  6. ヒトiPS細胞等由来分化細胞の安全性に対するレシピエントの免疫状態の影響評価法の開発に関する研究 (再細)  
Development of evaluation methods for the influence of recipients' immunological status to the safety of differentiated cells derived from human pluripotent stem cells
- (臨床研究・治験推進研究事業)
1. 子宮頸癌に対する粘膜免疫を介したヒトパピローマウイルス (HPV) 分子標的免疫療法の臨床応用に関する研究 (食管)  
Study on clinical application with the mucosal vaccine against Human Papillomavirus (HPV) for Cervical cancer prevention
- (感染症実用化研究事業)
1. わが国における熱帯病・寄生虫症の最適な診断治療体制の構築 (薬品)

Research on Chemotherapy of Tropical Diseases  
(医療機器開発推進研究事業)

1. 三次元積層造形法による股関節インプラント及び手術支援ガイドの開発 (医療)

Development of orthopaedic hip implants and surgical guides manufactured by the additive manufacturing technique

(革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業)

1. 毒性ゼロに向けた革新的核酸薬プラットフォーム構築 - デュアル修飾型人工核酸の創製・探索・評価 - (遺医)

Building a Platform for Innovative Non-Toxic Nucleic Acid Drugs-Exploration, creation and assessment of dual-modified artificial nucleic acids-

(革新的先端研究開発支援事業)

1. 幹細胞の品質保持培養のためのメカノバイオマテリアルの開発 (再細)

Development of mechanobiomaterials those maintain the quality of mesenchymal stem cells for human stem cell-based products

政策創薬総合研究事業 (ヒューマンサイエンス振興財団)

1. 新たな肝細胞資源の有用性の評価とそれを用いた医薬品安全性評価法の構築 (薬理)

Evaluation of the usefulness of new hepatocytes resources and their application to drug safety tests

科学研究費補助金 (日本学術振興会)

(新学術領域研究)

1. 転写調節機構におけるユビキチン修飾系の役割解明 (毒性)

Studies on the role of ubiquitin modification system in transcriptional regulation

2. レトロトランスポゾンによる哺乳類母子間ゲノム・遺伝子相関と雑種強勢 (毒性)

Feto-maternal immunity and heterosis by retrotransposons

(基盤B)

1. 異物代謝酵素に着目した化学物質の暴露経路依存的なリスク評価法の構築 (生活)

Development of exposure route-dependent risk assessment of chemicals focused on xenobiotic-metabolizing enzymes

2. 過酸化脂質の生成機序, 疾病への関与機構および食品成分による抑制効果の解明 (生活)

Lipid peroxidation and diseases: their prevention by food constituents

3. 離散変量に起因する不確かさの評価と標準的リスク対応の確立—食品微生物規格への反映 (情報)

Evaluation of uncertainties associated with discrete variables and establishing standard risk response - application to microbiological standards for foods

4. 腫瘍組織におけるオーファンP450発現の病態生理学的意義の解明と創薬への応用 (医安)

Elucidation on pathophysiological significance of orphan P450 expression in tumor tissue and its application to drug discovery research

5. 重症薬疹のゲノムバイオマーカー探索と病態学的関連性検証に基づく発症予測診断系の開発 (医安)

Development of a diagnostic method for severe cutaneous adverse reactions by genomic biomarkers and their pathophysiological relevance

6. レセプトデータ分析による糖尿病患者の受診状況と医療サービス利用及び血糖との関連 (医安)

The association between medical examination status and utilization of medical service on diabetes mellitus patients by healthcare claim data analysis

7. 遺伝毒性発がん物質の閾値形成におけるDNAポリメラーゼζの役割に関する研究 (センター長)

Studies on the role of DNA polymerase zeta in thresholds for genotoxic carcinogens

8. ヒトiPSおよび新規遺伝子改変マウスを用いたネフローゼ症候群の病因解明 (毒性)

Elucidation of nephrotic syndrome pathogenesis using human iPS cell and genetically modified mice

9. 成熟したiPS由来心筋細胞の樹立と創薬・医療への応用 (薬理)

Development of mature cardiomyocytes from human iPS cells and application for drug discovery and regenerative medicine

10. コンディショナルTRIC-B欠損マウスの作製と機能解析 (薬理)

Conditional TRIC-B knockout mice production and functional analysis

11. 薬物誘発性不整脈に関する機能解析および発症予測へ向けた統合的評価法の構築 (薬理)

Development of integrated assessment of drug-induced proarrhythmia and its predictability.

12. 個別化医療に向けた抗体医薬品の標的分子の糖鎖構造と薬効・体内動態の関係の解明 (病理)

Effect of a target protein glycosylation on efficacy

- and pharmacokinetics of mAbs; Study for an individualized medicine
13. 遺伝毒性物質の経代的影響の定量的評価法に関する研究 (変異)  
Studies on quantitative evaluation of inherited germline mutations
14. DNA付加体1分子が関わる遺伝子変異誘発機構の緻密性に関する研究 (変異)  
Mechanism of gene mutations involving a single DNA adduct
15. 過去の大気浮遊粒子暴露が現在の肺がん発症等の健康リスクに及ぼす影響の評価 (変異)  
Studies on health effects by suspended particulate matter exposed in the past
- (基盤C)
1. リポタンパク質受容体を介したリポソームの細胞内動態の分子メカニズム (薬品)  
Molecular mechanism of lipoprotein receptor-mediated intracellular trafficking of liposome
2. 薬物結合抗体の動態関連分子結合性が細胞内・体内動態に及ぼす影響の解明 (生物)  
Influence of the affinities of antibody-drug conjugates for Fc receptors and antigens on pharmacokinetics
3. 免疫グロブリン製剤に含まれる凝集体の特性と安全性に関する研究 (生物)  
Studies on characteristics and safety of aggregates contained in therapeutic intravenous immunoglobulins
4. 水素/重水素交換質量分析法による糖タンパク質-踏査複合体の相互作用解析技術の開発 (生物)  
Development of analytical method for glycoprotein-glycan interaction by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry
5. 抗体医薬品の血中半減期延長技術確立を目指したFcRn親和性の基盤研究 (生物)  
Basic research on neonatal Fc receptor (FcRn) affinity to establish half-life extension technology of therapeutic antibodies
6. 細胞組織加工製品における「ウイルス安全性実現のための基本スキーム」に関する研究 (再細)  
A scheme of viral safety for cell-based therapeutic products
7. 多能性幹細胞のAW551984による心筋分化制御機構の解明 (再細)  
Analysis of the mechanism for the cardiomyogenic effect of AW551984 on pluripotent stem cells
8. 胚性幹細胞の新しいリプログラミング技術による高品質化と再生医学応用への基礎的研究 (再細)  
Generation of high-quality embryonic stem cells by new reprogramming technique and a basic research for regenerative medicine
9. ApollonによるMitosis制御機構 (遺医)  
Regulation of mitosis by Apollon
10. 志賀毒素による細胞死誘導機構の解析と治療薬の開発 (遺医)  
Mechanism of Shiga toxin-induced cell death and development of therapeutic agent
11. 核酸医薬品による肝毒性評価手法の構築に向けた基盤研究 (遺医)  
Evaluation of hepatotoxicity of oligonucleotide therapeutics
12. 大血管ナビゲーションのシステムデザイン最適化に向けたユーザビリティ工学的探究 (医療)  
Usability-oriented system development of a surgical navigation for aortic vascular surgery
13. 侵害刺激受容体TRPA1の感受性個体差に関する分子毒性学的研究 (生活)  
Studies on molecular mechanisms of the inter-individual variation in nociceptive TRPA1 sensitivity
14. 簡便かつ迅速な食物アレルギー検知法の開発と外食・中食オンサイト分析への利用 (生活)  
Development of the simple and rapid detection method for food allergen
15. 食物アレルギーの物理的処理に伴う抗原性の変化の解析並びに高感度検出法の開発 (食品, 医安)  
Analysis of the allergenicity change of structurally modified food allergens and development of highly sensitive detection method
16. 食品添加物の新規抗原感受性評価手法の開発に関する研究 (食品)  
Study on the development of evaluation method for the sensitization of food additives
17. 下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイの原理解明、及び動物福祉に配慮したその改良 (食管)  
Studies on the mechanism of mouse bioassay for diarrhetic shellfish poisoning toxins and its improvement in consideration of animal welfare
18. 乳児用粉乳汚染細菌Cronobacter spp.の新分類と病原機構に関する研究 (食管)  
Studies on the taxonomy and mechanism of virulence of *Cronobacter* spp.
19. 食物アレルギーにおける食物アレルギーを発現する

- 乳酸菌ワクチン研究 (食管)  
Studies on lactic acid bacteria vaccine for food allergy
20. 寄生虫性食中毒に対する分子疫学的解析法の確立(衛  
微)  
Development of molecular epidemiology for  
parasitic food poisoning
21. GPIアンカー欠損スプライス変異型プリオン蛋白質  
の生理機能の解明に関する研究 (衛微)  
Studies on cellular mechanisms of GPI-anchorless  
splice variant of the prion protein
22. 白色脂肪の褐色化: RXRアゴニスト・有機スズに  
よる制御とその機構 (生化)  
Mechanism underlies brown fat-like development  
of white fat by RXR agonists and organotin  
compounds
23. 食物アレルギーにおけるアレルゲン経皮感作のメカ  
ニズム解析及びマーカー分子の探索 (生化)  
Analysis of the mechanism for skin sensitization  
by food allergens and screening of biomarkers
24. 急性脳症解明のための細胞核とミトコンドリアにお  
ける細胞死制御分子の機能解析 (生化)  
Mechanistic study of apoptotic molecules in the  
nucleus and mitochondria to investigate unknown  
encephalopathy caused by mushroom intake.
25. 安定化ヘリカルペプチドを用いた標的タンパク質分  
解誘導剤の創製 (有機)  
Development of stabilized helical peptides for  
degradation inducer of target protein
26. EXiLE法と質量分析法とを用いたアレルゲンエピ  
トープの網羅的解析技術の開発 (医安)  
Development of comprehensive allergenic epitope  
exploring method by means of EXiLE and mass  
spectrometry
27. 医療データベースを用いた免疫関連バイオ医薬品と  
化学薬品間の相互作用評価 (医安)  
Evaluation of interaction between biotechnology-  
based drug and chemical drug using medical  
information databases
28. 新機序糖尿病治療薬の副作用に関する薬剤疫学研究  
とその応用 (医安)  
The pharmacoepidemiological study on the  
adverse reaction of novel therapeutic agent for  
type 2 diabetes mellitus and the application
29. 血中の抗炎症性脂質により腫瘍が分子標的薬に高感  
受性を示す作用機序 (医安)  
Anti-inflammatory lipids in blood enhance the  
chemosensitivity of tumor cells to a molecular  
target drug
30. 生体異物相互作用の場としてのいわゆるニッチを介  
した造血幹細胞動態の制御と加齢影響 (毒性)  
Regulation of cell cycle on hematopoietic stem/  
progenitor cells (HSPCs) via the HSPC-niches,  
the site of xenobiotic interrelationship along with  
natural aging
31. 父性発現インプリンティング遺伝子Peg10の機能解  
明 (毒性)  
Functional analyses of paternally expressed  
imprinted gene, Peg10
32. ミトコンドリア内分子シャペロンを標的とした尿路  
上皮癌に対する新規癌治療戦略 (毒性)  
A new cancer treatment strategy the inner  
mitochondrial molecular chaperone for urothelial  
cancer that target
33. 三次元培養モジュールを用いたヒト幹細胞への化学  
物質の毒性評価法に関する研究 (薬理)  
Study of toxicity test system of chemical  
substances on human stem cells using three -  
dimensional culture module
34. 子宮内膜でのアポトーシスに及ぼす一酸化窒素とS-  
ニトロシル化タンパク質の関与 (薬理)  
Studies on the involvement of nitric oxide and  
S-nitrosylated protein in endometrial apoptosis
35. ヘリコバクター・ピロリ除菌後胃がんの発生機序に  
おけるDNA損傷・修復経路の役割 (病理)  
Roles of DNA damage and repair pathway  
in gastric carcinogenesis after eradication of  
*Helicobacter pylori*
36. 肝再生プログラミン破綻とNrf2の意義 (病理)  
Effects of Nrf2 on the disruption of liver  
regeneration process
37. DNA二本鎖切断モデルの構築と、それを用いた修  
復と低線量影響に関する研究 (変異)  
Development of a model for DNA double strand  
break in mammalian cells and its application to  
studies of DNA repair and low dose irradiation  
effects
38. エピ変異可視化システムの創成 (変異)  
Development of visible detection system for  
epimutation
- (挑戦的萌芽研究)
1. 大動脈ステントグラフトを用いた治療目標達成度を  
評価する拍動流シミュレータ開発 (医療)  
Development of pulsatile flow simulator for

