

Shameem, M., Katori, N., Aoyagi, N. and Kojima, S.: **Oral solid controlled release dosage forms: Role of GI-mechanical destructive forces and colonic release in drug absorption under fasted and fed conditions in humans**

*Pharm. Res.*, 12, 1049~1054 (1995)

製剤設計を適切かつ効率的に行うには、放出に及ぼす消化管内要因を解明し、予測性の優れた *in vitro* 試験システムを構築することが必要である。そこで、浸食性が異なる2種のアセトアミノフェン徐放錠を調製し、放出に及ぼす消化管内機械的刺激の影響、結腸での放出性を検討した。デコンボルーション法で求めた両製剤の *in vivo* 放出速度は、錠剤が消化管下部に到達する4~5時間以降急速に減少し、結腸では放出性が著しく低下することが判明した。*in vivo* 放出速度を比較するとき、非浸食性A錠に比べ浸食性B錠の放出速度は個人間変動が大きく、A錠と同程度の放出速度を示す被験者もいれば非常に速やかな放出を示す被験者もいた。B錠が消化管内で磨耗を受け放出が促進されたものと思われる。また、放出挙動には再現性があり、絶食時で速やかな放出を示した被験者は食後投与でも速やかな放出を示す傾向がみられ、製剤に作用する消化管内磨耗力には個人差があることが強く示唆された。胃酸度と同様、消化管内磨耗力の個人差についても考慮し、*in vitro* 試験システムの構築を図ることが重要と思われる。

**Keywords**: controlled release dosage forms, frictional force, colonic release

香取典子, 青柳伸男, 小嶋茂雄: **含量均一性および重量偏差試験の判定基準についての考察**

*薬剤学*, 55, 139~147 (1995)

日本薬局方の含量均一性および重量偏差試験の統計学的な背景を述べ、現行の試験法の特徴を明らかにすると共に、より良い試験法とはなにかについて考察した。

**Keywords**: content uniformity test, weight variation test, Japanese Pharmacopoeia

Yoshioka, S., Aso, Y., Otsuka, T. and Kojima, S.: **The effect of  $\gamma$ -irradiation on drug release from poly (lactide) microspheres**

*Radiat. Phys. Chem.*, 46, 281~285 (1995)

$\gamma$ 線照射したポリ乳酸マイクロスフェアの物理化学的特性を測定し、薬物放出性に及ぼす $\gamma$ 線照射の影響を検討した。 $\gamma$ 線照射(5~100 kGy)を行うと、線量に依存してポリ乳酸の平均分子量は減少し、末端カルボン酸量が増加することから、 $\gamma$ 線照射によって加水分解を伴う高分子の分解が引き起こされることが明らかになった。25 kGy以下の照射によって起こる高分子の分解はガラス転移温度(Tg)や初期放出速度の変化を伴わないが、100 kGyの照射では初期放出速度が有意に増大し、また後半に速度が急激に上昇する二相性の放出曲線を示した。 $\gamma$ 線照射はTgが放出溶液の温度(37°C)以下になるのに要する時間を短縮し、その時点から放出速度を急激に上昇させ、後半の速い放出をもたらすことが明らかになった。Tgが37°Cに低下する時点までに薬物放出が完了するように設計されたマイクロスフェアの場合には、25 kGy以下の照射であれば放出速度を変化させず滅菌操作を行うことができることが示された。

**Keywords**:  $\gamma$ -irradiation, microspheres, release rate

Otsuka, T., Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Water mobility in aqueous solutions of macromolecular pharmaceutical excipients measured by oxygen-17 nuclear magnetic resonance**

*Chem. Pharm. Bull.*, 43, 1221~1223 (1995)

医薬品添加剤として用いられる水溶性高分子に会合した水分子のダイナミックスを $^{17}\text{O}$ -NMRで検討した。ポリエチレングリコール(PEG)、ポリビニルピロリドン(PVP)およびゼラチンの各水溶液中で観測された水分子のスピン-格子緩和時間( $T_1$ )は0.12 g/g  $\text{H}_2\text{O}$ 以下の高分子濃度では、交換の速い等方性二相モデルで表すことができた。ここで高分子が水分子の $T_1$ を減少させる作用はPEG<ゼラチン<PVPの順であった。高分子濃度が0.12 g/g以上になると、PVPおよびゼラチンでは等方性二相モデルに当てはまらなくなることが示された。また、PEG水溶液の水分子の $T_1$ はPEGの分子量に依存しないことが示され、高分子の周辺のマイクロ粘度は、分子量に依存するマクロ粘度とは異なり、高分子単位と水分子との相互作用によって決定されることが明らかになった。いずれの高分子においても、水分子の $T_1$ の低下の度合いは温度の上昇と共に減少した。ゼラチンは温度変化に伴って水分子の $T_1$ を最も大きく変化させることから、高温におけるゼラチン分子の構造変化が示唆された。

**Keywords**: macromolecular excipient,  $^{17}\text{O}$ -NMR, water mobility

Yoshioka, S., Aso, Y., Otsuka, T. and Kojima, S.: **Water mobility in poly (ethylene glycol)-, poly (vinylpyrrolidone)-, and gelatin-water systems, as indicated by dielectric relaxation time, spin-lattice relaxation time, and water activity**

*J. Pharm. Sci.*, 84, 1072~1077 (1995)

医薬品添加剤と共存する水分子のダイナミックスを明らかにするために、PEG-, PVP-およびゼラチン-水系に存在する水分子の運動性を誘電緩和スペクトル、 $^{17}\text{O}$ -NMR緩和スペクトルおよび水分活性によって測定した。誘電緩和スペクトルから、いずれの高分子系においても、 $10^9\text{Hz}$ 以上の周波数に緩和を示すようなバルク水に近い高い運動性をもつ水分子が存在し、その誘電緩和時間は高分子濃度の上昇と共に増大することが明らかになった。また、PVP-およびゼラチン-水系では、 $10^9\text{Hz}$ 以下で緩和を示す水分子、すなわち高分子との会合によって運動性を束縛された“結合水”が存在することが示された。誘電緩和スペクトル法では運動性の高い水分子と結合水を分離して、それぞれの運動性を測定できるのに対して、NMR緩和スペクトル法では両者の平均運動性が測定できることが示された。これらの高分子-水系における水分子のスピン-格子緩和時間の濃度依存性は等方性二相モデルから乖離したが、これは高分子濃度の変化によって運動性の高い水分子の緩和時間が変化するためであることが誘電緩和スペクトルから明らかになった。ゼラチン-水系において高分子濃度変化にともなう水分子の誘電緩和時間の変化は、PEGおよびPVP系と比較して小さいことが示され、高分子濃度変化にともなう水分活性の変化が小さいことと一致した。水分活性は運動性の高い水分子の運動性の指標として有用であるが、結合水のダイナミックスに関する情報は得られないことが明らかに示された。

**Keywords**: water mobility, dielectric relaxation time, spin-lattice relaxation time

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Drug release from poly (dl-lactide) microspheres controlled by  $\gamma$ -irradiation**

*J. Controlled Release*, **37**, 263~267 (1995)

ポリ (dl) 乳酸マイクロスフェアからの薬物放出速度を制御する方法として、 $\gamma$ 線照射の有用性を考察した。 $\gamma$ 線照射によって誘起される高分子分解の現象を利用して、マイクロスフェアの表面積や粒子径などの物理化学的特性を変化させることなく、高分子の分子量を変化させ、薬物放出速度を支配する重要な要因であるガラス転移温度 (Tg) を調節する方法を検討した。マイクロスフェアからの初期放出速度は、 $\gamma$ 線照射によって Tg が低下するにつれて増大することが示された。Tg の低下は照射線量に依存することから、線量を調節することによって初期放出速度を制御できることが明らかになった。比較的低い線量を照射したマイクロスフェアは、初期に遅く、後半に速い二相性の放出曲線を示したが、線量を調節することによって、初期の遅い放出の持続時間を制御することができた。

**Keywords** :  $\gamma$ -irradiation, microspheres, controlled release

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Increased stabilizing effects of amphiphilic excipients on freeze-drying of lactate dehydrogenase (LDH) by dispersion into sugar matrices**

*Pharm. Res.* **12**, 838~843 (1995)

タンパク質凍結乾燥時の失活抑制方法を検討する目的で、乳酸脱水素酵素 (LDH) をモデルタンパク質として用いた検討を行った。タンパク質安定化メカニズムの異なる添加剤であるショ糖など糖類と、ポリエチレングリコール (PEG) など両親媒性物質や非イオン性界面活性剤を組み合わるることにより、凍結乾燥後の残存活性の顕著な増加がみられた。一方、PEG の結晶化を抑制しないマンニトールの共存では酵素活性保持はみられなかった。粉末 X 線回折および熱分析により検討した PEG の結晶性はショ糖の共存により抑制されたことから、添加剤組み合わせの効果は構成成分の結晶化抑制によりタンパク質と添加剤間の分子間相互作用が維持されること、および凍結乾燥品中における構成成分の融解 (microscopically liquid) による失活が抑制されることによると考察された。

**Keywords** : freeze-drying, amphiphilic excipients, stabilization

Izutsu, K., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Effect of cryoprotectants on the eutectic crystallization of NaCl in frozen solutions studied by differential scanning calorimetry (DSC) and broad-line pulsed NMR**

*Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 1804~1806 (1995)

凍結溶液中における塩化ナトリウムの共晶形成に対する各種糖類と高分子の影響を熱分析およびパルス NMR 装置を用いて検討した。実験に用いた糖類とデキストランやポリエチレングリコール (PEG) などの高分子物質はいずれも塩化ナトリウム結晶化を抑制したが、結晶化の抑制は低分子量の添加剤ほど低濃度から観察された。広幅パルス NMR で測定した液相プロトン量から求めた各温度での水および溶質分子の運動性は、共晶融解やアモルファス相の形成、ガラス転移などによる変化を示し、熱分析とともに凍結溶液中の分子挙動検討に有用であることが示された。

**Keywords** : cryoprotectant, eutectic crystallization, thermal analysis

石橋無味雄, 小嶋茂雄: **第十二改正日本薬局方における有害試薬使用調査**

医薬品研究, **27**(2), 64~67 (1996)

日本薬局方 (JP) は、「人および環境に有害な試薬を用いた試験法の廃止など、人および環境への影響に配慮した試験法となるよう努める」としている。この姿勢により水銀を用いた試験法の見直しなどが行われてきた。そこで JP 13 に向け、更に試験法のクリーン化を進めるため、有害試薬を使用している試験項目の調査を行った。調査対象は、ヒ素、セレン、カドミウム、スズ、鉛、水銀、クロム、シアン、ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、アセトニトリル、トリクロロエチレン、ジオキサンを用いる試験法とした。これらの物質を選定した根拠は、環境汚染物質であること、文献から毒性が強いことが示唆されることによる。調査の結果、無機試薬は多くの各条で使用され、有機溶媒はクロロホルム、ジオキサンなどの使用頻度が高かった。しかし、ベンゼンについては使用されていない。なお、JP において水銀、シアン、ベンゼンおよび四塩化炭素は、試験に用いないことに定められているが、その他の物質の使用については、それらを用いる試験法の必要性などについて慎重な検討を行ったうえで決定する必要がある、ガイドラインの検討を提案した。

**Keywords** : JP, reagent, abrogate

石橋無味雄, 小嶋茂雄: **第十二改正日本薬局方における有害試薬使用の調査 その2—医薬品各条で用いられている有害有機溶媒の調査, 残留溶媒試験法の検討およびケトン・イソプロパノール・第三ブタノール試験法改正の検討—**

医薬品研究, **27**(3), 119~131 (1996)

ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、アセトニトリル、トリクロロエチレン、ジオキサンなど医薬品の製造に用いられる有機溶媒の医薬品 (原薬および製剤) 中への残留をヘッドスペースガスクロマトグラフ法および通常ガスクロマトグラフ法により定量する方法を検討し、日本薬局方調査会に提案する試験法を開発した。また本試験法については米国薬局方および欧州薬局方と整合を行い、ほぼ同様の試験法として用いることができた。

さらに JP 12 の一般試験法の中で、有害試薬である水銀 (硫酸第二水銀試液) を使用する試験法であることが昨年度の調査により判明した「ケトン・イソプロパノール・第三ブタノール試験法」を、水銀を使用しないガスクロマトグラフ法による分析方法に改めるための検討を行い、日本薬局方調査会に提案する試験法を開発した。本法は、エタノール中のメタノールも同時に試験することもできるので、水銀を用いない方法であるだけでなく、試験の簡略化と迅速化にも有用である。

**Keywords** : JP, ovi, reagent

Nakahara, Y., Takahashi, K. and Kikura, R.: **Hair analysis for drug abuse X. Effect of physicochemical properties of drugs on the incorporation rates into hair**

*Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1223~1227 (1995)

毛髪への薬物の取込メカニズムを明らかにする目的で、毛髪への薬物取込率 (ICR) とメラニン親和性、脂溶性および膜透過性を比較した。20 種類の依存性薬物を用いて、血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) に対する毛髪中濃度の比に基づくそれらの ICR を求めた結果、コカインが最

高ICR値を示し, tetrahydrocannabinolic acidが最小ICR値を示し, その差は3600倍にも及んだ。定法に従って求めたメラニン親和性の測定値はコカインが最大で, 次いでbenzphetamine, phencyclidineであり, 20種の薬物のICR値とメラニン親和性との相関係数は0.947であった。また, HPLC法による脂溶性の測定値とメラニン親和性との相関係数は非常に低い値(0.201)であった。しかし, 脂溶性とメラニン親和性の積とICR値とは高い相関(0.979)を示した。さらに, 塩基性薬物のICR値は中性および酸性薬物のそれより明らかに高い値を示し, この現象は血液(pH 7.4)と毛母細胞(酸性)間のpH勾配に基づく薬物膜透過性と強く関係があることが示された。  
**Keywords**: disposition in hair, melanin affinity, lipophilicity

Kikura, R. and Nakahara, Y.: **Hair analysis for drug abuse XI. Disposition of benzphetamine and its metabolites into hair and comparison of benzphetamine use and methamphetamine use by hair analysis**

*Biol. Pharm. Bull.*, 18, 1696~1699 (1995)

Benzphetamine (BZP) とその代謝物(脱メチル体(nor-BZP), 水酸化体(OHnorBZP), 脱ベンジル体(MA), amphetamine (AP)) のラット血中から毛髪への取込傾向を調べる目的のために, まずGC/MS法を用いて, 血漿, 尿および毛髪中のそれらの薬物の同時定量分析法を開発した。BZPを投与したラットの血漿中濃度時間曲線下面積(AUC)に対する毛髪中濃度の比に基づく毛髪への薬物取込率(ICR)を求めた結果, BZP:MA:AP:norBZP:OHnorBZP=3.0:0.6:0.2:0.1:0.1であった。この事実はBZPが圧倒的に血中から毛髪への取込傾向が高いことを示した。本法をBZPを1日1回30mg, 5日間使用した2人のヒトの頭髪と陰毛に適用したところ, BZP, MA, AP, norBZPがそれぞれ0.10~0.20, 0.13~0.18, trace~0.15, 0.32 ng/mg検出された。この結果から, 毛髪を用いれば, 覚醒剤(MA)使用者と医薬品のBZP使用者を識別できることが示された。

**Keywords**: hair analysis, benzphetamine, disposition in hair

Sakamoto, T.\*, Tanaka, A.\* and Nakahara, Y.: **Hair analysis for drugs of abuse XII. Determination of PCP and its major metabolites, PCHP and PPC, in rat hair after administration of PCP**

*J. Anal. Toxicol.*, 20, 124~130 (1996)

過去のPCPの使用を毛髪を用いて証明するために, ラット毛髪中のPCPとその代謝物, 4-phenyl-4-piperidino-cyclohexanol (PPC) および1-(1-phenylcyclohexyl)-4-hydroxypiperidine (PCHP) のGC/MSによる同時検出法を検討した。3匹の有色ラットにPCPを0.05~0.5 mg/kgを1日1回, 10日間腹腔内投与し, 4週間後に新しく生えた毛髪部分を採取した。毛髪試料を洗浄後, 内部標準物質としてPCP, PPCそしてPCHPのそれぞれの重水素標識体を添加した毛髪をmethanol-5 N HCl (20:1)にて1時間超音波下にて抽出した後, Bond Elut Certifyにて常法に従い精製し, シリル誘導体化し, GC/MSにより分析を行った。PCP, PPCおよびPCHPは0.1 mg/kg以上の投与量で同時に検出され, PCPに関しては0.05 mg/kg以上の投与量においてもラットの毛髪中から明確に検出された。血漿中濃度時間曲線下面積(AUC)から見ても, ラットの毛髪中のPCP濃度は非常に高いもので

あった。PCPおよびPCHPの毛髪への移行率([毛髪中薬物濃度]/[AUC])はそれぞれ2.29および1.65を示し, 非常に高い毛髪移行性を示すことを確認した。この結果は, 毛髪がPCPの能動的な使用を確認するために有用な試料となり得ることを示唆した。

**Keywords**: hair analysis, phencyclidine, disposition in hair

\* 昭和薬科大学

中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理: **ガスクロマトグラフィー/質量分析法による毛髪試料中のヘロイン代謝物の定量とヘロイン使用証明への応用**  
*分析化学*, 44, 101~110 (1995)

ヘロイン投与のラットを用いて, ヘロイン代謝物(6-アセチルモルヒネとモルヒネ)の血漿から毛髪への取込について, GC/MS法により究明し, さらにヘロインの使用証明のための生体試料としての毛髪の有用性を血漿および尿試料と比較した。DA系ラット(5週令)にヘロイン2.5および5.0 mg/kgを1日1回10日間腹腔内投与し, 血漿, 尿および毛髪中の6-アセチルモルヒネとモルヒネをトリメチルシリル誘導体化してGC/MSにより定量した。得られた血漿中濃度時間曲線下面積と毛髪中薬物濃度を比較して, 血漿から毛髪への2つの代謝物の取込率を比較した。その結果, 6-アセチルモルヒネの毛髪への取込率は, モルヒネのそれより7倍以上であった。これは6-アセチルモルヒネがモルヒネより毛髪に取り込まれ易く, 蓄積し易いことを示している。次いで, ヘロイン使用証明用生体試料としての毛髪の有用性を血液や尿試料と比較した。6-アセチルモルヒネの検出可能な時間は, 血液や尿試料ではそれぞれ3~48時間以下であるのに反し, 毛髪試料では28日後に採取した試料から明確に確認できた。さらに, ヘロイン乱用者の毛髪からは1.4年前に相当する毛髪の部位からも6-アセチルモルヒネを確認した。このことは6-アセチルモルヒネが尿や血液中で不安定であるのに比べ, 毛髪中ではかなり安定であることを示している。毛髪試料が他の生体試料に比べ, 6-アセチルモルヒネの存在量の多さと1年以上の過去に遡って検出可能であるという点に関し, ヘロインの使用証明を行う上で, 著しく有用な試料であることが明らかになった。

**Keywords**: hair analysis, acetylmorphine, drug abuse

Nakahara, Y., Kikura, R. and Takahashi, K.: **Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair**

*Proceedings of International Conference for Hair Analysis in Forensic Toxicology*, 28~49 (1995)

血液から毛髪への薬物の取込傾向を明らかにする目的で, 毛髪への薬物取込率(ICR)に及ぼす化学構造の影響を調べた。32種のアンフェタミン系薬物をそれぞれ単独にラットに投与し, 血漿中濃度時間曲線下面積と4週令の毛髪中薬物濃度を測定し, それぞれのICRを求めた。得られたICR値と化学構造の差異を比較した結果, 以下のことが明らかになった。

1. 窒素の炭素側鎖の長さによって毛髪への薬物取込は増加する。
2. ベンゼンやフラン環は毛髪への取込にプラスに働く。
3. 水酸基は毛髪への薬物取込を低くするが, マイナスの程度は芳香環水酸基のほうが脂肪族水酸基より強く働く。
4. シアノ基のような三重結合は毛髪への薬物取込にマイナスに働く。
5. 窒素にアシル基を導入すると, 塩基性が消失し, 毛髪への薬物取込はほとんどなくなる。
6. 芳香環上のmethylenedioxy基やメトキシ基は毛髪への薬物取込

を大きく上昇させる。

これらの結果は化学構造因子が毛髪への薬物の取込傾向に大きく影響することを示唆した。

**Keywords** : hair analysis, amphetamine analog, disposition in hair

Nakahara, Y., Takahashi, K., Kikura, R., Mieczkowski, T.\*<sup>1</sup>, Taglioro, F.\*<sup>2</sup> and Foltz, R. L.\*<sup>3</sup>: **New findings of hair analysis for hallucinogens (LSD, MDA/MDMA and PCP)**

*Proceedings of International Conference for Hair Analysis in Forensic Toxicology*, 161~184 (1995)

主要な3種の幻覚剤であるLSD, methylenedioxyamphetamine (MDMA), phencyclidine (PCP)の毛髪分析における新しい知見を報告した。LSDの毛髪への薬物取込率(ICR)は0.3~0.4を示し、有色ラットの毛髪によく取り込まれることを見出した。LSD使用者の頭髪中には多くの場合、1 pg/mg以下であったが、数例で10 pg/mg以上の濃度を示した。MDMAのラット毛髪へのICRは0.7~0.8を示し、非常に高い取込率であった。MDMA使用者の頭髪中に高濃度のMDMAとその脱メチル代謝物が検出された。PCPは50以上の乱用薬物の中で最も高いICR値を持つ薬物であることを明らかにした。また、ラットおよびヒト毛髪中からPCPと2つの主要水酸化代謝物も同時に検出・定量した。

**Keywords** : LSD, phencyclidine, methylenedioxyamphetamine

\*<sup>1</sup> Univ. of South Florida, USA

\*<sup>2</sup> Institute of Forensic Medicine, Univ. of Verona, Italy

\*<sup>3</sup> Center for Human Toxicology, Univ. of Utah, USA

Sekine, H.\*<sup>1</sup>, Nagao, S. and Nakahara, Y.: **Abuse of smoking MA mixed with tobacco: V. Species differences on metabolism of N-cyanomethylmethamphetamine in rat and mouse plasma, and on behavioral effects on rat and mouse.**

*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 845~851 (1996)

覚醒剤のタバコ喫煙熱分解物であるN-cyanomethylmethamphetamine (CMMA), N-formylmethamphetamine (FMA), methamphetamine (MA)を単独でマウスおよびラットに腹腔内注射し、血漿中の代謝物の濃度を測定し、濃度時間曲線下面積(AUC)を求めた。CMMA投与における血漿中のFMA濃度は動物間にはっきりとした種差が認められた。CMMA投与のラットにおいては、FMAが主代謝物で、MA, amphetamine (AP), CMMA, FAPと続き、マウスにおいては、MAが主代謝物で、AP, FMA, MA, FAPと続いた。FMA投与では、ラットにおいてFMAが圧倒的に多く、マウスでは、MAが主代謝物であった。一方、CMMAからMAへの変換は大部分が非酵素的に起きることを証明した。これらの結果から、CMMAからMAへの変換は2つの経路が存在することが推定された。1つは、N-cyanomethyl基の $\alpha$ -水酸化体が、cyanoformaldehydeの脱離でMAとなる経路と、他の1つは、 $\alpha$ -水酸化体が、HCNの脱離によりFMAとなる経路である。このCMMAからFMAへの変換はマウスよりラットにおいて主代謝経路であった。

**Keywords** : N-cyanomethylmethamphetamine, tobacco, behavioral effect

\* 埼玉県警科捜研

Kuribara, K.\*<sup>1</sup>, Sekine, H.\*<sup>2</sup> and Nakahara, Y.: **Characteristics of behavioral stimulant effect of N-cyanomethylmethamphetamine, a main product of smoking methamphetamine mixed with tobacco: Evaluation by ambulatory activity in mice**

*Pharmacol. Toxicol.*, 78, 228~234 (1996)

覚醒剤をタバコに混ぜて喫煙乱用したときに生じるN-cyanomethylmethamphetamine (CMMA)の行動興奮作用をマウスを用いて評価した。CMMAの14.2および47.2 mg/kg皮下注射ではマウスの移動量を投与量依存で増加した。3日間のインターバルでの5回投与では初回に比べ5回目では2.6倍の作用の増強が認められた。また、CMMAは覚醒剤との交叉逆耐性を示し、覚醒剤もCMMAとの交叉逆耐性を示した。ハロペリドールは覚醒剤に対すると同様にCMMAの行動興奮作用を抑制した。本研究の結果、CMMAは覚醒剤とほぼ同様な行動興奮作用を有することが明らかになった。

**Keywords** : N-cyanomethylmethamphetamine, behavioral stimulant effect, methamphetamine

\*<sup>1</sup> 群馬大学医学部

\*<sup>2</sup> 埼玉県警科捜研

Kuribara, K.\*<sup>1</sup>, Sekine, H.\*<sup>2</sup> and Nakahara, Y.: **Effect of haloperidol on the behavioral stimulation by N-cyanomethylmethamphetamine, a main product of smoking methamphetamine mixed with tobacco**

*Eur. J. Pharmacol.*, 321, 172~177 (1996)

覚醒剤をタバコに混ぜて喫煙乱用したときに生じるN-cyanomethylmethamphetamine (CMMA)のマウス行動興奮作用に対するハロペリドールの影響を調べた。ハロペリドールの0.01~0.3 mg/kg皮下注射により、CMMAの興奮作用を抑制するだけでなく、その逆耐性の発生も抑制した。これらCMMAの行動活性(行動興奮作用、逆耐性の誘因、ハロペリドールでの抑制効果)はすべて覚醒剤の作用と同等であった。本研究の結果はCMMAは覚醒剤様の中樞興奮作用をもち、D2ドーパミン関与のメカニズムにCMMAが関係していることを示唆した。

**Keywords** : N-cyanomethylmethamphetamine, behavioral sensitization, methamphetamine

\*<sup>1</sup> 群馬大学医学部

\*<sup>2</sup> 埼玉県警科捜研

森本和滋, 日高哲郎\*<sup>1</sup>, 本広繁徳\*<sup>1</sup>, 七里寛江\*<sup>1</sup>, 奥田秀毅\*<sup>1</sup>, 坂口慶貴\*<sup>2</sup>, 高橋 尊\*<sup>2</sup>, 江島伸一\*<sup>2</sup>, 長南義勝\*<sup>2</sup>, 早川堯夫: **遺伝子組換えヒトインスリン製剤の品質管理のための定量法としての逆相高速液体クロマトグラフ法**

*医薬品研究*, 26, 404~412 (1995)

遺伝子組換えヒトインスリン製剤(以下rh-インスリンと略す)の定量試験をバイオアッセイ法から、操作が簡便で、精度良く、しかも経済性に優れたヒトインスリンの定量法の開発を目指し、逆相高速液体クロマトグラフ法(RP-HPLC法)について検討した。rh-インスリン製剤を加温処理、曝光処理、振とう処理、酵素処理、変性剤処理の苛酷条件下にて保存し、ヒトインスリン残存率を、60~70%に減少するように処理を行った。これら被験試料をRP-HPLC法にかけ、ヒトインスリンピークを分取し、この画分についてRP-HPLC法により求めた力価と*in vivo*バイオアッセイ法によって求めた力価とを比較したところ、RP-HPLC法で求めた力価は、バイオアッセイ法による力価とほぼ同等であった。その結果、RP-HPLC

法によるヒトインスリンの定量は、完全な生物活性を保持するヒトインスリンのみを選択的に測定できる方法であることが示され、rh-インスリン製剤の定量法として品質管理試験において有用な方法と考えられる。この成果により、rh-インスリン製剤のバイオアッセイ法に代り、より高精度で迅速に定量出来る RP-HPLC 法が、薬局方の定量法や国家検定における定量法として、有用であることが示唆された。

**Keywords** : recombinant human insulin, stress condition, RP-HPLC

\*1 塩野義製薬(株)製造本部

\*2 ノボノルディスク ファーマ(株)厚木工場 品質管理部

Kawasaki, N., Morimoto, K., Tanimoto, T. and Hayakawa, T.: **Control of hemoglobin synthesis in erythroid differentiating K562 cells. 1. Role of iron in erythroid cell heme synthesis**

*Arch. Biochem. Biophys.*, 328, 289~294 (1996)

K562 細胞を用いて、ヘモグロビン (Hb) 合成調節に関与する因子について検討した。まず、K562 細胞を酪酸で処理すると、Hb 合成の亢進とグリコホリン A 発現量の増加が認められた。また、Hb 合成量の増加と  $\delta$ -アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS) 活性の増加は、ほぼ同時に起きること、また、トランスフェリン鉄 (FeTf) 濃度に依存することが明らかになった。さらに、Hb 合成は、培地に添加した  $\delta$ -アミノレブリン酸 (ALA) 濃度に依存して亢進されること、また、Hb 合成量は、ALA 脱水酵素阻害剤スクシニルアセトン (SA) によって 50% に阻害されることが示された。以上の結果から、赤芽球分化過程において ALAS がヘム合成の律速酵素であること、FeTf は ALAS 活性を調節することを介して Hb 合成全体を調節していることが示唆された。一方、エリスロポエチン (EPO) は、K562 細胞のグリコホリン A 発現量をわずかに低下させたが、Hb 合成は亢進させなかった。ヘミンは、Hb 合成を亢進させたが、グリコホリン A の発現には影響しなかった。また、ヘミン処理細胞の Hb 合成は、ALA, SA および FeTf の影響を受けなかった。このように、酪酸、ヘミンおよび EPO 処理細胞は、Hb 合成において異なる挙動を示すことが明らかとなった。

**Keywords** : K562 cells,  $\delta$ -aminolevulinic acid synthase, diferric transferrin

Kawanishi, T., Uneyama, C., Toyoda, K., Ohno, Y., Takanaka, A. and Takahashi, M.: **Suppression of Na<sup>+</sup> Influx in ATP-depleted Hepatocytes**

*Life Sci.*, 57, 355~361 (1995)

初代培養肝細胞の ATP 合成系を阻害することにより細胞内 ATP 量を減少させた細胞において、細胞内ナトリウムイオン濃度変化を測定したところ、ATP の枯渇が著しいオリゴマイシン処置細胞等においてもナトリウムイオン濃度上昇が極めて遅い場合がみられた。そこでウアバインによってナトリウムポンプを強く阻害した細胞におけるナトリウムイオン濃度上昇について、正常細胞と ATP 枯渇細胞とを比較した所、ATP 枯渇細胞の方がナトリウムイオン上昇が遅かった。この結果から、ATP 枯渇細胞ではナトリウムイオンの細胞内流入が抑制されていることが示唆された。この抑制は細胞傷害時の細胞の防御メカニズムの一つといえるかもしれない。

**Keywords** : sodium, ATP-depletion, hepatocyte

Kawanishi, T., Kato, T.\*, Asou, H.\*, Uneyama, C.,

Toyoda, K., Momose, K.\*, Takahashi, M. and Hayaishi, Y.: **Hepatocyte growth factor-induced calcium waves in hepatocytes as revealed with rapid scanning confocal microscopy**

*Cell Calcium*, 18, 495~504 (1995)

HGF (肝細胞増殖因子) 刺激による初代培養肝細胞の細胞内遊離カルシウムイオン濃度上昇を高速高分解に画像化すると、ホルモン性刺激同様にウェーブ状の上昇が生じることが観察された。このカルシウムウェーブの空間的パターンは細胞が同じであればホルモン性刺激の場合と同じであり、イノシトール三リン酸の上昇によって生じるカルシウムウェーブの空間的パターンは同一であることが示唆された。また、カルシウムイオン濃度上昇の大きさも、細胞個々の反応性の指標と考えられるウェーブが生じるまでの時間は、HGF 刺激とフェニレフリン刺激では細胞個々で大きく異なった。以上の結果から、ウェーブのパターンは細胞表面の受容体の局在によって決定されるのではなく、イノシトール三リン酸の生成以降のメカニズムによって決定されていることが示唆された。