- evaluating outcomes of endovascular stent-graft placement
2. 薬物性筋障害発症へのHLAクラスII分子関与に基づく新たな解析戦略・評価系の構築 (医安)  
Construction of novel MHC-class II based strategy and evaluation method for drug-induced myopathy.
  3. メンデル無作為群間比較アプローチを用いた生活習慣病の原因因子の探索 (医安)  
A Mendelian randomization approach for the identification of causal association in lifestyle disease
  4. 脂質メタボロミクスによる眼表面炎症疾患の病態解明ならびに疾患マーカーの探索 (医安)  
Mechanistic analysis of ocular surface inflammation by lipidomics and screening of its biomarkers
  5. スードマウスに発毛を誘導する因子の同定 (薬理)  
Identification of trichogenous inducing factor in nude mouse
  6. 骨形成における小胞体カウンターイオンチャネルの機能的役割 (薬理)  
Functional role of ER counter-ion channel in bone formation
  7. ユビキチンリガーゼCHIPによる乳がん幹細胞の制御機構の解明と新規治療法の開発 (薬理)  
Elucidation of cancer stem cell regulation via CHIP ubiquitin ligase toward a new therapy
  8. DNA損傷応答因子欠損細胞を用いた迅速、簡便かつ高感度な遺伝毒性検出法の研究 (病理)  
Study for the rapid, easy and highly sensitive genotoxicity assay by using DDR (DNA damage responses) -deficient cells
- (若手研究B)
1. 抗体医薬品の有害作用発現に関連するヒト免疫応答メカニズムの解析 (生物)  
Mechanisms of the immune responses related to adverse events of therapeutic mAbs
  2. さく葉標本を利用した、薬用植物のDNA鑑別のためのプラットフォーム構築 (生薬)  
Development of the DNA database of herbarium specimen useful for identification of herbal plants
  3. ヒトiPS細胞の均一性を評価するマーカーの探索 (再細)  
Screening of markers for quality assessment of hiPSCs used for cell-based therapeutic products.
  4. 微小管制御タンパク質を標的とした分解誘導薬剤の開発に関する基礎的研究 (遺医)  
Development of novel small molecules degrading microtubule-associated proteins
5. 25ヒドロキシコレステロールによる抗ウイルス活性の解析 (遺医)  
Analysis of antiviral activity of 25-hydroxycholesterol
  6. 生体内物質による医用材料の劣化機構の解明 (医療)  
Investigation on the degradation mechanism of biomaterials induced by biological substances in vivo
  7. 環境水中農薬の動態予測シミュレーションとモニタリングに関する研究 (生活)  
Environmental behavior simulation and monitoring of agricultural chemicals in river water
  8. 核磁気共鳴 (NMR) 技術を利用した食品中の化学物質分析法の確立 (食添)  
Development of quantification method for chemical components in processed foods by NMR
  9. 鶏腸管におけるカンピロバクター感染動態のゆらぎに関する研究 (食管)  
Studies on fluctuating infection dynamics of *Campylobacter* in chicken gut
  10. 微生物共生システムを基盤としたレジオネラ制御法に関する研究 (食管)  
Development of *Legionella* control methods based on microbial symbiotic system
  11. 水害被災地における真菌アレルギー患者の免疫血清学的検査の妥当性向上に関する研究 (衛徴)  
Development of immunoserological diagnostic methods for fungal-allergic patients in flood-damaged areas
  12. エストロゲン受容体分解誘導活性を有する新規乳がん治療薬の開発 (有機)  
Development of estrogen receptor down-regulators for anti-breast cancers
  13. 多様な活性の付与を指向した安定化ヘリカルテンプレートペプチドの開発 (有機)  
Development of stable helical peptides as template to alter its biological activities by post-modification
  14. 未承認GMの峻別を可能とするイネ種子エピゲノムの一粒子プロファイリング (生化)  
Individual seed epigenetics profiling for rice to detect unauthorized GM trait
  15. LAMP法を用いた遺伝子組換え食品の簡易検査法の開発 (生化)  
Development of convenient detection method for genetically modified organism by LAMP
  16. 食品に含まれる $\alpha/\beta$ 線放出核種の分析と哺乳動物



における体内動態の解析 (生化)

Analysis of the alpha- or beta-emitters in foods and the biokinetics of the emitter in mammals.

17. 官能基非依存性固定化ビーズを用いた重症薬疹の初期発症メカニズムの解明 (医安)

Analysis of molecular mechanisms involved in severe cutaneous drug adverse reactions using drug-immobilized beads.

18. メタボロミクス解析を用いた薬剤性間質性肺炎の発症メカニズムの解析 (医安)

Analysis of the pathogenic mechanism of drug-induced interstitial pneumonia using a metabolomics analysis

19. 双方向のNotch-Deltaシグナルによる組織発生制御機構の解明 (毒性)

Analysis of the Delta signaling as the reverse signaling of Notch during mouse development

20. KCNQチャンネルの小脳での役割を脳スライス電気生理と行動実験で包括的に解明する (薬理)

The physiological roles of KCNQ channel in cerebellar neurons

21. DNA構造位相変換制御と修復・転写・クロマチン構造変換のカップリング (変異)

Analysis of DNA topology, transcription and DNA repair

#### (特別研究員奨励費)

1. 天然物医薬品の日独双方向国際展開に資する薬用植物の化学的研究 (生薬)

Chemical study on medicinal plants for Japan-German bidirectional developments of herbal medicines

2. 機能性材料の開発を加速させる新規RNAアプタマー修飾医用材料の創出 (医療)

Development of functional biomaterials using RNA aptamer

#### 石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発 (経済産業省)

1. 遺伝子発現変動データから各種毒性の発現可能性情報を取得する手法の開発 (評価)

Development of methods to obtain data on the possibility of the expression of toxicity on the basis of altered gene expression

2. 標的臓器毒性等の毒性やヒト代謝機能の影響を検出し得る細胞試験法 (in vitro試験法) の開発及び、これら試験法等の複数の細胞試験法を迅速かつ効率的に実施可能なHTP試験システムの開発 (評価)

Development of cell assays to detect toxicities, including target organ toxicity and metabolic function

#### 精神・神経疾患研究開発費 ((国研) 国立精神・神経医療研究センター)

1. 大麻関連化合物を中心とした脱法ドラッグにおける精神薬理作用発現の機序解明に関する研究 (有機)

Intramural Research Grant (25-1) for Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP

#### (財) 喫煙科学研究財団研究助成金

1. 肺癌幹細胞の機能に対する喫煙の影響 (薬理)

Effect of Smoking on function of Lung Cancer Stem Cells

#### (財) 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団研究補助金

1. 注射剤の不溶性微粒子測定法に関する検討 - 現状と課題: Flow Microscopy法について - (薬品)

Study on insoluble particulate matter test for injections - Current situation and challenges: Flow imaging a new method

2. 宿主細胞由来タンパク質の試験法に関する研究 (生物)

Studies on host-cell protein assays

3. 日本薬局方 糖鎖試験法の国際調和に関する研究 (生物)

Studies for International harmonization of glycosylation analysis.

4. 核酸増幅検査(NAT)を利用した真菌否定試験および迅速同定法の開発に関する研究 (衛微)

Study on the detection and identification method of the fungal test based on Nucleic acid Amplification Test (NAT)

5. エンドトキシン試験法に用いる組換えライセート試薬の評価に関する研究 (衛微)

Studies on evaluation of lysate reagents prepared from recombinant proteins for bacterial endotoxins test

6. 細菌と真菌の同時検出を達成する群衆構造解析条件とバリデーショ標準品の検討 (衛微)

Development of a method of metagenomic survey of both bacteria and fungi

#### (公財) 大下財団研究助成金

1. 冷凍野菜製品における腸管出血性大腸菌の凍結損傷

と微生物検査の適正化に関する研究 (衛微)

Studies on freeze injured Shiga toxin-producing  
Eccerichia coli in freezed vegetable and the  
appropriate bacterial examination

(公財) 武田科学振興財団研究助成金

1. 組織機能回復の革新を目指した細胞パーティ編成技術の開発 (毒性)  
Development of tissue engineering method for regenerative medicine

(公財) 日本食品化学研究振興財団

1. 食品添加物等の各種理化学情報検索システム構築に関する研究 (食添)  
Development of physical-chemical information retrieval system for food additives
2. 香気成分エストラゴールの突然変異誘発過程における細胞増殖活性亢進機序の解明 (病理)  
Induction mechanism of cell proliferation contribute to the mutagenicity of estragole

(公財) 臨床薬理研究振興財団研究奨励金

1. 薬剤性間質性肺炎の責任遺伝子探索と関連性解析 (医安)  
Screening of genes associated with drug-induced interstitial lung disease

一般試験研究費 (基盤的研究費等試験研究費)

1. プロテインノックダウン法の開発と創薬に関する研究 (遺医)  
Drug discovery research based on the protein knockdown technology
2. 細胞死阻害タンパク質の機能に関する研究 (遺医)  
Studies on the function of cell-death inhibitory proteins
3. 腸管出血性大腸菌の毒性発現機構と制御に関する研究 (遺医)  
Studies on the cytotoxicity of enterohemorrhagic Escherichia coli
4. オリゴ核酸の細胞内動態に関する研究 (遺医)  
Analysis of intracellular transport of oligonucleotide therapeutics
5. アンチセンス医薬品の相補配列依存的オフターゲット効果に関する研究 (遺医)  
Evaluation of Off-target Effects of Antisense Oligonucleotides
6. 食品中のアルファ線およびベータ線放出核種濃度の

実態調査 (食品)

Survey on alpha-and beta-emitting radionuclides in foods

7. 医薬品の安全性に関する情報の収集, 解析, 評価および提供に関する研究 (情報)  
Studies on drug safety information: research, analysis, assessment and dissemination
8. 食品の安全性に関する情報の収集, 解析, 評価および提供に関する研究 (情報)  
Studies on food safety information: research, analysis, assessment and dissemination
9. 国際協力を伴う情報基盤の化学物質安全性に関する研究 (評価)  
Studies on information-based chemical safety with international collaboration
10. 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 (評価)  
Studies on knowledge platform to support countermeasure against emergent chemical safety hazards
11. 遺伝毒性試験・発がん性を統合する包括的試験法の開発に関する基礎的研究 (センター長, 病理, 変異)  
Fundamental studies on the development of integrated genotoxicity and carcinogenicity testing
12. 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
13. 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
14. 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

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  
再生・細胞医療製品部……………再細

---

遺伝子医薬部	遺医
医療機器部	医療
生活衛生化学部	生活
食品部	食品
食品添加物部	食添
食品衛生管理部	食管
衛生微生物部	衛微
有機化学部	有機
生化学部	生化
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
安全性予測評価部	評価

## 平成27年度 行政試験等の処理状況 Inspection Activities Requested by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Fiscal Year 2015

区 分	依頼事項	処理件数
行政試験・検査(※1)		
医薬品・医療機器関係	後発医薬品品質確保対策事業	62
	後発医薬品品質情報提供等に係る試験検査等	548
	登録試験検査機関精度管理等適正化推進事業	102
	日本薬局方新規収載品目及び改正既収載品目原案作成事業	10
	地方衛生研究所における医薬品試験の精度管理事業	35
	日局各条ヘパリンナトリウムに含まれる不純物の規格及び試験法原案の作成及びその検証	1
	日本薬局方収載医薬品構造式等策定事業	30
	違法ドラッグ買上調査における成分分析	8,940
	第1回輸入インド産生あへんのモルヒネ含有率試験	42
	第2回輸入インド産生あへんのモルヒネ含有率試験	24
	健康食品及び無承認無許可医薬品買上調査における成分分析	3,066
	国内産あへんのモルヒネ含有率試験	6
	医薬品迅速分析法作成のための試験	8
	"エンドトキシン試験法における国際標準品の国際共同検定に係る調査研究"	24
	次世代医療機器評価指標作成事業	4
	JIS規格及び適合性認証基準等原案作成事業	12
	水道水質検査	6,930
	国設自動車交通環境測定所における大気汚染測定調査	12,045
	化学物質に係る調査等	4,349
	化粧品成分の分析法に関する研究	5
食品関係	食品・添加物等規格基準に関する試験検査等	22,262
	食中毒関連情報調査等	639
	食品表示に関する試験検査等	130
	安全性未承認GM食品監視対策	68
	マリントキシン検査外部精度管理	14
	輸出国における農薬等の使用状況等調査等	1
センター関係	食品・添加物等規格基準に関する試験検査等	49
	化学物質に係る調査等	198
	タール色素等毒性試験法に関する調査研究	1
医行政依頼試験・検査(※2)		
医薬品・医療機器関係	違法ドラッグ製品分析	2,589,675
食品関係	食中毒疑い検体試験	8
その他	無承認無許可医薬品分析用標品配布	104
	指定薬物配布	1,421
	鑑識用麻薬標品配布	14

※1 行政試験・検査：厚生労働省及び他省庁から依頼され、庁費として入った試験検査費により行う業務。

※2 行政依頼試験・検査：厚生労働省及び他省庁から依頼され、当所の「医薬品等の国家検定及び検査等に必要な経費等」の予算により行う業務。

## 平成27年度医薬品等の 公的認定試験検査機関としての活動報告

副所長 奥田 晴宏

平成26年度に整備した医薬品取去試験に係る品質システムに従って、公的試験検査に係る担当者に対して教育訓練を実施するとともに、厚生労働省監視指導・麻薬対策課の試験検査機関認定調査を受け、平成27年度公的認定試験検査施設として認定された。実地査察は生物薬品部を対象として実施され特段の指摘はなかった。

昨年と同様、薬品部、生薬部および生活衛生化学部が一斉監視指導取去指定品目の試験検査を実施した。医薬品に関しては3種類、51件の試験検査を、医薬部外品・化粧品に関しては1種類、8件の試験検査を実施し、すべて規格に合格していた。試験は定められた期限内に終了し、逸脱、苦情処理等の特段の問題は認められなかった（表1）。

生物薬品部は、承認書に記載のないヘパリンを添加するなど、承認書とは異なる製造方法を用いて製造された血漿分画製剤13検体および製造工程で用いられたヘパリン2検体に関して合計23件の試験検査を実施した（表2）。試験結果として、製造工程で用いられたヘパリンが日局ヘパリンナトリウム各条の確認試験及び純度試験の規格に適合したこと、ならびに、血漿分画製剤中の残存ヘパリン活性を測定した結果を監視指導・麻薬対策課に報告した。

表1 平成27年度一斉監視指導取去指定品目の試験検査一覧

試験担当 部局	試験品目局	試験項目	試験数
薬品部	フェキソフェナジン塩酸塩錠60mg	溶出試験	28
	イミダプリル塩酸塩錠2.5mg	類縁物質試験	14
生薬部	オウレン及びオウレンを含む漢方処方製剤（黄連解毒湯）（承認規格において重金属試験の設定があるもの）	重金属試験	9
生活衛生 化学部	クロルフェネシンを含有する化粧品又は医薬部外品	定量	8

表2 平成27年度PMDA取去品目の試験検査一覧

試験担当 部局	試験品目局	試験項目	試験数
生物 薬品部	血漿分画製剤の製造工程で用いられたヘパリン	確認試験 純度試験（タンパク質、核酸、過硫酸化コンドロイチン硫酸、類縁物質）	10
	血漿分画製剤	ヘパリン残存試験	13

## 国立医薬品食品衛生研究所報告第134号 人名索引

A		F		
Abe, Yasuhiro	(阿部康弘)	170, 294	Furusawa, Hiroko (古沢博子)	210, 326, 349, 350, 351
Abe, Yutaka	(阿部裕)	203, 204, 284, 317, 319, 320, 372, 378	Furusho, Noriko (古庄紀子)	68, 283, 317, 318
Adachi, Reiko	(安達玲子)	192, 285, 308, 309, 310, 311, 312, 332, 346, 347, 348, 365, 373	G	
Adachi, Rika	(足立利華)	313, 315, 316, 332, 348	Goda, Yukihiro (合田幸広)	89, 161, 162, 163, 168, 169, 177, 178, 179, 181, 203, 225, 250, 251, 252, 277, 278, 289, 290, 291, 292, 294, 296, 297, 298, 299, 300, 318, 356, 364, 365, 366, 367, 369, 370, 374, 375
Aisaki, Ken-ichi	(相崎健一)	337, 338	Goto, Yuto (後藤佑斗)	299
Akagi, Jun-ichi	(赤木純一)	229, 230, 231, 286, 345, 346, 347, 348	Grúz, Petr (グルーズ ピーター)	236, 287, 348, 349, 350
Akiyama, Hiroshi	(穉山浩)	50, 55, 63, 68, 114, 194, 195, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 217, 259, 260, 282, 283, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 331, 332, 364, 365, 369, 371, 378	H	
Akiyama, Takumi	(秋山卓美)	42, 200, 203, 258, 281, 309, 311, 312, 318, 365, 369	Hachisuka, Akiko (蜂須賀暁子)	194, 195, 199, 263, 283, 313, 314, 315, 316, 330, 331, 364, 379
Amanuma, Hiroshi	(天沼宏)	263, 332, 333	Haishima, Yuji (靄島由二)	87, 108, 280, 304, 305, 306, 307, 308, 327, 364, 367, 368, 369, 377
Amanuma, Kimiko	(天沼喜美子)	332	Hakamatsuka, Takashi (袴塚高志)	73, 96, 177, 178, 179, 254, 278, 279, 280, 296, 297, 298, 299, 300, 328, 341, 356, 364, 366, 367, 369, 375, 376
Aoki, Yoshiko	(青木良子)	218, 332, 373, 380	Hanatani, Tadaaki (花谷忠昭)	219
Asakura, Hiroshi	(朝倉宏)	204, 205, 206, 277, 284, 320, 358, 369, 372, 378, 379	Hara-Kudo, Yukiko (工藤由起子)	208, 209, 210, 261, 283, 284, 323, 364, 365, 372, 379
Asanagi, Miki	(麻薙美紀)	227, 343	Harazono, Akira (原園景)	175, 277, 294, 295, 367, 375
Aso, Yukio	(阿曾幸男)	277, 278, 290, 291, 364, 367, 369, 370	Hashii, Noritaka (橋井則貴)	171, 172, 173, 174, 175, 187, 253, 277, 278, 294, 295, 297,
C				
Cho, Young-Man	(曹永晩)	229, 230, 286, 345, 346, 347, 348, 365		
Chujo, Kaori	(中條かおり)	341, 342		
D				
Demizu, Yosuke	(出水庸介)	179, 212, 213, 214, 215, 216, 257, 262, 303, 327, 328, 329, 330, 342, 367		

		304, 367, 375			284, 285, 320, 321,
Hattori, Takayuki	(服部隆行)	187, 215, 257, 301,			322, 358, 364, 365,
		302, 303, 304, 327,			366, 367, 369, 382
		328, 329, 330	Ikarashi, Atsuko	(五十嵐敦子)	283, 314
Hayashi, Kyoko	(林恭子)	283, 314, 315, 316	Ikarashi, Yoshiaki	(五十嵐良明)	33, 42, 111, 190,
Hayashi, Tomoko	(林智子)	195, 283, 315, 316			191, 193, 194, 246,
Hirabayashi, Yoko	(平林容子)	136, 223, 224, 337,			258, 259, 280, 281,
		338, 339, 366, 367			309, 310, 311, 312,
Hirata-Koizumi, Mutsuko	(平田睦子)	240, 245, 273, 287,			364, 369, 378
		352, 353	Imatoh, Takuya	(今任拓也)	285, 334, 335, 336,
Hirata, Naoya	(平田尚也)	227, 265, 342, 343,			373
		344	Inoue, Kaoru	(井上薫)	33, 188, 231, 232,
Hirata, Tadashi	(平田直)	230, 345, 346, 347,			233, 234, 244, 267,
		348			286, 306, 346, 347,
Hirose, Akihiko	(広瀬明彦)	79, 152, 174, 222,			348, 365
		236, 240, 245, 246,	Irie, Tomohiko	(入江智彦)	225, 228, 340, 341,
		247, 273, 287, 288,			345
		295, 309, 311, 337,	Isama, Kazuo	(伊佐間和郎)	33, 42, 49, 188,
		352, 353, 361, 362,			193, 259, 281, 305,
		363, 364, 365, 366,			306, 308, 309, 310,
		367, 368, 369, 374,			311, 312
		380	Ishida, Riho	(石田里穂)	345
Hiruma, Hitomi	(比留間瞳)	300, 305, 306, 307	Ishida, Seiichi	(石田誠一)	228, 266, 271, 345,
Hiruta, Yoko	(蛭田葉子)	278, 294			361, 364, 368
Honma, Masamitsu	(本間正充)	22, 148, 235, 236,	Ishigaki, Takumi	(石垣拓実)	331, 332
		237, 238, 239, 241,	Ishii, Akiko	(石井明子)	92, 166, 173, 174,
		242, 244, 267, 268,			175, 252, 253, 277,
		269, 270, 271, 272,			278, 294, 295, 296,
		277, 287, 303, 348,			297, 304, 334, 335,
		349, 350, 351, 352,			356, 364, 366, 367,
		360, 364, 365, 367,			370, 375
		368, 369	Ishii, Yuji	(石井雄二)	229, 286, 346, 347,
Horibata, Katsuyoshi	(堀端克良)	240, 272, 287, 349,			348
		350, 351, 352, 364	Ishikawa Masaki	(石川将己)	220, 333, 334, 335,
Horiuchi, Shinichiro	(堀内新一郎)	228, 345			336
Hoshikawa, Kazue	(干川和枝)	340, 341, 342	Ishizuki, Kyoko	(石附京子)	200, 202, 203, 283,
Hosoe, Junko	(細江潤子)	289, 290, 298, 300,			284, 317, 318
		318	Itoh Sachiko	(伊藤幸子)	335
Hyuga, Masashi	(日向昌司)	176, 253, 277, 296,	Izutsu, Kenichi	(伊豆津健一)	162, 163, 250, 251,
		297, 367, 370			277, 278, 290, 366,
					367, 370

I

Ichimura, Ryohei	(市村亮平)	233, 234, 346, 347,
		348
Ide, Yoshinori	(井出吉紀)	343, 344
Igimi, Shizunobu	(五十君静信)	120, 205, 206, 261,

K

Kamakura, Hiroyuki	(鎌倉浩之)	177, 278, 296, 297,
		300
Kamei, Toshiyuki	(亀井俊之)	314, 330, 331