**Keywords** : calcium wave, hepatocyte growth factor, confocal microscopy

\* 昭和大学薬学部

Tanaka, H.\*1, Kawanishi, T., Kato, Y.\*1, Nakamura, R.\*2 and Shigenobu, K.\*1: **Insulated propagation of cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> oscillation into the nucleus in cardiac myocytes as revealed by rapid scanning confocal microscopy and indo-1**

*Jpn. J. Pharmacol.*, 70, 235~242 (1996)

高速走査型共焦点レーザー顕微鏡および蛍光プローブ indo-1 を用いて単離心室筋細胞における細胞内遊離カルシウムイオン濃度を画像化した。静止レベルのカルシウムイオン濃度は細胞質領域と核領域では差はなかったが、電気刺激をすると細胞質領域に遅れて核領域が上昇し、下降についても核領域の遅れが観察され、カルシウムイオン濃度に乖離が生じた。パッチクランプによって細胞を脱分極させると、細胞質領域のカルシウムイオン濃度は上昇し、ピークに達した後減少するが、高いレベルに留まったままプラトー相を形成し、再分極させると初めて静止時のレベルまでもどった。一方核領域では脱分極によって細胞質領域に追従するように上昇し、細胞質領域のプラトー相とほぼ同じレベルまで上昇し、続いて再分極すると細胞質に遅れて下降した。また核領域を横切るカルシウムウェーブを画像化して詳細に解析すると、細胞質から核領域にウェーブが伝わる際に伝播が遅れが生じていることが明らかとなった。以上の結果から、カルシウムイオン濃度上昇時における核領域と細胞質領域のカルシウムイオン濃度の乖離は、細胞質で生じるカルシウムイオン濃度の上昇が核領域に伝わる際に核膜が障壁となって遅れが生じるためであることが示唆された。

**Keywords** : calcium, myocyte, confocal microscopy

\*1 東邦大学薬学部

\*2 (株)ニコン顕微鏡設計

Ohata, H.\*, Kawanishi, T., Hisamitsu, T.\*, Takahashi, M. and Momose, K.\*: **Functional coupling of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger with Ca<sup>2+</sup> release from intracellular stores in cultured smooth muscle cells of guinea pig ileum**

*Life Sci.*, 58, 1179~1187 (1996)

モルモット小腸縦走筋から得た平滑筋細胞を培養し、蛍光顕微鏡画像解析法によって細胞内遊離カルシウムイオン濃度変化を測定したところ、栄養液のナトリウムイオン濃度を減少させると、直後にカルシウムイオン濃度が大きく上昇した。この上昇は細胞外のカルシウムイオンを除いても観察されるが、複数回繰り返すと消失した。またタブシガルジンで細胞内貯蔵部のカルシウムイオンを枯渇させても消失した。以上の結果から、心筋細胞で報告されているような形質膜のナトリウムイオン/カルシウムイオン交換系と細胞内カルシウムイオン放出機構との機能的なカップリングが、平滑筋細胞でも存在することが示唆された。

**Keywords** : sodium, calcium, smooth muscle cell

\* 昭和大学薬学部

Fukuoka, M., Kobayashi, T. and Hayakawa, T.: **Mechanism of testicular atrophy induced by di-n-butyl phthalate in rats. Part 5. testicular iron depletion and levels of ferritin, haemoglobin and transferrin in the bone marrow, liver and spleen**

*J. Appl. Toxicol.*, 15, 379~386 (1995)

本研究は骨髄、肝臓および脾臓でのフェリチン、トランスフェリン、ヘモグロビンの代謝を研究し、血液および精巣中の鉄の減少は肝臓と脾臓でのトランスフェリンおよびヘモグロビンからの鉄の遊離に関係することを提案している。

**Keywords** : rat testicular atrophy, iron, transferrin, ferritin

Fukuoka, M., Kobayashi, T. and Hayakawa, T.: **Mechanism of testicular atrophy induced by di-n-butyl phthalate in rats. VI. A possible origin of testicular iron depletion**

*Bio. Pharm. Bull.*, 17, 1609~1612 (1994)

本研究はフタル酸エステルで暴露された赤血球が鉄を遊離するメカニズムを *in vivo* および *in vitro* 実験系で証明した。

**Keywords** : erythrocyte, iron release, hemoglobin

Uchida, E., Shimokawa, S.\*<sup>1</sup>, Takasu, H.\*<sup>1</sup>, Ikehara, M.\*<sup>1</sup>, Uesugi, S.\*<sup>1</sup>, Tomita, K.\*<sup>1</sup>, Tanaka, A., Morikawa, M.\*<sup>2</sup>, Nishikawa, S.\*<sup>1</sup> and Hayakawa, T.: **Activity of artificial mutant variants of human growth hormone changes in charged residues around 62-67**

*Biol. Pharm. Bull.* 18(6), 797~801 (1995)

ヒト成長ホルモン (hGH) の 62~67 位における荷電アミノ酸残基がレセプターとの結合および生物活性の発現にどのような役割を演じているかについて明らかにする目的で、遺伝子工学的に 8 種類の変換体を作成し、hGH の脂肪前駆細胞に対する結合性および分化誘導活性を指標に検討した。その結果、(a) Arg64 の Tyr への変換体では受容体への結合は著明に減少したが、分化誘導活性は維持された、(b) Arg64 の Glu への変換体では受容体への結合能、分化誘導能とも減少した、(c) Glu65 あるいは Glu66 が Asp や Gln に変換した変換体では、受容体への結合能はやや減少するものの、分化誘導能はほとんど影響をうけなかった、(d) Glu65 の Pro への変換体は結合能を有するが、分化誘導能は低下した、(e) Asn63 と Arg64 の間に Ala が挿入された変換体では結合能、分化能のいずれも著明に抑制された。以上の結果から、正に荷電した Arg64 がレセプターとの結合ひいては生物活性の発現に

重要であること、その一方で、負に荷電した Glu65 や Glu66 は重要でないこと、さらには、Arg64 周辺のループ領域のコンフォメーションおよびサイズが活性発現に重要であることを明らかにした。

**Keywords** : human growth hormone, structure-activity relationship, preadipocyte

\*<sup>1</sup> 大阪大学

\*<sup>2</sup> 東京免疫薬理研究所

谷本 剛, 横田 崎江, 早川 堯夫: **トロンビンの合成基質を用いた定量法の確立に関する基礎的研究**  
*医薬品研究*, 27, 132~135 (1996)

日局トロンビンの定量法の改良を目指して、トロンビンに対して特異性の高い合成基質である D-フェニルアラニルピペコリルアルギニン- $\alpha$ -*l*-グルタミドを用いた定量法確立のための基礎的検討を行った。その結果、本基質を用いたトロンビンの活性測定条件を決定することができた。この活性測定法は、日局に規定されている凝固法と比較して操作時間が約 1/5 に短縮され、操作自体もきわめて安易な方法であった。また、測定精度に関しても合成基質法はその変動係数が 1.2% であり、日局法 (変動係数: 6~21%) より明らかに低く、この点に関しても合成基質法は優れていた。

**Keywords** : Japanese Pharmacopoeia, thrombin, chromogenic substrate

Okuyama, E.\*<sup>1</sup>, Okamoto, Y.\*<sup>1</sup>, Yamazaki, M.\*<sup>1</sup> and Satake, M.: **Pharmacologically active components from peruvian medicinal plant, Huanarpo (*Jatropha cillata*)**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44(2), 333~336 (1996)

“ワナルボ”はトウダイグサ科の植物 *Jatropha cillata* の全草で、ペルーの伝統生薬である。この生薬の抗うつ作用を検討したところ、flavone C-glycoside と fraxetin が活性化合物であった。

**Keywords** : *Jatropha cillata*, flavone C-glycoside, Huanarpo

\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University

酒井英二, 飯田 修, 齊藤雄二\*, 大野昌子\*, 佐竹元吉: **ムラサキの栽培研究 施肥と栽培期間**

*Natural Medicines*, 50(1), 41~44 (1996)

消炎作用のあるシコンの起源植物ムラサキの栽培方法を施肥と成分を考慮して検討した。施肥量が多いと生育阻害を起こすが、未肥料では生育が遅れるので、ナフトキノンの量を考慮すると栽培期間は 2~3 年で、通常の施肥量の 1/5 量程度が経済的な栽培条件である。

**Keywords** : *Lithospermum erythrorhizon*, cultivation, fertilized condition

\* 鐘紡㈱

Ozaki, Y., Lujian X. and Satake, M.: **Accelerative effect of “Nanshikon” and its constituents on the proliferation of granuloma tissue in rats**  
*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 233~236 (1996)

紫根は、中国では硬紫根および軟紫根の区別なく、解熱、消炎および火傷の治療などに用いられているが、日本では、硬紫根のみが認められており (局方収載)、同様の目的で使用されている。この使用目的から、紫根の薬理作用として肉芽形成促進作用が期待されるので、中国産の軟紫根の

含有成分の光学異性体の相違を含めて肉芽形成促進作用の活性成分の検討を行い、さらに、軟紫根のこれら含有成分および薬理作用の硬紫根との同等性について考察した。軟紫根のエーテルエキス中に含まれる種々のシコニン系色素成分の局所投与はラットでの綿球誘発肉芽形成の促進作用を示した。これらシコニン系色素成分中でテラクリルシコニン、 $\beta,\beta$ -ジメチルアクリルシコニン、 $\alpha$ -メチルブチルシコニン、イソバレリルシコニンが量的に多く、また、薬理作用の効力が強かった。これらのことから、軟紫根のエーテルエキスが示した肉芽形成促進作用発現にはこれら4種の化合物が主として関与しており、また、他の成分もこれら成分と共に相加的に作用していることが示唆された。

**Keywords:** *Macrotomia euchroma*, granuloma tissue, accelerative effect

尾崎幸紘：山椒の薬効・薬理

現代東洋医学, 16, 429~431 (1995)

日本では、山椒は基原植物としては *Zanthoxylum piperitum* De Candolle またはその他同属植物の成熟した果皮と規定されている。中国ではこれら植物の葉、種子および根をそれぞれの証に従い用いている。この山椒は、漢方処方として大建中湯、当帰湯および椒梅湯の構成生薬として用いられている。これら処方は、薬効分類として神経系用薬中の漢方鎮痛鎮痙薬として、また、消化器官用薬中の漢方駆虫薬に使用されている。これらのことから、山椒の現在までに行った、あるいは報告されている薬理作用について検討し、山椒が配合されている漢方処方の効果、効果に対する山椒の薬理学的関与の程度について考察した。また、中国で使用されている山椒の葉、種子および根の薬理作用について考察した。

**Keywords:** *Zanthoxylum piperitum*, pharmacological effect, clinical use

Suzuki, H., Harada, M., Satake, M. and Mursito, B.\*<sup>1</sup>: **Determination of arecoline and arecaidine in areca by reverse-phase, ion-pair high-performance liquid chromatography**

*Natural Medicines*, 49(3), 303~307 (1995)

アレコリンとアレカイディンのクロマトグラフ上の挙動を逆相・イオン対高速液体クロマトグラフ法により調べ、次いでそれらのアルカロイドを含むビンロウジの分析法を検討した。移動相はイソクラティックな条件を採用し、その最適化条件の検討を、水・メタノール・ラウリル硫酸ナトリウム・リン酸の配合比、カラム温度について行った。設定条件で試料を分析したところ、対象アルカロイド由来の大きな二つのピークは他の二つの小さなピークから分離させることができた。この時、各成分の検出限界はいずれも S/N 比 3:1 で 0.01% であった。また 12 種類の試料の分析結果から、アレコリンとアレカイディンの含量範囲はそれぞれ 0.09~0.68% (平均 0.31%) と 0.11~0.58% (平均 0.39%) であった。

**Keywords:** *Areca catechu*, arecoline, high-performance liquid chromatography

\*<sup>1</sup> National Quality Control Laboratory of Drug and Food, Indonesia

相楽和彦\*<sup>1</sup>, 平山総良\*<sup>1</sup>, 並木千穂\*<sup>1</sup>, 伊藤祐二\*<sup>1</sup>, 永井吉澄\*<sup>2</sup>, 鈴木英世, 佐竹元吉: **高速液体クロマトグラフ法によるオウゴン中のバイカリンの定量法**

医薬品研究, 27(5), 243~254 (1996)

HPLC 法によるオウゴン中のバイカリンの定量を検討

した。カラムとして ODS 系のもの、また移動相として薄めたリン酸 (1→146)・アセトニトリル混液 (18:7) を用いた。オウゴンからのバイカリンの抽出はその粉末を移動相で加熱還流して行った。設定した条件で HPLC を実施すると、注入後、20 分以内にバイカリンは溶出する。オウゴン中のバイカリンの平均含量は 14.70% (CV 13.7%) であった。なおオウゴン 57 試料から求めた平均の乾燥減量は 10.06% (CV 7.7%) であった。今回、バイカリンの定量用標準としての純度試験法などの規格の設定も同時に行った。これらの結果が 13 局の検討で生かされ、オウゴンの成分含量測定法設定の基礎資料となった。

**Keywords:** *Scutellariae radix*, baicalin, high-performance liquid chromatography

\*<sup>1</sup> 東京医薬品工業協会

\*<sup>2</sup> 日本生薬連合会

相楽和彦\*<sup>1</sup>, 須藤桂一\*<sup>1</sup>, 伊藤祐二\*<sup>1</sup>, 永井吉澄\*<sup>2</sup>, 鈴木英世, 佐竹元吉: **高速液体クロマトグラフ法によるマオウ中のアルカロイドの定量法**

医薬品研究, 27(5), 255~261 (1996)

HPLC 法によるマオウ中のエフェドリンおよびプソイドエフェドリンの定量を検討した。カラムとして ODS 系のもの、また移動相としてイオンペア溶媒の SDS の溶液 (1→128)・アセトニトリル・リン酸混液 (640:360:1) を用いて行った。設定した条件によりマオウ中のエフェドリン、プソイドエフェドリン、その他の成分が、良好なピークとして分離した。本定量では、標準にエフェドリンのみを用い、プソイドエフェドリン含量はエフェドリン含量に換算し、両者の和を総アルカロイド含量とした。乾燥したマオウを本定量法で測定するとき、総アルカロイドは 0.7% 以上であった。以上の結果は 13 局の検討で生かされ、マオウの定量法設定の基礎資料となった。

**Keywords:** high-performance liquid chromatography, Ephedra herb, ephedrine

\*<sup>1</sup> 東京医薬品工業協会

\*<sup>2</sup> 日本生薬連合会

Shirota, O., Sekita, S., Satake, M., Ni, Y.\* and Weiyi, H.\*: **Chemical constituents of Chinese folk medicine "Sân Léng", *Sparganium stroloniferum***

*J. Nat. Prod.*, 59, 242~245 (1996)

"Sân Léng" (三稜) は月経痛、月経不順、消化不良などに用いられる生薬であり、ミクリ科のミクリとカヤツリグサ科のウキヤガラなどが基原植物とされる。この二つの植物は生薬の外見も異なり、またどちらも含有成分の解明は成されていない。今回、両基原植物の成分の解明・比較を目的として、ミクリの成分検索を行った。ミクリ (*Sparganium stroloniferum* Buch.-Hamil.) 塊茎 3.6 kg をメタノールにて抽出し、ジクロロメタン可溶画分をシリカゲルオープンカラムにて分画後、シリカゲルおよび ODS 中圧カラム等にて精製することにより 6 種の化合物を単離した。これらの化合物の構造は、二次元 NMR 解析を含むスペクトルデータの解析、および化学反応などにより、3 種の既知フェニルプロパノイド・グリセライドおよび 3 種の新規フェニルプロパノイド・グルコサイドであると決定した。

**Keywords:** *Sân Léng*, *Sparganium stroloniferum* Buch.-Hamil., chemical constituents

\* 天津薬物研究院

Kamano, Y.\*<sup>1</sup>, Zhang, H.\*<sup>1</sup>, Morita, H.\*<sup>2</sup>, Itokawa,

H.\*<sup>2</sup>, Shirota, O., Pettit, G. R.\*<sup>3</sup>, Herald, D. L.\*<sup>3</sup> and Herald, C. L.\*<sup>3</sup>: **Conformational analysis of a marine antineoplastic macrolide, Bryostatin 10**  
*Tetrahedron*, **52**, 2369~2376 (1996)

海洋抗腫瘍性マクロライドであるブリオスタチン 10 の重クロロホルム中でのコンフォメーションを分光分析学のおよび計算化学的手法を用いて解析した。まず、ブリオスタチン 10 の重クロロホルム中でのプロトンシグナルを、600 MHz での同種核二次元 NMR スペクトル解析の組み合わせにより完全に帰属した。次に溶液状態のコンフォメーションを位相差 ROESY スペクトル、水酸基プロトンの温度可変効果、および <sup>3</sup>J ビシナルカップリング定数を用いることにより解析した。ROE 距離情報等を拘束条件とした分子動力学シミュレーションによって溶液状態での良く限定されたコンフォメーションが得られ、これは固体状態で観測されているブリオスタチン 2 のコンフォメーションと類似していることが明らかとなった。

**Keywords**: conformational analysis, Bryostatin 10, antineoplastic, macrolide

\*<sup>1</sup> 神奈川大学理学部

\*<sup>2</sup> 東京薬科大学薬学部

\*<sup>3</sup> アリゾナ州立大学化学科

Morita, H.\*<sup>1</sup>, Yoshida, N.\*<sup>1</sup>, Takeya, K.\*<sup>1</sup>, Itokawa, H.\*<sup>1</sup> and Shirota, O.: **Configurational and conformational analyses of a cyclic octapeptide, lyciumin A, from *Lycium chinense* MILL.**

*Tetrahedron*, **52**, 2795~2802 (1996)

アンギオテンシン変換酵素阻害活性を示す珍しいオクタペプチドであるリシウミン A の立体配置およびコンフォメーションを、分光分析学のおよび計算化学的手法を用いて解析した。重ピリジン中、600 MHz での同種核および異種核二次元 NMR スペクトル解析によって求めたリシウミン A の完全な立体構造は、AMBER 力場を用いたモンテカルロ法と拘束分子動力学計算法により得られた立体構造と一致した。また、NH-C<sub>α</sub>H カップリング定数、NH プロトンの温度依存性、および NOE 距離情報を拘束条件とした分子動力学計算により求められたリシウミン A の重ピリジン中でのメジャー溶液コンフォーマーは、環状骨格を形成する Val と Gly 残基間においてタイプ IIβ ターン様のコンフォメーションを取ることが明らかとなった。

**Keywords**: conformational analysis, Lyciumin A, cyclic octapeptide

\* 東京薬科大学薬学部

Kawahara, N., Sekita, S. and Satake, M.: **Steroides from *Calvatia cyathiformis***

*Phytochemistry*, **38**, 947~950 (1995)

中国において止血、咽頭部の痛み止め等に使用されている菌類生薬、紫色馬勃 *Calvatia cyathiformis* の成分検索を行い、現在までに乾燥子実体塩化メチレン抽出エキスより 3 種の新規ステロイドを単離、構造決定している。今回さらに本抽出エキスより calvasterol A, B と命名した新規ステロイド誘導体を見出した。これらの化合物は二次元 NMR を中心とする各種スペクトルデータ解析および化学変換反応より立体構造を含めてそれぞれ 14 $\alpha$ -hydroxy-ergosta-4,7,9,22-tetraen-3,6-dione, 9 $\alpha$ , 14 $\alpha$ -dihydroxy-ergosta-4,7,22-trien-3,6-dione と決定した。

**Keywords**: calvasterol A, calvasterol B, *Calvatia cyathiformis*

Ayer, W., A.\*<sup>1</sup> and Kawahara, N.: **Lecythophorin, a potent inhibitor of blue-stain fungi, from the hyphomycetous fungus *Lecythophora hoffmannii***  
*Tetrahedron Letters*, **36**, 7953~7956 (1995)

現在カナダにおいて最も重要な木材資源の一つである落葉高木、アスペンはその需要の増加に伴い、青変菌と呼ばれる植物病原菌による着色、腐食が大きな問題となっている。青変菌に拮抗する菌類のスクリーニングより見いだされた真菌、*Lecythophora hoffmannii* の活性成分の検索を行い、本菌株の米培地アセトン抽出エキスより lecythophorin と命名した新規抗真菌性物質を単離し、各種スペクトルデータ解析および化学変換反応よりその構造を決定した。lecythophorin は 1  $\mu$ g/ml の濃度で青変菌の生育を阻害した。

**Keywords**: lecythophorin, *Lecythophora hoffmannii*, blue-stain fungus

\*<sup>1</sup> アルバータ大学

Koshimizu, T.\*<sup>1</sup>, Tsujimoto, G.\*<sup>1</sup>, Ono, K., Masaki, T.\*<sup>2</sup> and Sakamoto, A.\*<sup>3</sup>: **Truncation of the receptor carboxyl terminus impairs membrane signaling but not ligand binding of human ET<sub>B</sub> endothelin receptor**

*Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **217**, 354~362 (1995)

ヒト ET<sub>B</sub> 受容体 (442 アミノ酸残基よりなる) の C 末端細胞内領域には 4 個のバルミトイレーション部位と 12 個のリン酸化可能な部位がある。受容体情報伝達におけるこれら修飾部位の機能的役割を知るため、一連の C 末端欠損受容体を作成し、Ltk<sup>-</sup>細胞に発現させた。すべての C 末端欠損受容体は野生型の受容体とほぼ同等のリガンド結合能を有していた。Cys-402 を保持した受容体では野生型受容体と同様のカルシウム反応とその脱感作を起こしたが、Cys-402 を超えて短くした受容体ではカルシウム反応を惹起できなかった。これらのことより、ヒト ET<sub>B</sub> 受容体の 402 番目の Cys 残基がカルシウム反応の仲介に必須であること、そして 12 個のリン酸化部位のうち少なくとも 10 個はエンドセリンによる脱感作には関与していないことが判明した。

**Keywords**: endothelin receptor, signal transduction, deletion mutant

\*<sup>1</sup> 国立小児病院

\*<sup>2</sup> 京都大学医学部

\*<sup>3</sup> 東京大学医学部

中村晃忠: **医用材料の細胞毒性試験における標準材料組織培養**, **22**, 228~233 (1996)

医療用具・医用材料の生物学的評価において細胞毒性試験は必須の試験であるが、各国の標準試験法の手法は様々であり、データの互換性はない。日本の医療用具生物試験法ガイドライン作成にあたって、多様な手法をつなぐ共通の物差しとして、毒性強度の異なる二つの陽性対照材料を導入することにした。この戦略と陽性対照材料の標準化の過程について述べた。

**Keywords**: cytotoxicity test, positive reference materials, Japanese Guidelines

Sato, M., Xi, T.\*<sup>1</sup>, Nakamura, A., Kawasaki, Y., Umemura, T., Tsuda, M. and Kurokawa, Y.: **Degradation of polyetherurethane by subcutaneous implantation into rats. II. Changes of contact angles, infrared spectra, and nuclear magnetic resonance**

**spectra**

*J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 1201~1213 (1995)

2種のポリウレタン (PEU) (U3, U8) をエチレン・ヒニルアルコール共重合体のフィルムに薄くコーティングして, *in vivo* での分解反応を研究した。U-3は4,4'-ジフェニルメタンイソシアネート (MDI) とポリテトラメチレンオキサイド1000 (PTMO) からなる非セグメント化PEUで, U-8はさらにブタンジオールを加えたセグメント化PEUである。今回は摘出した材料を接触角, ATR-IR, NMRで解析した。これらの結果から, PTMO/MDIオリゴマーは埋植初期の段階で材料表面に拡散し, 次いで, 低分子量分画のオリゴマーが浸出液に溶出し, 分解は2~4週後に優勢になることがわかった。U-8の場合は24週の埋植で約35~40%のPTMO分画が表面から減少し, U3の場合では10週で殆ど消失することが明らかになった。U3では分子量の減少も認められた。U3はU8より速く分解していた。また, 今回のIR, NMRのデータからは酸化分解の証拠は得られなかった。

**Keywords** : polyurethane, biodegradation, implantation

\* 中国薬品生物製品検定所

Yagami, T., Sato, M. and Nakamura, A.: **Plant defense-related proteins eluting from latex gloves and ammoniated latex: Potential latex allergens**

*J. Nat. Rubb. Res.*, **10**, 100~107 (1995)

天然ゴム製品が原因で発症するラテックスアレルギーのアレルゲンを究明するにあたり, 患者が天然ゴム製品のみならず植物性食品や花粉に対してもアレルギーを示すことに注目した。この事実, 植物の生体防御反応によって誘導される蛋白質には種によらない一定の構造類似性があると報告されていることを考え合わせ, 「植物の生体防御蛋白質がラテックスアレルゲンであり交差抗原である」という仮説を立てた。この仮説に基づいて手術用および家庭用ラテックス製手袋の抽出液, さらに, 製造原料であるアンモニアラテックスの抽出液を分析したところ, 植物の生体防御に関与すると考えられるリゾチーム (EC 3.2.1.17), キチナーゼ (EC 3.2.1.14),  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ (EC 3.2.1.6) およびカルボキシエステラーゼ (EC 3.1.1.1) の活性をすべての抽出液から実際に検出することができた。さらに, リゾチーム, キチナーゼおよび $\beta$ -1,3-グルカナーゼ活性を有する各蛋白質は, 文献に記載されているラテックスアレルゲン群に近い熱安定性や分子量を有することを明らかにした。このような結果は, 当初の仮説の正当性を強く支持するものである。

**Keywords** : latex allergy, defense-related protein, cross-reaction

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.\*: **One of the rubber latex allergens is a lysozyme**

*J. Allergy Clin. Immunol.*, **96**, 677~686 (1995)

天然ゴム製品が原因で発症するラテックスアレルギーは, 製品から溶出する複数の蛋白質がアレルゲンであるとされているが, それらの具体的な特徴についてはほとんどわかっていない。著者らは, 天然ゴム製品のみならず果物などに対してもアレルギーを示す患者が多いことに着目し, 「植物の生体防御蛋白質がラテックスアレルゲンであり交差抗原である」という仮説を立てた。この仮説の正当性を検証するため, 代表的な植物の生体防御蛋白質であるリゾチームを取り上げ, ラテックスアレルギーとの関連性を調べた。家庭用手袋の抽出液から各種クロマトグラフィー操作により分離したリゾチームは約27 kDの塩基性蛋白質

であり, 果物に含まれるリゾチームと非常に類似した酵素活性の特徴を有していた。また, このリゾチームが患者血清中のIgE抗体によって特異的に認識されるラテックス抗原の一つであることが, イムノプロットングにより確認された。このような結果は, 仮説の正当性を強く支持するものである。さらに, 繰り返しの傷付けや植物ホルモンの適用といったストレスが, ゴムの木に生体防御蛋白質を多量に誘導させる要因である可能性を指摘した。

**Keywords** : latex allergy, defense-related protein, lysozyme

\* しょうの皮膚科

Yagami, T., Kitagawa, K.\*<sup>1</sup> and Futaki, S.\*<sup>2</sup>: **Liquid secondary-ion mass spectrometry of peptides containing multiple tyrosine-O-sulfates**

*Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9**, 1335~1341 (1995)

硫酸化チロシン残基を複数個含むペプチドが, 液体二次イオン質量分析法においてどのような質量スペクトルとして記録されるかを調べた。硫酸化チロシンをn残基 (n=1, 2, 3) 含むペプチドの正イオンスペクトルでは,  $[M+H-nSO_3]^+$  イオンピークが強く検出された。一方, 負イオンスペクトルでは,  $[M-H-mSO_3]^-$  イオンピーク m=0, 1, ..., (n-1) が強く検出された。使用するマトリックスを変えてもフラグメンテーションパターンに本質的な変化が見られなかったことから, 硫酸化チロシン含有ペプチドの気相での挙動が特徴的なパターンの形成に寄与していることがわかった。著者らは, 硫酸化チロシン残基の気相における挙動は液相における酸不安定性と反応機能的に密接な関連があるのではないかと考えた。さらに, プロトンが硫酸化チロシン残基の気相における挙動と液相における挙動を結びつける重要な役割を担っていると推測した。そして, プロトンによって触媒される脱硫酸化の液相における反応機構を気相中のイオンに適用し, 正負イオンモードの質量スペクトルに記録された特徴的なフラグメンテーションパターンの形成理由を説明した。

**Keywords** : LSIMS, tyrosine-O-sulfate, fragmentation

\*<sup>1</sup> 新潟薬科大学

\*<sup>2</sup> 徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター

Yagami, T., Kitagawa, K.\*<sup>1</sup> and Futaki, S.\*<sup>2</sup>: **Analysis of sulfated tyrosine-containing peptides by liquid secondary-ion mass spectrometry with constant neutral-loss (80 amu) scanning**

*Anal. Sci.*, **11**, 1025~1028 (1995)

硫酸化チロシン含有ペプチドの液体二次イオン質量スペクトルには-80 amu (-SO<sub>3</sub>) というフラグメンテーションピークが強く現れることに注目し, コンスタントニュートラルロス (80 amu) 測定が硫酸化チロシン含有ペプチドの構造解析や特異的検出に有用であるかどうかを調べた。ロイシンエンケファリン硫酸化体をモデルペプチドとして選び, 衝突活性化条件でのリンクトスキャン法によるMS/MS測定を試みたところ, 娘イオンスペクトルに加えてコンスタントニュートラルロス (80 amu) スペクトルにも構造情報に富む多くのフラグメントイオンが検出され, 構造解析が可能であった。また, 硫酸化チロシン含有蛋白質の酵素分解物モデルとしてBSAのトリプシン消化物にCCK-8硫酸化体を添加したペプチド混合物を調製し, コンスタントニュートラルロス (80 amu) 測定を行ったところ, CCK-8硫酸化体の特異的検出が可能であった。CCK-8硫酸化体の代わりにロイシンエンケファリン硫酸化体を添加した場合にも, 特異的検出が可能であった。こ

のような結果は、コンスタントニュートラルロス (80 amu) 測定が硫酸化チロシン含有ペプチドの分析に非常に有用であることを示すものである。

**Keywords** : LSIMS, tyrosine-*O*-sulfate, constant neutral-loss

\*1 新潟薬科大学

\*2 徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター

Kaniwa, M., Shono, M.\*<sup>1</sup>, Hayakawa, R.\*<sup>2</sup>, Ukei, C.\*<sup>2</sup>, Ogino, Y.\*<sup>2</sup>, Nakagawa, M.\*<sup>3</sup>, Kawai, K.\*<sup>3</sup>, Isama, K., Nakamura, A.: **A study of the relevance between causative chemicals and products on allergic contact dermatitis due to *p*-*tert*-butylphenol formaldehyde resin in Japan**

*Environmental Dermatology*, 2(2), 89~93 (1995)

1985~1992年にかけて、*p*-*tert*-butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR) によるアレルギー性接触皮膚炎9例について、患者でのパッチテストおよび原因ゴム製品の化学分析を併用して検討した。すなわち、すべての事例において、患者でのパッチテストでPTBP-FRが陽性反応を示した。そして、7例において、原因製品となった靴用接着剤、テーピングテープ、スニーカー、革製サンダル、膝用補強具のパッドおよびアンダークッション、雨具から、PTBP-FRとともに、その原料である*p*-*tert*-butylphenol (PTBP) を検出した。一方、マーカーペンによる事例では、PTBPを確認できたが、PTBP-FRは共存する色素の妨害のため確認できなかった。また、合成皮革製靴による事例では、PTBP、PTBP-FRともに確認できなかったことから、PTBP-FRの含有量が検出限界以下であったか、実際に使用されていないかとの予想された。

**Keywords** : allergic contact dermatitis, *p*-*tert*-butylphenol formaldehyde resin, *p*-*tert*-butylphenol

\*1 しょうの皮膚科

\*2 名古屋大学医学部付属病院分院皮膚科

\*3 京都河合医院皮膚科

Kaniwa, M.: **Allergen explanation. PPD-black rubber mix, *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD), *N*, *N'*-diphenyl-*p*-phenylenediamine (DPPD), *N*-1, 3-dimethyl-butyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD)**

*Environmental Dermatology*, 2(2), 151~160 (1995)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム老化防止剤として使用される*p*-フェニレンジアミン化合物について、パッチテスト用標準のPPD black rubber mixの構成成分である*N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD), *N*, *N'*-diphenyl-*p*-phenylenediamine (DPPD), *N*-1, 3-dimethyl-butyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

**Keywords** : allergic contact dermatitis, rubber, *p*-phenylenediamine-type antioxidant

Kaniwa, M., Isama, K., Nakamura, A., Miyako, F.\*<sup>1</sup>, Jidoi, J.\*<sup>1</sup> and Nishioka, K.\*<sup>2</sup>: **Analysis of allergenic antioxidants in agricultural rubber boots**

*Environmental Dermatology*, 2(3), 170~177 (1995)

農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎事例に

ついて原因究明を実施するために、その一環として、日本における市販の農作業用ゴム長靴について分析調査を行った。すなわち、代表的なゴムアレゲンである、アミン系老化防止剤の*N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD) とともに、老化防止剤の*N*-1, 3-dimethyl-butyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD), 6-ethoxy-2, 2, 4-trimethyl-1, 2-dihydroquinoline (ETM-DQ), diphenylamine (DPA) が含まれていることを確認した。これらの4化合物はいずれもアレルギー性物質であることが確認されていることから、これらの化合物が農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎事例の原因化学物質となりうることを明らかにできた。

**Keywords** : allergic contact dermatitis, agricultural rubber boot, amine-type antioxidant

\*1 島根医科大学皮膚科

\*2 山口赤十字病院皮膚科

Kaniwa, M.: **Allergen explanation. Mercapto mix, mercaptobenzothiazole (MBT), dibenzothiazyl disulfide (MBTS), cyclohexylbenzothiazyl sulfenamide (CBS), morpholinylmercaptobenzothiazole (MMBT)**

*Environmental Dermatology*, 2(3), 228~237 (1995)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム加硫促進剤として使用されるメルカプトベンゾチアゾール (MBT) 系化合物について、パッチテスト用標準のMercapto mixの構成成分であるmercaptobenzothiazole (MBT), dibenzothiazyl disulfide (MBTS), cyclohexylbenzothiazyl sulfenamide (CBS), morpholinylmercaptobenzothiazole (MMBT) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

**Keywords** : allergic contact dermatitis, rubber, mercaptobenzothiazole-type accelerator

Ueda, K.\*<sup>1</sup>, Yamamoto, Y.\*<sup>1</sup>, Tenjo, S.\*<sup>1</sup>, Yanagihara, M.\*<sup>1</sup>, Kaniwa, M., Kojima, S., Takaishi, K.\*<sup>2</sup>: **Two cases of pigmented contact dermatitis**

*Environmental Dermatology*, 2(4), 278~282 (1995)

これまで報告された綿ネル製寝間着による色素沈着性のアレルギー性接触皮膚炎事例では、捺染染料の原料の1つであるnaphthol ASが原因化学物質となっていたことが確認されている。今回検討した事例は、綿ネル製寝間着によって色素沈着性のアレルギー性接触皮膚炎を生じた点では従来と同じであったが、化学分析の結果、事故製品中には、パッチテストで陽性反応を示したnaphthol ASは含まれておらず、その類似構造を有するnaphthol AS-Dが含まれていたことを明らかにできた。すなわち、この事例ではnaphthol ASと交差反応性を有するnaphthol AS-Dが原因化学物質となったものと結論づけることができた。

**Keywords** : pigmented contact dermatitis, flannel nightwear, naphthol AS-D

\*1 福井医科大学皮膚科

\*2 高石皮膚科医院

Kaniwa, M.: **Allergen explanation. Dithiocarbamate (DTC) mix, zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC), zinc ethylphenyldithiocarbamate (ZEPC)**

*Environmental Dermatology*, 2(4), 297~308 (1995)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム加硫促進剤として使用されるジチオカーバメート (DTC) 系化合物について、日本接触皮膚炎学会が新たに採用した、パッチテスト用標準の dithiocarbamate (DTC) mix の構成成分である zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC), zinc ethylphenyldithiocarbamate (ZEP-PC) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

**Keywords** : allergic contact dermatitis, rubber, dithiocarbamate-type accelerator

Kaniwa, M.: Allergen explanation. Thiourea, diphenylthiourea (DPTU), diethylthiourea (DETU), dibutylthiourea (DBTU), dilaurylthiourea (DLTU) *Environmental Dermatology*, 3(1), 47~56 (1996)

ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の代表的なアレルギー性物質について、化学的性状、事例報告ならびに患者でのパッチテスト結果、感作性試験結果などを最新の文献などを参照しながらまとめた。すなわち、ゴム加硫促進剤として使用されるチオウレア系化合物について、diphenylthiourea (DPTU), diethylthiourea (DETU), dibutylthiourea (DBTU), dilaurylthiourea (DLTU) を取り上げ、皮膚アレルギー性に関する情報をまとめた。

**Keywords** : allergic contact dermatitis, rubber, thiourea-type accelerator

鹿庭正昭：室内環境とその衛生的課題，家庭用化学製品とその衛生的課題

*生活と環境*, 41(4), 19~22

室内環境におけるカビや化学物質等による汚染に伴う健康被害についての特集のなかで、家庭用化学製品に関して、①家庭用化学製品の定義、②家庭用化学製品に関する法的な規制状況、③家庭用化学製品が原因と考えられる健康被害の発生状況、④今後の課題について、文献等の情報をもとに、家庭内において家庭用化学製品によってどのような健康被害を生じうるか、またどのような予防策が取り得るかをまとめた。

**Keywords** : indoor environment, household chemical product, safety management

Isama, K., Kaniwa, M., Momma, J., Kitajima, S., Tsuda, M., Kurokawa, Y. and Nakamura, A.: Relationship between skin sensitization potencies and chemico-physical properties of aldehyde

*The Journal of Toxicological Sciences*, 20, 555 (1995)

アルデヒド類 (ホルムアルデヒド, アセトアルデヒド, プロピオンアルデヒド, クロトンアルデヒド, ベンズアルデヒド, シンナムアルデヒド, グルタルアルデヒド) のモルモット皮膚感作性強度と物理化学的性質との相関性について検討した。感作性強度はモルモットマキシメーション法を用いて、最低感作濃度および最低惹起濃度により評価した。その結果、分配係数および<sup>13</sup>C-NMRにおけるケミカルシフトは最低感作濃度および最低惹起濃度と相関しなかった。また、FT-IR スペクトルにおけるカルボニル基の吸収波数およびアミンとの反応性は最低感作濃度と相関した。

**Keywords** : aldehyde, skin sensitization, chemico-physical properties

土屋利江, 宮田直樹：C60 フラーレンの軟骨分化促進活性

炭素クラスターニュース, 3, 60~61 (1995)

フラーレンの新しい生物活性として著しい軟骨分化促進活性を見いだした。軟骨分化機能特性を置換基効果で強めれば、新しい構造の優秀な薬の開発につながる可能性を明らかにした。

**Keywords** : rat limb bud cells, chondrogenesis, fullerene

Tsuchiya, T., Takahara, A.\*1, Cooper, S. L.\*2 and Nakamura, A.: Studies on the tumor-promoting activity of polyurethanes: Depletion of inhibitory action of metabolic cooperation on the surface of a polyalkyleneurethane but not a polyetherurethane *J. Biomed. Mater. Res.*, 29, 835~841 (1995)

発ガン性強度の異なる3種のポリエーテルポリウレタン (PEU) のメタノール抽出物について代謝協同阻害試験を行ったところ、発ガン性強度は、抽出物の阻害活性強度と相関しなかった。ところが、PEU をガラスディッシュ上に薄くコートし、材料上での代謝協同阻害活性を比較した結果、発ガン性強度と相関することが明らかになった。次にソフトセグメント部分の構造が異なるポリウレタンをガラスディッシュに薄くコートし、材料上の代謝協同阻害試験を行った。フッ素で置換されたソフトセグメント構造を有するポリウレタン (FPEG-PU) は PEU の10分の1程度低い阻害活性を示した。ソフトセグメント部分がポリブタジエン (PBD-PU) および水素で飽和されたポリアルキレン型のポリウレタン (HPBD-PU) では材料上の代謝協同阻害活性は陰性であった。これらの *in vitro* 結果から、これら3種のポリウレタン (FPEG-, PBD-, HPBD-PU) は PEU に比べて、発ガンプロモーター活性が低いものと考えられる。

**Keywords** : tumor-promoting activity, polyurethane, metabolic cooperation

\*1 九州大学工学部

\*2 University of Wisconsin

新谷英晴：生物指標 (BI) 作成時に D<sub>10</sub> 値に及ぼす種々の因子について

防菌防黴, 23, 751~754 (1995)

生物指標 (BI) に関する現行の国際標準化機構 (ISO) ドキュメント 11138 は BI 作成の菌懸濁液ならびに菌担体に関して具体的な記述が不十分である。懸濁液ならびに担体は BI の D 値に影響を与える可能性がある。これらの個々の影響に関しては報告されているが本報告では懸濁液と担体との複合が D 値に与える影響を確認した。さらに担体の孔径、懸濁液よりの結晶の大きさ、結晶の成長速度、結晶中への菌の取り込み等についても走査電顕を用いて確認した。

**Keywords** : biological indicator, D value, ISO/TC198

新谷英晴：高圧蒸気滅菌保証に用いる生物指標 (BI) の D<sub>10</sub> 値に及ぼす回収培地の影響

防菌防黴, 23, 685~686 (1995)

滅菌保証のための生物指標の正確な D 値を得る最適条件を決定することは重要なことである。条件の一つとして回収培地がある。現在の ISO/WD 14161 ではソイビーンカゼインダイジェスト (SCD) 培地が例として示されて

いる。著者は個々のメーカーで作成された SCD 培地の組成の差により D 値が異なることを推察し、この推察が実験的に正しいことが分かった。以前報告したように生残曲線法ならびにフラクションネガチブ法により D 値に顕著な差が認められなかった。今回の実験は高圧蒸気滅菌であるが以前の実験はエチレンオキサイド滅菌である。結果として培地組成を規定する重要性を次回の ISO 会議で日本案として提出する予定である。

**Keywords** : D value, biological indicator (BI), moist heat sterilization

新谷英晴：歯科材料中の新規毒性化合物に関する研究  
医科器械学会誌, 65, 486~488 (1995)

メチルメタクリレート (PMMA) は歯科材料として広く用いられている。PMMA の製造後、出発物質として用いられたメチルメタクリレートモノマー、ベンゾイルパーオキサイド、*N,N*-ジメチル

-トルイジンが残留した。これらの化合物は毒性があり、残留とともに溶出の経時変化は既に報告した。これらの化合物に加えて、親水性の新規毒性化合物を同定し、人唾液中への定量を行った。それで限外濾過を組み合わせた高速液体クロマトグラフィー質量分析計でのこれらの化合物の分析について報告した。

**Keywords** : polymethylmethacrylate, dental plate, toxic compounds

新谷英晴：生物指標 (BI) 作成時に D 値に及ぼす懸濁液、担体、培地の影響について  
医科器械, 65, 515~518 (1995)

生物指標 (BI) に関する現行の国際標準化機構 (ISO) ドキュメント 11138 は BI 作成の菌懸濁液、菌担体ならびに回収培養培地に関して具体的な記述が不十分である。BI の D 値に菌懸濁液、菌担体ならびに菌培養培地が影響を与える可能性がある。菌懸濁液、菌担体ならびに菌培養培地の個々の影響に関しては報告されているが、D 値に対するこれらの複合の影響に関しては報告されておらず、著者は既に報告されているのと異なり個々の因子の影響を認めることが出来なかった。乾燥時の菌懸濁液からの結晶と微生物を取り込む担体の孔との複合作用が滅菌を阻害したと推察される。培養培地の組成により D 値が異なり、それゆえ WD14161 のソイビーンカゼインダイジェストの組成が正確な D 値を得るのに適当かどうか確認する必要がある。

**Keywords** : biological indicator, ethylene oxide sterilization, ISO/TC198

Shintani, H.: Gamma-ray irradiation, autoclave and ethylene oxide sterilization to thermosetting polyurethane  
*Radiation Physics Chemistry*, 46, 377~381 (1995)

熱硬化性ポリウレタンのポリオール組成を変えて放射線滅菌、エチレンオキサイド滅菌、高圧蒸気滅菌を行い発癌性化合物である 4,4'-メチレンジアニリン (MDA) の生成量を比較した。

**Keywords** : gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization, ethylene oxide sterilization

Shintani, H.: Accuracy comparison of D value accuracy by LSKP and SMCP by simulation and experimental procedure  
*PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 49, 220~225 (1995)

LSKP ならびに SMCP 法での D 値の比較をシュミレーションおよび実験で行った。SMCP 法では従来の方法に試料数 (n) 50 以上、ネガチブ数 (r) 1 以上、 $r/n > 0.9$  以下の制限を設けた限定 SMCP で LSKP との間に有意差が無いことが判明した。オリジナルの SMCP と限定 SMCP との精度の比較をシュミレーションで行った。

**Keywords** : LSKP, SMCP, limited SMCP

Shintani, H.: Solid phase extraction (SPE) of blood urea compared with liquid-liquid extraction regarding artifact formation  
*Journal of Liquid Chromatography Clinical Analysis*, 18, 2167~2174 (1995)

血中尿素の分析の前処理法に固相抽出法と液-液抽出法での有効性を比較した。その結果、液-液抽出法ではアーチファクトが生成するため固相抽出法に劣ることが判明した。

**Keywords** : solid phase extraction, blood urea, liquid-liquid extraction

Shintani, H.: The relative safety of gamma-ray, autoclave and ethylene oxide gas sterilization of thermosetting polyurethane  
*Biomedical Instrumentation Technology*, 29, 513~519 (1995)

医療用具の滅菌で用いられているガンマ線滅菌、高圧蒸気滅菌、エチレンオキサイド滅菌の内、何れの滅菌法が医療用具の滅菌に適しているかを、滅菌後の医療用具に残留する分解物等を定量して比較した。

**Keywords** : sterilization methods, medical devices, safest methods

Shintani, H.: Comparison of solid phase extraction and dialysis on pretreatment efficiency of blood urea analysis  
*J. Chromatogr. Sci.*, 34, 92~94 (1996)

血中尿素の分析のための前処理に用いられる固相抽出法と透析法との有効性を比較した。

**Keywords** : blood urea, solid phase extraction, dialysis

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Stochastic utility of internal standard method in liquid chromatography  
*Anal. Sci.*, 11, 389~400 (1995)

内部標準法は液体クロマトグラフィ等でよく行われている。しかし、この方法が、手軽な外部標準法に比べて、実際に精度の高い (分析値の相対標準偏差の小さい) 結果を与えるかどうかは疑問である。この論文では、内部標準物質の添加、希釈、測定によるそれぞれの誤差を予測して、内部標準法の精度を評価した。

**Keywords** : internal standard, precision, chromatography

Hayashi, Y., Matsuda, R. and Poe, R. B.: Prediction of precision from signal and noise measurement in liquid chromatography: Limit of detection  
*Chromatogr.*, 41, 66~74 (1995)

分析機器の検出限界は、その定義と実践に関しては長い間議論されているが、未だに統一見解は得られていない。この論文では、33%の相対標準偏差 (RSD) を示すサンプル濃度を検出限界として採用し、液体クロマトグラフィにおける実際の検出限界を求めた。33% RSD を繰り返し

測定から決定するのは殆ど不可能であるので、ベースライン揺らぎから理論的に RSD を予測する方法を用いた。

**Keywords** : precision, chromatography, detection limit

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Prediction of precision from signal and noise measurement in liquid chromatography: Mathematical relationship between integration domain and precision**

*Chromatogr.*, **41**, 75~83 (1995)

クロマトグラフィにおけるデータ解析で、インテグレーションを用いた全面積測定とピーク高さ測定ではどちらが高い精度の測定結果を与えるかは、長い間議論の対象であった。この論文ではこの問題に答える一般的な方法を提案した。全面積測定かピーク高さかは分析機器によってもサンプルによっても異なるので、一般的にどちらがよいかを述べることはできない。しかし、ベースラインデータとサンプルの信号波形が与えられれば、この論文の方法はその機器とサンプルに特有の回答を与えることができる。

**Keywords** : precision, chromatography, detection limit

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Deductive prediction of measurement precision from signal and noise in fluorometry**

*Anal. Sci.*, **11**, 929~934 (1995)

分析機器のベースライン揺らぎとサンプルの信号波形から、その測定値の相対標準偏差を予測するという著者らの理論を蛍光測定に応用した。この理論は、クロマトグラフィなどのガウス分布に似た波形に対して最初に応用された。この論文では、蛍光測定の矩形信号に対して応用した。ローダミン B を用いて繰り返し測定から得られた RSD は、かなり正確にこの理論から予測できることが結論された。

**Keywords** : precision, fluorometry

Hayashi, Y., Matsuda, R. and Poe, R. B.: **Measurement precision and 1/f noise in analytical instruments**

*J. Chromatogr. A.*, **722**, 157~167 (1996)

分析機器のベースライン揺らぎとサンプルの信号波形から、その測定値の相対標準偏差を予測するという著者らの理論自体を評価した。この方法で得られる RSD 値のバラツキは、繰り返し測定から得られた RSD 値のバラツキよりかなり小さい事が見いだされた。この方法の実践的側面を議論した。

**Keywords** : precision, chromatography

徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: **非イオン性界面活性剤によるメチルパラベンのモルモットの剥離皮膚への影響**

日本化粧品科学会誌, **19**, 112~117 (1995)

モルモットの剥離皮膚に対する非イオン性界面活性剤 (14 種類) の影響をメチルパラベン (MP) を透過指標として Franz 型拡散セルを用いて検討した。0.5% の各種界面活性剤の 20% エタノール (ET) 溶液 0.5 ml を用い、37°C で 2 時間剥離皮膚を処理した後、0.05% MP 溶液 0.5 ml を donor 側に入れ、2~6 時間後に receiver 側に透過した MP 量を HPLC 法で測定した。10~30% の ET の添加は、MP の剥離皮膚の透過速度にほとんど影響を与えなかったが、陽性対照として用いた 10 mM ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の剥離皮膚への影響を、MP の透過速度の変化で見た場合、生理食塩液を用いた場合に比べてほぼ半分の透過速度を与えることが分かった。0.25~1.0% の polyoxyethylene nonylphenyl ether (POE. NPE) の濃度

と MP の透過速度の間に正の直線関係が成立し、POE. NPE の剥離皮膚の角質層への作用は濃度依存的であることが明らかになった。coconut oil fatty acid diethanolamide, polyoxyethylene (20) sorbitan monopalmitate, polyoxyethylene (10) oleyl ether および polyoxyethylene (21) lauryl ether は、SDS に比べて MP の透過速度を特に増加させた。MP の透過速度とドレーズのウサギ眼粘膜刺激指数あるいは非イオン性界面活性剤の親水性・親油性バランスの間により相関関係が成立した。

**Keywords** : nonionic surfactant, methylparaben, permeation

Hanioka, N., Jinno, H., Takahashi, A.\*<sup>1</sup>, Nakano, K.\*<sup>2</sup>, Yoda, R.\*<sup>2</sup>, Nishimura, T. and Ando, M.: **Interaction of tetrachloroethylene with rat hepatic microsomal P450-dependent monooxygenases**

*Xenobiotica*, **25**, 151~165 (1995)

テトラクロロエチレン (PCE) の毒性発現には P450 が何らかの形で関わっている可能性が考えられ、PCE の毒性発現機構を解明するための一環として、*in vitro* 系における P450 依存性酵素活性に及ぼす PCE の影響について検討した。β-ナフトフラボン、フェノバルビタール、イソニアジドおよびプレグネノロン 16α-カルボニトリルでそれぞれ処理したラット肝ミクロゾームに PCE を添加し、6 種類の P450 依存性酵素活性を測定した。フェノバルビタール処理ラット肝ミクロゾームの 7-ペントキシレゾルフィン O-デベンチラーゼおよび 7-ベンジルオキシレゾルフィン O-デベンチラーゼ活性は、2.0 mM PCE によりそれぞれ 80% および 81% 阻害された。Eadie-Hofstee プロットからこれらの阻害はいずれも非競合的阻害であることが明らかとなり、阻害定数は、それぞれ 0.16 および 0.29 mM であった。また、PCE は、フェノバルビタール処理ラット肝ミクロゾームの 7-エトキシキマリオン O-デエチラーゼ活性もわずかに阻害し、その阻害パターンは競合的であった。一方、7-エトキシレゾルフィン O-デエチラーゼ、アニリン 4-ヒドロキシラーゼおよびテストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性は、β-ナフトフラボン、イソニアジドおよびプレグネノロン 16α-カルボニトリル処理によりそれぞれ誘導されたが、PCE による阻害は認められなかった。以上の結果より、PCE は、フェノバルビタール誘導性の P450 依存性酵素を非競合的あるいは競合的に阻害し、CYP2B サブファミリーの P450 分子種が PCE の代謝および毒性に関与していることが示唆された。

**Keywords** : tetrachloroethylene, P450-dependent monooxygenase, liver microsomes

\*<sup>1</sup> (財)食品薬品安全センター秦野研究所

\*<sup>2</sup> 共立薬科大学

Hanioka, N., Nakano, K.\*<sup>1</sup>, Jinno, H., Hamamura, M.\*<sup>2</sup>, Takahashi, A.\*<sup>3</sup>, Yoda, R.\*<sup>1</sup>, Nishimura, T. and Ando, M.: **Induction of hepatic drug-metabolizing enzymes by chlornitrofen (CNP) and CNP-amino in rats and mice**

*Chemosphere*, **30**, 1297~1309 (1995)

ジフェニルエーテル系除草剤コロニトロフェン (CNP) の毒性発現機構を解明するための一環として、ラットおよびマウスに CNP 63.7 mg/kg あるいは CNP アミノ体 57.7 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間腹腔内投与し、肝薬物代謝酵素 (第一相および第二相反応) に及ぼすこれら化合物の影響について検討した。CYP2B1/2 依存性酵素である 7-ペントキシレゾルフィン O-デベンチラーゼおよび

7-ベンジルオキシレゾルフィン O-デベンジラーゼ活性は、ラット、マウスとも CNP および CNP アミノ体で有意に誘導され (2.2~7.9 倍), 特に、ラットでは CNP アミノ体投与マウスでは、CNP 投与による酵素誘導が顕著であった。また、抗ラット CYP2B1/2 抗体を用いてウエスタンブロッティングを行ったところ、ラットでは CNP アミノ体投与肝ミクロゾームで強いバンドが 2 本認識され、一方のマウスでは CNP 投与肝ミクロゾームで 1 本のバンドが認められた。一方、DT-ジアホラーゼ、グルタチオン S-転移酵素および UDP-グルクロン酸転移酵素活性は、マウスでは CNP あるいは CNP アミノ体によって有意に誘導されたが (1.3~2.5 倍), ラットではいずれの化合物でもほとんど影響を受けなかった。以上の結果より、CNP あるいは CNP アミノ体の毒性には CYP2B サブファミリーの P450 分子種が何らかの形で関与し、その感受性は動物種により異なることが示唆された。

**Keywords** : chlornitrofen (CNP), chlornitrofen-amino, drug-metabolizing enzymes

\*1 共立薬科大学

\*2 (株)パナファームラボラトリーズ

\*3 (財)食品薬品安全センター秦野研究所

Hanioka, N., Hamamura, M.\*<sup>1</sup>, Kakino, K.\*<sup>1</sup>, Ogata, H.\*<sup>1</sup>, Jinno, H., Takahashi, A.\*<sup>2</sup>, Nishimura, T. and Ando, M.: **Dog liver microsomal P450 enzyme-mediated toluene biotransformation** *Xenobiotica*, **25**, 1207~1217 (1995)

トルエンの毒性発現機構を解明するための一環として、イヌ肝ミクロゾームを用いてトルエンの *in vitro* 代謝について検討した。*in vitro* 系においてトルエンの主代謝物としてベンジルアルコールが、また微量代謝物として *o*-クレゾールおよび *p*-クレゾールが検出され、これら代謝物への生成の  $K_m$  および  $V_{max}$  値は代謝経路間で大きく異なっていた。さらに、これら代謝に関与する P450 分子種を予測するため、各種 P450 阻害剤および抗ラット P450 抗体を添加してトルエン代謝の変化を観察した。SKF-525A (0.8 mM) は、ベンジルアルコール、*o*-クレゾールおよび *p*-クレゾールの生成をそれぞれ 60%, 13% および 41% 阻害した。また、メチラポン (0.8 mM) および 4-メチルピラゾール (0.8 mM) もトルエンの *in vitro* 代謝を 17~86% 阻害したが、他の P450 阻害剤はいずれの代謝へも大きな影響を与えなかった。一方、抗ラット P450 抗体を用いた場合、抗ラット CYP2B1/2 抗体 (0.2 ml/mg protein) は、ベンジルアルコールおよび *p*-クレゾールの生成をそれぞれ 55% および 53% 阻害し、抗ラット CYP2E1 抗体 (0.2 ml/mg protein) は、ベンジルアルコール、*p*-クレゾールおよび *o*-クレゾールの生成をそれぞれ 26%, 30% および 30% 阻害した。以上の結果より、イヌのトルエン代謝には CYP2B および CYP2E サブファミリーの P450 分子種が関与し、それぞれの代謝経路に関与する P450 分子種の割合は異なっていることが示唆された。

**Keywords** : toluene, biotransformation, cytochrome P450

\*1 (株)パナファームラボラトリーズ

\*2 (財)食品薬品安全センター秦野研究所

Matsuda, R., Hayashi, Y., Sasaki, K. and Saito, Y.: **Deductive prediction of measurement precision and optimization time and wavelength in capillary electrophoreses** *Chromatographia*, **41**, 707~714 (1995)

キャピラリー電気泳動による低濃度での定量分析の精度 (相対標準偏差) がベースラインの揺らぎとピークの形から理論的に予測できることを示した。ベースラインをフーリエ変換し非線形最小 2 乗法によるフィッティングを行うことにより、精度の予測が可能となる。ミセル動電クロマトグラフィによる、アセトアミノフェンおよびカフェインの分離をモデルとして、検出波長の選択と積分区間の最適化を精度を指標として行った。

**Keywords** : capillary electrophoresis, effect of detection wavelength on precision, integration domain

Miyahara, M., Akiyama, H., Toyoda, M. and Saito, Y.: **New procedure for fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn and corn products by ion pair chromatography with *o*-phthalaldehyde postcolumn derivatization and fluorometric Detection**

*J. Agric. Food Chem.*, **44**, 842~847 (1996)

ポストカラム OPA (オルトジフタルアルデヒド) 誘導化イオンペアクロマトグラフィによるフモニシン B<sub>1</sub> と B<sub>2</sub> の新しい分析法を検討した。フモニシンはフザリウムモノフォルムによって産生されるかび毒の 1 つで、馬などの家畜に病気を起こすことが知られている。検体をホモジェネートしたのち、50%アセトニトリルで抽出、イオン交換と ODS の充填された固相抽出用カラムで精製し、試験溶液を調整した。この試験溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、SDS (ラウリル硫酸ナトリウム) を用いるイオンペア—ODS カラム法で分離後、OPA-N-アセチルシステイン溶液と混合し、フモニシンを誘導化後、蛍光検出器に導き定量を行った。この回収率は 54%~110% で定量下限は 0.04~0.08  $\mu\text{g/g}$  であった。この方法は極めて簡易迅速である。この新しい分析法は不安定なフモニシン類を分析するのにもっとも適した方法と考えられている。

**Keywords** : fumonisin, ion pair chromatography, post-column derivatization

穂山 浩, 宮原 誠, 豊田正武, 齋藤行生: **HPLC による穀類およびとうもろこし加工品中のフモニシン B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> の分析**

食品衛生学雑誌, **37**(1), 54~58 (1996)

玄米, 白米, コーンスープ試料におけるフモニシン B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> の分析法を作成した。従来法では回収率の低かった玄米, 白米試料では、 $\alpha$ -アマラーゼにより消化する操作を加えることにより、白米試料に 0.5  $\mu\text{g/g}$  添加した場合、フモニシン B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> の平均回収率が各々 91% および 94% となった。また、試料がコーンスープの場合、 $\alpha$ -アマラーゼおよび  $\beta$ -マンノシダーゼ処理を加えることにより、コーンスープに 0.5  $\mu\text{g/g}$  添加した場合、フモニシン B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> の平均回収率が各々 90% および 92% に増加した。定量限界はフモニシン B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> とも玄米および白米は 0.05  $\mu\text{g/g}$ , コーンスープは 0.01  $\mu\text{g/g}$  であった。

**Keywords** : fumonisin B<sub>1</sub>, grain, corn processed products

豊田正武, 畠中幸恵\*<sup>1</sup>, 狩谷真里\*<sup>1</sup>, 松村年郎, 宮原 誠, 内山貞夫\*<sup>2</sup>, 齋藤行生: **CO センサーによる照射香辛料からの電子レンジ加熱生成 CO ガスの検出**

日本食品科学工学雑誌, **43**(1), 69~74 (1996)

電子レンジ加熱 CO センサー法として、150 ml 容器に照射した粉碎香辛料 3 g を入れ、密栓し電子レンジにて 1 分間加熱後、CO センサーにてヘッドスペース中の CO 濃

度を測定する香辛料中 CO 濃度の改良測定法を考案した。本法の定量下限は試料 3 g を用いた場合、0.1 ppm であった。照射直後の 2 種香辛料について本法をこれまで報告された方法と比較したところ、その線量依存性は CL 法、GC 法、ESR 法のものと同様で高く、照射試料中の CO 検出法として使用可能であった。

**Keywords** : irradiated foods, CO sensor, spices, pepper

\*1 北里大学

\*2 食品薬品安全センター

武田由比子, 石綿 肇: 食品添加物としての高度サラシ粉と亜塩素酸ナトリウムの確認法および分別定量法の検討

日食化誌, 2, 122~125 (1995)

食品添加物としてはほぼ同様の目的で使用許可されている高度サラシ粉 (主成分  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ) と亜塩素酸ナトリウム ( $\text{NaClO}_2$ ) が混在しているか否かの確認法および両者の混合比に関しては、第六版食品添加物公定書の規格試験法の範囲で、定量が不可能であった。高度サラシ粉を酢酸処理し、塩素を除き、カルシウムと EDTA とのキレート化合物生成に基づく滴定法により、カルシウム定量が可能となった。また、これらの主成分中の陰イオンである次亜塩素酸と亜塩素酸に、ヨウ素滴定・還元二段階法を応用し、良好な分別定量結果を得た。したがって、カルシウムのキレート滴定法とヨウ素滴定・還元二段階法の併用により、高度サラシ粉と亜塩素酸ナトリウムの識別と、その混合比を判定する事が可能となった。また、次亜塩素酸が検出された場合、このカルシウムの測定が高度サラシ粉と次亜塩素酸ナトリウム ( $\text{NaClO}$ ) の判別に有効である。