Kamoshita, Nagisa (鴨下渚)	239, 349, 350, 351	Kijima, Aki (木島綾希)	229, 286, 346, 347, 348
Kanayasu-Toyoda, Toshie (豊田淑江)	326, 327	Kikuchi, Hiroyuki (菊地博之)	195, 282, 316, 364
Kanda, Yasunari (諫田泰成)	9, 214, 227, 228, 265, 266, 327, 328, 329, 330, 339, 342, 343, 344, 367, 380	Kikuchi, Yutaka (菊池裕)	210, 323, 326, 327, 330, 366, 367, 369, 373
Kanemaru, Yuki (兼丸祐紀)	239, 350, 351	Kikura-Hanajiri, Ruri (花尻(木倉)瑠理)	73, 178, 179, 180, 181, 225, 254, 277, 279, 280, 297, 298, 299, 300, 328, 330, 341, 357, 364, 365, 367, 370, 375, 376
Kaniwa, Nahoko (鹿庭なほ子)	219, 220, 221, 334, 335	Kim, Su-Ryang (金秀良)	228, 345
Kanno, Jun (菅野純)	136, 222, 224, 285, 286, 337, 338, 339, 353, 359, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 382	Kimura, Yoshie (木村美恵)	332, 346, 347, 348
Kasuga, Fumiko (春日文子)	129, 205, 207, 263, 285, 320, 332, 333, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 373, 380, 382	Kitajima, Satoshi (北嶋聡)	337, 338, 339, 364, 366, 368, 374
Kataoka, Yohei (片岡洋平)	194, 195, 198, 259, 283, 313, 314, 315, 316, 371	Kiyoshi, Masato (木吉真人)	174, 295, 296
Kato, Hina (加藤日奈)	240, 245, 287	Kobayashi, Katsumi (小林克己)	245, 273, 287
Kato, Kumiko (加藤くみ子)	168, 169, 170, 173, 294, 365, 367, 375	Kobayashi, Mariko (小林真里子)	343, 344
Kato, Reiko (加藤玲子)	280, 305, 306, 307, 308, 309, 357, 364, 369	Kobayashi, Norihiro (小林憲弘)	191, 192, 193, 194, 210, 258, 281, 309, 310, 311, 312, 362, 364, 366, 369, 378
Katori, Noriko (香取典子)	163, 164, 166, 167, 168, 174, 251, 252, 278, 291, 292, 293, 294, 295, 364, 365, 367, 369, 370	Kobayashi, Tetsu (小林哲)	296
Kawakami, Tsuyoshi (河上強志)	33, 42, 188, 191, 193, 258, 259, 281, 304, 305, 306, 308, 309, 310, 311, 312, 371, 378	Kodama, Yukio (児玉幸夫)	33, 232, 233, 346, 347, 348
Kawamura, Maiko (河村麻衣子)	73, 297, 298, 300	Koide, Tatsuo (小出達夫)	163, 164, 165, 251, 252, 278, 292, 293, 365, 367, 370
Kawamura, Tomoko (川村智子)	245, 287, 352, 353	Kojima, Hajime (小島肇)	241, 242, 244, 247, 248, 267, 268, 269, 273, 274, 277, 288, 311, 312, 353, 354, 355, 361, 362, 367, 368, 369, 381
Kawamura, Yoko (河村葉子)	63, 201, 319, 320, 358, 368, 372, 378	Komoriya, Kaoru (小森谷薫)	305, 306, 307, 308, 309
Kawanishi, Toru (川西徹)	85, 163, 168, 169, 173, 250, 289, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 374	Kondo, Kazunari (近藤一成)	127, 217, 285, 331, 332, 365, 369, 373
Kawasaki, Hiromi (河崎裕美)	201, 203, 317, 318	Kono, Ken (河野健)	300, 301, 306, 308, 364
		Kubosaki, Atsutaka (窪崎敦隆)	284, 323, 324, 326, 367
		Kubota, Hiroki (久保田浩樹)	63, 68, 201, 278, 283, 317
		Kubota, Kunihiro (窪田邦宏)	205, 263, 285, 332, 333, 364, 365, 368,



	380	Matsuyama, Satoko	(松山さと子) 183, 301
Kubota, Reiji	(久保田領志) 191, 193, 194, 281,	Matsuzawa, Yumiko	(松澤由美子) 220, 334, 335, 336
	309, 310, 312, 364,	Misawa, Takashi	(三澤隆史) 213, 214, 215, 216,
	378		327, 328, 329, 330
Kubo, Yusuke	(久保祐亮) 344, 382	Mitsumoto, Masami	(三元昌美) 322
Kumai, Yasuhito	(熊井康人) 201, 283, 317	Miura, Takumi	(三浦巧) 254, 367, 377
Kuniyoshi, Kyoko	(國吉杏子) 321	Miyahara, Michiko	(宮原美知子) 323
Kurihara, Masaaki	(栗原正明) 5, 126, 212, 213,	Miyajima, Atsuko	(宮島敦子) 228, 280, 305, 306,
	214, 215, 216, 257,		307, 308, 309, 345,
	263, 303, 304, 327,		357, 364, 365, 369
	328, 329, 330, 342,	Miyama, Tizuru	(宮間ちづる) 295
	364, 366, 367	Miyazaki, Tamaki	(宮崎玉樹) 278, 290, 291, 367
Kuroda, Ken	(黒田顕) 229, 347	Mizuta, Yasuko	(水田保子) 229, 230, 286, 345,
Kuroda, Takuya	(黒田拓也) 183, 301		346, 347, 348
Kuroda, Yukie	(黒田幸恵) 228, 345	Mogami, Tomoko	(最上知子) 127, 217, 220, 285,
Kusakawa, Shinji	(草川森士) 183, 301, 382		308, 309, 310, 330,
Kuwana, Akemi	(桑名明美) 162, 290		331, 332, 346, 347,
Kuwata, Kazunori	(桑田和倫) 233, 234, 346, 347,		348, 353, 367, 368,
	348		382
	<b>M</b>	Momose, Yoshika	(百瀬愛佳) 207, 284, 322, 365
		Morikawa, Tomomi	(森川朋美) 188, 231, 234, 286,
			306, 346, 347, 348
Maeda, Hatsuyo	(前田初代) 332	Morishita, Yuki	(森下裕貴) 305, 306, 308
Maeda, Tomomi	(前田朋美) 282, 314	Morita, Takeshi	(森田健) 22, 236, 241, 242,
Maekawa, Keiko	(前川京子) 220, 221, 285, 333,		243, 244, 267, 268,
	334, 335, 336		269, 273, 287, 288,
Maruno, Yuriko	(丸野有利子) 332		349, 350, 351, 352,
Maruyama, Takuro	(丸山卓郎) 177, 178, 278, 296,		364, 365, 366, 367,
	297, 298, 299, 364,		369
	367, 376	Muraoka, Hitomi	(村岡ひとみ) 255
Masada, Sayaka	(政田さやか) 177, 178, 297, 298,	Murata, Ryo	(村田龍) 321
	299, 356, 375	Murayama, Mayumi	(村山真由子) 333, 335
Masuda, Kazuya	(榊田和彌) 205	Mutsuga, Motoh	(六鹿元雄) 203, 204, 284, 319,
Masumura, Kenichi	(増村健一) 238, 277, 287, 349,		320, 364, 365, 372,
	350, 351, 352, 360,		378
	364, 365		
Matsuda, Rieko	(松田りえ子) 50, 194, 195, 199,		<b>N</b>
	259, 263, 282, 283,		
	284, 313, 314, 315,	Nabeshi, Hiromi	(鍋師裕美) 186, 194, 195, 196,
	316, 321, 367, 369,		199, 260, 263, 282,
	371		283, 313, 314, 315,
Matsuda, Satoru	(松田諭) 317		316, 371
Matsumoto, Mariko	(松本真理子) 79, 240, 245, 273,	Nagao, Sayaka	(長尾清香) 323
	287, 353	Naito, Mikihiko	(内藤幹彦) 104, 187, 213, 214,
Matsuoka, Atsuko	(松岡厚子) 33, 306, 308		215, 257, 301, 302,
Matsushita, Kohei	(松下幸平) 229, 286, 346, 347		303, 304, 327, 328,
Matsutani, Sachiko	(松谷佐知子) 324		329, 330, 364, 365,

		367, 370, 371			287, 306, 345, 346,
Nakamura, Kosuke	(中村公亮)	217, 285, 331, 332			347, 348, 360, 364,
Nakamura, Ryosuke	(中村亮介)	220, 221, 263, 264,			365, 366, 367, 368,
		285, 334, 335, 336,			369, 374
		373, 374	Ogawa, Yukio	(小川幸男)	337, 353, 365, 367
Nakano, Mizuho	(中野瑞穂)	228, 342	Ohnishi, Takahiro	(大西貴弘)	210, 211, 262, 285,
Nakano, Tatsuya	(中野達也)	73, 304, 367			326, 364, 365, 372,
Nakaoka, Ryusuke	(中岡竜介)	280, 304, 305, 306,			373
		307, 308, 357, 364,	Ohno, Akiko	(大野彰子)	367
		365, 367, 369, 377	Ohoka, Nobumichi	(大岡伸通)	187, 215, 257, 301,
Nakashima, Hiroyuki	(中島啓行)	301			302, 303, 304, 327,
Nanjo, Kunie	(南條邦江)	168, 169			328, 329, 330
Nemoto, Satoru	(根本了)	50, 197, 198, 282,	Ohtsuki, Takashi	(大槻崇)	63, 199, 200, 201,
		312, 313, 315, 316,			261, 283, 317, 318,
		357, 364, 368, 371			371, 378
Niimi, Naoko	(新見直子)	236, 349, 350	Okada, Yumiko	(岡田由美子)	206, 284, 285, 320,
Niimi, Shingo	(新見伸吾)	107, 166, 188, 189,			322, 365, 372, 379
		252, 258, 277, 280,	Okamoto (Uchida), Yoshimi	(内田 (岡本) 好海)	220, 221, 263, 264,
		300, 304, 305, 306,			334, 335, 336
		307, 308, 310, 357,	Okamoto, Yoshihiro	(岡本吉弘)	257
		364, 365, 366, 367,	Okemoto, Kazuo	(桶本和男)	335, 336
		369, 371, 377, 378,	Okuda, Haruhiro	(奥田晴宏)	92, 118, 120, 129,
		382			162, 163, 164, 166,
Nishikawa, Akiyoshi	(西川秋佳)	135, 229, 230, 238,			168, 169, 250, 252,
		274, 346, 347, 348,			278, 292, 356, 364,
		361, 364, 365, 366,			365, 366, 367, 368,
		367, 369, 381			369, 401
Nishimura, Kazuko	(西村和子)	253, 295	Onezawa, Haruka	(小根澤遙)	321
Nishizaki, Yuzo	(西崎雄三)	202, 203, 283, 284,	Ono, Atsushi	(小野敦)	79, 240, 245, 246,
		317, 318			273, 287, 352, 353,
Noda, Mamoru	(野田衛)	207, 208, 261, 284,			360, 364, 365, 366,
		285, 322, 364, 365,			367, 368
		372, 379	Ono, Ryuichi	(小野竜一)	222
Noguchi, Akio	(野口秋雄)	217, 285, 331, 332	Oshiro, Naomasa	(大城直雅)	261, 284, 321, 333,
Nohmi, Takehiko	(能美健彦)	229, 236, 238, 346,			365, 372, 379
		347, 349, 350, 351			
Nomura, Yusuke	(野村祐介)	188, 280, 305, 306,			
		307, 308			
	<b>O</b>				
Obama, Tomoko	(小濱とも子)	309, 311	Sai, Kimie	(佐井君江)	219, 285, 333, 334,
Oda, Takuma	(小田琢磨)	317	Saisho, Kazuhiro	(最所和宏)	335, 336, 374
Ogata, Jun	(緒方潤)	73, 182, 279, 280,	Saito, Kosuke	(齊藤公亮)	73, 278, 279, 298
		299, 370			220, 333, 334, 335,
Ogawa, Kumiko	(小川久美子)	145, 188, 229, 230,	Saito-Shida, Shizuka	(志田 (齊藤) 静夏)	336, 374
		231, 266, 267, 286,			197, 198, 282, 313,
					315, 316, 364, 367