**Keywords** : high-test hypochlorite, sodium chlorite, discriminative determination

Baba, T.\*, Morita, S.\*, Sugita, T. and Ishiwata, H.: Lead and cadmium leaching from ceramic tableware *Jpn. J. Food Chem.*, 2, 51~53 (1995)

陶磁器製食器からの鉛とカドミウムの溶出について、4%酢酸を用い 25°C で 24 時間抽出 (わが国および ISO の現行法) を行い、アメリカ FDA の鉛の溶出限度提案値との比較を行った。83 種の市販試料のうち鉛は 44 試料、カドミウムは 26 試料で溶出が認められた。平均溶出濃度はそれぞれ  $0.48 \pm 1.32$ ,  $0.01 \pm 0.03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  であった。これらの濃度は 10 年前の調査結果の 1/10 またはそれ以下であった。78% の試料で FDA の提案値である 0.1 ppm 以下の溶出濃度であった。施釉の試料は無施釉の試料に比べ、鉛およびカドミウムの溶出は検出頻度では高かったが濃度ではむしろ低い値をしめした。

**Keywords** : ceramic tableware, lead, cadmium

\* 大阪市立環境科学研究所

Ishiwata, H., Takeda, Y., Kawasaki, Y., Kubota, H. and Yamada, T.: Comparison of official methods for 'readily oxidizable substances' in propionic acid as a food additive

*Food Addit. Contam.*, 13, 1~4 (1996)

食品添加物としてのプロピオン酸の規格の中の“易酸化物”について、わが国の食品添加物公定書、FAO/WHO による Compendium, およびアメリカの Food Chemicals Codex (FCC) の試験法の比較検討を行った。食品添加物公定書と Compendium とはともに過マンガン酸カリウム消費量を採用しているが、FCC ではシュウ酸消費量で表されている。過マンガン酸カリウム消費量法では Mn

(VII, 赤色) がプロピオン酸中のアルデヒド類と反応する以前に“易酸化物”によって Mn (II, 無色) に還元され、引き続き一般に易酸化物の一種と考えられているアルデヒド類と反応して Mn (IV, 褐色) を生じた。このため終点の判定が困難であった。これに比べ、FCC 法は終点が明瞭であり、公定法として推奨できることを確認した。

**Keywords** : food additive, propionic acid, readily oxidizable substances

Ishiwata, H., Kato, C.\* and Takeda, Y.: Clean analysis for the Japanese Standards for Food Additives: assessment of organic solvents as substitutes for chloroform in the detection of halides

*Jpn. J. Food Chem.*, 2, 89~92 (1995)

クリーンアナリシスの観点から、食品添加物公定書の試験法で用いられている有害試薬を排除するために代替え試薬の検討を行った。今回は一般試験法中の臭素酸塩の定性試験と各条中のハロゲン化物イオンの検出法に用いられているクロロホルムの代替え溶媒の検討を行った。酢酸エチル、ジエチルエーテル、石油エーテル、ヘキサンを用いて試験を行ったところ、ヘキサンを用いた場合に反応液の吸収スペクトルおよび吸光度の両者共に公定法とほぼ同等の値が得られた。したがって、クロロホルムをヘキサンに代替えすることが可能であると考えられた。

**Keywords** : Japanese Standards for Food Additives, clean analysis, chloroform

\* 麻布大学

Ishiwata, H., Takeda, Y., Kawasaki, Y., Yoshida, R.\*, Sugita, T., Sakamoto, S. and Yamada, T.: Concentration of carbon monoxide in commercial fish flesh and in fish flesh exposed to carbon monoxide gas for color fixing

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 37, 83~90 (1996)

輸入魚の一部が発色の目的で一酸化炭素 (CO) ガスで処理されているとの情報を基に、市販および検疫所から送付された魚について魚肉中の CO 濃度を測定した。ティラピア (イズミダイ) を除く 27 種の魚肉では  $2 \sim 142 \mu\text{g}$  CO/kg の範囲で魚種ごとにほぼ一定であった。ティラピア (切り身) では 3 例中 2 例では  $13 \mu\text{g}/\text{kg}$  以下で血合いの部分は茶褐色であった。1 例では  $775 \mu\text{g}/\text{kg}$  で血合いは鮮赤色であった。血合いが褐色のティラピア ( $8 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) を CO ガスに 1 時間暴露した結果、鮮赤色となり、魚肉中の CO は  $234 \mu\text{g}/\text{kg}$  に増加した。これを 5°C で保存したところ、3 日目まで  $50 \mu\text{g}/\text{kg}$  以下に減少した。23 検体のティラピアのうち、16 検体は鮮赤色で CO 濃度は  $47 \mu\text{g}/\text{kg}$  以上、7 検体は茶褐色で CO 濃度は  $13 \mu\text{g}/\text{kg}$  以下であった。

**Keywords** : fish meat, color fixation, carbon monoxide

\* 日本大学

米谷民雄, 久保田浩樹, 落合真一, 鈴木資子: カラギナン類 3 種 (精製カラギナン, 加工ユーケマ藻類, ユーケマ藻末) の市販製品における硫酸基と酸不溶性物質の分析

日食化誌, 2, 85~88 (1995)

3 種のカラギナン類 (精製カラギナン, 加工ユーケマ藻類, ユーケマ藻末) の規格設定の資料とするため、硫酸基含量と酸不溶性物質含量について、市販製品の実態調査を行った。硫酸基含量は、ICP 発光分析法によるイオウ濃度から求めた。両含量の JECFA 規格がある精製カラギナンと加工ユーケマ藻類については、すべての製品がその規

格に適合していた。酸不溶性物質含量は、精製カラギナンと他の2種のカラギナンを区別する重要な性質と考えられたため、規格設定の際にはぜひ必要な項目と考えられた。

**Keywords** : carrageenan, sulfate, acid-insoluble matter

Maitani, T., Kubota, H., Sato, K. and Yamada, T.: **The composition of metals bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum***

*Plant Physiol.*, **110**, 1145~1150 (1996)

種々の金属 ( $Ag^+$ ,  $As^{3+}$ ,  $As^{5+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ga^{3+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $In^{3+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Pd^{2+}$ ,  $Se^{4+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) をセイヨウアカネ培養根の培地に添加し、フィトケラチン (PC) とその Gly 欠損体 (両者をあわせ CIIIIMT と略す) の誘導、および誘導された CIIIIMT 中の金属組成を調べた。ポストカラム HPLC 法を用いて CIIIIMT の誘導を調べたところ、取りあげたすべての金属が少なくとも PC を誘導した。Gly 欠損体も多くの金属で検出された。HPLC-ICP 法で CIIIIMT に結合している金属を調べたところ、添加金属のうちで結合して検出されたのは、Ag, Cd, Cu (電荷は不明) のみであった。また、 $Ag^+$ ,  $As^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$  添加時には、Cu が CIIIIMT に結合して検出された。

**Keywords** : metallothionein, phytochelatin, *Rubia tinctorum*

Maitani, T., Kubota, H., Sato, K., Takeda, M. and Yoshihira, K.: **Induction of phytochelatin (class III metallothionein) and incorporation of copper in transformed hairy roots of *Rubia tinctorum* exposed to cadmium**

*J. Plant Physiol.*, **147**, 743~748 (1996)

カドミウム (Cd) を含む MS 液体培地でセイヨウアカネ毛根を培養し、フィトケラチンとそのグリシン欠損体 (両者をあわせ PC と略す) の誘導を、HPLC-ICP 直結法を用いて調べた。毛根中の全 Cd 含量は、Cd 暴露後 1~14 日で、ほとんど一定であったが、培養根上清中の Cd 量は、時間とともに増加した。その増加は、PC の誘導を反映していた。誘導された PC には、Cd に加え銅 (Cu) も結合していた。Cd により誘導された PC に結合している金属の組成を、同じセイヨウアカネの毛根と培養正常根で比較したところ、培養正常根の方が Cu/Cd 比が大きかった。

**Keywords** : phytochelatin, cadmium, copper

Goda, Y., Sakamoto, S., Nakanishi, T., Maitani, T. and Yamada, T.: **Identification of monoesterified capsanthin in paprika (*Capsicum annuum*): The nature of esterification of capsanthin**

*Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 1248~1250 (1995)

カプサンチンの脂肪酸エステル体をパプリカオレオレジンから単離し、その構造を加水分解せずに決定した。その結果、おもなモノエステル化カプサンチンは、3'-O-myristoylcapsanthin であることが判明した。3,3'-O-ジエステル化カプサンチンは単離されなかった。これらの結果は、カプサンチンのシクロペンタン環上とシクロヘキセン環上の水酸基のエステル化速度が、大きく異なっていることを示しており興味深い。

**Keywords** : capsanthin, esterification, paprika

合田幸広, 中西俊元, 坂元史歩, 佐藤恭子, 米谷民雄, 山田 隆: **HPLC による市販パプリカ (トウガラシ) 色素中の色素成分の分析**

食品衛生学会誌, **37**, 20~28 (1996)

パプリカ (トウガラシ) 色素の色素成分の一斉分析法として、簡便で汎用性の高い、水-アセトン系の逆相 HPLC 条件を作成した。市販パプリカ色素 23 品目の分析を行ったところ、クロマトグラムから、市販色素は 2 種類に分類された。原料がスペイン産の製品を主とするグループ (18 製品) は、 $\beta$ -carotene か未知ピーク c1 が最大ピークであり、最大ピークに対して 40% 以上のピーク高さを持つピークが、平均 5 ピーク存在した。一方、原料が中国産のグループ (5 製品) は、 $\beta$ -carotene, c1 に加え、未知ピーク c3, c5 が主ピークで、40% 以上のピーク高さを持つピークが平均 10 ピーク存在した。ピーク c1, c3 を単離し、構造解析を行った結果、それぞれ lauroylmyristoylcapsanthin, dimyristoylcapsanthin であることが判明した。

**Keywords** : paprika, HPLC, esterified capsanthin

Kanno, J., Goda, Y., Sato, K., Yoshihira, K. and Hayashi, Y.: **FD & C Red No. 105 (Rose Bengal B) neutralizes the thyroid tumor promoting effect of indine-deficient diet in rats**

*Toxicology*, **99**, 107~113 (1995)

N-ビス(2-ヒドロキシプロピル)-ニトロサミン (DHPN) とヨード欠乏 (I-def) 食で処理したラットの甲状腺に対する食用赤色 105 号 (FR105) の影響について調べた。6 週齢雄 F344 ラットを 7 つのグループ (各 20 匹) に分け、DHPN (2800 mg/kg 体重) を一回皮下注射した。2 週から 20 週に、飲水に混じた RF105 (1.25, 5.0, 20 mg/l) またはヨウ化カリウム (KI, 12.5, 50.0, 200  $\mu$ /l) と組み合わせて I-def 食を与えた。その結果、甲状腺重量、形態、甲状腺関連ホルモンと甲状腺腫瘍発生に対する I-def 食の影響を阻害するという点において、1.25 mg/l の FR105 は、200  $\mu$ g/l の KI より、わずかに効果的であった。よって、1  $\mu$ mol/l の FR105 は 1  $\mu$ mol/l のヨウ素イオンより、わずかに有効であると算出された。1 分子の FR105 は、4 つのヨウ素残基を持つので、少なくとも全体のヨウ素残基の 25% は I-def 食を与えたラットによって利用されたものと推定される。

**Keywords** : thyroid, iodine deficiency, Food Red No. 105

\* 東京医科歯科大学

佐藤恭子, 合田幸広, 米谷民雄: **HPLC による市販アントシアニン色素間の識別**

日本食品化学学会誌, **2**, 1~5 (1995)

アントシアニン色素製品の特定を行う際に、HPLC が利用できるかどうかについて検討を行った。今回検討したのは、13 品目、22 種類の色素製品であった。ブルーベリー色素を除く、12 品目のアントシアニン色素については、各着色料特有の溶出パターンが得られた。しかし、ブルーベリー色素では、2 試料間で溶出パターンが異なっていた。そこで、今回得られた各色素の HPLC クロマトグラムを、すでに報告されている同じアントシアニン色素あるいはその原料植物のものと比較したところ、品種等の違いにより、色素成分の溶出パターンが変わる可能性が高いことが判明した。また、色素製品の製造過程において、成分が変化するものもあると推定された。

**Keywords** : anthocyanin, colorant, HPLC

Kawamura, Y., Miura, A., Sugita, T., Yamada, T. and Saito, Y.: **Application of half-embryo test to irradiated apples and cherries**

*Radiat. Phys. Chem.*, **46**, 371~375 (1995)

照射柑橘類の検知法として開発した half-embryo test の照射リンゴおよびサクランボへの適用を検討した。リンゴについては、種子から調製した half-embryo の至適培養温度は 30℃であり、非照射の half-embryo は 2~3 日後に発芽したが、0.15 kGy 以上照射した half-embryo では発芽しなかった。一方、サクランボについては、至適培養温度は 25℃であったが、発芽の開始は 5 日以降と遅かった。そこで、7 種類の植物ホルモンにより発芽促進を試みた。培養液として 10 μM の benzyladenine を用いることにより、非照射 half-embryo は 2~3 日後に発芽するようになったが、一方、照射 half-embryo では発芽しなかった。以上、リンゴ half-embryo では水を用いて 30℃で培養し、サクランボ half-embryo では 10 μM benzyladenine を用いて 25℃で培養することにより、発芽率が 50% 以上になれば非照射、4 日後にまだ 50% 未満であれば照射と判定することが可能であった。また照射線量の検出限界は 0.15 kGy であった。

**Keywords** : half-embryo test, irradiated apples, irradiated cherries

河村葉子, 小西明広, 山田 隆, 齋藤行生: **玄米 DNA に及ぼすガンマ線の照射影響 (第 I 報), 玄米 DNA の収量および分子サイズについて**

食品照射, **30**, 17~22 (1995)

玄米 DNA のガンマ線照射による変化を検討した。玄米からの DNA 抽出法としては、CTAB 法の方がフェノール法より収率がよく、しかも DNA 鎖の切断も少なかった。ガンマ線照射した玄米では、ゲル電気泳動法により定量した DNA 収量に低下がみられ、5 kGy 照射で約 1/2, 30 kGy 照射では約 1/4 に減少した。一方、得られた DNA のゲル電気泳動パターンにおいて、非照射では 50~100 kb に観察される画が、5~10 kGy 照射では 20~60 kb, 30 kGy 照射では 7~10 kb となり、照射による分子サイズの低下が観察された。照射玄米 DNA の分子サイズの低下は主に DNA 鎖の切断、また収量の低下は主に DNA とタンパク質のクロスリンクによるものと推定された。

**Keywords** : gamma-irradiation, rice seed DNA, molecular size

河村葉子, 小西明広, 山田 隆, 齋藤行生: **玄米 DNA に及ぼすガンマ線の照射影響 (第 II 報), GC-MS による照射玄米 DNA の塩基変化体の測定**

食品照射, **30**, 23~27 (1995)

照射玄米 DNA の塩基変化を GC-MS を用いて検討した。玄米から抽出した DNA は、凍結乾燥後ギ酸を加えて 150℃で 30 分間加水分解し、再び凍結乾燥した。これに BSTFA とアセトニトリルの混液を加え、140℃で 30 分間反応させてトリメチルシリル化し、GC-MS で測定した。非照射玄米 DNA は、GC-MS により 4 種類の DNA 塩基のほか、5-ヒドロキシシトシン、チミングリコール、8-ヒドロキシアデニンおよび 8-ヒドロキシグアニンの 4 種類の塩基変化体が確認された。一方、照射玄米 DNA においても、非照射玄米 DNA と同様のクロマトグラムを示し、照射に特異的な変化体や有意に増加した変化体を見いだすことはできなかった。玄米中では種々の生体防御機構が作用するため、培養細胞等と比較してガンマ線照射による DNA 塩基の損傷を受けにくいことが示唆された。

**Keywords** : gamma-irradiation, rice seed DNA, DNA base products

河村葉子, 船越かやの, 杉田たき子, 山田 隆: **食品用木製器具中のホルムアルデヒドの残存**

食品衛生学雑誌, **36**, 731~737 (1995)

食品用木製器具中のホルムアルデヒドについて、試験法の検討および市販品の調査を行うとともに、その由来を明らかにした。試験溶液中の低濃度のホルムアルデヒドを直接測定する場合には、AHMT 法の方がアセチルアセトン法よりも木由来の抽出物の影響が小さく適当であった。市販木製品 28 検体について調査したところ、17 検体から 0.10~0.31 μg/ml と微量ではあるが高頻度にホルムアルデヒドの溶出が認められた。一方、人為的な処理を行っていない原木からもホルムアルデヒドが検出され、乾燥処理によりさらに増加したことから、市販木製品中のホルムアルデヒドは主に天然由来であると推定された。また、検出量も極めて微量であることから食品衛生上問題はないと結論された。

**Keywords** : formaldehyde, woodenware, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole (AHMT) method

杉田たき子, 河村葉子, 山田 隆: **NPD-GC によるポリカーボネート中のトリエチルアミンおよびトリブチルアミンの分析法**

食品衛生学雑誌, **36**, 501~505 (1995)

ポリカーボネート中に残存するトリエチルアミン (TEA) およびトリブチルアミン (TBA) の NPD-GC による分析法を検討した。試料をジクロロメタンに溶解後、アセトンを加えて高分子化合物を沈殿させ、上澄液を濃縮した。測定にはキャピラリーカラム DB-1 (膜厚 5 μm) を用いた。試料 1.0 g に TEA および TBA 各 2 μg を添加した場合の回収率はそれぞれ 78±13% および 88±6% であった。本法を食品用ポリカーボネート樹脂および製品 10 種類に適用したところ、TEA は 2 試料から 0.5 および 0.3 ppm が検出され、TBA は 1 試料のみから 0.2 ppm 検出された。

**Keywords** : polycarbonate, triethylamine, tributylamine

Mukherjee-Ray, M.\*, Kurihara, M., Penn, L. S.\*: **Multistep derivatization of the surface of Nonporous silicate glass**

*J. Adhesion Sci. and Technol.*, **9**, 953~969 (1995)

ガラス表面にエポキシサイドを有するシリル化合物を結合させ、それを用いて種々の官能基を導入した。アミノ酸エステル、ジアミン、水、チオールをそれぞれ反応させることによりアミノエステル、アミン、ジオール、スルフィドを導入することができた。ガラス表面にこれらの官能基を導入することによりガラス表面の物理的性質を変えることができることを明らかにした。

**Keywords** : silicate glass surface, chemical derivatization, surface analysis

\* Department of Chemical and Materials Engineering, University of Kentucky

Yamakoshi, Y. N., Ge, W.-Y.\*, Sugita, J.\*, Okayama, K.\*, Takahashi, T.\*, Koizumi, T.\*: **High pressure mediated asymmetric Diels-Alder reaction of chiral sulfinylacrylate derivatives with furan and 2-methoxyfuran**

*Heterocycles*, **42**, 129~133 (1996)

2-エキソ-ヒドロキシ-10-ボルニルスルフィニルアクリル酸誘導体と低反応性ジェンとの反応性を検討したところ、超高压下においてはジアステレオ選択的に環化付加体を得られた。超高压下での反応の立体過程を明らかにするために、高ジアステレオ選択的に得られた環化付加体を用いて(-)-COTCおよびGabosine Cへ導くことを検討した。すなわち、環化付加体をOsO<sub>4</sub>酸化後アセトナイドに変換し、LiAlH<sub>4</sub>還元してアルコール体を得た。これをクロトン酸エステル化し、TFAにて開環し、(-)-COTCを得た。また、アルコール体を直接開環することによりGabosine Cを得た。

**Keywords** : asymmetric Diels-Alder reaction, chiral sulfinylacrylate

\* 富山医科薬科大学

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹, 梅原 薫\*: 一酸化窒素(NO)発生剤の研究(I): 自発発生化合物の開発とNO検出法

磁気共鳴と医学, 7, 227~229 (1996)

血管拡張, 神経伝達機構等において重要な役割を果たす一酸化窒素(NO)を室温で発生する新規化合物を合成し, 化学構造とNO発生機構との関係を解析すると共に, NO発生量および殺細胞効果が相関することを明らかにした。

**Keywords** : nitric oxide, nitrosourea, cytotoxicity

\* 静岡県立大学

末吉祥子, 丹野雅幸, 平野恵子, 宮田直樹, 小野景義, 佐竹元吉: 一酸化窒素(NO)発生剤の研究(II): Bio-transformationモデル化合物の合成とNO発生および平滑筋弛緩作用

磁気共鳴と医学, 7, 230~232 (1996)

生体内で酵素により活性化されてNOを発生する化合物を合成し, 考案した簡易型装置でNOの酸化的生成量を定量した。また, ラットの動脈リング標本を用いて平滑筋弛緩作用を測定し, NO発生機構も併せて考察した。

**Keywords** : nitric oxide, amidoxime, smooth muscular relaxation

Sera, N.\*<sup>1</sup>, Fukuhara, K., Miyata, N. and Tokiwa, H.\*<sup>2</sup>: Mutagenicity of nitrophenanthrene derivatives for *Salmonella typhimurium*: effects of nitroreductase and acetyltransferase

Mutation Research, 349, 137~144 (1996)

3種のモノニトロフェナンスレン, 11種のジニトロフェナンスレン, 8種のトリニトロフェナンスレンを新規に合成し, それらの変異原性をAmes法により調べた。ニトロ基の置換位置と変異原性との相関を解析した結果, 3位あるいは6位にニトロ基を有するニトロフェナンスレン類は強い変異原性を有するのに対し, 9位あるいは10位にニトロ基を有するニトロフェナンスレン類の変異原性は弱いことが明らかになった。変異原性の強さは, ニトロ基の還元され易さ, および, ニトロ基とフェナンスレン環との二面角とよく相関することを明らかにした。

**Keywords** : mutagenicity, nitrophenanthrene, LUMO

\*<sup>1</sup> 福岡保健環境研究所

\*<sup>2</sup> 九州女子大

Saito, Y., Ikebuchi, H., Yamazaki, T., and Sawada, J.: Release of a soluble form of growth hormone receptors (growth hormone-binding proteins) from human IM-9 cells by proteolytic cleavage

J. Biochem., 118, 521~525 (1995)

ヒトIM-9細胞より60および55kDaのヒト成長ホルモン結合蛋白(GH-BP)が放出されることを明らかにした。GH-BPの成長ホルモンに対する親和定数は,  $4.6 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ であった。本GH-BPの放出には新たな蛋白合成は必要なく, 細胞膜上の成長ホルモン受容体が, 金属プロテアーゼにより切断されて生成することが示唆された。

**Keywords** : growth hormone-binding protein, growth hormone receptor, protease

Tanaka, T., Ikebuchi, H., Sawada, J., Okada, M.\* and Kido, Y.\*: Easy enzyme-linked immunosorbent assay for spectinomycin in chicken plasma

J. AOAC, 79, 426~430 (1996)

ブロイラー血漿中における抗生剤スペクチノマイシンの簡便な酵素免疫測定法を開発した。まず新規ハプテン抗原を調製し, これを家兎に免疫したのち得られた抗体は近縁スペクチノマイシンとの交差反応性は低くまた, 他の抗生剤とは交差反応性を殆ど示さないことより, 高い特異性を有することが判明した。この抗体を用いたアッセイの検出限界は2ng/mlであり, また血漿試料からの回収率および再現性は良好であった。本法により前処理を施さなく血漿中スペクチノマイシンの簡便な測定が可能となった。

**Keywords** : ELISA, spectinomycin, chicken plasma

\* 畜産生物科学安全研究所

Akasaka, R., Mashino, T.\* and Hirobe, M.\*: Hydroxylation of benzene by horseradish peroxidase and immobilized horseradish peroxidase in an organic solvent

Bioorg. Med. Chem. Lett., 5, 1861~1864 (1995)

ベンゼンを基質かつ溶媒とした反応系において, 西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)を用いて, 酸化剤存在下ベンゼンの水酸化反応を行ったところ, HRPが, シトクロムP450以外のヘム酵素ではほとんど進行しないこの水酸化反応を触媒することが明らかとなった。また, ポリ(g-メチル-L-グルタミン酸)に固定化したHRPも, 同様にこの水酸化反応を触媒し, その活性は未固定のHRPよりも高かった。<sup>18</sup>Oでラベルした過酸化水素を用いた実験より, 未固定HRP, 固定化HRP共に, ヘム鉄と過酸化水素から生成する酸化活性種の酸素原子を, 基質に導入することが示された。これは, 未固定HRP, 固定化HRPとも, この反応系におけるベンゼンの水酸化反応において, 一原子酸素添加酵素であるシトクロムP450と同様の機構で反応を触媒することを示唆している。

**Keywords** : cytochrome P450, horseradish peroxidase, benzene hydroxylation

\* 東京大学薬学部

Furuno, T.\*<sup>1</sup>, Teshima, R., Kitani, S.\*<sup>2</sup>, Sawada, J. and Nakanishi, M.\*<sup>1</sup>: Surface expression of CD63 antigen (AD1 antigen) in P815 mastocytoma cells by transfected IgE receptors

Biochem. Biophys. Res. Commun., 219, 740~744 (1996)

ラット高親和性IgE受容体を遺伝子導入したマウスマスト(P815)細胞ならびにラットがん化好塩基球(RBL-2H3)細胞における抗原刺激に伴うCD63(顆粒膜)抗原の細胞膜上への発現を, 抗CD63(AD1)抗体を用いる共焦点レーザー走査顕微鏡にて解析した。その結果, IgE受容体を導入したP815細胞において, 刺激に伴ってRBL-2H3細胞とはほぼ同様なCD63抗原の細胞膜上への発現が

観察され、ヒスタミン含量が少ないため、その遊離では検出することのできなかつた脱顆粒現象をモニターできることが判明した。また、CD63 抗原の細胞膜上への発現は、IgE 受容体の  $\beta$ ,  $\gamma$  鎖の細胞内領域を欠失した遺伝子を導入した P815 細胞ではみられず、IgE 受容体の  $\beta$ ,  $\gamma$  鎖の細胞内領域が脱顆粒反応に必須であることも判明した。

**Keywords**: CD63 antigen, P815 mastocytoma, IgE receptors

\*1 名古屋市立大学薬学部

\*2 東京大学医学部

Akasaka, R., Teshima, R., Kitajima, S., Momma, J., Inoue, T., Kurokawa, Y., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: **Effects of hydroquinone-type and phenolic antioxidants on calcium signals and degranulation of RBL-2H3 cells**

*Biochem. Pharmacol.*, **51**, 1513~1519 (1996)

数種のヒドロキノンおよびフェノール系抗酸化剤について、好塩基球細胞からの脱顆粒反応ならびに  $Ca^{2+}$  応答への影響に関して検討を行ったところ、ヒドロキノン系抗酸化剤 DTAHQ は、DTBHQ と同様の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇を示し、抗原、TPA 共存下での脱顆粒促進能を有していた。一方、MTBHQ の場合、 $Ca^{2+}$  濃度上昇、脱顆粒促進作用を示さなかつた。フェノール系抗酸化剤 BHT, DTBHA は、弱いながら、 $Ca^{2+}$  濃度上昇、脱顆粒促進作用を示した。また、MTBHA は作用を示さなかつた。以上より、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇能は、小胞体  $Ca^{2+}$ -ATPase の阻害作用の強さと相関するものと推定され、化合物の抗酸化作用ではなく、立体構造が重要と思われた。

**Keywords**: antioxidants, calcium signal, degranulation

Hachisuka, A., Yamazaki, T., Sawada, J. and Terao, T.: **Characterization and tissue distribution of opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM) using monoclonal antibodies**

*Neurochem. Int.*, **28**(4), 373~379 (1996)

OBCAM 合成ペプチドに対するモノクローナル抗体を精製し、その抗体を用いて免疫ブロッティングを行った。その結果、OBCAM が、ウシ、ラット、マウス、モルモット、ウサギの中樞神経系に局在すること、N 型糖鎖の違いと考えられる 58 および 51 kDa の 2 種類があること、いずれも GPI アンカータンパクであることを明らかにした。

**Keywords**: OBCAM, nervous system, GPI-anchored protein

Suzuki, K., Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Yamamoto, Y., Nishimaki-Mogami, T., Hayakawa, T. and Takahashi, A.: **Okadaic acid induces both augmentation and inhibition of opsonized zymosan-stimulated superoxide production by differentiated HL-60 cells. Possible involvement of dephosphorylation of a cytosolic 21K protein in respiratory burst**

*Biochim. Biophys. Acta*, **1266**, 261~267 (1995)

オプソニン化ザイモザン刺激による分化型 HL-60 細胞のスーパーオキシド産生に対して、フォスファターゼ阻害剤のオカダ酸は  $1 \mu M$  では約 2.5 倍促進する一方、 $2 \mu M$  以上では阻害するという、狭い濃度範囲で逆二相性の作用をもつことを見いだした。フローサイトメトリーで検討したところ、インテグリン受容体 (CR3) には大きな変動は認められなかつたが、二次元電気泳動でリン酸化蛋白を解

析した結果、NADPH-オキシダーゼの細胞質コンポーネント p47phox のリン酸化だけでなく、細胞質の 21K 蛋白の脱リン酸化が関与することが示唆された。さらに、21K 蛋白の性質として、少なくとも一部は p67phox および p47phox と会合していること、リン酸化されるアミノ酸残基はセリンであることが明らかになった。

**Keywords**: okadaic acid, superoxide, dephosphorylation

Suzuki, K., Yamaguchi, T., Tanaka, T., Kawanishi, T., Nishimaki-Mogami, T., Yamamoto, K.\*, Tsuji, T.\*, Irimura, T.\*, Hayakawa, T. and Takahashi, A.: **Activation induces dephosphorylation of cofilin and its translocation to plasma membranes in neutrophil-like differentiated HL-60 cells**

*J. Biol. Chem.*, **270**, 19551~19556 (1995)

オカダ酸を用いた実験から白血球の活性酸素産生に関与することが示唆された 21K 蛋白は、オプソニン化ザイモザン (OZ) だけでなく、走化性因子のホルミルペプチド (FMLP) やアラキドン酸 (AA) など他の活性化因子でも共通に、かつ速やかに脱リン酸化されることが、二次元電気泳動の結果から示された。二次元電気泳動を繰り返してゲルから 21K 蛋白を切り出して集め、エンドペプチダーゼ処理してペプチドを精製し、ペプチドシークエンサーでアミノ酸配列を分析したところ、コフィリン (アクチン・PIP2 結合蛋白の一種) のそれと一致した。精製抗コフィリン抗体を用いたイムノブロッティングの結果からも、21K 蛋白がコフィリンであることが確かめられた。さらに、白血球を OZ や FMLP, AA などでも活性化すると、コフィリンは活性酸素産生、ファゴサイトーシス、ラフリングを起こしている細胞膜領域に移行することが、(1)細胞分画、電気泳動、イムノブロッティングの結果、および(2)蛍光免疫染色、共焦点レーザー顕微鏡による観察、から明らかになった。以上の結果より、白血球において、コフィリンは種々の活性化刺激により脱リン酸化され、細胞膜へ移行して重要な役割を果たすことが示唆された。

**Keywords**: cofilin, dephosphorylation, translocation

\* 東京大学薬学部

Minegishi, K. and Takahashi, A.: **Metabolism, distribution and excretion of 2,2,3,3-pentafluoropropanol in rats**

*Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, **42**, 17~27 (1996)

5-フッ化プロパノール (5-FP) の代謝、分布および排泄について雌雄ラットを用いて、3 用量 (4, 40 および 400 mg/kg) の単回経口投与によって 7 日間調べた。GC-MS の SIM 法によるヘッドスペース分析で、主代謝物として 5-FP グルクロナイドおよび 5-フッ化プロピオン酸 (5-FPA) が検出された。5-FP 投与による 5-FPA の排泄は雄ラットにおいて 10.7~11.9%、雌ラットにおいて 33.0~38.2% で、その排泄に性差が認められた。同様に、肝臓、腎臓、血液中の半減期にも性差が認められた。5-FPA の雌雄ラットの排泄速度の違いおよび 5-FP のペルオキシゾームの増殖誘導作用について考察した。

**Keywords**: 2,2,3,3-pentafluoropropanol, metabolism (rat), tissue distribution

Tanamoto, K.: **Chemically detoxified lipid A precursor derivatives antagonize the TNF- $\alpha$ -inducing action of LPS in both murine macrophages and a human macrophage cell line**

*J. Immunol.*, **155**, 5391~5396 (1995)

リピド A の前駆体はサクシニル化、もしくはアセチル化によってすべてのエンドトキシン活性が十万分の一以下に激減し、かつこれらの不活化前駆体は活性型エンドトキシンによる B 細胞マイトジェン活性、およびマウスマクロファージからの TNF 産生活性に対してアタゴニスト活性を示した。また前駆体自身は人細胞に対してはアタゴニストであるが、化学修飾前駆体は人由来 THP-1 細胞からの LPS による TNF 産生に対し、もとの前駆体よりもはるかに強力なアタゴニスト活性を示した。これらの化合物は LPS によるリムルス活性化や Zymosan によるマクロファージからの TNF 産生にはまったく影響を与えない。マウス B 細胞、マクロファージさらには人由来いづれの細胞に対してもアタゴニスト活性を示したことはこれらの細胞の LPS レセプターに共通性があることを示している。また、リピド A 構造上、非還元末端グルコサミンの 3-ヒドロキシ脂肪酸の水酸基の置換基が内毒素活性/アタゴニスト活性変換を支配していることが示唆された。

**Keywords** : endotoxin, non-toxic lipid A, endotoxin antagonist

Iida, T., Haishima, Y., Tanaka, A.\*<sup>1</sup>, Nishiyama, K.\*<sup>2</sup>, Saito, S.\*<sup>2</sup>, and Tanamoto, K.: **Chemical structure of lipid A isolated from lipopolysaccharide of *Comamonas testosteroni***

*Eur. J. Biochem.*, **177**, 2098~2106 (1996)

エンドトキシンの生物活性本体であるリピド A の構造・活性相関に新たな情報を得るため、予備試験において大腸菌など腸内細菌科由来のリピド A とは明らかに異なる特徴的な構造を持つことが予想された *Comamonas testosteroni* から分離・精製したリピド A の構造を組成分析、各種質量分析および NMR により解析した。その結果、同リピド A は、1 位および 4' 位にリン酸基の結合した  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 6) 結合のグルコサミン二量体をバックボーンとし、その 2,3,2' および 3' 位に (R)-3-tetradecanoyloxydecanoic acid, (R)-3-hydroxydecanoic acid, (R)-3-dodecanoyloxydecanoic acid および (R)-3-hydroxydecanoic acid が結合した構造を持つことが明らかになった。また、4 位の水酸基は遊離であり、LPS 多糖部は 6' 位に結合していることが判明した。

**Keywords** : C.testosteroni, LPS, chemical structure

\*<sup>1</sup> 昭和薬科大学

\*<sup>2</sup> 神奈川歯科大学

石渡尚子\*, 谷村顕雄\*, 宮原美知子, 三瀬勝利: ***Salmonella Typhi* における制限酵素産生プラスミドの性状**

食衛誌, **36**(3), 404~408 (1995)

チフス菌 D4 株は制限酵素を産生し、その産生遺伝子はプラスミド上にのっていることが判り、そのプラスミドの性状について解析を行った。プラスミドは 5400 bp の長さの環状プラスミドである。このプラスミドの制限酵素地図を作成した。また、この制限酵素産生遺伝子がのったプラスミドによって起こるとされる宿主依存性変異現象を実験により証明した。チフス菌のフェージ型別という検査法があるが、フェージに溶原化したこの制限酵素関連産生遺伝子が、型別の結果に影響を与えることなどを論議した。

**Keywords** : restriction endonuclease, restriction map of pSTd4, phage typing

\* 昭和女子大学

Shinagawa, K.\*<sup>1</sup>, Konuma, H., Sekita, S. and Sugii, S.\*<sup>2</sup>: **Emesis of rhesus monkeys induced by intragastric administration with the HEp-2 vacuolation factor (cerreulide) produced by *Bacillus cereus***

*FEMS Microbiol. Lett.*, **130**, 87~90 (1995)

嘔吐型食中毒事例から分離した *Bacillus cereus* によって産生された嘔吐毒と HEp-2 空胞化活性との間の相関性を調べるために、精製した HEp-2 空胞化活性物質 (セレウリド) と部分精製した嘔吐毒の性状調べると共にアカゲザルに経口投与し、以下の結果を得た。

1. セレウリドおよび部分精製した嘔吐毒の両物質はプロテアーゼによる消化、pH および熱に対し強い抵抗性を示した。2. 両物質をアカゲザルに経口投与したところ、両物質とも嘔吐を引き起こした。

以上のことから、セレウリドは嘔吐毒の本体であることが示唆された。

**Keywords** : *Bacillus cereus*, emesis, rhesus monkey

\*<sup>1</sup> 岩手大学

\*<sup>2</sup> 大阪府立大学

上田成子\*<sup>1</sup>, 小沼博隆, 品川邦汎\*<sup>2</sup>, 桑原祥浩\*<sup>1</sup>: **大豆および豆腐における *Bacillus thuringiensis* について**

日食微誌, **12**, 249~255 (1996)

外国, 国内産大豆と市販豆腐における *Bacillus thuringiensis* (BT 菌) の汚染状況を調査するとともに、原料大豆から豆腐を試作し、その製造過程での BT 菌の消長を検討し、以下の結果を得た。

1. 原料大豆 (180 検体) の *Bacillus cereus* (BC 菌) および BT 菌数は、外国, 国内産大豆とも、その大部分が  $10^2$  cfu/g 前後であった。

2. BT 菌は原料大豆 180 検体中 39 検体 (21.7%) に検出され、それらの血清型は 7, 5a5b3c, 11a11c, 3a3b3c, 5a5c をはじめとする 14 種に型別された。また、豆腐では 3 検体から、血清型 3a3b3c のみが検出された。

3. 各検体から分離された BT 菌の下痢毒および推定嘔吐毒産生能はいずれも弱かった。

4. 原料大豆に下痢毒産生性の *Bacillus thuringiensis*, Kurstaki (3a3b3c) の芽胞を接種して作製した豆腐には本菌が持ち込まれることが分かった。本豆腐を 4℃ 保存した場合は 48 時間まで BT 菌の増殖は認められなかったが、20℃ 保存した場合は、24 時間後に急激に増殖を示し、また、30℃ 保存した場合は 48 時間後には  $10^8$  cfu/g を超え、豆腐中に下痢毒が確認された。

**Keywords** : *Bacillus thuringiensis*, Soybean, Beancurd

\*<sup>1</sup> 女子栄養大学

\*<sup>2</sup> 岩手大学

Sakai, A., Nakajima (Yamakoshi), Y. and Miyata, N.: **The effects of fullerenes on the initiation and promotion stages of BALB/3T3 cell transformation**

*Fullerene Science & Technology*, **3**, 377~388 (1995)

フラーレンの安全性研究の一環として、フラーレン C<sub>60</sub> ならびにフラーレン C<sub>60</sub> と C<sub>70</sub> の混合物をポリビニルピロリドンをを用いて水溶化し、BALB/3T3 細胞を用いる 2 段階形質転換試験を行った。フラーレン C<sub>60</sub> ならびに C<sub>60</sub> と C<sub>70</sub> の混合物は、イニシエーション作用、プロモーション作用ともに陰性であった。

**Keywords** : cell transformation, fullerene, BALB/3T3 cells

伊藤幸次\*<sup>1</sup>, 前田さつき\*<sup>1</sup>, 高鳥浩介, 竹内久米司\*<sup>1</sup>:

### 大豆粕乾留タール (Glyteer) の薬理学的研究 (第 5 報) 抗菌作用

日薬理誌, 105, 469~478 (1995)

大豆粕乾留タール (Glyteer; GL) の臨床効果を細菌学的に裏付けるため, *in vitro* における抗菌試験および耐性獲得試験を行った。GL は主要な皮膚感染菌である細菌に対して 156.3~2500  $\mu\text{g/ml}$ , 白癬菌に対しては 156.3  $\mu\text{g/ml}$  の最小発育阻止濃度 (MIC: minimum inhibitory concentration) を示した。また, これら菌に対する最小殺菌濃度 (MCC: minimum cidal concentration) は MIC と同程度の数値を示し, GL の抗菌作用は殺菌的であることが推察された。GL は, MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) に対しても有効であった。さらに, 耐性獲得試験においては代表的な細菌および病原性真菌のいずれに対しても GL 耐性の獲得傾向がなく, GL 耐性菌出現の可能性は少ないものと思われた。以上, GL は皮膚科領域でしばしば問題となる皮膚感染菌に対して明らかな抗菌作用を示し, 皮膚疾患に対する GL の臨床効果を裏付けるものとなった。

**Keywords** : Glyteer, MIC, antimicrobial test

\*1 藤永製薬(株)

### 高鳥浩介, 李 憲俊\*1 : 食品製造施設とカビ防止対策 空気調和・衛生工学, 69(7), 543~547 (1995)

食品製造施設は, 一般にカビ被害を受けやすい環境にある。そのため, 厚生省では, 昭和 54 年から衛生規範を作成し, 各現場での衛生指針を具体的に示してきた。特に, ここでテーマとするカビは, 食品およびその製造環境で被害を起こすことが多く, そのカビに関する話題をまとめることにした。カビの発生には, 適度な湿度と温度が最も重要な因子であり, 食品製造施設は高温・高湿であることが多くカビによる被害を受けやすい。その被害は, 環境に限らず, 食品そのものに及ぶことから, 同施設に分布する有害カビについて解説した。また, カビの発生による具体的事例を挙げ, 食品事故による腐敗・変敗・機器などの劣化, さらに人体への害をまとめた。そして, このような食品製造施設でのカビ被害を防ぐための物理的・化学的対策をまとめた。

**Keywords** : mold contamination, food manufacturing facilities, anti-mold counterplan

\*1 (財)食品薬品安全センター

### 松田 洋\*1, 常磐俊之\*1, 李 憲俊\*1, 高鳥浩介 : 真菌 の定量試験法における塗抹平板法と混積平板法の比較 防菌防霉, 23(10), 613~618 (1995)

塗抹平板法と混積平板法における培地温度および培地量を変化させたときの真菌培養法としての妥当性を酵母 5 種 5 株, 好稠性真菌 3 種 3 株, 耐熱性真菌 10 種 10 株高湿性真菌 14 種 14 株を用いて比較検討した。生真菌数において, 塗抹平板法の方が混積平板法より正確で均一生真菌数が得られた。混積平板法で生真菌数が減少したのは, 培地温度の影響および菌要素が培地中に存在したことによると考えられた。混積平板法の長所は, 塗抹平板法よりも多くの検体を接種できることである。混積平板法の短所は, 生真菌数が少なくカウントされ, 試験条件が異なると生真菌数が変化し, かつ培養期間が若干長期になることである。さらに, 混積平板法では, 菌要素の発育, 色調, 胞子生産性が劣り, 菌の同定などの詳細な検討を行うのには不向きである。以上のことから, 真菌の培養に関しては, 塗抹平板法の方が混積平板法よりも優れた培養法であると結論された。

**Keywords** : spread plate technique, pour plate technique, colony forming units

\*1 (財)食品薬品安全センター

### 李 憲俊\*1, 高鳥浩介, 松岡英明\*2, 倉田 浩\*3 : 真菌 の MIC 測定のための発芽および形態観察 防菌防霉, 23(8), 473~477 (1995)

発芽の速やかな真菌を用い, 発芽および発育度を指標として短時間抗真菌活性評価が可能であるかを検討したところ以下のような結論を得た。*Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *Drechslera* sp. および *Ulocladium* sp. の塩化ベンザルコニウム (BKC) に対する MIC 値は, 液体培地を用いる従来法のいずれも 12.5  $\mu\text{g/ml}$  であった。*Alternaria* およびその近縁真菌である供試真菌の BKC 中での発芽率および発育度を指標とすることによって, 培養 6 時間または 8 時間の短時間での抗真菌活性評価が可能であった。6~8 時間の短時間培養の発芽率測定から得られた MIC 値と従来の方法による MIC 値が一致した。*Alternaria* およびその近縁真菌の BKC に対する MIC 値は同じであったが, その薬剤中での発育形態には差が認められた。

**Keywords** : antifungal susceptibility test, benzalkonium chloride, rapid determination of MIC

\*1 (財)食品薬品安全センター

\*2 東京農工大学

\*3 (財)東京顕微鏡院

### Yang, H-C.\*1, Nemoto, Y.\*1, Homma, T.\*1, Matsuoka, H.\*1, Yamada, S.\*2, Sumita, O.\*2, Takatori, K. and Kurata, H.\*3 : Rapid viability assessment of spores of several fungi by an ionic intensified fluorescein diacetate method

*Current Microbiol.*, 30, 173~176 (1995)

蛍光色素 fluorescein diacetate (FDA) を用い真菌 *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium citrinum* の胞子に対する蛍光活性を測定した。蛍光定量を, CCD 測定器で求めた。10 mM pH 7.0 の緩衝液で蛍光染色した場合生菌と死菌での *A. niger*, *R. stolonifer* の胞子発光量は減弱かほとんど認めなかったため, 生死判別が困難であった。NaCl, KCl MgCl<sub>2</sub> を FDA に添加して蛍光測定した時に, *A. niger* 生菌胞子で著効を呈した。また NaCl の添加した FDA は, 他の真菌でも蛍光活性を認めた。

**Keywords** : fungi, fluorescein diacetate, spores

\*1 東京農工大学

\*2 バイオ技研

\*3 (財)東京顕微鏡院

### 関沢 純, 大島輝夫\*1, 武井玲子\*2, 河岸園子\*3 : 化学 品のリスクコミュニケーション改善に向けた「表示」の 検討

日本リスク研究学会誌, 7(1), 81~88 (1995)

製造物責任法施行を機に製品の表示を含む危険性情報のあり方が問題となっていることから, 国内外の化学品の危険性表示制度とその具体例について検討した。その結果従来のわが国の表示の多くが法定や行政指導によるものが主で, 必ずしも情報の受け手の理解や安全行動を十分検討していると思われず, 次の改善が必要と認められた。(1)危険性の具体的内容と程度, 危険予防と応急処置の簡潔, 明瞭な表示, (2)表示内容, 方法の標準化, (3)教育, キャンペーンによる表示内容の理解と活用の促進。

**Keywords** : labelling, product safety, risk communication

- \*<sup>1</sup> 化学品安全管理研究所  
 \*<sup>2</sup> ライオン(株)研究開発本部  
 \*<sup>3</sup> 昭和女子大学

Umemura, T., Saito, M., Takagi, A. and Kurokawa, Y.: **Isomer-specific acute toxicity and cell proliferation in livers of B6C3F1 mice exposed to dichlorobenzene**

*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **137**, 268~274 (1996)

ジクロロベンゼン3種異性体 (*o*-, *m*-および *p*-DCB) を B6C3F1 マウスに強制経口投与して、自動分析装置による血清アラニンアミノトランスフェラーゼ活性 (ALT)、イメージプロセッサを用いた壊死組織領域 (necrotic area: NA) および BrdU 免疫染色による細胞増殖活性を測定し、それぞれ用量相関性、時間的変化について検討した。その結果、肝毒性の強さの順は *m*-DCB > *o*-DCB >> *p*-DCB であり、*o*-DCB が最も強いラットの結果と異なった。また、何れの化合物も投与後肝細胞増殖誘導が認められたが、*o*-および *m*-DCB では ALT および NA の上昇する用量においてのみ認められ、また時間的にはこれら肝毒性を示すパラメーターの上昇後に認められた。一方、*p*-DCB では肝毒性を示さない用量においても肝細胞増殖活性の上昇が観察され、時間的にも軽度な肝毒性発現と同時に認められた。この事から、*o*-および *m*-DCB で認められた細胞増殖活性の上昇は代償性の変化であり、*p*-DCB のそれとは質的に異なるものである事が明かとなった。

**Keywords** : dichlorobenzene, cell proliferation, B6C3F1 mouse

Umemura, T., Sai, K., Takagi, A., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Oxidative DNA damage and cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice exposed to pentachlorophenol in their diet**

*Fundam. Appl. Toxicol.*, **30**, 285~289 (1996)

防腐剤として使用されている pentachlorophenol (PCP) はマウス肝に催腫瘍性を有している。そこでこの PCP を 0.03, 0.06 および 0.12% の濃度に混じた飼料をマウスに4週間自由に摂取させ、投与開始後の2および4週目に動物を解剖し、肝 DNA 中の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルおよび肝細胞増殖活性を肝毒性パラメーターと共に検索した。その結果、8-OHdG レベルは実験期間を通じて投与群において有意に上昇した。また、細胞増殖誘導も同様に観察された。また、DNA 量の増加を伴う肝重量の増加も認められた。組織学的には肝細胞の強い腫脹が観察され、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ活性が軽度上昇した。これらの結果より、PCP はマウスの肝に酸化 DNA 損傷を引き起こし、同時に肝細胞の増殖誘導を引き起こす事が明かとなり、これらの変化が PCP の肝発癌機構に深く関与している事が示唆された。

**Keywords** : pentachlorophenol, oxidative stress, cell proliferation

Ono, A., Sekita, K., Ohno, K., Hirose, A., Ogawa, Y., Saito, M., Naito, K., Kaneko, T., Furuya, T., Matsumoto, K.\*, Tanaka, S. and Kurokawa, Y.: **Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. I Teratogenicity study of inhalation exposure in pregnant rats**

*J. Toxicol. Sci.*, **20**, 109~134 (1995)

我が国では、青少年を中心とした有機溶剤乱用者が後を断たず、その次世代に及ぼす影響が危惧されている。今回、我々はシンナーの主成分であり、乱用者の特に多いトルエンの生殖発生への影響について検討するため、妊娠ラット (10週齢, Slc:SD) にトルエン (0, 600 および 2000 ppm) を胎児の器官形成期反復吸入暴露 (妊娠7~17日, 6時間/日) して母体、胎児および新生児への影響を検討した。母動物の体重および摂餌量は 2000 ppm トルエン暴露により暴露期間中有意に抑制および減少した。しかし、暴露期間終了後は有意差は認められなかった。トルエン暴露群では死胚率の増加および高い死胚率を有する母動物数の増加傾向が軽度認められ、胎児体重も低い傾向を示した。しかし、胎児に外形異常および骨格異常は認められず、また出生児にトルエンの影響は認められなかった。以上により、高濃度トルエン吸入による親動物への影響と胎児毒性が示唆された。

**Keywords** : toluene, teratogenicity, inhalation

\* 信州大学医学部

Ogawa, Y., Suzuki, S., Naito, K., Saito, M., Kamata, E., Hirose, A., Ono, A., Kaneko, T., Chiba, M.\*, Inaba, Y.\* and Kurokawa, Y.: **Toxicity study of europium chloride in rats**

*J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, **14**, 1~9 (1995)

塩化ユーロピウムを28日間連続的に雌雄各10匹のラットに0, 40, 200 および 1000 mg/kg/day の用量で強制経口投与した。ラットの体重、摂餌量を測定し、血液学、血清生化学、病理組織学の各検査を行い、臓器中のユーロピウムおよび必須元素濃度を測定した。前胃の過角化症および胃の粘膜下織に好酸球の浸潤が雌雄の1000 mg/kg 投与群に観察された。ユーロピウム濃度は腎臓、肝臓、大腿骨および脾臓中に、投与量に依存し増加していた。1000 mg/kg 群の雌雄に血清総鉄結合能の増加が認められた。1000 mg/kg 群の雌雄に脾臓中の鉄濃度と大腿骨中のストロンチウム濃度の低下が観察された。NOEL は、200 mg/kg/day と推定された。

**Keywords** : rare earth element, europium chloride, toxicity test

\* 順天堂大学医学部

Kitajima, S., Tsuda, M., Eshita, N., Matsushima Y., Saitoh M., Momma J. and Kurokawa Y.: **Lipopolysaccharide-associated elevation of serum and urinary nitrite/nitrate levels and hematological changes in rats**

*Toxicol. Lett.*, **78**, 135~140 (1995)

リポポリサッカロイド (LPS) による一酸化窒素濃度の上昇と血液学的変化との相関を検討した。LPS (1 mg/kg b.w.) の腹腔内投与により、24時間後の血清中および尿中の亜硝酸イオン・硝酸イオン濃度の総量 ( $[\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-]$ ) は、生理食塩水を投与した対照群と比較して、それぞれ11倍および50倍に増加した。またこの時、LPS 投与群での白血球数、リンパ球数、血小板数は、対照群に比べてそれぞれ、80%、40%、35%まで減少したが、好中球数、単球数はそれぞれ、330%および650%まで増加した。以上のことから、LPSによる $[\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-]$ 上昇と血液学的変化は、免疫反応として相関していることが示唆された。

**Keywords** : lipopolysaccharide, NO production, hematological changes

Kitajima, S., Momma, J., Tsuda, M., Kurokawa, Y., Teshima, R. and Sawada, J.: **Effects of 2,5-di(*tert*-butyl)-1,4-hydroquinone on intracellular free  $Ca^{2+}$  levels and histamine secretion in RBL-2H3 cells**

*Inflamm. Res.*, **44**, 335~339 (1995)

ラット株化好塩基球性白血病細胞 (RBL-2H3 cell) を用いて, 2,5-di(*tert*-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ) の細胞内  $Ca^{2+}$  量 ( $[Ca^{2+}]_i$ ), および細胞からのヒスタミン遊離量への影響を検討した. DTBHQ (0.1~10  $\mu$ mol/l) は, 濃度依存性に急速で持続的な  $[Ca^{2+}]_i$  上昇を引き起こした. ジニトロフェノールに対する IgE 抗体で感作した細胞に, DTBHQ (10  $\mu$ mol/l) を投与すると, ジニトロフェニル化した BSA 抗原で刺激した場合よりも, 大きな  $[Ca^{2+}]_i$  上昇が認められた. 感作した細胞を, DTBHQ (10  $\mu$ mol/l) および抗原 (10  $\mu$ g/ml) で刺激すると, 細胞からのヒスタミンの遊離が認められたが, その遊離量は抗原刺激時の方が多かった. DTBHQ によるヒスタミン遊離量は, C キナーゼ活性化剤である TPA (10 ng/ml) により増加したが, TPA 単独ではヒスタミン遊離は引き起こされなかった. さらに DTBHQ は, 抗原によるヒスタミン遊離を促進した. 以上のことから, RBL-2H3 cells において, DTBHQ は, 単独では抗原刺激ほどヒスタミン遊離を引き起こさないが,  $[Ca^{2+}]_i$  上昇および抗原刺激によるヒスタミン遊離を促進することが示唆された. また,  $[Ca^{2+}]_i$  上昇はヒスタミン遊離に必要ではあるが, 単独では不十分であることが示唆された.

**Keywords**: histamine secretion, basophilic leukemia cell,  $Ca^{2+}$  ATPase inhibitor

Takagi, A., Takada, K., Sai, K., Momma, J., Aida, Y., Suzuki, S., Naitoh, K., Tobe, M., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Chronic oral toxicity of a synthetic antioxidant, 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol) in rats**

*J. Appl. Toxicol.*, **16**, 15-23 (1996)

一群 30 匹の雌雄ウイスターラットに 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol) (MBEBP) を飼料中に 0, 0.03, 0.1 あるいは 0.3% の濃度で添加し, 18 カ月間投与した. 両性で, 投与群の生存率は対照群と同様であった. 体重は雄の 0.3% 群で, 雌の 0.1 および 0.3% 群で増加抑制が認められた. 軽度の貧血と血清中の BUN の増加がそれぞれ雌雄 0.3% 群で認められた. 病理組織学的検査では副甲状腺細胞の空胞化が雄の 0.3% 群と雌の検体投与群全てで認められ, 腎の退行性変化が雄の 0.1 と 0.3% 群で認められた. MBEBP 投与によると思われる主要性の変化は認められなかった. これらの結果, 雄では NOAEL は 12 mg/kg/day と算出された. 一方, 雌では LOAEL が 15 mg/kg/day と算出された.

**Keywords**: 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol), chronic toxicity, kidney, parathyroid gland, rat

Hasegawa, R., Chujo, T.\*, Sai-Kato, K., Umemura, T., Tanimura, A.\* and Kurokawa, Y.: **Preventive effects of green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-nitropropane**

*Fd. Chem. Toxicol.*, **33**, 961~970 (1995)

2% 緑茶浸出液あるいはそのカテキン抽出液を F344 雄ラットに 2 週間飲用させた後, 肝毒性物質で肝発がん性を示す 2-ニトロプロパン (2NP) を単回腹腔内投与し, 肝毒性ならびに肝核の酸化的 DNA 損傷の指標として 8-hy-

droxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルの変化を解析した. 緑茶の前投与により肝毒性は有意に抑制され, また 8-OHdG レベルの増加も有意に抑制された. (一) Epigallocatechin gallate を主要成分とするカテキン抽出液の前投与ではこうした効果は緑茶の約半分であった. この結果は日本人が一般に飲用している緑茶の量でヒトが環境中の 2 NP に曝露された時起こる肝毒性あるいは肝発がんを防御できる可能性を示唆している.

**Keywords**: 2-nitropropane, 8-hydroxydeoxyguanosine, green tea

\* 昭和女子大生活科学科

Sai-Kato, K., Takagi, A., Umemura, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Role of oxidative stress in non-genotoxic carcinogenesis with special reference to liver tumors induced by peroxisome proliferators**

*Biomed. Environ. Sci.*, **8**, 269~279 (1995)

げっし類の肝発がんを誘発する peroxisome proliferators (POP) の発がんメカニズムの 1 つとして, 従来より“酸化的ストレス”説が提唱されてきた. このレビューでは, POP 投与による酸化的 DNA 損傷について, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) を指標として検討した *in vivo* 実験結果についてまとめ, POP の投与により肝 8-OHdG の生成が認められた事実から, POP による発がん機序に酸化的 DNA 損傷の寄与する可能性を述べた. さらに POP の発がん機序に関連すると推測されてきた多彩な生物学的現象と酸化的ストレスとの関わりに関して考察を加え, 多様な経路が推定される POP の発がん機序における酸化的ストレスの役割について推測した.

**Keywords**: peroxisome proliferator, 8-hydroxydeoxyguanosine, oxidative stress

Sai-Kato, K., Umemura, T., Takagi, A., Hasegawa, R., Tanimura, A.\* and Kurokawa, Y.: **Pentachlorophenol-induced oxidative DNA damage in mouse liver and protective effect of antioxidants**

*Fd. Chem. Toxicol.*, **33**, 877~882 (1995)

マウス肝発がん性の pentachlorophenol (PCP) の発がん機序における酸化的 DNA 損傷の関与について, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) を指標として検討した. マウスに PCP (0~80 mg/kg) を単回強制経口投与した結果, 投与量依存的な肝 8-OHdG レベルの有意な増加が認められた. この 8-OHdG レベル上昇の程度は PCP の 5 日間連続投与により増大した. PCP (60 mg/kg) 単回投与による 8-OHdG 生成は, 抗酸化的因子の減少を引き起こす GSH 合成阻害剤, カタラーゼ阻害剤投与によっては, 明かな影響は認められなかった. 一方, PCP (60 mg/kg/day) の 5 日間投与による 8-OHdG 生成は, 天然の抗酸化物質である vitamin E および diallyl sulfide の投与により有意に抑制され, また ellagic acid, vitamin C および epigallocatechin gallate 投与にも抑制効果が認められた. 以上の結果から, PCP の発がん機序に酸化的 DNA 損傷が寄与し, また上記の天然抗酸化物質が PCP の発がん予防に有効である可能性が示唆された.