Saito, Yoshiro	(齋藤嘉朗)	73, 131, 219, 220, 221, 264, 285, 333, 334, 335, 336, 365, 367, 369, 373, 374, 380	Shibata, Hiroko	(柴田寛子)	162, 163, 278, 290, 367
Sakai, Shinobu	(酒井信夫)	189, 192, 258, 280, 281, 285, 308, 309, 310, 311, 312, 332, 365, 368, 369, 371	Shibata, Norihito	(柴田識人)	187, 257, 302, 303, 304
Sakai, Takatoshi	(坂井隆敏)	50, 282, 315, 316, 357, 364, 368	Shigemoto-Mogami, Yukari	(最上由香里)	340, 341, 342
Sakamoto, Tomoaki	(坂本知昭)	163, 251, 277, 278, 291, 292, 364, 365, 366, 367, 370, 375	Shimizu, Hideo	(清水英雄)	340, 341, 342, 382
Sakata, Kozue	(坂田こずえ)	331, 332	Shimizu, Kumiko	(清水久美子)	42, 281, 309, 312
Sakoda, Hideyuki	(迫田秀行)	189, 257, 280, 305, 306, 307, 308, 357, 364, 369	Shoda, Takuji	(正田卓司)	8, 212, 213, 303, 304, 327, 328, 329, 330, 367
Sakurai, Mari	(桜井真理)	294	Soga, Keisuke	(曾我慶介)	216, 283, 314, 330, 331
Sasaki, Kiyomi	(佐々木澄美)	301, 302, 303, 304	Sone, Mizuki	(曾根瑞季)	347, 348
Sassa, Akira	(佐々彰)	239, 349, 350	Sugimoto, Naoki	(杉本直樹)	200, 202, 203, 283, 284, 289, 290, 313, 314, 316, 317, 318, 364, 367, 371, 372, 378
Sato, Kaoru	(佐藤薫)	226, 265, 341, 342, 374, 380	Sugiyama, Emiko	(杉山永見子)	220, 221, 264, 334, 335
Sato, Kyoko	(佐藤恭子)	63, 68, 118, 199, 201, 203, 260, 261, 278, 283, 284, 317, 318, 319, 358, 364, 365, 366, 367, 368	Sugiyama, Kei-ichi	(杉山圭一)	239, 287, 313, 348, 349, 350, 351, 364, 365, 374
Sato-Masumoto, Naoko	(佐藤 (増本) 直子)	178, 300	Suresh, Thiruppathi	(スレッシュ ティルパッティ)	302, 303
Sato, Yoji	(佐藤陽治)	101, 183, 184, 185, 186, 254, 255, 256, 277, 300, 301, 302, 303, 304, 364, 365, 366, 367, 368, 370, 376, 377	Suzuki, Hodaka	(鈴木穂高)	206, 284, 321, 322
Sawada, Rumi	(澤田留美)	300, 301, 364, 369, 370	Suzuki, Ippei	(鈴木一平)	283
Segawa, Katsunori	(瀬川勝智)	73, 219, 304, 335	Suzuki, Isamu	(鈴木勇)	345, 346, 348
Sekiguchi, Wakana	(関口若菜)	203	Suzuki, Takayoshi	(鈴木孝昌)	188, 236, 302, 303, 349, 351, 367, 368, 371
Sekino, Yuko	(関野祐子)	9, 142, 214, 225, 226, 227, 228, 327, 328, 329, 330, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 364, 365, 367, 368, 380	Suzuki, Takuo	(鈴木琢雄)	173, 253, 277, 278, 294, 367
Senoo, Yuya	(妹尾勇弥)	333	<b>T</b>		
			Tachibana, Masato	(橘理人)	205, 277, 320
			Tada, Atsuko	(多田敦子)	63, 68, 200, 202, 203, 283, 284, 313, 314, 317, 318
			Tada, Minoru	(多田稔)	173, 175, 176, 253, 277, 278, 294, 296, 367
			Tahara, Maiko	(田原麻衣子)	200, 277, 309, 310, 311, 312, 317
			Tajima, Yoko	(田島陽子)	335



		343, 344
Yamada, Takashi	(山田隆志)	79, 275, 287, 362, 381
Yamaguchi, Miku	(山口未来)	204, 284, 319
Yamaguchi, Teruhide	(山口照英)	301, 326, 327
Yamamoto, Masaya	(山本雅也)	286, 359, 364
Yamamoto, Shigeki	(山本茂貴)	205, 320
Yamamoto, Shiori	(山本詩織)	205, 320
Yamazaki, Akiko	(山崎朗子)	323, 326
Yamazaki, Daiju	(山崎大樹)	9, 226, 343, 344, 345
Yasuda, Satoshi	(安田智)	183, 255, 301, 367, 376
Yasuhiko, Yukuto	(安彦行人)	338, 339
Yasui, Manabu	(安井学)	239, 287, 349, 350, 351, 364
Yokoo, Yuh	(横尾諭)	346, 347, 348
Yomota, Chikako	(四方田千佳子)	162
Yoshida, Hiroyuki	(吉田寛幸)	162, 163, 278, 290, 367
Yoshida, Midori	(吉田緑)	33, 188, 231, 232, 233, 234, 235, 267, 306, 322, 346, 348
Yoshida, Tokuyuki	(吉田徳幸)	186, 301, 302, 303, 304
Yoshinari, Tomoya	(吉成知也)	210, 211, 212, 285, 325, 326
Yoshitomi, Taichi	(吉富太一)	299
Yuan, Yuzhe	(苑宇哲)	1, 254, 300
Yusa, Keisuke	(遊佐敬介)	1, 182, 254, 277, 300, 377
Yusa, Sei-ichi	(遊佐精一)	326

**Z**

Zhong Xining	(鐘熙寧)	283
--------------	-------	-----

## 国立医薬品食品衛生研究所報告第134号キーワード索引 (アルファベット順)

## A

ABCB1 169  
AB-CHFUPYCA [N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-  
1-(cyclohexylmethyl)-3-(4-fluorophenyl)-1H-pyrazole-5-  
carboxamide] 179  
acetals 246  
Acetaminophen 164  
acid-hydrolyzed wheat protein 192  
acrylamide 55  
Active pharmaceutical ingredients 247  
Acute inhalation studies 248  
ADCC 176  
Adhesion activity 210  
Adverse drug reaction 218  
aflatoxin 212  
age 239  
agglomerate 197  
Aggrecan 171  
agricultural chemicals 193  
agricultural product 198  
AhR agonists 196  
Ah receptor 196  
AIDS 215  
allergic contact dermatitis 42  
Allogeneic Human Induced Pluripotent Stem(-Like)  
Cells 186  
Allogeneic Human Somatic Stem Cells 184  
Allopurinol 221  
Allura Red AC 236  
alternative 248  
Ames test 239  
amino acid 215, 216  
Analytical validation 251  
animal welfare 22  
anthocyanin 182, 202  
Antibiotic Susceptibility 206  
Antibody 174  
antibody proteomics 170  
Anti-inflammation 161  
Anti-neoplastic agents 225  
Antisense 188  
Anti-Sperm Auto-Monoclonal Antibody 172  
Apoptosis 187  
Apple condensed tannins 217  
Arginine peptide 170

artificial joint 189  
aryl hydrocarbon receptor 199  
asbestos 223  
aspartame 200  
Aspartame 201  
atopic dermatitis 197  
Atorvastatin tablets 165  
Autologous Human Induced Pluripotent Stem(-Like)  
Cells 185  
Autologous Human Somatic Stem Cells 184  
axonal development 226  
Azamollugin 161

## B

bacteria 213  
beef 206  
Benchmark dose 244  
benzo [a] pyrene 239  
Bioanalysis 253  
Biodistribution 174  
bio-equivalence 177  
biofilm formation 205  
Bioinformatics 275  
Biologics 174  
biosensors 213  
bittering agent 202  
Block copolymer micelle 169, 170  
Block copolymer micelles 169  
blood containers 189  
blood plasma level 177  
BMV Guideline 166, 167, 168  
BNA 188  
breast cancer 213  
bromic acid 198  
BSE 256  
butoxydim 198

## C

cadmium 195  
CALUX 196  
*Campylobacter jejuni* 204, 205  
Cancer stem cell (CSC) 276  
cannabinoid 180  
Cannabinoid receptor type 1 226  
caramel 203

Carbamazepine 220  
 Carbohydrate-binding specificity 216  
 Carcinogenicity classification 238  
 carcinogenic modes of action 17  
 cardiac safety assessment 9  
 Cartagena Domestic Law 239  
 cell-based therapeutic product 1  
 cell cycle 224  
 cell function change 228  
 cell-penetrating peptide 213, 214  
 cell-penetrating peptides 216  
 Cell surface display 216  
 Cerebellum 226  
 cerebro-oculo-facio-skeletal syndrome 240  
 cFLIP-L 188  
 chemical imaging 165  
 Chemical imaging 251, 252  
 Chemical selection 241, 269  
 chemokine CCL3 223  
 chicken 205  
 Chronic Ecotoxicity 247  
 cIAP1 187  
 Circulating lipid metabolites 220  
 clarithromycin 165  
 Claudin-1 175  
 Clearance 169  
 clustered DNA damage 240  
 CNT toxicity 192  
 Coagulation 187  
 Cockayne syndrome 240  
 Cocrystal 165  
 Codex committee 263  
 collagen vitrigel membrane 248  
 Colon 243  
 colorant 68  
 Comet assay 241, 242, 268, 269  
 commercial kits 208  
 Conclusions 270  
 conformation 212  
 constitutive androstane receptor 233, 234  
 contact dermatitis 193  
 contaminants 263  
 content uniformity testing 163  
 cooking 199, 260  
 Copy number variants 271  
 corneal epithelium 248  
 cosmetics 258

Counterfeit drug 251  
 Cramer's decision tree 246  
 creatine and sarcosine 275  
 CRISPR/Cas 222  
 Crocidolite 239  
 cross-linking 189  
 crosslinking 213  
 cross-reactivity 192  
 crystallization 163  
 Crystal structure 188  
 Curriculum 250  
 cyanide ion 198  
 cyanogen chloride 198  
 cycloaddition 180  
 cyclooxygenase 192  
 cytokine 265  
 Cytokinesis 239  
 cytoskeletal proteins 226

## D

DALYs 207  
 Database 73  
 decalin 180  
 degradation 189  
 density functional calculations 180  
 deoxynivalenol 212  
 designated substances 254  
 Designated Substances 73  
 detection 207  
 Developmental toxicity 229  
 dialysis 230  
 diastereomers 201  
 disintegration test 178  
 DL-potassium hydrogen tartrate 232  
 DNA microarray 195  
 DNA mismatch repair 231  
 DNA polymerase  $\kappa$  237  
 DNA repair 231  
 dose-response curve 224  
 Dosimetry 224  
 dossier 79  
 doxorubicin 162  
 draft genome sequence 204  
 drinking water 193, 259  
 Drinking water 191  
 drug delivery system 214

Drug-induced liver injury 221  
drug monitoring 254  
Drug safety 221  
DSB 222  
DSB repair 237

## E

early development 234  
EHEC 206, 208  
EMA 256  
Embryonic carcinoma 228  
Embryonic cells 227  
Embryonic Neurogenesis 222  
Env 183  
Environmental concentration 247  
Ephedrae herba 177  
epicutaneous sensitization 192  
epigenetics 272  
Epithelial-mesenchymal transition 276  
epithelial-mesenchymal transition (EMT) 276  
Estradiol 225  
estrogen receptor 213, 214  
Estrogen receptor 257  
estrogen receptor  $\alpha$  235  
estrous cycle 232, 234  
ETEC 209  
ethinyl estradiol 235  
experimental model of human colorectal cancer 17  
External quality assessment 193, 194  
Extrapolation 244  
eye irritation test 248

## F

fatigue crack propagation 189  
fatty acid ester 230  
Fatty liver 188  
FERG 207  
ferricyanide 63  
ferrocyanide 63  
Field potential 225, 228  
fish 194  
fishery products 50  
Flow cytometry 272  
flower color 182  
flow-through cell dissolution testing 162  
Fluorescence imaging 174

Fluoropyrimidine 219  
foldamer 213, 216  
food 207, 263  
food additive 68  
food additives 267  
food allergen 258  
Foodborne 263  
Food-borne disease 210, 211, 262  
foodborne diseases 207  
food flavours 246  
food hygiene 199  
Food testing 259  
freeze-drying 163  
fresh fish 195

## G

GABAergic interneuron 190  
Gastrointestinal tract 270  
GC-MS 181, 195  
GC-MS/MS 197  
Gene 275, 276  
Gene regulation 275  
Genetically modified 218  
genetically modified organism (GMO) 195  
genetically modified organisms 239  
genetic diversity 209  
genetic toxicity 272  
genetic toxicology 22  
gene transfer 214  
Genome-wide association study 219  
genome-wide association study (GWAS) 205  
genomics 272  
genotoxicity 230, 231, 236  
Genotoxicity 243, 268, 269, 270  
Genotoxicity testing 249  
genotoxic stresses 237  
Gentiana lutea 202  
gentian root extract 202  
germanium semiconductor detector 194  
Germ cell mutation 271  
GHS 273  
GII.17 208, 261  
*Ginkgo biloba* extract 233  
glove 258  
glucuronic acid 203  
GLUT1 183



glycan engineering 190  
 glycidol 230  
 Glycoproteomics 176  
 Glycosaminoglycan 171  
 Glycosylphosphatidylinositol 272  
 glycyrrhizic acid 203  
 GMP 251  
*gpt* delta rat 229, 230  
*gpt* delta transgenic rodents 238  
 granuloma 230  
 grape skin extract 202  
 growth cones 226  
 guanidine rubber accelerator 42  
 guideline 253  
 Guideline 184, 185, 186

**H**

HACCP 260  
 HaloTag 187  
 hazard 236  
 hazard assessment 79  
 HCELL 190  
 h-CLAT 42  
 HCV 175  
 health food 178  
 helicene 213  
*Helicobacter pylori* 267  
 helix 215, 216  
 hemolysis 189  
 Heparin 170  
 Heparin-binding motif 217  
 Hepatocarcinogen 270  
 hepatocarcinogenesis 233, 234  
 hepatocyte growth factor 177  
 High shear granulation 252  
 HILIC 203  
 Hippocampal adult neurogenesis 190  
 hippocampal neurons 222  
 hippocampus 235  
 HIV 215  
 HLA 221  
 household rubber product 42  
 HPLC 63, 68, 200, 201  
 HRGC-HRMS 194  
 HTLV-1 183  
 Huashi 161

human cell-based products 184  
 human embryonic stem cells 186  
 human health 79  
 human health effect 22  
 Human induced pluripotent stem cell-derived  
   cardiomyocytes 228  
 human iPS cells 9  
 Human Natural Killer-1 171  
 human stem cell-based products 184  
 human stem cell-derived products 186  
 HUS 208  
 Hybrid LBA/LC-MS 167  
 hydrodynamics 162  
 hygienic practice 205  
 hypothalamic-pituitary axis 234

**I**

IAP 257  
 ICH M7 guideline 236  
 ICP-MS 195  
 identification test 177  
 IgE 264  
 IKr 225  
 Imaging 165  
 Immune response 247  
 immunoglobulin G gamma receptor 175  
 impurities 236  
 inflammation 161  
 inhibitor 212  
 Inorganic substances 193  
 iNOS 161  
 in silico 266  
 Integrated Approaches to Testing and Assessment  
   (IATA) 238  
 Internationalization 250  
 Internet drugs 165  
 in vitro drug release 162  
*In vivo* comet assay 241, 269  
*in vivo* genotoxicity 236  
*in vivo* mutagenicity 229  
 ionizing radiation 224, 240  
 ion-pair chromatography 63  
 ipfencarbazone 198  
 iPS cell 225  
 iPS-derived cardiomyocytes 225  
 isothiazolinone 258

isothiazolinone preservatives, 193  
IUCLID 79  
IWGT 243  
IWGT workshop 2014 270

## J

JaCVAM 241, 242, 268, 269, 274, 275  
JaCVAM Validation study 241  
Japan 206  
Japanese Pharmacopoeia 250  
Japanese regulatory action 219  
JECDB 79

## K

Kakkonto 177  
Kasseki 161  
ketamine 181  
kidney 232  
kinetic resolution 213  
kisspeptin 234  
knockout mice 182  
*Kudoa* 210, 211, 262

## L

Lactic acidosis 219  
lanthanum 230  
latex allergy 258  
law enforcement 254  
LBA 166, 168  
LC-ESI-MS/MS 212  
LC-MS 166, 198, 220, 258  
LC/MS 42, 176  
LC-MS/MS 55, 181, 198  
lead 195  
Leguminous lectin 216, 217  
Ligand-binding assay 253  
Light pickles 205  
lipid composition 169  
Lipid profile 221  
lipids 189  
liposome 162, 169  
liposomes 163  
liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry 199  
*Listeria* 263  
*Listeria monocytogenes* 206

Liver 243, 244  
liver hypertrophy 233  
livestock products 50  
long alkyl chain 215  
Low-dose risk 244  
Low frequency Raman 252  
Low-frequency Raman microscopy 165  
lung cancer 170  
lung injury 259  
Lysine peptide 170

## M

Magnesium stearate 252  
Magnetic resonance spectroscopy 164  
management 263  
Manganese 190  
marker compound 178  
mass spectrometry 180  
Medical information database 221  
Membrane glycoproteins 176  
mesenchymal stem cell 190  
mesothelioma 223  
MET 177  
Metabolomics 221  
metallothionein 228  
metastasis 170  
Metformin 219  
methoxetamine 181  
methoxyacetic acid 275  
methylmercury 195  
methylone 182  
Microbial 263  
microbiome 205  
microglia 265  
Micronucleus 244, 270  
Micronucleus test 243  
Migration assay 229  
Mitochondrial dynamics 228  
Mitochondrial fission 227  
Mitofusin 227  
Mixed external preparation 164  
monocarboxylate transporter 275  
monoclonal antibody 175, 176  
MR imaging 164  
Multi-electrode array 228  
multi-electrode array system 9

multiple detection method 258  
 multi-residue method 199  
 multivariate analysis 178  
 Mutation 272  
 Mutation assay 239  
 mutation spectrum 239  
 mycotoxin 212  
 myocardial sheet 266

N

nanomaterials 197  
 Nanoparticles 187  
 nano-suspension 33  
 Nanotechnology 169  
 NAT 256, 257  
 natural sweetener 203  
 near-infrared 165  
 Near-Infrared 252  
 near Infrared spectroscopy 163  
 Neural crest cell 229  
 neurogenesis 265  
 Neurotoxicity 225  
 Neurotransmitter release 226  
 New psychoactive substance 179  
 New psychoactive substances 254  
 New Psychoactive Substances 73  
 NFAT-DsRed 264  
 N-glycosylation 171  
 Nicotiana benthamiana 173  
 nitrofurantoin 229  
 N-linked oligosaccharide 172  
 NMDA receptor antagonist 181  
 NMR 200  
 NMR analysis 216  
 NNEI indazole analog 179  
 Nonalcoholic fatty liver diseases 221  
 nonhomologous end-joining 237  
 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors 215  
 non-proteinogenic amino acids 216  
 non-secosteroidal VDR ligands 215  
 nonsteroidal anti-inflammatory drugs 192  
 NO-production inhibitor 161  
 norovirus 207, 208  
 nuclear receptor 5  
 nucleoside derivative 215

O

O111 208  
 obstructive nephropathy 232  
 OECD 273  
 OECD guideline for the testing of chemicals 22  
 OECD TG407 246  
 OEL 192  
 O-GlcNAc 172  
 Organic substances 194  
 OTC crude drug product 178  
 Outbreak 263  
 ovarian tumor 235  
 oxadiazon 234  
 oxomollugin 161

P

PacBio RSII DNA sequencer 239  
 Parasite 210, 211, 262  
 PCBs 194  
 peptide 212, 213, 215, 216  
 perfluorododecanoic acid 241  
 Perfluorohexadecanoic acid 245  
 Perfluorotetradecanoic acid 245  
 pesticide 199, 232  
 pesticides 197  
 Pharmaceutical 191  
 Pharmaceutical Science 250  
 Pharmacist 218, 219, 250  
 Pharmacopoeia 161  
 Pharmacovigilance 219  
 Phenols 191  
 phospholipase A2 163  
 Physicochemical properties 169, 170  
 Phytochemical 217  
 piperonyl butoxide 233  
 Plasma Proteins 171  
 plasmid 209  
 plasmid DNA delivery 216  
 pluripotent stem cells 256  
 Pneumonia 247  
 Points of departure 243  
 Polyploidization 239  
 postnatal exposure 234  
 potassium bromate 17  
 Preclinical studies 220  
 prediction 232

predictivity 236  
preservatives 258  
proanthocyanidin 202  
proarrhythmia 9  
processed foods 55  
progesterone 50  
Prostate stem cell antigen 225  
Proteasome 187, 257  
Protein adsorption 187  
Protein knockdown 257  
protein knockdown strategy 5  
protein-protein interaction 214  
proteomics 205  
Pseudopolymorphism 252  
p-tert-octylphenol 234  
pulmonary examination 33  
pulsatile pump 162  
PVC medical device 189  
Pyrazole-carboxamide derivative 179

## Q

Q-body 212  
qNMR 203  
quality control 183  
Quality control 251  
Quality Control 250  
Quantification 252  
Quantitative risk assessment 243  
Questionnaire 218, 219

## R

radioactive cesium 194, 199, 260  
Raman spectroscopy 251, 252  
Raw material identification test 251  
raw materials 1  
Read-through mutation 188  
Real-time PCR 218  
recombinant human immunoglobulin G 173  
red azo dye 236  
reduction of animal use 230  
Regulated Bioanalysis 166, 167, 168  
Regulatory affairs 169  
Regulatory science 274  
Regulatory Science 250  
Regulatory toxicology 248  
Rehmannia Root 177

removal effect 199, 260  
Repeated-dose 244  
repeated dose toxicity 241  
Repeated dose toxicity 246  
reporter gene assay 199  
Reproductive and developmental toxicity 245  
Reproductive health 271  
reproductive toxicity 241  
Reprogramming 275  
Resveratrol 188  
retrotransposon 222  
Rev7 235  
Rheumatoid arthritis 217  
rice 212  
risk 263  
risk assessment 192  
Risk assessment 274  
risk management 259  
Risk management 174, 274  
river water 192  
RS-ATL8 264  
rubber 258

## S

safety assessment 267  
sampling plan 259  
scintillation spectrometer 194  
Scramble 227  
screening detection 195  
SEC-MALS 170  
selective estrogen receptor down-regulator 5  
Semisupercentenarians 171  
senescence 224  
SERD 213  
serotonin and/or dopamine transporters 182  
Severe cutaneous adverse reaction 221  
sexual differentiation 232  
Shiga toxin 187  
Shiga toxin-producing *Escherichia coli* 210  
silica 33  
Silkworms 173  
silver 33  
Single-molecule real-time (SMRT) sequencing technology 239  
Single nucleotide polymorphisms 219  
Single-use system 174

SNIPER 257  
 soft agar colony formation assay 183  
 somatic stem cells 256  
 Specificity 217  
 SPE-LC-MS 191  
 Sperm 227  
 spiral wave reentry 266  
 stable-isotope-assisted nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy 173  
 Stable isotope labeling 173  
 stapled short helical peptide 5  
 Stem cell 275, 276  
 Stem cells 255  
 Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis 220  
 Stomach 243  
 strontium-90 (<sup>90</sup>Sr) 196  
 subsidiary colors 68  
 supercritical fluid chromatography 180  
 Suppository 164  
 surface plasmon resonance 163  
 surveillance 196  
 survey 55  
 SWI/SNF-family 237  
 synthetic cannabinoid 179  
 synthetic cathinones 181

**T**

tablet analyses 163  
 TBT 228  
 tea 197  
 testing method 259  
 Testosterone 225  
 Test protocol 249  
 the Fukushima Daiichi nuclear power plant (NPP) accident 196  
 therapeutic antibodies 175  
 therapeutic antibody 173  
 Therapy 255  
 thermal analysis 163  
 Thiol-alkyne 172  
 Thiol-disulfide exchange 172  
 TiO<sub>2</sub> 247  
 Tissue toxicity 249  
 TLC 177  
 TMEM16E 227

total arsenic 195  
 toxicity 248  
 toxicity study 267  
 transcriptional inhibitor 214  
 transcriptional regulator 5  
 trans fat 263  
 transformation 182  
 transgene 238  
 transgenic silkworm 176  
 translesion DNA polymerase 235  
 translesion DNA synthesis 237  
 translesion synthesis 231  
 Transmission 252  
 Transplantation 255  
 trichothecene 212  
 Ts4-epitope 172  
 Tumorigenicity test 183  
 tumorigenicity tests 256

**U**

Ubiquitin 257  
 Ubiquitin-proteasome system 187, 188  
 UHMWPE 189  
 Uniformity 164  
 uranium 195  
 urinary bladder 231  
 uterine carcinogenesis 232

**V**

validation 193  
 Validation study 241, 242, 269  
 valproic acid 222  
 VECELL 3-D insert 228  
 viral safety 1  
 Virulence 210  
 vitamin D receptor 215  
 Vitex products 178  
 voltage-sensitive dye imaging 9

**W**

water-proof spray 259  
 Water quality standard 193, 194  
 Water treatment 191  
 Western herb 178  
 wet tissue 193  
 wheat 212