**Keywords**: pentachlorophenol, 8-hydroxydeoxyguanosine, antioxidant

\* 昭和女子大学

Nishinakamura, R.\*<sup>1,2</sup>, Nakayama, N.\*<sup>1</sup>, Hirabayashi, Y., Inoue T., Aud, D.\*<sup>1</sup>, McNeil, T.\*<sup>1</sup>, Azuma, S.\*<sup>2</sup>, Yoshida, S.\*<sup>2</sup>, Toyoda, Y.\*<sup>2</sup>, Arai, K-i.\*<sup>2</sup>, Miyajima,

A.\*<sup>1</sup>, Murray, R.\*<sup>1</sup>: **Mice deficient for the IL-3/GM-CSF/IL-5  $\beta$ c receptor exhibit lung pathology and impaired immune response, while  $\beta$ IL-3-receptor-deficient mice are normal**

*Immunity*, 2, 211~222 (1995)

インターリュウキン-3 (IL-3), 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF), IL-5 の受容体は相互に共通  $\beta$  鎖 ( $\beta$ c) を共有している。マウスでは、これに加えて IL-3 特異的  $\beta$  鎖 ( $\beta_{IL-3}$ ) があり, その機能を明らかにする為に, この  $\beta$  鎖をそれぞれ個別に欠失させた変異マウスを作製した。  $\beta$ c を欠失させたマウスの骨髓細胞は, GM-CSF と IL-5 とに反応を示さないが, IL-3 に対する反応性は,  $\beta$ c を欠失させても  $\beta_{IL-3}$  を欠失させても正常であった。  $\beta$ c 欠失マウスは, リンパ球浸潤と肺胞蛋白症からなる肺病変を伴い, また, 無刺激状態での末梢血の好酸球数が少なかった。  $\beta$ c 欠失骨髓細胞で再建されたマウスは白血球の回復の遅延と好酸球数の減少がみられた。これらのデータは  $\beta$ c の生体内での機能を明らかにするもので, 結果として表現型としては, GM-CSF と IL-5 の作用双方の欠失状態として観察された。

**Keywords** : cytokine receptor, gene disruption, mouse

\*<sup>1</sup> DNAX Research Institute of Molecular and Cellular Biology

\*<sup>2</sup> 東京大学医科学研究所

Nishijima, I.\*<sup>1</sup>, Nakahata, T.\*<sup>1</sup>, Hirabayashi, Y., Inoue, T., Kurata, H.\*<sup>1</sup>, Miyajima, A.\*<sup>2</sup>, Hayashi, N.\*<sup>1</sup>, Iwakura, Y.\*<sup>1</sup>, Arai, K-i.\*<sup>1</sup>, Yokota, T.\*<sup>1</sup>: **A human GM-CSF receptor expressed in transgenic mice stimulates proliferation and differentiation of various hemopoietic progenitors in response to the ligand**

*Molecular Biology of the Cell*, 6, 497~508 (1995)

顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) は主に骨髓球の分化と増殖を促す増殖刺激因子である。GM-CSF 受容体を介する細胞内シグナル伝達についての知見は集積しつつあるが, 未だに分化段階に応じた骨髓球の分化に対する情報伝達については不明確である。受容体の発現と血液細胞の分化との関連を解析する目的で, ほぼすべての分化段階の血液細胞に構成的にヒトの GM-CSF を発現させた遺伝子導入マウス (「ト」マウス) を作成し, 「ト」マウス骨髓細胞中の造血前駆細胞の増殖と分化を *in vitro* のメチルセルロースコロニー法を用いて解析した。高親和性 GM-CSF 受容体は種特異的に GM-CSF と結合するため, この系ではヒト GM-CSF を用いてマウスの造血前駆細胞の分化について解析することができる。マウスの GM-CSF は GM コロニーしか形成させないが, ヒト GM-CSF は GM, 好酸球, マスト細胞, 赤芽球, 巨核球, 芽球性および混合性コロニーといった多彩なコロニーを維持した。つまり, コロニー形成に及ぼすヒト GM-CSF の作用は, マウス GM-CSF よりはむしろ IL-3 に類似していた。さらに, ヒト GM-CSF はマウス IL-3 よりも, はるかに多くの芽球性コロニーや混合性コロニーを形成させた。さらにヒト GM-CSF はエリスロポエチンなしで赤芽球性コロニーも形成させた。すなわち, GM-CSF は機能的な GM-CSF 受容体があればほぼ全ての造血細胞系列の増殖を促進する能力があることが明らかとなった。

**Keywords** : human GM-CSF receptor, transgenic mouse, hemopoiesis

\*<sup>1</sup> 東京大学医科学研究所

\*<sup>2</sup> DNAX Research Institute of Molecular and Cellular Biology

lar Biology

Sasaki, H.\*<sup>1</sup>, Hirabayashi, Y., Ishibashi, T.\*<sup>2</sup>, Inoue, T., Matsuda, M.\*<sup>1</sup>, Kai, S.\*<sup>1</sup>, Ikuta, K.\*<sup>1</sup>, Yokota, T.\*<sup>3</sup>, Maruyama, Y.\*<sup>2</sup>, Matsuyama, S.\*<sup>1</sup>: **Effects of erythropoietin, IL-3, IL-6 and LIF on a murine megakaryoblastic cell line Growth enhancement and expression of receptor mRNAs**

*Leukemia Research*, 19, 95~102 (1995)

巨核芽球性細胞株 (L8057, L8057Y5) の増殖に与える以下の遺伝子組み替え型の増殖因子の作用をウシ血清アルブミン (BSA) を添加した無血清のメチルセルロース培養にそれぞれの因子を加えることで検討した。すなわち, ヒト・エリスロポエチン (rhEPO), マウス・インターリュウキン-3 (rmIL-3), ヒト・IL-6 (rhIL-6), ヒト・IL-11 (rhIL-11), マウス・白血球抑制因子 (rmLIF), およびマウス・顆粒球マクロファージ刺激因子である。無血清無蛋白の培養条件で維持している L8057Y5 は, rhIL-11 を除きほぼ濃度依存性に増殖が観察された。血清を含む培養条件で維持している L8057 はほぼ増殖は促進されたが, その程度は rhEPO 以外では L8057Y5 よりも少なかった。L8057 の増殖刺激を観察したサイトカインの中で, EPO, IL-3, IL-6 の受容体の mRNA の発現をノザン法もしくは逆転写酵素・ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) にて観察した。L8057 および L8057Y5 とともに, EPO 受容体, IL-6 受容体, gp130, IL-3 受容体  $\alpha$  鎖,  $\beta$  鎖の mRNA が構成的に発現していた。この結果は, L8057 および L8057Y5 の巨核芽球としての特徴はサイトカインに対する生物反応の結果としてみられるものであり, ひいてはサイトカイン受容体の発現の結果であること, そしてこれらのサイトカインによる増殖刺激はおそらく特異的な受容体を介して到達していることを示唆しているものである。我々の得た知見は巨核芽球造血における増殖シグナル伝達の機序解明の為にこれらの細胞株が有用であることを示している。

**Keywords** : megakaryoblastic cell line, EPO, IL-3, IL-6 LIF, receptor

\*<sup>1</sup> 横浜市立大学医学部

\*<sup>2</sup> 福島医科大学

Inoue, T., Hirabayashi, Y., Mitsui, H.\*<sup>1</sup>, Sasaki, H.\*<sup>1</sup>, Cronkite, EP.\*<sup>2</sup>, Bullis, JE.\*<sup>2</sup>, Bond, VP.\*<sup>2</sup>, Yoshida, K.\*<sup>3</sup>: **Survival of spleen colony-forming units (CFU-S) of irradiated bone-marrow cells in mice: Evidence for the existence of a radio-resistant sub-fraction**

*Expil Hematol*, 23, 1296~1300 (1995)

造血幹細胞の不均質を示す知見が増加しつつあるため, 造血幹細胞 (CFU-S) の放射線感受性が, 照射線量に応じて片対数グラフ上で直線性を示すという古典的な概念が実際に 400~600 cGy といったより高い放射線量にも適用出来るのかについて再検討を行った。マウス骨髓細胞を *in vitro* にて照射した。このとき低酸素効果を極力避けるよう細心の注意を払った。このアッセイ系で評価可能な幅に収まった脾コロニー数から換算すると, 放射線生存曲線は多相性の下に凸の形を取り, 400 から 600 cGy 照射後の D0 値は約 275 cGy と換算されたのに対して, より低線量の照射後の D0 値は従来得られている値と同等の 95 cGy であった。従来の放射線照射後の脾コロニーの生存曲線が, 照射線量に対して片対数グラフ上で直線として得られた理由を検討し, *in vitro* 照射によって得られた今回の結果と従来の結果とを比較した。実験的証拠は無いが,

我々は生存曲線の傾きを決定する主たる要因は照射を受けている間の正常の造血環境にある造血幹細胞の分化度の違いによるものと推測している。限界希釈法によって換算される、600 cGy 照射後に生存する分画は骨髓細胞約  $2 \times 10^6$  個にひとつ存在することが期待される。こうした放射線に非感受性の CFU-S は、骨髓に致死線量照射された個体の生存を、長期にわたって維持する事の出来る未熟な CFU-S であると考えられる。

**Keywords** : hemopoietic stem cell, radiation-sensitivity, CFU-S

\*1 横浜市立大学医学部

\*2 Brookhaven National Laboratory

\*3 放射線医学総合研究所

Eliason, J. E.\*1, Baumgartner, M.\*1, Yoshikubo, T.\*1, Hirabayashi, Y., Mitsui, H.\*2, Inoue, T.: **Mofarotene (Ro 40-8757) inhibits hematopoiesis in vitro by preventing maturation from primitive progenitor cells**

*Blood*, 86, 4516~4526 (1995)

レチノイン酸誘導体の arotinoid mofarotene (Ro 40-8757; 4-[2-[p-(E)-2(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetra-methyl-2-naphthyl)-propenyl]phenoxy]ethyl]morpholine) の造血支持細胞の誘導造血に与える効果をマウス長期骨髓細胞培養で検討した。mofarotene 投与によって、培養 2 週間で再生期、培養 4 週間で平衡期になるものの、濃度依存性に産生される総細胞数を強く抑制した。また造血前駆細胞の産生も抑制するがその程度はやや軽度であった。mofarotene を培養初期に添加した場合、 $1 \mu\text{mol/l}$  の濃度では接着層の形成を阻害しないが、以後 10 週間以上にわたって、総有核細胞と前駆細胞の産生は各々 95% および 96% に抑制された。mofarotene 処理を止めると前駆細胞数は直ちに増加し始め、細胞産生は 4 週間以内の対照培養に相当する状態で平衡に達した。造血は 14 週間以上にわたって維持され、この mofarotene 処理によって長期培養細胞が生存していることを示している。接着層の細胞による脾コロニー形成法での結果では、day 9 CFU-S よりも、より未分化型の day 13 CFU-S の濃縮を示した。mofarotene は機能検査や、mRNA 発現レベルの検討の結果、外因性の成長因子刺激骨髓細胞によるコロニー形成を抑制しないし、培養中の支持細胞による成長因子の分泌を減少させないということが明らかになった。これらの結果は mofarotene が非常に未分化な前駆細胞の分化を抑制し、それより分化した造血細胞成分の産生を抑制していることを示唆している。

**Keywords** : Mofarotene (Ro 40-8757), hemopoiesis, cell maturation

\*1 日本ロッシュ研究センター

\*2 横浜市立大学医学部

Inoue, T.: **The use of biotechnical recombinant-mice to test the safety of potential carcinogenic pharmacologicals**

*The Journal of Toxicological Sciences*, 20(4), 468~470 (1995)

遺伝子改変動物を用いた発がん性試験の可能性、その利点と問題点を討論した。自然発症の先天性免疫不全マウス (scid) 等も含め、ヒト c-myc や p53 遺伝子欠失動物における発がん性実験を紹介し、それぞれの特徴を明らかにした。多くの遺伝子は当然の事ながらそれぞれ固有の機能を有し、従ってそれらを過剰発現せしめたり欠失させること

による易発がん性はどうしても発がんスペクトラムを変化させる事にならざるを得ない。この点を問題点として指摘し、課題として提示した。

**Keywords** : biotechnological recombinant mouse

Koizumi, S., Kataoka, Y.\*1, Inoue, K., Kohzuma, M.\*1, Niwa, M.\*1 and Taniyama, K.\*1: **Contribution of L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels to long-term enhancement of  $\text{K}^{+}$ -evoked dopamine release from rat striatal slices**

*Neurosci. Lett.*, 187, 123~126 (1995)

ラット線条体スライス標本を用い、20 分間隔の高濃度 KCl 刺激により惹起されるドパミン放出を連続的に観察し、電位依存性 L-型カルシウムチャネル作用薬 Bay k 8644 の影響を検討した。KCl 刺激を繰り返すと、ドパミン放出応答はほぼ一定となった。Bay k 8644 を 20 分間添加すると、その後のドパミン応答は濃度依存的に ( $1 \sim 100 \mu\text{M}$ ) 亢進し、増強作用は 2 時間にわたり観察された。Bay k 8644 処理時に、細胞外カルシウムイオンを除去すると、ドパミン応答の増強は認められなかった。以上、線条体ドパミン神経の L-型カルシウムチャネルが、神経伝達物質放出の効率亢進に深く関与していることが明らかとなった。

**Keywords** : LTP, striatum, L-type calcium channel

\*1 長崎大医学部

Koizumi, S., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Inhibition by  $\text{Zn}^{2+}$  of UTP-induced  $\text{Ca}^{2+}$ -influx but not  $\text{Ca}^{2+}$ -mobilization in rat pheochromocytoma cells**

*Br. J. Pharmacol.*, 115, 1502~1508 (1995)

PC12 細胞に PLC/IP3 と共役した P2U 受容体が存在すること、この受容体刺激により惹起される細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変動とドパミン放出の関係を明らかとした。P2U 受容体刺激により、IP3 に起因する細胞内カルシウム貯蔵部位からの一過性の  $\text{Ca}^{2+}$  遊離と、それに引き続く持続性の  $\text{Ca}^{2+}$  流入が認められた。この持続性  $\text{Ca}^{2+}$  流入は、 $\text{Ca}^{2+}$  貯蔵部位の  $\text{Ca}^{2+}$  量に依存した容量性  $\text{Ca}^{2+}$  流入であった。P2U 受容体刺激により、ドパミン放出が認められたが、これは完全に細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  に依存していた。つまり、容量性  $\text{Ca}^{2+}$  流入に依存した放出であった。Zn<sup>2+</sup> は容量性  $\text{Ca}^{2+}$  流入およびドパミン放出を抑制した。以上、PC12 細胞に容量性  $\text{Ca}^{2+}$  流入現象が認められることおよびこの  $\text{Ca}^{2+}$  流入が神経伝達物質放出と関連していることが明らかとなった。

**Keywords** : UTP, dopamine release, Zn<sup>2+</sup>

Koizumi, S., Ikeda, M., Nakazawa, K. and Inoue, K.: **Inhibition by haloperidol of adenosine 5'-triphosphate-evoked responses in rat pheochromocytoma cells**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 210, 624~630 (1994)

ATP 受容体/チャネル活性化に起因する応答に対する、精神分裂病治療薬の影響を検討した。ATP により惹起される内向き電流、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  上昇およびドパミン放出は、定型分裂病治療薬 haloperidol および chlorpromazine により濃度依存的に抑制された。この抑制作用は、これらの薬物が有するドパミン D2 受容体拮抗作用およびカルモデュリン阻害作用とは無関係であり、P2 受容体チャネルに対する直接の作用であった。また他の分裂病治療薬によっても ATP 誘発  $\text{Ca}^{2+}$  上昇は抑制された。以上の結果は、ATP 受容体に対する抑制作用は分裂病治療薬に共通して認められる現象である可能性および精神分裂病発症の一因

に ATP 受容体の過剰活動が関与している可能性を示唆するものである。

**Keywords** : ATP, antipsychotic drugs, PC12 cells

Koizumi, S., Ikeda, M., Inoue, K., Nakazawa, K., Ohno, Y. and Inoue, K.: Zinc ion potentiates various responses mediated by P2-purinoceptor/channels in rat pheochromocytoma cells

*Int. Acad. Biomed. Drug Res.*, **11**, 6244~6250 (1994)

Zn<sup>2+</sup> の脳内濃度は比較的高く、しかも神経終末に Zn<sup>2+</sup> を含む亜鉛含有神経が脳内に局在している。我々が ATP 応答を確認した海馬では、興奮性の刺激により Zn<sup>2+</sup> がシナプス間隙に放出されている。そこで、モデル細胞系 PC12 細胞を用いて ATP により惹起される様々な応答に対する Zn<sup>2+</sup> の影響について検討した。Zn<sup>2+</sup> は、ATP により惹起される、内向き電流、細胞内カルシウムイオン濃度上昇およびドパミン放出を顕著に増強した。Zn<sup>2+</sup> は、ATP 応答の濃度依存曲線を最大応答に影響することなく、左方へシフトさせた。以上、Zn<sup>2+</sup> は、ATP 受容体数に影響を与えることなく、ATP の受容体への親和性を増すことにより、ATP 応答の効率を高めることが示唆された。

**Keywords** : zinc, ATP, PC12 cells

Ochi, M.\*<sup>1</sup>, Koizumi, S., Shibata, S.\*<sup>1</sup> and Watanabe, S.\*<sup>1</sup>: Long-term enhancement of dopamine release by high frequency tetanic stimulation via NMDA-receptor-mediated pathway in rat striatum

*Neuroscience*, **66**, 29~36 (1995)

高頻度刺激がその後の神経伝達物質放出に与える影響を検討した。大脳皮質から線条体に入力するグルタミン酸神経を高頻度で刺激すると、線条体からのドパミン放出応答は顕著に増大し、これは2時間まで持続した。このドパミン放出応答の増大は、高頻度刺激時に N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体拮抗薬を存在させることにより消失し、また高頻度刺激の代わりにグルタミン酸を前処置することによっても再現できた。以上、NMDA 受容体が線条体ドパミン放出応答の可塑性に深く関わっていること、およびシナプスの長期増強現象を神経伝達物質放出の側面から捉えることが可能であることが明らかとなった。

**Keywords** : LTP, secretion, striatum

\*<sup>1</sup>九州大薬学部

小泉修一、井上和秀: 亜鉛イオンによる UTP 応答の抑制作用

*神経化学*, **34**, 78~79 (1995)

亜鉛は必須微量元素であり、200 以上の酵素の構成要素である。しかし、脳内では神経終末の小胞内に比較的高濃度の亜鉛をイオンとして蓄えた亜鉛含有神経が存在し、興奮性の刺激によりイオンとして放出されることが明らかとなっている。UTP 刺激により惹起される容量性カルシウム流入とドパミン放出現象、およびこれらの応答に対する亜鉛イオンの影響を神経系モデル細胞 PC12 細胞を用いて検討した。UTP 刺激により IP<sub>3</sub> に起因する細胞内カルシウム貯蔵部位からの一過性の Ca<sup>2+</sup> 遊離の後、容量性 Ca<sup>2+</sup> 流入が認められた。UTP 刺激により、本細胞よりドパミン放出が認められたが、これは完全に容量性 Ca<sup>2+</sup> 流入に依存していた。Zn<sup>2+</sup> は容量性 Ca<sup>2+</sup> 流入およびドパミン放出を抑制した。以上、UTP 刺激による容量性 Ca<sup>2+</sup> 流入がドパミン放出現象に共役していること、および Zn<sup>2+</sup> がこれらの現象に対し、非常に強い抑制作用を呈することが

明らかとなった。

**Keywords** : ATP, zinc, dopamine

河野康子\*<sup>1</sup>, 高田昌和\*<sup>1</sup>, 小泉修一, 大岩陽子\*<sup>1</sup>, 糀本芳郎\*<sup>2</sup>: 脳虚血によるラット脳内エネルギー代謝, catecholamine 代謝の変化に対する Nebracetam の保護作用

*応用薬理*, **50**, 359~366 (1995)

神経細胞のエネルギー代謝障害に対する nebracetam の影響を検討した。Nebracetam は、一過性の前脳虚血負荷により惹起されるラット脳内 ATP およびエネルギーチャージポテンシャルの低下を有意に抑制した。また様々な脳部位におけるカテコールアミン含量の低下をも抑制した。さらに、NaCN に誘発されるマウスの致死時間を顕著に延長した。本実験系で用いた nebracetam の投与量により得られた血中濃度は、従来 *in vitro* の実験系で有効性が認められた濃度とほぼ一致していた。以上、本実験結果は、nebracetam が虚血性の神経細胞障害に対して、臨床的に有効性を呈する可能性を示唆するものである。

**Keywords** : nebracetam, energy metabolism, ischemia

\*<sup>1</sup> 日本ベーリンガーインゲルハイム(株)

\*<sup>2</sup> パナファームラボラトリーズ(株)

Ikeda, M., Koizumi, S., Inoue, K., Ito, K., Nakazawa, K. and Inoue, K.: Potentiation by cadmium ion of ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma cells

*Br. J. Pharmacol.*, **117**, 950~954 (1996)

Cd<sup>2+</sup> は、強力な毒性作用を有する 2 価イオンとして知られ、特に摂取した際の腎臓への毒性が問題となっている。さらに、Cd<sup>2+</sup> が脳内へも比較的高濃度で移行することが知られている。モデル神経細胞系 PC12 細胞を用いて ATP により惹起される様々な応答に対する Cd<sup>2+</sup> の影響について検討した。Cd<sup>2+</sup> は、ATP により惹起される、内向き電流、細胞内カルシウムイオン濃度上昇およびドパミン放出を顕著に増強した。Cd<sup>2+</sup> は、ATP 応答の濃度依存曲線を最大応答に影響することなく、左方へシフトさせた。以上、Cd<sup>2+</sup> は、ATP 受容体数に影響を与えることなく、ATP の受容体への親和性を増すことにより、ATP 応答の効率を高めることが示唆された。

**Keywords** : ATP, cadmium, PC12

Nakazawa, K., Inoue, K., Watano, T., Koizumi, S., and Inoue, K.: Zinc potentiation of neurotransmission and inhibition of background cationic conductance in rat cultured hippocampal neurones

*J. Physiol. (Lond.)*, **484**, 447~462 (1995)

ラットの培養海馬神経における亜鉛 (Zn) の作用を電気生理学的に検討した。培養細胞間にはシナプスが形成されており、膜電位固定下では後シナプス電流が観察された。この電流は  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) により伝達された結果生じるクロライド電流であるが、グルタミン酸の関与も必須であることが示唆された。Zn (10 および 100  $\mu$ M) はこの後シナプス電流を頻度、振幅共に増強した。Zn はさらに膜電流を外向きにシフトした。この作用は主として細胞外ナトリウムを透過させるカチオン・コンダクタンスの抑制に起因することが示された。膜電流固定下で膜電位変化を調べた場合、Zn は興奮性後シナプス電位の増加およびスパイク電位の発生を伴う弱い過分極を生じた。以上のことから、Zn はナトリウムの透過性を減少させ、その結果膜抵抗の増加による興奮性をひきおこし、神経伝達を増

強することが示唆された。

**Keywords** : Zn, hippocampus, neurotransmission

Nakazawa, K., Akiyama, T., and Inoue, K.: **Block by 5-hydroxytryptamine of neuronal acetylcholine receptor channels expressed in *Xenopus* oocytes**

*Cell. Mol. Neurobiol.*, **15**, 495~500 (1995)

クローン化されたアセチルコリン受容体チャネルを cDNA を用いてアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、セロトニン (5-HT) の作用を検討した。チャネルを  $\alpha 3$  および  $\beta 4$  サブユニットで発現させた場合、5-HT は 10~300  $\mu\text{M}$  で用量依存的にアセチルコリンにより惹起される電流を抑制した。抑制は  $\alpha 3$  を  $\alpha 2$  または  $\alpha 4-1$  で置換した場合でも、また  $\beta 4$  を  $\beta 2$  で置換した場合でも観察された。5-HT 受容体に拮抗することが知られている薬物は作動薬様の効果、すなわち電流抑制を示した。以上のことから 5-HT がアセチルコリン受容体を抑制すること、その抑制は特定のサブユニットに起因しないこと、また、結合部位は通常の 5-HT 受容体とは異なることが示された。

**Keywords** : acetylcholine receptor channels, 5-hydroxytryptamine, *Xenopus* oocyte expression system

Nakazawa, K., Ito, K., Koizumi, S., Ohno, Y. and Inoue, K.: **Characterization of inhibition by haloperidol and chlorpromazine of a voltage-activated  $\text{K}^+$  current in rat pheochromocytoma cells**

*Br. J. Pharmacol.*, **116**, 2603~2610 (1995)

ラット副腎髄質由来 PC12 細胞を用いて、抗精神病薬であるハロペリドールおよびクロルプロマジンの電位依存性カリウム電流に対する影響を検討した。両薬物はともに 1 および 10  $\mu\text{M}$  の濃度でカリウム電流を抑制した。抑制は活性化電位、保持電位の変化で影響されなかった。これらの薬物と薬理効果の点で関連性のあるドパミン受容体拮抗薬、カルモジュリン阻害薬の効果を調べたが必ずしも同様の効果は得られなかった。カリウム電流の抑制は細胞内に GTP 結合タンパク質の阻害薬である GDP $\beta$ S を適用することにより消失もしくは減弱した。以上のことからハロペリドールおよびクロルプロマジンが GTP 結合タンパク質を介する機序でカリウム・チャネルを抑制すること、この作用はドパミン受容体拮抗あるいはカルモジュリン阻害とは関係しないことが示された。

**Keywords** : haloperidol, chlorpromazine,  $\text{K}^+$  channels

Inoue, K., Nakazawa, K., Inoue, K., Fujimori, K. and Ohno, Y.: **Minor pain inducers modulate membrane current in cultured neuronal cells**

*Pharmacol. Toxicol.*, **77**, 417~420 (1995)

皮膚適用される薬品、化粧品原料、添加物として広く用いられているパラベン類、エタノール、ジプロピレングリコールの作用を、培養細胞に電気生理学的手法を適用して検討した。ラット副腎髄質由来 PC12 細胞において、これらの化合物は電位依存性カリウム電流を抑制した。また、ラットより調製した培養知覚神経においては、非選択的なカチオン・チャネルを介すると考えられる内向き電流を惹起した。これらの電流応答はいずれも神経の興奮に至るものであり、よって、皮膚適用の際に問題となる、ひりつき感、ほてりなどの機序である可能性が考えられる。

**Keywords** : ingredients of pharmaceutical products or cosmetics, electrophysiology, cultured cells

Nakazawa, K., Ito, K., Koizumi, S., Ohno, Y. and

Inoue, K.: **Reduction of acetylcholine-activated current by low concentrations of extracellular adenosine 5'-triphosphate**

*Life Sci.*, **57**, PL351~356 (1995)

アデノシン 5'-三リン酸 (ATP) のアセチルコリン受容体チャネルに対する作用をラット副腎髄質由来 PC12 細胞およびこのチャネルを cDNA により発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いて検討した。PC12 細胞において ATP (10 nM~1  $\mu\text{M}$ ) はアセチルコリン誘発電流を約 60% のバッチで抑制した。アフリカツメガエル卵母細胞にチャネルを  $\alpha 3$  および  $\beta 4$  サブユニットの組合せで発現させた場合、電流抑制は 100 fM という低濃度より観察された。同様の抑制はウリジン 5'-三リン酸 (UTP) でも認められた。このような低濃度での ATP の作用は報告されておらず、少なくとも通常の P2 受容体を介するものではないと考えられる。

**Keywords** : adenosine 5'-triphosphate, acetylcholine receptor channels, membrane current

Ohno, Y., Kaneko, T., Kobayasi, T.\*<sup>1</sup>, Inoue, T., Kuroiwa, Y.\*<sup>2</sup>, Yoshida, T.\*<sup>2</sup>, Momma, J., Hayasi, M., Akiyama, J.\*<sup>1</sup>, Atsumi, T.\*<sup>1</sup>, Chiba, K.\*<sup>1</sup>, Endou, T.\*<sup>1</sup>, Fujii, A.\*<sup>1</sup>, Kakishima, H.\*<sup>1</sup>, Kojima, H.\*<sup>1</sup>, Masamoto, Y.\*<sup>1</sup>, Masuda, M.\*<sup>1</sup>, Matsukawa, K.\*<sup>1</sup>, Ohkoshi, K.\*<sup>1</sup>, Okada, J.\*<sup>1</sup>, Sakamoto, K.\*<sup>1</sup>, Takano, K.\*<sup>1</sup>, Suzuki, T.\*<sup>3</sup> and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (1) Over view, organization, and results of the validation study**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, **3**, 123~136 (1995)

ドレイズ試験代替法として報告されている 12 種の方法について、化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、9 種の界面活性剤と陰性対照として生理食塩水を用いて施設間一次バリデーションを行った。被験物質はコード化したものを配布し、SOP の作成、担当者の教育および記録は GLP に準じて行った。本報告はそれらの結果をまとめ、方法間で比較したものである。その結果、1) 施設内および施設間のばらつきは溶血性試験における Tween 20 を除けば小さかった。2) Triton X-100 の細胞毒性は培養液中に血清を添加するか否かにより、他の物質との比較における順位に大きな差があった。3) HET-CAM-trypan blue 染色法および血清添加培養細胞法の結果はドレイズ試験結果とスコアの比較で相関係数 0.8 以上、順位の比較で 0.9 以上であった。4) 血清添加培養細胞法の結果はほとんど同様の結果を与えた ( $r=0.92\sim 0.99$ )。これらの結果は化粧品原料の評価において、代替法が有用である可能性を示したものであるが、さらに多くの物質を用いたバリデーションを行い個々の試験法の特徴を明らかにすることが必要であるとされた。

**Keywords** : validation, alternative methods, Draize eye irritation test

\*<sup>1</sup> 日本化粧品工業連合会

\*<sup>2</sup> 昭和大学

\*<sup>3</sup> 日本セイギ研究所

Hagino, S.\*<sup>1</sup>, Itagaki, H.\*<sup>1</sup>, Kinoshita, S.\*<sup>1</sup>, Tani, N.\*<sup>1</sup>, Nakamura, T.\*<sup>1</sup>, Ono, N.\*<sup>1</sup>, Konishi, K.\*<sup>1</sup>, Kojima, H.\*<sup>1</sup>, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (2) Evaluation of chor-**

**ioallantoic membrane (CAM) tests**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 3, 137~145 (1995)

受精鶏卵漿尿膜 (CAM) を用いた試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、5施設の参加で行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。CAMの変化は肉眼観察法 (HET-CAM) とトリパンプルー染色法 (CAM-TB) で行った。その結果、1) 指導研究機関と他の施設との間の結果の順位相関係数は HET-CAM で 0.77~0.99、CAM-TB で 0.88~0.93 であった。2) HET-CAM の結果のドレイズスコアとの相関係数および順位相関係数はそれぞれ 0.75 および 0.94 であった。CAM-TB の場合はそれぞれ 0.95 および 0.91 であった。HET-CAM の結果は結膜の変化と、CAM-TB の結果は角膜の変化との対応が比較的良かった。

**Keywords** : validation, alternative methods, HET-CAM

\*1 日本化粧品工業連合会

Okamoto, Y.\*1, Ohkoshi, K.\*1, Itagaki, H.\*1, Hagino, S.\*1, Inoue, K.\*1, Shibata, M.\*1, Kakishima, H.\*1, Ogawa T.\*1, Konishi, K.\*1, Sakamoto, K.\*1, Takino, Y.\*1, Kanari, M.\*1, Matsukawa, K.\*1, Masuda, K.\*1, Kojima H.\*1, Chiba, K.\*1, Makino, I.\*1, Kaneko, T.\*1, Hirose, A.\*1, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (3) Evaluation of hemolysis test**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 3, 146~153 (1995)

羊赤血球を用いた溶血試験法の、化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。被験物質の 50% 溶血濃度 (HC50) を求めドレイズスコアと比較した。9施設で得られた HC50 のばらつき (変動係数) の平均は 0.237 と小さかった。被験物質の内では Tween 80 のばらつきが相対的に大きかった。1/HC50 とドレイズスコアとの相関係数は 0.732 であった。

**Keywords** : validation, alternative test, hemolysis methods

\*1 日本化粧品工業連合会

Itagaki, H.\*1, Hayasi, T.\*1, Kakishima, H.\*1, Ogawa T.\*1, Kotani, M.\*1, Matsukawa, K.\*1, Masuda, K.\*1, Kojima, H.\*1, Chiba, K.\*1, Makino, I.\*1, Sakamoto, K.\*1, Takino, Y.\*1, Kanari, M.\*1, Kaneko, T., Hirose, A., Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (4) Evaluation of hemoglobin denaturation (HD) test**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 3, 154~161 (1995)

ヘモグロビン変性試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、9施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。ヘモグロビンの変性をマイクロプレートリーダーを用いた比色法により検討したところ、10%の変性を起こす被験物質濃度が施設により大きくばらついた。その理由について検討したところ、使用したフィルターの微妙な相違により、結果の施設間差が生ずることが明らかとなった。なお、ドレイズ試験結果との比較では多重相関係数が

0.846 であった。

**Keywords** : validation, alternative test, hemoglobin denaturation

\*1 日本化粧品工業連合会

Kurishita, A.\*1, Kato, T.\*1, Furumoto, T.\*1, Kaneko, T., Inoue, K.\*1, Okamoto, Y.\*1, Kojima, H.\*1, Katagiri, M.\*2, Ueda, H.\*2, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (5) Evaluation of Skin2 dermal model ZK1100**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 3, 162~167 (1995)

人工皮膚モデルである Skin 2 ZK 1100 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、6施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。EC<sub>50</sub> 値の施設間のばらつきは水溶性の低い sodium hydrogenated tallow glutamate を除けば 0.3 以下であり、小さかった (変動係数の平均は 0.241)。ドレイズスコアとの比較では相関係数は -0.92 で、角膜や結膜の変化との相関が良かった。

**Keywords** : validation, alternative test, Skin2

\*1 日本化粧品工業連合会

\*2 オリエンタルイースト(株)

Kasai, Y.\*1, Ohuchi, J.\*1, Okada, J.\*1, Suzuki, K.\*1, Nakamura, T.\*1, Ishibashi, T.\*2, Hori, H.\*2, Nishikawa, T.\*2, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (6) Evaluation of MATREX**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 3, 168~174 (1995)

三次元構造を持つ皮膚モデルである MATREX<sup>TM</sup> 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、3施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。EC<sub>50</sub> 値の施設間のばらつき (変動係数) の平均は 0.220 と小さかった。一方、EC<sub>50</sub> とドレイズスコアとの相関係数は 0.633 と他の試験法と比較して低かったが、本試験法の特徴は水不溶性のものでも試験が可能な点にあり、それについては引き続き行われる第2次、3次バリデーションで検討する予定である。

**Keywords** : validation, alternative test, MATREX

\*1 日本化粧品工業連合会

\*2 東洋紡績(株)