Whole-body irradiation 224  
 whole genome sequencing 238  
 wild birds 204

## X

xeroderma pigmentosum 240  
 xeroderma pigmentosum group A 240  
 X-ray computed tomography 165  
 X-ray crystallography 175  
 X-ray diffraction 213

## Z

zinc oxide 33

1-(3,4-Difluoromethylenedioxybenzyl)piperazine (DF-MDBP) 179

2-(4-Iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(3,4-methylenedioxyphenyl)methyl]ethanamine (25I-NB34MD) 179

2-chloro-carbocyclic oxetanocin A 215

2-chloro-C.OXT-A 215

3,4-Dichloromethylphenidate 179

3-D 248

3-MCPD 230

3Rs 248

4-ヒドロキシ安息香酸 203

5-benzyl-3,6-dioxo-2-piperazineacetic acid 200

5-Chloro-NEEI 179

8-hydroxydeoxyguanosine 17

17 $\alpha$ -ethynylestradiol 232

2014-2015 season 208

2014/2015 シーズン 261

3272 218

CHO 細胞 255

ES 細胞 254

Fc 受容体 253

iPS 細胞 183, 254

iPS 細胞由来肝細胞 266

JaCVAM 試験法提案書 275

LAMP 法 209

LD<sub>50</sub> 値 273

(Q)SAR 236, 238

$\alpha$ ,  $\alpha$ -disubstituted  $\alpha$ -amino acid 212

$\beta$ -apo-8'-carotenal 68

$\beta$ -bromostyrene 246

$\gamma$ -H2AX 231

亜鉛 204

味認識装置 200

アフラトキシン 262

安全性評価 261, 273

アンチモン 204

安定性 251

胃癌 267

医事トラック 255

一日許容摂取量 267

一日摂取許容量 273

一日摂取量 201, 202, 261

一般的名称 253

遺伝子組換えペプチド医薬品 253

遺伝子治療 256, 257

遺伝毒性 273

医薬品医療機器等法 254

医薬品開発 265

医薬部外品 274

医療機器 258

ウイルス安全性 255

オカダ酸 261

回虫症 206

回虫卵検査法 206

開発 253

開発動向 253

化学物質共同評価会議 273

核酸増幅検査 210

核内受容体転写活性化阻害 262

仮設住宅 262

カビ汚染 262

カルミン 259

肝炎ウイルス 261

癌幹細胞 265, 266

眼球腫大 207

幹細胞 266

肝臓 267

カンゾウ油性抽出物 200

肝肥大 267

カンピロバクター 205

漢方薬抽出自動包装機 250

機器分析 261

危険ドラッグ 263

- 規制 256, 257  
 規制動向 258  
 機能性表示食品 250  
 吸光度条件 253  
 急性毒性値 273  
 経済協力開発機構 273  
 計算機化学 263  
 化粧品 274  
 化粧品・医薬部外品 274  
 化粧品規制 273  
 結晶水 251  
 ゲノムマーカー 264  
 下痢性貝毒 261  
 ゲルマニウム 204  
 健康食品 250  
 健康被害 262  
 検査 259  
 減少 261  
 高機能化 253  
 合成ペプチド医薬品 253  
 後発医薬品 251  
 国際整合性 260  
 国際調和 254  
 コチニール色素 259  
 細菌数（生菌数）試験法 209  
 再生医療 183, 255, 256, 258  
 再生医療等安全性確保法 254, 256  
 再生医療等製品 256  
 サボウイルス 261  
 閾値 273  
 試験室間共同試験 204  
 試験法ガイドライン 274, 275  
 脂質受容体 266  
 次世代抗体医薬品 253  
 次世代バイオ医薬品 253  
 シソーラス構築 267  
 実用化 258  
 試薬選定 253  
 重症薬疹 264  
 主成分分析 200  
 受容体 265  
 生薬等 254  
 食塩 267  
 食中毒 261  
 食中毒防止対策 261  
 食品 260, 263  
 食品香料 261  
 食品製造副生成物 260  
 食品中の食品添加物分析法 261  
 食品添加物 200, 201, 202, 261  
 食物アレルギー 259  
 真菌 210  
 人工関節 257  
 審査 258  
 水晶体脱臼 207  
 ストマッカー処理法 206  
 スナネズミ 207  
 生物由来原料 256  
 生物由来原料基準 256  
 摂取量推定 263  
 摂取量調査 263  
 ゼノフリー（xeno-free）254  
 ゼリー飲料 209  
 煎剤 250  
 造腫瘍性 183  
 増殖制御 265  
 創薬応用 266  
 第17改正日本薬局方 254  
 代替法 266  
 大腸菌群試験法 209  
 多環芳香族炭化水素濃度 260  
 タンパク質間相互作用 262  
 腸炎ビブリオ 209  
 腸炎ビブリオ食中毒 261  
 超高分子量ポリエチレン 257  
 定量 NMR 203  
 定量的構造活性相関（QSAR）263  
 適正使用 251  
 動物実験代替法 273, 274  
 トータルダイエット試料 263  
 トランス脂肪酸 260  
 鶏肉汚染 205  
 ナビゲーション 257  
 苦味料 200  
 日局ヘパリン定量法 253  
 日本薬局方 250, 256, 257  
 脳室下帯 265  
 農薬評価書 267  
 ノロウイルス 261  
 バイオ医薬品 253  
 バイオマーカー 265  
 発生 265  
 発生動向 206  
 発達神経毒性 266

ヒト白血球抗原 264  
皮膚感作性 274  
皮膚トラブル 274  
非臨床試験 253, 266  
品質 251  
品質評価 253  
品質保証 250  
不許可添加物 261  
フモニシン 262  
分析法 250  
分析法の妥当性確認 259  
ベシウイルス 255  
ペプチド 262  
放射性セシウム 260, 263  
放射線 263  
マーケットバスケット方式 201, 202  
マイコトキシン検査公定法 262  
マイコプラズマ 256, 257  
ミクログリア 265  
ミネラルウォーター類 259  
無菌試験法 210  
モル吸光係数比 203  
薬事 258  
薬事トラック 255  
薬物性肝障害評価 266  
薬物代謝酵素 267  
野菜 206  
薬機法 254, 256  
有害性評価 273  
溶解 251  
溶出試験 204  
予防法 261  
リアルタイムPCR法 209  
リスクベースアプローチ 256  
流通食品 260  
冷凍 205  
レギュラトリーサイエンス 256, 257, 265



# 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 程

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（原著論文、総説・解説）、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**：レギュラトリーサイエンス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報告。
  - 単 行 本**：単独又は共同で執筆し、刊行された報告。
  - 行政報告**：行政の依頼により実施し、報告書を提出した報告。
  - 学会発表**：学会・シンポジウムで講演やポスター発表した報告。
  - レギュラトリーサイエンス関連会議報告**：レギュラトリーサイエンス関連会議内容の報告。
3. **原稿の作成**：原稿はWord（MacWordを含む）で作成する。書式及び枚数は下記の規定に従う。（刷り上がり1ページは2段組で1段は25文字×47行である）。
  - （論文）
    - 用紙** 用紙サイズ：A4・縦  
 フォント：日本語 MS明朝，英数字 Times New Roman  
 文字サイズ：10.5ポイント
    - 枚数** 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。
  - （報告）
    - 用紙** 用紙サイズ：A4・縦  
 余白：上下左右5cm  
 文字数と行数：25文字×24行  
 フォント：日本語 MS明朝，英数字 Times New Roman  
 文字サイズ：10.5ポイント
    - 枚数** 業務報告：各部刷り上がり4ページ以内。
4. **原稿の提出**：
  - (1) Word（MacWordを含む）で作成した原稿をCDに保存し、部名、著者名（担当者名）、内容、ファイル名、使用ソフト名、使用機種を記入したラベルをケースに貼り付けし、印刷原稿と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。

- (2) 特論, 総説, 研究論文, ノート, 研究に関する資料, ステートメントの原稿では, 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), 総ページ数, 図, 表のそれぞれの枚数を記入する. 印刷原稿の提出部数は, オリジナル原稿1部とする.
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 程

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)]  
また, 物質名あるいは分析法などを略記するときは, 和文, 英文とも最初は正式な名称とともに示す. 例えば, 「イソニコチン酸 (INA)」, 「示差熱分析法-ガスクロマトグラフィー (DTA-GC)」と書き, 「イソニコチン酸 (以下INAと略す)」などとししない.
4. **句読点:** 「,」, 「.」を用い, 「、」, 「。」としない.
5. **数字:** 算用数字 (アラビア数字) を用いる. 千 (, 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:** イタリック体等を分かるように記す.  
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, 研究に関する資料, 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\*<sup>1</sup>, \*<sup>2</sup>, …) 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<sup>#</sup>・世田一郎<sup>\*1</sup>・東京子<sup>\*2</sup>  
Studies on the Identification of Drugs II  
Chromatographic Methods for the Analgesics  
Mamoru Yoga<sup>#</sup>, Ichiro Seta<sup>\*1</sup>, Kyoko Azuma<sup>\*2</sup>
- 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<sup>#</sup>印を記して脚注とする.  
脚注例: <sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:  
Mamoru Yoga; Division of General Affairs,

National Institute of Health Sciences, 1-18-1  
 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan;  
 Tel: +81-3-3700-1141 ext.200; Fax: +81-3-3700-6950;  
 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. **Keywords**: Keywords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1行あけてKeywordsを付ける。固有名詞、略語を除き、小文字で記す。各Keywords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。印刷時に図、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。デジタル化した図、表は、本文中に挿入して差し支えない。
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語で記載する。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及び科学技術文献速報の略記法による。雑誌名はイタリック体、単行本は書名を省略せず、編者名や出版地も記載する。  
 例: 1) Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, Shimizu J, Takahashi T, Nomura T: Immunol Rev. 2006;212:8-27.  
 2) a) Yamada E, Takahashi F: Health Sci Lett. 1996;8:2345-56; b) Saito G, Kimura H, Inoue I: Health Science Bull. 1995;123:3456-67; c) Ogawa J: ibid. 1996;124:12-25.  
 3) House JK: "Recent Health Science, 2nd ed.", eds. by Morrison L, Benjamin M, Eiken Press Inc., Tokyo, pp.123-234 (1997)  
 4) Eiken T, Kousei K: Kokuritsu Iyakuin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku 2005;234:456-67.  
 5) 河上強志, 伊佐間和郎, 中島晴信, 大嶋智子, 土屋利江, 松岡厚子: 薬学雑誌 2010;130:223-35.
8. 7. **図**: 本文とは別にA4用紙に作成する。図には通し番号を付ける (Fig. 1., Fig. 2.,...). 図番号, 表題, 説明をまとめて別のA4用紙に, 原則として英語で書く (表題は大文字ではじめ, 最後に「.」を付けない。また, 説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する)。  
 例: Fig. 1. IR spectra of silicon dioxide separated from silicone resin  
 図中の文章は, 原則として英文で書き, 見やすい書体を使用する。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。印刷原稿の裏には, 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**: 本文とは別にA4用紙に作成する。表には通し番号を付ける (Table 1., Table 2.,...). 表番号, 表題, 説明をまとめて別のA4用紙に, 原則として英語で書く (表題は大文字ではじめ最後に「.」を付けない。また, 説明は本文を参照しなくても理解できるよう詳細に記載する)。  
 例: Table 1. Refractive index and kinetic viscosity of intact and extracted silicone oil  
 表中の文章は, 原則として英文で書き, 見やすい書体を使用する。印刷原稿の裏には, 論文のタイトル, 著者名, 表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7回レギュラトリーサイエンスフォーラム学術集会 (2010.12, 東京) にて発表した内容をまとめたものである」との説明を加える。
10. **誌上発表などの記載要領**: 誌上発表, 単行本, 行政報告, 学会発表については, 別に定める記載要領及び例示に従う。

## 校 正

初校は著者が行う。人名、化学名、数値、文献などは特に綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない。