Kojima, H.\*1, Takino, Y.\*1, Karari, M.\*1, Sakamoto, K.\*1, Miyai, E.\*1, Akiyama, J.\*1, Shibata, M.\*1, Torishima, H.\*2, Yamamoto, R.\*2, Miyajima, A., Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (7) Evaluation of cytotoxicity tests on primary rabbit corneal epithelial cells (CornePack)**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 3, 175~181 (1995)

ウサギ角膜上皮より調製した正常細胞を用いた試験 (Corne Pack) 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、6施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。

EC<sub>50</sub> 値の施設間のばらつきはの平均は 0.394 であった。また、ドレイズスコアとの相関係数は -0.619 で、順位相関係数は 0.846 であった。施設間のばらつきが他の培養細胞法と比較して相対的に大きかった理由として、一次培養の操作に原因があると考えられた。なお、作用発現濃度は他の試験法と比較してかなり低く、感度の高い方法であることが推察された。

**Keywords** : validation, alternative test, Corne Pack

\*<sup>1</sup> 日本化粧品工業連合会

\*<sup>2</sup> 倉敷紡績(株)

Itagaki, H.\*<sup>1</sup>, Sibata, M.\*<sup>1</sup>, Tani, N.\*<sup>1</sup>, Kinoshita, S.\*<sup>1</sup>, Kakishima, H.\*<sup>1</sup>, Seyama, Y.\*<sup>1</sup>, Ohuchi, J.\*<sup>1</sup>, Kasai, Y.\*<sup>1</sup>, Okada, J.\*<sup>1</sup>, Kojima, H.\*<sup>1</sup>, Okamoto, Y.\*<sup>1</sup>, Kotani, M.\*<sup>1</sup>, Ohno, Y., Miyajima, A. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (8) Evaluation of cytotoxicity tests on SIRC cells** *Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, **3**, 182~190 (1995)

ウサギ角膜由来の細胞株 (SIRC) を用いた試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、6~7 施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。細胞毒性の指標としては crystal violet 染色法 (SIRC-CV) および neutral red 取り込み法 (SIRC-NR) をもちいた。EC<sub>50</sub> 値の施設間のばらつき (変動係数) の平均は SIRC-CV 法で 0.262, SIRC-NR 法で 0.304 と小さかった。これら 2 つの方法間の結果の相関は 0.996 と極めて高く、どちらの方法を用いても、ほとんど同じ結果となることが推定された。ドレイズスコアとの相関係数はそれぞれ -0.894 と -0.913 であった。

**Keywords** : validation, alternative test, SIRC

\*<sup>1</sup> 日本化粧品工業連合会

Kojima, H.\*<sup>1</sup>, Ohuchi, J.\*<sup>1</sup>, Kasai, Y.\*<sup>1</sup>, Okada, J.\*<sup>1</sup>, Tukumo, K.\*<sup>1</sup>, Kakishima, H.\*<sup>1</sup>, Miyai, E.\*<sup>1</sup>, Akiyama, J.\*<sup>1</sup>, Okamoto, Y.\*<sup>1</sup>, Kotani, M.\*<sup>1</sup>, Inoue, K.\*<sup>1</sup>, Sibata, M.\*<sup>1</sup>, Okumura, H.\*<sup>1</sup>, Arashima, M.\*<sup>1</sup>, Atsumi, T.\*<sup>1</sup>, Makino, I.\*<sup>1</sup>, Chiba, K.\*<sup>1</sup>, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (9) Evaluation of cytotoxicity tests on HeLa and CHL/IU cells**

*Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, **3**, 191~198 (1995)

は乳類由来の細胞株 (HeLa および CHL/IU) を用いた試験法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、7~8 施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。細胞毒性の指標として HeLa 細胞では MTT の還元法 (HeLa-MTT), CHL 細胞では crystal violet 染色法 (CHL-CV) を用いた。50% 細胞毒性濃度 (EC<sub>50</sub>) のばらつき (変動係数) は Triton X-100 を除けば 0.50 以下であり、その平均はいずれも 280 であった。ドレイズスコアとの相関係数は HeLa-MTT が -0.817, CHL-CV が -0.902 であった。EC<sub>50</sub> 値はどちらの方法でもそれほど相違は無かった。

**Keywords** : validation, alternative test, cultured cells

\*<sup>1</sup> 日本化粧品工業連合会

Kakishima, H.\*<sup>1</sup>, Suzuki, K.\*<sup>1</sup>, Shima, Y.\*<sup>1</sup>, Matsu-

kawa, K.\*<sup>1</sup>, Masuda, K.\*<sup>1</sup>, Nakamura, T.\*<sup>1</sup>, Mizutani, A.\*<sup>1</sup>, Kaneko, T., Hirose, A., Shingai, T.\*<sup>2</sup>, Ohno, Y. and Takanaka, A.: **First phase inter-laboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients: (10) Evaluation of Eytex method Alternatives to Animal Testing and Experimentation**, **3**, 199~209 (1995)

蛋白質の変性を原理とする非生物試験法 EYTEX 法の化粧品原料の眼刺激性評価のための試験としての妥当性を確認するために、5 施設の参加により行われた施設間一次バリデーション結果の詳細を報告した。Sodium hydrogenated tallow glutamate と polyoxyethylene octylphenyl-ether (10 E.O.) は EYTEX 試験での反応を阻害した。それ以外の被験物質ではばらつきは小さく、変動係数の平均は 0.186 であった。ドレイズスコアとの対応では結膜評価点との相関が高く、0.884 であった。一方、総評価点との相関係数は 0.710 であった。

**Keywords** : validation, alternative test, EYTEX

\*<sup>1</sup> 日本化粧品工業連合会

\*<sup>2</sup> In Vitro International, Ltd.

Sakamoto, K.\*<sup>1</sup>, Kirita, S.\*<sup>1</sup>, Baba, T.\*<sup>1</sup>, Nakamura, Y.\*<sup>1</sup>, Yamazoe, Y.\*<sup>2</sup>, Kato, R.\*<sup>2</sup>, Takanaka, A. and Matsubara, T.\*<sup>1</sup>: **A new cytochrome P450 form belonging to the CYP2D in dog liver microsomes: Purification, cDNA cloning, and enzyme characterization**

*Arch. Biochem. Biophys.*, **319**, 372~382 (1995)

未処置のイヌより新しい型の P450 分子種 (P450 DUT2) を精製した。比活性は 19.1 nmol P450/mg protein で SDS-PAGE で 1 バンドで、分子量は約 50000 であった。これらは HPLC で二つのバンド (P450 DUT2a と P450 DUT2b) に分かれた。これらの N 末端のアミノ酸配列は同一であったが、P450 DUT2b では 3 つのアミノ酸が欠けていた。これらの cDNA の全塩基配列を決定した。また、COS-7 細胞で活性を有する酵素の発現に成功した。

**Keywords** : P450, purification, cloning

\*<sup>1</sup> 塩野義製薬(株)

\*<sup>2</sup> 慶応大学

Uchida, K.\*<sup>1</sup>, Nagai, S.\*<sup>1</sup>, Shimada, K.\*<sup>1</sup>, Ohno, Y. and Kamikawa, Y.\*<sup>1</sup>: **Autonomic innervation and reactivity of the human isolated segmental bronchi *in vitro***

*Dokkyo J. Med. Sci.*, **22**, 179~185 (1995)

ヒトから摘出した区域気管支条片を用い、電気刺激により誘発される神経応答および収縮反応を検討した。電気刺激により誘発される収縮の大きさは刺激頻度に依存しており、アトロピンあるいはテトロドトキシンで抑制された。電気刺激は NO 合成酵素阻害剤である nitro arginine methylester で抑制され、L-arginine 添加で回復する弛緩反応も誘発した。一方、気管支は acetylcholine, carbachol, histamine および neurokinin A により収縮したが、substance P では収縮しなかった。収縮を起こした薬物の中では carbachol が最も作用が強かった。これらの結果から、ヒトの気管支は主に興奮性のコリン作動性神経により支配されており、一部抑制性の NO 含有神経に支配されているものと思われた。

**Keywords** : human tissue, bronchi, innervation

\*<sup>1</sup> 獨協大学

Tsuda, M., Kurashima, Y.\*<sup>1</sup>, Kosaka, H.\*<sup>2</sup>, Ohshima, H.\*<sup>3</sup>, Sugimura, T.\*<sup>4</sup> and Esumi, H.\*<sup>1</sup>: **Marked increase in urinary excretion of nitrate and N-nitrosothioproline in the osteogenic disordered syndrome rats, lacking ascorbic acid biosynthesis, by administration of lipopolysaccharide and thioproline** *Carcinogenesis*, **16**, 2653~2657 (1995)

アスコルビン酸合成能を欠損したラット (ODS ラット) を用いて、リポ多糖 (LPS) およびチオプロリンを腹腔内投与した際の体内一酸化窒素 (NO) 産生ならびに体内ニトロ化反応に対するアスコルビン酸の役割について検討した。アスコルビン酸が枯渇した壊血病状態の ODS ラットでは、アスコルビン酸を十分に与えた ODS ラットに比して LPS 刺激による尿中への硝酸塩排泄量は有意に増加することから、NO 産生が増加していることを示した。この尿中硝酸塩排泄量は一酸化窒素合成酵素の阻害剤である Ng-monomethyl-L-arginine の投与により減少したことから、アルギニン由来の NO 生成であると結論した。また非経口的に投与したチオプロリンの体内ニトロ化が LPS 投与により増加することから、胃 (酸性) 以外の生体部位でのニトロ化合物生成の可能性を示した。アスコルビン酸枯渇 ODS ラットではニトロ化合物産生能も高かった。アスコルビン酸による NO の安定化が体内ニトロ化反応を抑制に寄与していると説明した。

**Keywords** : endogenous NO formation, osteogenic disordered syndrome rats, endogenous nitrosation

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター東研究所

\*<sup>2</sup> 大阪大学医学部

\*<sup>3</sup> 国際癌研究機関

\*<sup>4</sup> 東邦大学医学部

Uneyama, C., Imazawa, T., Uneyama, H.\*<sup>1</sup>, Akaike, N.\*<sup>2</sup>, Kawanishi, T. and Takahashi, M.: **Not Ca<sup>2+</sup> but cAMP is the second messenger for morphological changes in rat megakaryocyte** *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **211**, 282~288 (1995)

ラット巨核球の ATP および thrombin 応答を、nystatin-perforated whole-cell patch clamp 法による細胞内カルシウム濃度の変化、蛍光分光法によるセロトニンの放出、走査型電子顕微鏡による形態変化、の各項目で比較した。ATP も thrombin も巨核球に細胞内カルシウム濃度のオシレーションを誘発するが、セロトニンの放出と形態変化は thrombin でのみ観察された。さらに thrombin によるセロトニン放出が adenylate cyclase 活性化剤 forskolin で抑制されること、cAMP 依存性キナーゼ阻害剤 H-8 が thrombin に類似の形態変化を誘発することなどから、セロトニン放出や形態変化に関与するのは cAMP であることが示唆された。

**Keywords** : megakaryocytes, ATP, thrombin

\* 九州大学医学部

Uneyama, C., Uneyama, H.\*<sup>1</sup>, Takahashi, M. and Akaike, N.\*<sup>2</sup>: **Pharmacological studies on mechanisms involved in Ca<sup>2+</sup> oscillations in rat megakaryocytes** *Eur. J. Pharmacol.*, **291**, 381~386 (1995)

ラット巨核球に細胞外から ATP を投与したときに誘発される細胞内カルシウム濃度の周期的変化 (カルシウムオシレーション) の調節機構について、カルシウムポンプの活性化の観点から解析した。巨核球の細胞内カルシウム濃度を減少させるのに関与するカルシウムポンプには、リン酸化に影響する薬剤への感受性から protein kinase C

(PKC) と protein kinase A (PKA) に感受性のものと、Ca<sup>2+</sup>/calmodulin に感受性のものとの二つのグループに分けられることを見いだした。PKC と PKA の作用は相補的で、PKC (A) の阻害は PKA (C) の活性化で補完できるが、calmodulin 拮抗薬の作用は PKC/A の活性化では補完できない。さらにこれらリン酸化調節薬をすべて使っても、cyclopiazonic acid で見られるような細胞内カルシウム濃度の上昇は見られないことから、こうしたリン酸化に影響されないタイプのカルシウムポンプも存在することが示唆された。

**Keywords** : megakaryocytes, Ca<sup>2+</sup>-pump, protein kinase C

\* 九州大学医学部

Ogasawara, H., Imaida, K., Ishiwata, H., Toyoda, K., Kawanishi, T., Uneyama, C., Hayashi, S., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Urinary bladder carcinogenesis induced by melamine in F344 male rats: correlation between carcinogenicity and urolith formation** *Carcinogenesis*, **16**(11), 2773~2777 (1995)

食塩投与に伴う飲水量の増加によって尿の排泄量が増加し、尿路系の結石形成が抑制されることが知られている。今回、メラミン投与によって認められるラットの膀胱腫瘍発生と膀胱結石形成との因果関係を調べる目的で、メラミンと食塩を同時に投与し、結石形成の抑制による膀胱腫瘍発生率への影響について調べた。動物は F344/DuCrj 系雄ラットを用い、3%あるいは1%のメラミン含有食を投与する群、それぞれの濃度のメラミン含有食に10%あるいは5%の割合で食塩を混じて投与する群、10%の食塩含有食を投与する群、および基礎食のみを投与する群の計8群を設けた。投与期間は36週間とし、その後全群を基礎食に戻してさらに4週間飼育した。投与期間中、食塩を投与した群では食塩の投与濃度に相関して飲水量の増加がみられた。メラミン投与群における膀胱結石の形成率は同時投与した食塩の濃度に相関して低下した。膀胱の移行上皮癌と乳頭癌の発生率はそれぞれ3%メラミン投与群で90%と55%、3%メラミン+5%食塩投与群で90%と25%、3%メラミン+10%食塩投与群で0%と15%、1%メラミン投与群で21%と42%、その他の群ではいずれも0%であり、食塩の同時投与によって膀胱腫瘍の発生が抑制されることが明らかとなった。その他、腎盂移行上皮の過形成病変の発生率も同時投与した食塩の濃度に相関して低下した。また、得られた膀胱結石を分析した結果、結石の主成分はメラミンと尿酸であり、メラミンの含量が26.3~35.9%、尿酸の含量が34.8~45.3%であった。以上の結果から、メラミン投与によるラットの尿路系上皮の増殖性病変発生の要因がメラミンの化学的な直接作用ではなく結石の物理的刺激による二次的な作用であること、また、形成された膀胱結石の主成分がメラミンと尿酸の塩であることが示唆された。

**Keywords** : melamine, urinary bladder carcinogenesis, urolith

Takayama, S.\*<sup>1</sup>, Akaike, M.\*<sup>2</sup>, Kawashima, K., Takahashi, M. and Kurokawa, Y.: **A collaborative study in Japan on optimal treatment period and parameters for detection of male fertility disorders induced by drugs in rats**

*J. Am. Coll. Toxicology*, **14**(4), 266~292 (1995)

雄投精能を評価するための適切な検索項目と投与期間を明らかにする目的で、16社の製薬企業を中心とした研究所の研究者の協力により実験が行われた。

動物は主にSDラットを用い、使用薬物は抗癌剤、抗精神薬、抗痲呆薬、ホルモン、ビタミン、抗高血圧薬、利尿薬、その他で、すでに精巣あるいは精子に対し毒性があることが知られている物質が選ばれた。投薬期間は主として4週間とし、そのほか2週間や、6あるいは9週間の処置が選ばれた。その結果、4週間投与により雄性生殖能の障害が把握できることが明らかとなり、さらに、9週間まで投与を継続すると障害が増強される薬物が多いことが判明した。特に、精巣および副生殖腺の病理組織学的検索を適正に実施することにより、雄性生殖能の障害を把握できることが明らかとなった。さらに精子検査、雄性生殖器重量測定、授精能を評価することにより障害をより詳細に評価することができる。

**Keywords** : male fertility, testicular toxicity, reproductive toxicity

\* 製薬協

Takayama, S.\*, Akaike, M.\*, Kawashima, K., Takahashi, M. and Kurokawa, Y.: **Studies on the optimal treatment period and parameters for detection of male fertility disorder in rats**

*J. Toxicol. Sci.*, 20(3), 173~182 (1995)

16社の製薬企業を中心とした研究所の研究者の協力により、雄授精能を評価するための適切な検索項目と投与期間を明らかにする目的で実験が行われた。

動物は主にSDラットを用い、使用薬物は抗癌剤、抗精神薬、抗痲呆薬、ホルモン、ビタミン、抗高血圧薬、利尿薬、その他である。用いられた化合物はアドリアマイシン、 $\alpha$ クロロヒドリン、化合物C、化合物E、化合物T、サイクロフォスファミド、エストラジオールベンゾエート、エチニルエストラジオール、エトレチネート、ハロペリドール、ネフィラセタム、ニトラゼパム、ニトロフラゾン、ピロドキシシン、レセルピンで、投薬期間は主として4週間とし、そのほか2週間や、6あるいは9週間の処置が選ばれた。その結果、4週間投与により雄性生殖能の障害が把握できることが明らかとなった。さらに、9週間まで投与を継続すると障害が増強される薬物が多い。特に、精巣および副生殖腺の病理組織学的検索を適正に実施することにより、雄性生殖能の障害を把握できることが明らかとなったほか、精子検査、雄性生殖器重量測定、授精能を評価することにより障害をより詳細に評価することができる。

**Keywords** : male fertility, testicular toxicity, reproductive toxicity

\* 製薬協

Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.\*<sup>1</sup>, Shimo, T., Yasuhara, K., Kitaura, K.\*<sup>2</sup>, Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Effect of thyroid stimulating hormone on the development and progression of rat thyroid follicular cell tumors**

*Cancer Lett.*, 92, 193~202 (1995)

N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) 2800 mg/kgを単回皮下投与したF344ラットにsulfadimethoxine (SM)を0.1%の濃度で16週間飲水投与し、その後4週間の回復期間を設け、甲状腺の過形成病変および腫瘍性病変の細胞増殖活性ならびに血中の甲状腺関連ホルモンを経時的に検索した。血清中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)値はSM投与開始1週後から増加して8週後に最高値に達し、その後次第に低下したものの16週後まで対照群に比べて有意に高かった。甲状腺のろ胞上皮細胞の過形成および腺腫が4週後から、癌は8週後から発生した。

投与の初期においては高いTSH値に一致してこれらの病変の細胞増殖活性も高かったが、過形成および腺腫の細胞増殖活性はSMの投与期間が延びるにしたがって急速に低下した。回復期間の後、血清中TSH値は正常値以下に復帰し、過形成および腺腫の細胞増殖活性も非常に低下した。浸潤性の増殖を示す癌にも細胞増殖活性が顕著に低下したものがあつた。これらの結果から、甲状腺腫瘍発生の早期においては血清TSH値の高値が重要な役割を果たすが、浸潤性増殖を示す腫瘍のなかにもTSH刺激に依存性のものもあることが示唆された。

**Keywords** : thyroid carcinogenesis, sulfadimethoxine, thyroid stimulating hormone

\*<sup>1</sup> 佐々木研究所病理

\*<sup>2</sup> 大塚製薬徳島研究所

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Yoshimura, H., Imazawa, T., Hayashi, S.\*, Onodera, H., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Relationship between the development of pulmonary fibrosis and lung tumors in Syrian golden hamsters induced by N-methyl-N-nitrosourethane**

*Toxicologic Pathology*, 23, 551~559 (1995)

肺線維症に合併する肺癌の組織発生を解明する目的で、ハムスターにN-methyl-N-nitrosourethane (MNUR) 0.6 mg/kgを隔週1回、計5回、背部皮下に投与後26週間無処置のまま飼育、途中経時的に剖検し、誘発肺増殖性病変について組織学的に検索すると共に、細胞増殖能について検索した。MNUR投与により間質性肺炎が発現し、4週以後、肺胞壁には膠原線維の増生がみられると共に、呼吸上皮由来の腫瘍および過形成性病変が誘発された。腫瘍は細気管支肺胞上皮腫瘍と診断され、形態学的に好塩基性細胞、明細胞あるいは異型大型細胞から成る乳頭状腫瘍の3タイプに分類された。細胞増殖活性は異型大型細胞から成る腫瘍が最も高く、出現頻度は好塩基性細胞から成る腫瘍が最も多く認められた。過形成性病変は、腺上皮化生、単純あるいは乳頭状過形成の3タイプに分類され、腺上皮化生が最も多く認められたが、細胞増殖活性では乳頭状過形成において陽性細胞が多く認められた。

以上のことより乳頭状過形成が前腫瘍性病変の可能性が示唆されたが、慢性炎症に伴う線維化巣に必ずしも随伴するものではなかった。

**Keywords** : carcinogenesis, histopathology, immunohistochemistry

\* 武田薬品・薬安研

Hayashi, S., Mitsumori, K., Imaida, K., Imazawa, T., Yasuhara, K., Uneyama, C. and Hayashi, Y.: **Establishment of an animal model for pulmonary fibrosis in mice using monocrotaline**

*Toxicologic Pathology*, 23, 63~71 (1995)

ヒト肺線維症の実験モデルとして有用なものが少ないことから、肺線維症実験モデル作成を計画、その予備実験として雄マウスに200あるいは100 mg/kgのモノクロタリン(MC)を週1回、15週間背部皮下に投与し、検索した結果、200 mg/kg群は激しい間質性肺炎のために実験途中で全例が死亡したが、100 mg/kg群では軽度な肺病変が観察された。以上の結果を基に6週齢の雄マウスに200あるいは100 mg/kgのMCを週1回、9あるいは18週間投与し、その後無処置で飼育、実験開始28週目に屠殺、剖検し、検索した。また、実験開始8, 19, 25週目に一部の動物を検索した。200 mg/kg群の動物は激しい間質

性肺炎のために25週目までに全例が死亡した。100 mg/kg 群では28週目で27.5%の動物が生存し、組織学的に著しい間質性肺炎と肺の線維化が観察された。今回の実験より、MC投与により生じた肺障害は不可逆的な肺線維症に移行し、この動物モデルは肺線維症と肺がんとの病因を解明する上で有用であると考えられた。

**Keywords** : pyrrolizine alkaloid, diffuse alveolar damage, interstitial pneumonia

Matsui, H., Mitsumori, K., Yasuhara, K., Onodera, H., Shimo, T. and Takahashi, M.: **Morphological evaluation of cyclophosphamide testicular toxicity in rats using quantitative morphometry of spermatogenic cycle stages**

*J. Toxicol. Sci.*, 20, 407~414 (1995)

抗腫瘍剤であるcyclophosphamide (CP) は精祖細胞の分裂を抑制することにより精巣毒性を引き起こすとされている。しかし、ライディヒ細胞およびセルトリ細胞には障害を及ぼさないことから、毒性変化を形態学的に把握することは困難なことが多い。そこで性成熟に達した9週齢の雄性SD系ラットに第1群ではCP 100 mg/kgを単回経口投与、第2群にはCP 100 mg/kgを2日間、その後50 mg/kgを3日間、計5日間経口投与し、第1群では投与後1, 7, 14, 21日目に、第2群では最終投与後1, 4日目に動物を屠殺、精巣を摘出しブアン液で固定、パラフィン切片を作成した。H-EおよびPAS染色を施し、各動物ともステージII, V, VII, XIIの4つのステージにつき精細胞数を計測、定量的に評価した。第1群では、7日目にプレレプトテン期精母細胞(PI)の減少が、14日目にはPIおよびザイゴテン期精母細胞、21日目にはパキテン期精母細胞の減少が認められた。第2群では、最終投与後1日目から精祖細胞の減少が認められた。以上のことから今回実施した精子形成サイクルの4つのステージを計測することにより、単回投与においても7日目より明かな障害性変化が検出できた。また、反復投与を行い、ステージ解析を行うことにより、より明瞭に精巣毒性を評価できることが示された。

**Keywords** : testicular toxicity, quantitative morphometry, spermatogenic cycle stage

Shimo, T.\*<sup>1</sup>, Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.\*<sup>2</sup>, Ueno, Y.\*<sup>3</sup>, Saito, A.\*<sup>1</sup>, Aoki, Y.\*<sup>1</sup> and Takahashi, M.: **Enhancement of rat thyroid proliferative lesion development by step-wise increasing dose treatment with sulfadimethoxine**

*J. Toxicol. Pathol.*, 8, 417~426 (1995)

甲状腺増殖性病変の発生が抗甲状腺物質の連続投与と比べ漸増投与によって亢進するか否かを検討するために、DHPN (2800 mg/kg, 単回皮下投与) でイニシエーション処置した雄ラットに0.1% sulfadimethoxine (SM) を20週間飲水投与する第1群、SMの0.025, 0.05および0.1%をそれぞれ8, 4および4週間飲水投与する第2群、SMの0.025, 0.05, 0.1および0.2%をそれぞれ8, 4, 4および4週間飲水投与する第3群および20週間無処置で飼育する第4群を設定した。第3群の甲状腺重量は第1群と比べて有意に増加した。3処置群の血清T3およびT4値は第4群と比べて有意に減少し、第3群の血清T4値は第1群と比べても有意に低値を示した。3処置群の血清TSH値は第4群と比較して著明に増加し、第2および第3群では第1群と比べて有意に高かった。第2および第3群の濾胞上皮過形成および第3群の腺管状腫瘍の発生個数は

第1群と比べ有意に増加し、前2者の群では濾胞上皮、過形成および腺管状腫瘍の細胞増殖活性も有意に高かった。以上の結果より、SMの漸増投与により甲状腺増殖性病変の発生が亢進することが示され、漸増投与法はラット甲状腺二段階発癌モデルにおいて腫瘍プロモーター検出に非常に有用であると考えられた。

**Keywords** : step-wise increasing dose treatment, thyroid tumorigenesis, sulfadimethoxine

\*<sup>1</sup> 北陸製薬中央研究所

\*<sup>2</sup> 佐々木研究所病理

\*<sup>3</sup> 東京大学薬学部

Shimo, T.\*<sup>1</sup>, Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.\*<sup>2</sup>, Ueno, Y.\*<sup>3</sup>, Katayama, J.\*<sup>1</sup>, Saito, A.\*<sup>1</sup> and Takahashi, M.: **Effect of rat thyroid proliferative lesion development by intermittent treatment with sulfadimethoxine**

*Cancer Lett.*, 96, 209~218 (1995)

甲状腺増殖性病変の発生が抗甲状腺物質の連続投与と比べ間欠投与によって亢進するか否かを検討するために、N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN, 2800 mg/kg, 単回皮下投与) でイニシエーション処置した雄のF344ラットに0.1% sulfadimethoxine (SM) を20週間飲水投与する第1群、0.1% SMで最初8週間飲水投与し、その後2週間休薬と0.1% SMの4週間再投与を2回反復処置する第2群を設定した。さらに、DHPN処置後20週間にわたり無処置とする第3群を設定した。第1および第2群の血清T3およびT4値は第3群と比べて有意に減少し、一方これらの投与群の血清TSH値は第3群と比べて著明に増加した。第2群の濾胞上皮過形成の発生個数および濾胞上皮ならびに過形成の細胞増殖活性は第1群と比べて有意に増加した。下垂体前葉の電顕検査において、第1および第2群のTSH産生細胞に電子密度の高い顆粒を含む粗面小胞体の拡張が認められた。第2群の細胞質内分泌顆粒数は第1群と比べて中等度に減少した。以上の結果より、SMの間欠投与により甲状腺腫瘍性病変の発生が亢進する可能性が示唆された。

**Keywords** : thyroid tumorigenesis, intermittent treatment, sulfadimethoxine

\*<sup>1</sup> 北陸製薬中央研究所

\*<sup>2</sup> 佐々木研究所病理

\*<sup>3</sup> 東京大学薬学部

Imazawa, T., Nishikawa, A., Tada, M.\*<sup>1</sup>, Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Nucleolar segregation as an early marker for DNA damage; an experimental study in rats treated with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide**

*Virchows Archiv*, 426, 295~300 (1995)

4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (4HAQO) は強力な発癌物質で、げっ歯類に投与すると脾臓、皮膚、肺等に腫瘍を誘発することが知られている。本研究では、4HAQOによる毒性の早期の生物学的指標としての核小体分離を追求する目的で、標的および非標的臓器について、超微形態学的に核小体分離および4HAQO-DNA付加体形成について経時的に検索した。

核小体分離の出現率は脾臓細胞では投与6時間後で、副腎皮質細胞では4時間後で最も高く、その後両細胞とも漸次減少した。

4HAQO-DNA付加体形成は、核小体分離のみられた脾臓細胞および副腎皮質細胞に認められ、両細胞とも陽性率が

投与4時間後に最高値を示した。また、電顕的に脾臓房細胞にアポトーシスが観察された。以上のことから、4HAQOの発癌性を含めた毒性発現について、核小体分離とDNA付加体形成の標的細胞が同一であることが判明した。核小体分離はDNA損傷の後に生じる可能性が示され、毒性物質が標的細胞のDNAに作用したことの形態学的証拠となりうることを示唆された。

**Keywords**: nucleolar segregation, 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide, apoptosis

\* 愛知がんセンター

Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Ikezaki, S., Hasegawa, T.\* and Takahashi, M.: **Effects of caffeine on glandular stomach carcinogenesis induced in rats by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine and sodium chloride**

*Fd. Chem. Toxic.*, **33**, 21~26 (1995)

ウィスター系雄ラットに *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) を 100 ppm の濃度で飲水中に混じ、同時に NaCl を 5% の混餌として 8 週間投与した。その後 4 群に分け、第 1 群には 5% NaCl 混餌食と 0.25% カフェイン溶液を 32 週間にわたり与えた。第 2 群および第 3 群には、それぞれ NaCl 混餌食およびカフェイン溶液のみを同様に投与し、第 4 群には基礎食と水道水を与えた。その結果、幽門部腺癌の発生率は、第 2 群に比し第 1 群で有意に減少した ( $p < 0.05$ )。また、5 週間の短期試験において、NaCl 摂取によるラット腺胃粘膜の脂質過酸化亢進がカフェインの併用投与で抑制された。これら成績は、カフェインが NaCl のプロモーション活性に対し抑制的に作用することを示唆する。

**Keywords**: caffeine, gastric cancer, rat

\* 佐賀医大

Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Ikezaki, S., Otsoshi, T., Fukushima, S.\* and Takahashi, M.: **Cell proliferation in lung fibrosis associated hyperplastic lesions**

*Human & Experimental Toxicology*, **14**, 701~705 (1995)

肺線維症に随伴する細気管支肺胞領域の上皮過形成性病変を核小体形成体部位関連蛋白 (AgNORs) および増殖細胞核抗原 (PCNA) の組織化学により検索した。プレオマイシン投与肺 5 例或は放射線照射肺 14 例の剖検肺を、肺線維症のない対照肺 6 例および肺扁平上皮癌 4 例と比較した。プレオマイシン例、放射線照射例ともに、異型的な細気管支肺胞上皮過形成および扁平上皮化生における平均 AgNORs 数は、対照肺の細気管支肺胞上皮に比して有意に増加していた。しかし、扁平上皮癌と比較するとその数は有意に少なかった。PCNA の成績は、AgNORs の結果に一致するものであった。以上より、肺の線維化過程に出現する細気管支肺胞領域の異型の過形成性病変は、肺癌に準ずる高い増殖活性を有することが示唆された。

**Keywords**: lung fibrosis, AgNOR, PCNA

\* 大阪市大医学部

Mori, Y.\*<sup>1</sup>, Iimura, K.\*<sup>1</sup>, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M. and Konishi, Y.\*<sup>2</sup>: **Effect of cigarette smoke on the mutagenic activation of various carcinogens in hamster**

*Mutat. Res.*, **346**, 1~8 (1995)