平成28年4月20日

国立医薬品食品衛生研究所図書委員会

## 国立医薬品食品衛生研究所報告記載の手引き（用語例）

注：送りがなについて アンダーラインは注意して送るもの、□印は送らないもの。

\* 印は特定のものを指すときは漢字でよいもの。

分類	用語	使う字	使わない字 備考
ア	あかるい	明 <u>る</u> い	明い
	あきらかに	明 <u>ら</u> かに	明かに
	あげる	上 <u>げ</u> る	上る
	あたためる	→加温する	
	あたらしい	新 <u>し</u> い	新 <u>し</u> い
	あたる	当 <u>た</u> る	当る
	あつかう	扱 <u>う</u>	扱 <u>う</u>
	あつめる	集 <u>め</u> る	集る
	あてる	当 <u>て</u> る	当る
	あらかじめ	あらかじめ	予め
	あらたに	新 <u>た</u> に	新 <u>た</u> に
	あらためる	改 <u>め</u> る	
	あらゆる	あ <u>ら</u> ゆる	全る
	あらわす	表（現） <u>す</u>	表（現）わす 表→表面に出し 示す。著わす 現→かくさずに 示す
ある	ある	在る，有る	
あるいは	あるいは	或は	
あわ	あ <u>わ</u>	泡	
あわす	合 <u>わ</u> す	合す	
イ	いう	い <u>う</u>	言 <u>う</u>
	いくぶん	い <u>く</u> ぶん	幾分
	いずれ	い <u>ず</u> れ	何れ
	いちじるしい	著 <u>し</u> い	著 <u>し</u> い
	いっかねん	一カ <u>年</u>	1箇年，一ヶ年
	いっそう	一層	いっ <u>そ</u> う
	いったん	一端	いっ <u>た</u> ん
	いって	い <u>っ</u> て	行 <u>っ</u> て
	いる	い <u>る</u>	居る
	いる	入 <u>る</u>	
	いれる	入 <u>れ</u> る	入る
	いわゆる	い <u>わ</u> ゆる	所請
ウ	うしなう	失 <u>う</u>	
	うすい（物）	薄 <u>い</u>	
	うすい（色）	う <u>す</u> い	薄 <u>い</u>
	うすめる	→希釈する	薄 <u>め</u> る
	うちに	う <u>ち</u> に	内に，中に
	うながす	促 <u>す</u>	促 <u>す</u>
	うる	う <u>る</u>	得る（can or may） →える
	うるおす	潤 <u>す</u>	潤 <u>お</u> す
エ	えがく	描 <u>く</u>	画 <u>く</u>
	えらぶ	選 <u>ぶ</u>	
	える	得 <u>る</u>	（get）→うる
オ	おいて	お <u>い</u> て	於 <u>い</u> て
	おおう	覆 <u>う</u>	被 <u>う</u>
	おおきい	大 <u>き</u> い	大 <u>い</u>
	おおむね	お <u>お</u> むね	概 <u>ね</u>
	おこなう	行 <u>う</u>	行 <u>う</u>
	おこる	起 <u>こ</u> る	起 <u>る</u>

分類	用語	使う字	使わない字 備考
オ	おそらく	恐 <u>ら</u> く	
	おそれ	お <u>そ</u> れ	恐れ，畏れ
	おだやかに	穏 <u>や</u> かに	おだやかに
	おとし	落 <u>と</u> し	落し
	おのおの	各 <u>々</u>	おのおの
	おのずから	お <u>の</u> ずから	自ら
	おびる	帯 <u>び</u> る	
	おもな	主 <u>な</u>	おもな
	およそ	お <u>よ</u> そ	凡そ
	および	及 <u>び</u>	
おわる	終 <u>わ</u> る	終る	
カ	かえす	返 <u>す</u>	返 <u>す</u>
	かえって	か <u>え</u> って	却て
	かかわらず	か <u>か</u> わらず	拘らず
	かける	欠 <u>け</u> る	欠る
	かさねる	重 <u>ね</u> る	
	かつ	か <u>つ</u>	且つ
	かつしよく	褐 <u>色</u>	かつ色
	かならず	必 <u>ず</u>	必 <u>ず</u>
	かねる	兼 <u>ね</u> る	兼る
	～から	〇〇から作る， △△から再結晶 よりは使わない	
がらす	ガ <u>ラ</u> ス	硝子	
かわる	代 <u>わ</u> る	代る （代理・代人など）	
かわる	変 <u>わ</u> る	変る（うつりか わる，変化）	
カ月	カ <u>月</u>	箇月	
10カ所	10カ <u>所</u>	10ヶ所，10箇所	
キ	きしゃく	希 <u>釈</u>	
	きめる	決 <u>め</u> る	決る
	きりあげ	切 <u>上</u> げ	切りあげ
	きわめて	極 <u>め</u> て	きわめて
ク	くふう	工 <u>夫</u>	くふう
	くみあわせ	組 <u>み</u> 合せ（名詞） 組 <u>み</u> 合せ（動詞）	
	くらい（助詞）	く <u>ら</u> い	位
	くらべる	比 <u>べ</u> る	比る
くりかえす	繰 <u>り</u> 返す	繰返えす	
ケ	けんだく	懸 <u>濁</u>	けんだく
コ	こえる	超 <u>え</u> る	越える
	こげる	焦 <u>げ</u> る	焦る
	ここ	此 <u>こ</u>	此处
	こころみる	試 <u>み</u> る	試る
	こたえ	答 <u>え</u>	答（表中）
	こたえる	こ <u>た</u> える	応える
	こと	事 <u>と</u>	事*
	ごと	毎 <u>と</u>	毎
	ことなる	異 <u>な</u> る	異なる
ことに	殊 <u>に</u>		
この	此 <u>の</u>	此の	
こまかい	細 <u>か</u> い	細い	

分類	用語	使う字	使わない字 備考
コ	(洗い) こむ これ これら	(洗い) 込む これ これら	之 此等, これ等
サ	さきに さける さげる さしこむ さしつかえない さまざま さら さらに	先に 避ける 下げる さし込む 差し支えない 様々 皿 更に	さきに 避る 下る 挿し込む (挿入) 差支えない  さら
シ	しかし しがたい しげき したがう したがって  したのち (に) しばしば しぶい しまう しめす しめる しゃこう しやすい じゅうぶん しゅうまつてん しょうじる じょうりゅう じょじょに しらべる	しかし し難い 刺激 従う したがって (接 続詞) 従って (動詞) した後 (に) しばしば 渋い しまう 示す 湿る 遮光 しやすい 充分, 十分 →終点 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 じゅうぶん 終了点 生ずる 蒸溜 調る
ス	すくない ずつ すでに すてる すなわち すべて すみやかに	少ない ずつ 既に 捨てる すなわち すべて 速やかに	少い 宛 すでに 捨る 即ち 総て, 凡て, 全て すみやかに
セ	せん せんじょう	栓 洗淨	せん, セン 洗滌
ソ	そう そうにゅう 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
タ	だいたい たいてい たえず たがいに たしかめる だす ただ ただし ただちに たとえば ために	大体 大抵 絶えず 互いに 確かめる だす ただ ただし 直ちに 例えば ために	だいたい たいてい 絶ず たがいに 確める 出す 唯, 只 但し 直に たとえ 為に
チ	ちいさい	小さい	小さい

分類	用語	使う字	使わない字 備考
チ	ちかづく ちょうど ちよっと	近づく ちょうど ちよっと	近付く, 近づく 丁度 一寸
ツ	ついて ついで つぎに つくる つける づつ つねに つめる	ついて 次いで 次に 作る 付ける ずつ 常に 詰める	就いて, 付いて  つぎに  宛
テ	ていする できる	呈する できる	出来る
ト	とおり とき ときどき とくに どこ ところ ともせん ともなう ともに とりあつかい	とおり とき 時々 特に どこ ところ 共栓 伴う 共に 取扱い (名詞) 取り扱い (動詞)	通り 時* ときどき  何処 所* 共せん 伴なう
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
ニ	にかわじょう にごる にそう にゅうばち	にかわ状 濁る 二層 乳鉢	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	ねんちゅう	粘稠	
ノ	のぞく のちに のべる のり	除く 後に 述べる のり	のちに 述る 糊
ハ	はかり はかる  はじめて はじめの はじめる はやい	はかり 量る  初めて 初めの 始める 速い	秤 測る, 計る →当用漢字 初て
ヒ	ひとつしい ひとつ ひとつづつ	等しい 一つ 一つずつ	
フ	ふきん ふくぎつ ふたたび ふりまぜる ふれる	付近 複雑 再び 振り混ぜる 触れる	附近   振混ぜる 触る
ホ	ほか	ほか	他, 外

分類	用語	使う字	使わない字 備考
ホ	ほど ほとんど ほぼ	ほど ほとんど ほぼ	程 殆んど 略々, 略ぼ
マ	ますます ませあわせ  ませる また まだ または 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 まだ 又は 全く まで まま	益々  混る 又, 亦, 復 未だ  迄 俣
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 もっとも もっばら もどす もとづく もとに 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) 基づく 下に もの 漏る	燃る 若し  用る 勿論 以て  もっばら  基く 許に 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
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 より  よる	よい 容易に 様子 ようだ (に) ようやく →融解 よほど 比較するとき に用いる. 例:○○より△△ が大きい よる	好い, 良い  ようす 様だ (に) 漸く 熔融 余程  依る, 因る
ラ	ら	ら	等
リ	りゅうぶん りんぱ	留分 リンパ	溜分 淋巴, りんぱ
ロ	ろう ろうと	ろう 漏斗	蠟 (正名はロウ)

分類	用語	使う字	使わない字 備考
ロ	ろかする	ろ過する	
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)	$\mu$
$10^9$	ギガ (giga)	G	$10^{-9}$	ナノ (nano)	n
$10^{12}$	テラ (tera)	T	$10^{-12}$	ピコ (pico)	p
$10^{15}$	ペタ (peta)	P	$10^{-15}$	フェムト (femto)	f
$10^{18}$	エクサ (exa)	E	$10^{-18}$	アト (atto)	a

例えば，長さの単位 m の  $10^3$  倍は km， $10^2$  倍は cm， $10^3$  倍は mm， $10^6$  倍は  $\mu$  m， $10^9$  倍は nm となる。ただし，質量の単位の整数乗倍は，グラムに接頭語をつけて表示する。例えば，mg は  $\mu$  kg と記さない。

### 3. 特別の名称と記号を持つSI組立単位の例

量	単位の名称	単位記号	量	単位の名称	単位記号
周波数	ヘルツ	Hz	電気抵抗	オーム	$\Omega$
力	ニュートン	N	コンダクタンス	ジーメンズ	S
圧力	パスカル	Pa	磁束	ウェーバ	W
エネルギー	ジュール	J	磁束密度	テスラ	T
仕事，熱量 仕事率，電力	ワット	W	セルシウス温度	セルシウス度	$^{\circ}\text{C}$
電荷	クーロン	C	平面角	ラジアン	rad
電位	ボルト	V	立体角	ステラジアン	sr
静電容量	ファラド	F	光束	ルーメン	lm
照度	ルクス	lx	放射能	ベクレル	Bq
吸収線量	グレイ	Gy	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	単位記号	量	単位の名称	単位記号
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	$^{\circ}$

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				

## 5. よく用いられる記号, 略号

融点	m p	ミハエリス定数	K m	標準偏差	S.D.
分解点	m p (dec.)	R f 値	Rf	標準誤差	S.E.
沸点	b p	保持時間	tr	紫外吸収	UV
凝固点	f p	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
施光度	<i>a</i>	静脈投与	i.v.	施光分散	ORD
吸光度	A	腹腔投与	i.p.	円偏光二色性	CD
水素イオン指数	pH	皮下投与	s.c.	マススペクトル	MS
p K 値	<i>p K</i>	筋肉投与	i.m.		

## 平成 28 年度図書委員

奥田晴宏	畝山智香子	*穂山浩	*宮崎玉樹
木吉真人	緒方潤	田埜慶子	*吉田徳幸
*岡本吉弘	*秋山卓美	坂井隆敏	西崎雄三
*大城直雅	渡辺麻衣子	出水庸介	*中村公亮
*青木良子	今任拓也	高橋祐次	*山崎大樹
*豊田武士	堀端克良	*山田隆志	

(\*印は編集委員)

### 国立医薬品食品衛生研究所報告 第 134 号

平成 28 年 12 月 9 日 印刷

平成 28 年 12 月 16 日 発行

発行所 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部  
東京都世田谷区用賀 1 丁目 18 番 1 号

印刷所 若越印刷株式会社