雄性ハムスターにハンブルグ II 型喫煙装置にて 30 本の

タバコの煙を 9 分間、1 日 2 回 (5 日/週) 曝露し、肝の S<sub>9</sub> を調製した。また、フェノバルビタール (PB) あるいは 3-メチルコラントレン (MC) を処置した肝 S<sub>9</sub> も調製した。TA98 菌株と TA100 菌株を用いて、ヘテロサイクリックアミン、ニトロサミン、芳香族炭化水素および芳香族アミンの変異原活性への影響について検索した。ニトロサミンの変異原性は PB により、その他は MC により選択的に誘導された。喫煙曝露した肝 S<sub>9</sub> は、ヘテロサイクリックアミンの TA98 株に対する変異原活性のみを誘導した。以上より、喫煙曝露はハムスター肝において CYP1A1/1A2 を選択的に誘導することが示唆された。

**Keywords**: cigarette smoke, mutagenicity, hamster

\*<sup>1</sup> 岐阜薬大

\*<sup>2</sup> 奈良医大がんセンター

Enami, T., Nishikawa, A., Furukawa, F., Mitsui, M., Yoshimura, H., Takahashi, M. and Fukushima, S.\*: **Protective effects of butylated hydroxyanisole against bleomycin induced diffuse alveolar damage in hamsters**

*J. Toxicol. Pathol.*, **8**, 7~14 (1995)

雄性ハムスターにプレオマイシン (5 mg/kg) を経気管投与後、butylated hydroxyanisole (BHA) あるいは butylated hydroxytoluene (BHT) を 1% の濃度で 31 日間にわたり混餌投与した。その結果、BHA 投与群の生存率はプレオマイシン単独群に比し有意に高かった。病理組織学的に、プレオマイシン単独群の死亡例には強い肺の水腫および出血が観察されたが、BHA の投与はこれらの変化を著明に軽減し、肺の再生過程を促進する傾向がみられた。また、BHA 投与群の生存例では、肺気腫性変化がより軽度であった。一方、BHT は顕著な影響を示さなかった。以上より、BHA はプレオマイシンによる急性肺胞障害の発生に対し抑制的に作用することが明らかとなった。

**Keywords**: BHA, alveolar damage, hamster

\* 大阪市大医学部

Nishikawa, A., Furukawa, F., Mitsui, M., Enami, T., Imazawa, T., Ikezaki, S. and Takahashi, M.: **Dose-dependent promotion effects of potassium chloride on glandular stomach carcinogenesis in rats after initiation with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine and the synergistic influence with sodium chloride**

*Cancer Res.*, **55**, 5238~5241 (1995)

ラットの二段階胃発癌モデルを用いて、塩化カリウムの修飾作用を検索した。6 週齢のウィスター系雄ラットに *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) を 100 ppm の濃度で 10 週間にわたり飲水投与後、塩化カリウムあるいは塩化ナトリウムを 2.5% および 5% の濃度で、また両物質を各 2.5% の濃度で混合し、62 週間混餌投与した。その結果、腺胃における異型的上皮過形成巣の動物あたりの平均個数は、塩化カリウムおよび塩化ナトリウムの併用投与により用量相関性の有意な増加を示した。また、幽門部における腺癌の発生頻度は、塩化カリウムと塩化ナトリウムの同時投与群のみで有意に増加した。

**Keywords**: KCl, NaCl, stomach cancer

池崎信一郎, 古川文夫, 黒川典子, 塚田道子, 三浦絵美, 西川秋佳: **ApopTag<sup>TM</sup> in situ アポトーシス検出キットの検討**

実験病理組織技術研究会誌, **4**, 23~26 (1995)

DNA断片化を組織切片上で検出する方法として TUNEL法があり、アポトーシスの同定に利用されている。この TUNEL法を応用したアポプ・タグ *in situ* アポトーシス検出用キットを用い、BOPにより誘発した肝細胞腺腫の切片における染色性について検討した。腺腫組織には慢性に陽性細胞が散見され、また周囲組織の肝内胆管上皮細胞にも陽性細胞が認められた。胆管上皮細胞はアポトーシスの形態学的特徴が認められないのに陽性を示し、DNAの断片化を標識している可能性が考えられた。本キットは、組織切片上でDNAの断片化の確認およびその程度の定量などを簡便に検討できる点で有用と考えられた。

**Keywords:** ApopTag, TUNEL method, hamster

Kim, H.-C.\*, Lee, Y.-S.\*, Furukawa, F., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Enhancement of GST-P positive liver foci development by medium-term carcinogenicity bioassay using repeated administration of D-galactosamine**

*Cancer Letters*, 98, 71~76 (1995)

この研究は、肝部分切除をしないで、それに代わりD-ガラクトサミン (DGA) を用いた新しい中期発癌性検索モデルを開発する目的で行った。雄 F344 ラットに DEN を投与し、DGA を3週間後に投与した。DGAの影響を高めるために合計2回投与し、2-AAPはプロモーション段階に混餌で投与した。一方のモデルは、同様に DEN を投与後、肝部分切除し、2-AAPを投与した。両モデルを肝の GST-P 陽性細胞数を指標に単位面積当たりの陽性細胞面積、個数で比較検討した。その結果、PH群は体重の増加抑制が認められたのに対して、DGA処置群は影響を及ぼさなかった。両方のモデルは肝に対して強い発癌性を示す2-AAFに対して効果的だったが、特に、単位面積当たりの GST-P 陽性細胞数と面積は PHモデルに比し、DGAのモデルは鋭敏であった。PHよりDAGのモデルは、多数の環境化学物質の発癌性を検索するには有用であり、また鋭敏であることが示唆された。

**Keywords:** medium-term bioassay, GST-P, D-galactosamine

\* Korea Research Institute of Chemical Technology

Suzuki, T., Hayashi, M., Myhr, B.\* and Sofuni, T.: **Diethylnitrosamine is mutagenic in liver but not in bone marrow of lacZ transgenic mice (Muta™ Mouse)**

*MMS Commun.*, 3, 33~39 (1995)

Diethylnitrosamine (DEN) は強い肝発がん物質であるが、マウスを用いる変異原性試験では陰性を示す化合物として知られている。これは、小核試験には一般に血液系の細胞を材料とするため、肝臓で代謝され活性体となる DEN の変異原性が検出できないためと考えられる。In vivoにおいて遺伝子突然変異を検出可能なトランスジェニックマウスを用いる変異原性試験は、すべての臓器が解析の対象とできるため、肝臓での DEN の変異原性の検出には適している。今回は、標的遺伝子として大腸菌の lacZ 遺伝子を導入した Muta Mouse を用い、DEN 投与後の肝臓と骨髄における lacZ 遺伝子の変異頻度を解析した。また同時に末梢血を用いる小核試験を行い染色体異常誘発性についても比較した。その結果、肝臓における変異頻度は DEN 投与により3~5倍に上昇したが、骨髄に於いては全く変化が見られなかった。また、小核試験においては、過去の報告と同様に陰性の結果が得られた。これらの結果から、トランスジェニックマウスを用いる変異原性

試験により、DENの肝臓特異的な変異原性が検出でき、発がんの臓器特異性の予測にも役立つ系であることが示唆された。また、小核試験と組み合わせることにより、in vivoでの変異原性試験としてより有効な試験系となりうると考えられる。

**Keywords:** DEN, transgenic mouse, lacZ mutation

\* Corning Hazleton

Ushijima, T.\*, Hosoya, Y.\*, Suzuki, T., Sofuni, T., Sugimura, T.\* and Nagao, M.\*: **A rapid method for detection of mutations in the lacI gene using PCR-single strand conformation polymorphism analysis: demonstration of its high sensitivity**

*Mutation Res.*, 334, 283~292 (1995)

lacI トランスジェニックマウス (BigBlue®) 用いた変異原性試験法により得られた変異 lacI 遺伝子の迅速な塩基配列解析のために、PCR-single strand conformation polymorphism (SSCP) 法を利用した。lacI 遺伝子の全長は約1Kbであるがこの全長をPCRにて増幅後、制限酵素処理により8つの断片とした。これを一本鎖とした後、アクリルアミドゲル電気泳動し、バンドの位置の変化により変異を含む断片を特定した (SSCP解析)。その後変異断片をカバーするプライマーにより sequencing を行い、変異を同定した。この手法を使って、160個の変異体について解析を行ったところ、標準条件 (0% glycerol, 20°C) の SSCP 解析で146個の変異について同定できた。さらに、泳動条件を変えることにより、残りの8個 (5% glycerol, 20°C)、および6個 (5% glycerol, 10°C) の変異が同定され、すべての変異体について塩基配列変化を決定できた。この結果は、PCR-SSCP法が250bp以下の変異断片の特定に非常に有効であることを示しており、トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験により得られた変異体の解析に有用であることを示した。

**Keywords:** PCR-SSCP, DNA sequence, lacI mutation

\* 国立がんセンター研究所

Ono, T.\*, Miyamura, Y.\*, Ikehata, H.\*, Yamanaka, H.\*, Kurishita, A.\*, Yamamoto, K.\*, Suzuki, T., Nohmi, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Spontaneous mutant frequency of lacZ gene in spleen of transgenic mouse increases with age**

*Mutation Res.*, 334, 183~188 (1995)

老化のメカニズムを説明する際、体細胞における突然変異の蓄積が原因となっているとする“体細胞突然変異説”は、発がんとの関連においても注目されている。この体細胞における遺伝子突然変異が加齢とともに蓄積するかどうかを調べるモデルとして、トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験は大変有用だと考えられる。我々は、lacZ 遺伝子を突然変異検出のためのマーカーとして組み込んだトランスジェニックマウスである Muta Mouse を用い、その脾臓における自然突然変異頻度の経時変化を解析した。その結果、新生児における lacZ 遺伝子の変異頻度が  $3.2 \times 10^{-5}$  であったのに対し、マウスの加齢に伴ってその頻度は直線的に上昇し、12ヶ月齢では  $8.3 \times 10^{-5}$  となった。導入遺伝子はマウス体内では発現せず、その突然変異はマウス体内で選択を受けないと考えられることより、自然突然変異は加齢のプロセスにおいて常に起きており、老化とともにその蓄積がおこることを今回の結果は支持するものである。

**Keywords:** aging, transgenic mouse, lacZ mutation

\* 東北大学

Suzuki, T., Hayashi, M., Honma, M. and Sofuni, T.: **Micronucleus induction by monocrotaline in mouse peripheral blood**

*MMS Commun.*, **3**, 81~85 (1995)

ピロリジン骨格を有する植物アルカロイドであるモノクロタリンは、アルキル化能を有し、動物に対する発がん性を示すことより IARC により Group 2B の発がん物質として分類されている。この化合物の *in vivo* における変異原性評価のため、マウス末梢血を用いた小核試験を行った。雄 ICR マウスにモノクロタリン (25~200 mg/kg) を腹腔内投与し、48 時間後に末梢血を採取しアクリジンオレンジ超生体染色法により小核の誘発を調べたところ、用量依存的な強い小核の誘発がみられた (2% at 200 mg/kg)。同様の作用は ddY マウスを用いた実験によっても確認され、これらの結果より、モノクロタリンが *in vivo* において強い染色体異常誘発性を持つことが明らかとなった。

**Keywords** : monocrotaline, micronucleus test, peripheral blood

Nohmi, T., Yamada, M., Matsui, K., Watanabe, M. and Sofuni, T.: **Specific disruption of *samAB* genes in a 60-megadalton cryptic plasmid of *Salmonella typhimurium***

*Mutation Res.*, **329**, 1~9 (1995)

*umuDC* 遺伝子は、大腸菌の紫外線や化学物質で起こる突然変異誘発に必須な役割を果たしている。ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) には 2 種類の *umuDC* 類似遺伝子、*umuDC<sub>ST</sub>* と *samAB* が存在する。この 2 種類の *umuDC* 類似遺伝子の内、60 メガダルトン・プラスミド上にある *samAB* 遺伝子の特異的に破壊した株を作製した。この株では、紫外線に対する突然変異誘発能の減少は見られず、むしろ野生型株よりも突然変異誘発能が約 2 倍上昇していた。*umuDC<sub>ST</sub>* 欠損株や、*umuDC<sub>ST</sub>* と *samAB* の 2 重欠損株は、紫外線照射を受けても突然変異を起こさなかった。以上の結果から、ネズミチフス菌の紫外線突然変異誘発は、主に染色体上の *umuDC<sub>ST</sub>* 遺伝子に依ることが示唆された。

**Keywords** : mutagenesis, *Salmonella typhimurium*, *samAB*

Komano, T.\*, Kim, S.-R. and Yoshida, T.\*: **Mating variation by DNA inversions of *shufflon* in plasmid R64**

*Adv. Biophys.*, **31**, 181~193 (1995)

InclI プラスミド R64 の 54-kb からなる接合伝達領域の塩基配列決定により、48 個のオープンリーディングフレームが同定された。シャフロンと呼ばれる複雑な DNA 再編成領域は、細線毛の形成に必要とされる遺伝子群の下流に位置する。この領域は、*pilV* 遺伝子の 7 種の C-末端部の内 1 つを選択する生物スイッチとして機能している。*pilV* の遺伝子産物は、液内接合に必要とされる細線毛の構成成分の 1 つであることが明らかになった。*pilV* 遺伝子の C-末端部が 7 種に固定された R64 誘導体プラスミドを作製し、それを持つ菌と各種細菌群との間で接合伝達実験を行った。その接合伝達の頻度は、供与菌内の *pilV* 遺伝子の C-末端部と受容菌の組み合わせに大きく依存していた。これは、シャフロンがプラスミド R64 の液内接合において受容菌の特異性を決めていることが示された。

**Keywords** : *shufflon*, plasmid R64, conjugal transfer

\* 東京都立大学理学部

Kikuno, T.\*, Honma, M., Ogura, S.\*, Mizusawa, H., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **DNA fingerprint analysis in chemically mutagenized Chinese hamster lung cells**

*Mutation Res.*, **338**, 87~93 (1995)

ミニサテライトプローブ Per-6 を用いた DNA フィンガープリント法で各種変異原で処理したチャイニーズハムスター細胞 (CHL) でのミニサテライト遺伝子突然変異の検出を試みた。CHL 細胞での自然突然変異頻度は 0.31~0.63% であり、試みた全ての変異原は突然変異の誘発を示した。特にマイトマイシン C と AF2 は自然誘発の 10 倍以上の誘発を起こした。全ての試験において 4.2, 3.8, 2.4 bp のバンドの変異が共通に観察された。これらバンドに相当するミニサテライトは特に変異をおこし易いホットスポットと考えられる。DNA フィンガープリント法は遺伝や老化によってもたらされる遺伝的不安定性を検出する系として有用であると考えられる。

**Keywords** : minisatellite, DNA fingerprinting, genetic instability

\* 化学品検査協会日田研究所

The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)\*: **Protocol recommended by the CSGMT/JEMS. MMS for the short-term mouse peripheral blood micronucleus test**

*Mutagenesis*, **10**, 153~159 (1995)

日本環境変異原学会の下部組織である哺乳動物試験研究会がこれまでにやってきた小核試験に関する共同研究の成果をまとめ、末梢血を用いる小核試験のための試験プロトコールについて述べた報告書である。試験に用いる動物種、系統、性、投与回数、標本作製時期、標本作製法、観察法、得られた結果の評価法におよぶ研究会としての推奨法が述べられている。今後、末梢血を用いる小核試験を実施する場合に力強い指針となることが予想されている。

**Keywords** : protocol, recommendation, mouse peripheral blood micronucleus test

\* 62 機関の共同研究

Hayashi, M. and Sofuni T.: **The need for three dose levels to detect genotoxic chemicals in *in vivo* rodent assays**

*Mutation Res.*, **327**, 247~251 (1995)

変異原研究法の国際調和を図るメルボルンでの国際ワークショップおよび OECD による変異原性試験法ガイドラインの改正等で、*in vivo* の小核試験を始めとする細胞遺伝学試験において、用量反応関係を見るため少なくとも 3 用量段階の試験が必要であるとされている。これに対して、限界用量 (2 g/kg) を用いる場合等では、1 用量段階で十分評価可能であるとの反論が発表された。本論分は、データベースならびに統計学的考察より、たとえ限界用量での試験であっても 1 用量では見落とす可能性があるため、やはり 3 用量試験が必要であることを強調した論文である。

**Keywords** : *in vivo* genotoxicity assay, dose level

林 真, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄: **複合効果の理論的考察—*In vivo* 小核誘発性について—**

環境変異原研究, **17**, 93~98 (1995)

ヒトが化学物質に暴露される様式は常に複合的である。遺伝毒性を始め一般的に化学物質の安全性を評価する試験系においては、単独の化学物質に関して評価を行うことがほとんどである。末梢血を用いる小核試験を用いることに

より、常に最適な条件下で試験を行うことが可能となったので、2種類の化学物質を同時に投与して、複合効果について検討を加え、得られた結果を解析して理論的な解説をした総説である。実際のデータにより、2種の化合物の小核誘発に対する加算効果、見かけの相乗効果、真の相乗効果について考察を加えた。

**Keywords** : combination effect, micronucleus, synergism

Hayashi, M. and Sofuni T.: A reaction to 'A sequential approach to testing with the rodent bone marrow micronucleus assay'

*Mutation Res.*, **331**, 173~174 (1995)

げっ歯類の骨髄を用いる小核試験の新しい方法として段階的に用量を変えて評価しようとする手法が紹介された。さらに、当該論文においてはデータの評価に関する記述が重要な位置を占めていたが、データ評価の最も重要な要因は反応の再現性であり、統計学的な評価はほとんど役に立たないものであった。本論文はそれに反論を加えるもので、適切な統計手法の適用がデータ評価において重要な役割を果たしうることを述べ、統計学的な有意性と生物学的意義を考えあわせながら評価することこそ重要であるとした。

**Keywords** : micronucleus assay, statistics, data evaluation

Sato, S.\*<sup>1</sup>, Taketomi, M.\*<sup>1</sup>, Nakajima, M.\*<sup>2</sup>, Kitazawa, M.\*<sup>2</sup>, Shimada, H.\*<sup>3</sup>, Ito, S.\*<sup>3</sup>, Igarashi, M.\*<sup>3</sup>, Higashikuni, N.\*<sup>4</sup>, Sutou, S.\*<sup>4</sup>, Sasaki, Y. F.\*<sup>5</sup>, Hayashi, M., Sofuni, T., Higashiguchi, T.\*<sup>6</sup>, Nito, S.\*<sup>6</sup>, Kondo, Y.\*<sup>6</sup>, Honda, S.\*<sup>7</sup>, Hayashi, M.\*<sup>7</sup>, Shinagawa, Y.\*<sup>7</sup>, Nakajima, E.\*<sup>8</sup>, Oka, Y.\*<sup>8</sup>, Shimoi, K.\*<sup>9</sup>, Hokabe, Y.\*<sup>9</sup>, Morita, A.\*<sup>9</sup>, Kinae, N.\*<sup>9</sup>, Takeuchi, M.\*<sup>10</sup>, Hirono, H.\*<sup>10</sup>, Yamamura, E.\*<sup>10</sup> and Tamai, K.\*<sup>11</sup>: Effect of aging on spontaneous micronucleus frequencies in peripheral blood of nine mouse strains: the results of the 7th collaborative study organized by CSGMT/JEMS-MMS

*Mutation Res.*, **338**, 51~57 (1995)

変異遺伝部で開発した末梢血を用いる小核試験法の適用により、動物を殺すことなく経時的に標本を作製し、小核出現頻度を求めることが可能となった。日本環境変異原学会の下部組織である哺乳動物試験分科会の共同研究として、マウスの末梢血を生生涯にわたり毎月採取し、加齢に伴う小核の自然出現頻度に変化が認められるか否かを評価した論文である。加齢モデルの系統を含め9系統を用いて検討した。その結果、約1年半位までは小核の自然出現頻度にほとんど変化は認められなかった。しかし、系統によっては、死亡する直前に小核の誘発の認められる場合もあった。目下、詳細な統計学的な解析を行っている。

**Keywords** : micronucleus, aging, CSGMT/JEMS-MMS

\*<sup>1</sup> 日本たばこ産業(株)

\*<sup>2</sup> (財)食品農医薬品安全性評価センター

\*<sup>3</sup> 第一製薬(株)

\*<sup>4</sup> 伊藤ハム(株)

\*<sup>5</sup> 八戸工業高等専門学校

\*<sup>6</sup> 田辺製薬(株)

\*<sup>7</sup> 富山県衛生研究所

\*<sup>8</sup> 東洋紡

\*<sup>9</sup> 静岡県立大学

\*<sup>10</sup> 吉富製薬(株)

\*<sup>11</sup> 保健科学研究所

Mäki-Paakkanen, J.\*<sup>1</sup>, Hayashi, M., Suzuki, T., Tanabe, H., Honma, M. and Sofuni, T.: Analysis by fluorescence *in situ* hybridization with a mouse gamma satellite DNA probe of isolated micronuclei induced in mice by two clastogens and two spindle poisons

*Mutagenesis*, **10**, 513~516 (1995)

小核は染色体の構造異常によって誘発される動原体を持たない断片に由来するものと、分裂装置の異常による動原体を有する1本または数本の染色体に由来するものがある。これらの生成機構を検討するには、小核に動原体が存在するか否かを検討することにより予測可能である。本論文では、出現頻度の極端に低い小核を数多く解析するため、末梢血より小核のみを分離する方法を開発し、分離した小核に対して動原体付近の塩基配列を持つDNAプローブを用いて分子雑種形成法を適用した。その結果、染色体の構造異常を誘発する化学物質によって誘発された小核と比較して、染色体の数的異常を誘発することが知られている紡錘体阻害剤を用いると動原体を有する小核の出現頻度が上昇していることを明らかにした。

**Keywords** : fluorescence *in situ* hybridization, isolated micronuclei, mouse gamma satellite DNA

\* National Public Health Institute, Finland

The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test\*: Individual data in the results of the 7th collaborative study organized by CSGMT/JEMS-MMS

*MMS Commun.*, **3**, 117~131 (1995)

マウスの末梢血を生生涯にわたり毎月採取し、加齢に伴う小核の自然出現頻度に変化が認められるか否かを評価した論文に用いた全データを収録したものである。加齢モデルの系統を含め9系統について、各標本作成時点での、各マウスあたりのデータであり、論文の読者が独自にデータ評価を行いたい場合に不可欠な情報である。さらに、本論文に収録した全データは希望者にはフロッピーディスクによる機械可読ファイルとしても提供可能である。

**Keywords** : aging, spontaneous MNRETs frequencies, accelerated-senescence models

\* 12 機関の共同研究

(日本たばこ産業(株), (財)食品農医薬品安全性評価センター, 第一製薬(株), 伊藤ハム(株), 八戸工業高等専門学校, 田辺製薬(株), 富山県衛生研究所, 東洋紡, 静岡県立大学, 吉富製薬(株), 保健科学研究所)

Honma, M. and Little, J. B.\*: Recombinagenic activity of the phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in human lymphoblastoid cells

*Carcinogenesis*, **16**, 1717~1722 (1995)

強力な発がんプロモーターであるTPAの変異原性および組換え活性をヒトリンパ球細胞のチミジンキナーゼ(tk)遺伝子を利用した突然変異アッセイにより検討した。低濃度のTPA (0.01~1.0 µg/ml) では突然変異の誘発は顕著でなかったのに対して、高濃度 (1.0~10 µg/ml) では自然誘発の4倍程度の突然変異の誘発を認めた。変異体のtk遺伝子をサザン法により解析したところ、その80%がLOH型の突然変異であり、そのLOHの大部分はアリル間の組換えによるものであった。しかし、その全体の突然変異スペクトラムは自然突然変異のそれと近似していた。

TPA は DNA に対し直接損傷を与えず、遺伝的不安定を増強する事により突然変異を誘発するのかもしれない。そしてこの作用が TPA のプロモーション作用と関係しているのかも知れない。

**Keywords** : 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TK6, thymidine kinase

\* Harvard School of Public Health

Zang, L.-S.\*, Honma, M., Hayashi, M., Suzuki, T., Matsuoka, A. and Sofuni, T.: **A comparative study of TK6 human lymphoblastoid and L5178Y mouse lymphoma cell lines in the *in vitro* micronucleus test** *Mutation Res.*, **347**, 105~115 (1995)

ヒトリンパ球細胞株 TK6 とマウスリンフォーマ細胞 L5178Y を用いて染色体異常誘発物質や細胞分裂毒に対する小核の誘発性を比較した。大部分の変異原は TK6 細胞に対し低濃度で小核の誘発を示した。しかし細胞毒性あたりの小核誘発率は L5178Y 細胞の方が高かった。両細胞とも *in vitro* での小核試験に有用であることが明らかとなった。

**Keywords** : micronucleus (MN), TK6, L5178Y

\* 華西医科大学

Tanabe, H., Ishida, T.\*, Ueda, S.\*, Sofuni, T. and Mizusawa, H.: **Comparative mapping of the immunoglobulin C-epsilon 1 gene (IGHE) in five species of nonhuman primates by fluorescence in situ hybridization**

*Cytogenetics and Cell Genetics*, **70**, 239~242 (1995)

ヒト免疫グロブリン C-epsilon 1 遺伝子は、14 番染色体上の長腕末端領域 14q32.33 にマッピングされている。ヒト 14 番染色体の核型進化を理解する目的で、FISH 法と QFQ バンディング法とを組み合わせ、この遺伝子の霊長類染色体上における比較マッピングを行った。その結果、C-epsilon 1 遺伝子は PTR15q32 (チンパンジー)、PPA15q32 (ピグミーチンパンジー)、PPY15q32 (オランウータン)、HLA17qter (シロテテナガザル)、MFU7q29 (ニホンザル) にマッピングされた。これらはすべてヒト 14 番染色体と対応する染色体上の長腕末端領域であり、ヒト 14 番染色体と対応する霊長類染色体が進化的に syntenic な構造を保持していることが示唆された。また C-epsilon 1 遺伝子がヒト以外霊長類においても新しいテロメア領域 DNA マーカーとなり得ることを示していた。

**Keywords** : comparative mapping, C-epsilon 1 gene, fluorescence *in situ* hybridization

\* 東京大学理学部

Harasawa, R.\* and Mizusawa, H.: **Demonstration and genotyping of pestivirus RNA from mammalian cell lines**

*Microbiol. Immunol.*, **39**, 979~985 (1995)

種々の動物に由来する 20 種の細胞株について reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を使用してペスティウイルスの混入をテストした結果 75 % にのぼる 15 株に混入が認められた。また、RT-PCR 法によるペスティウイルスの 5' 端非翻訳領域 (UTR) はその後塩基配列を直接確認し、この領域に 3 種類のステムループ構造を利用してペスティウイルスの同定を試みた。その結果、テストしたウシ由来の細胞全てが I, II および III 型のいずれかの型を持つウシ下痢症ウイルス (BVDV) に汚染されていることが明らかになった。また、ネコ、イヌ、

および霊長類に由来する培養細胞は II 型の BVDV に汚染されていることが見出され、ChIEs 細胞は border disease virus (BVD) に汚染されていることが見出された。培養細胞に関連するこれらのウイルスによる汚染は、これまであまり詳細に調査されてきていないので今後の検討が必要である。

**Keywords** : RT-PCR, animal cell lines, genotyping of pestivirus genome

\* 東京大学医学部附属動物実験施設

Masui, T.: **Establishment of an outgrowth culture system to study growth regulation of normal human epithelium**

*In Vitro Cell. Develop. Biol.*, **31**, 440~446 (1995)

正常ヒト上皮細胞の増殖調節機構を研究するために、我々は正常ヒト子宮外頸部上皮細胞の outgrowth 培養系を開発した。この培養系で上皮細胞は増殖と細胞移動の調和を保ちつつシートとして同心円状に増殖する。増殖の速度は半径の増加率として定量的に扱え、設定された条件の中で一定である。また、小さなものから直径 30 mm を越えるものまで outgrowth での細胞の密度が一定である。これらの増殖と細胞密度は症例の個体差が無く現在 59 症例について同様の結果を得ている。培地の検討過程において従来の正常ヒト上皮細胞の培養系と異なり血清と高濃度のカルシウムイオンに依存して増殖するなど特徴のある増殖機構を示す。この培養系は生体内での上皮細胞の増殖動態に近い増殖特性を示すものとして分子生物学的解析にも耐える格好のモデルシステムである。

**Keywords** : normal human epithelial cells, outgrowth culture, *in vitro* model

Kamata, E., Nakadate, M., Ogawa, Y., Kaneko, T., Kurokawa, Y. and Yukawa, M.\*: **Acute inhalation toxicity study of formaldehyde in rats: Effect of vapor on the pulmonary surfactant**

*Oyo Yakuri*, **51**, 33~37 (1996)

ホルムアルデヒドの肺表面活性物質に対する作用を検討する目的で、雄 F-344 ラットに 128.4 または 294.5 ppm のホルムアルデヒドを 6 時間一回吸入暴露した。

暴露中、呼吸困難、閉眼、流涙、出血性鼻汁、流涎が見られ、剖検所見では、気管周囲の浮腫、胸水、肺および鼻粘膜の充血が観察された。

肺洗浄液中のリン脂質分析では、phosphatidylcholine 量が用量に伴って減少し、その他のリン脂質では、294.5 ppm 暴露群のみに減少が観察された。これらの結果から、ホルムアルデヒドの高濃度暴露により肺表面活性物質の分泌抑制が判明した。

**Keywords** : formaldehyde vapor, acute inhalation study, pulmonary surfactant

\* 日本大学農獣医学部

岡田敏史, 吉井公彦, 小松裕明: **熱分析法の医薬品試験への応用 (1) 熱重量分析法による乾燥減量試験および水分測定**

医薬品研究, **26**, 598 (1995)

熱分析法の一手法である熱重量分析法 (TG) を医薬品の乾燥減量試験 (LOD) および水分測定へ応用した。15 種類の実薬につき、TG 法による分析結果と LOD およびカールフィッシャー (KF) 法による水分測定の結果との比較検討を行った。その結果、硫酸ビンプラスチンを除き、TG 法による減量率が LOD または KF 法による水分測定

結果によく一致することが明らかとなった。硫酸ビンプラスチンの場合、揮発性成分として水分だけでなく残留溶媒としてエタノールを含むことがTG-MSによる分析により明らかとなった。この結果、TG法は乾燥減量試験または水分測定法の代替法として有力な分析手段であることが結論された。特に、貴重なサンプルで試料量に制約がある場合のLOD、KF試薬に非溶解性であったり、残留溶媒を含む試料の水分測定などへの応用が期待される。

**Keywords** : thermal analysis, thermogravimetry, water content

岡田敏史, 吉井公彦, 小松裕明: 熱分析法の医薬品試験への応用 (2) 示差走査熱量測定法による純度試験  
医薬品研究, 27, 169 (1996)

示差走査熱量測定法(DSC)は、相転移またはガラス転移など、熱変化に伴う物質の状態変化を観察する手段であり、転移温度とそれに伴う熱量変化から、物質の特性を明らかにしようとする分析手段である。本報告では、医薬品原薬のDSC測定により得られる融解ピークの解析から、原薬中の不純物総量(mole%)を求めるための基礎的な検討を行った。NISTの純度標準物質を用いて分析条件の検討を行い、試料量、加熱速度、融解ピークにおける解析の範囲など、純度解析に適切なDSC測定条件および解析法を定めた。3種の日局標準品(アセトアミノフェン、エテンザミド、ニコチン酸アミド)中に一定量の不純物を混入させ、自製の純度標準試料を調製し、これを用いてDSC法による純度解析法の妥当性を検証した。この結果、不純物量2mole%以下であれば、ほぼ満足な分析結果の得られることを明らかにした。

**Keywords** : differential scanning calorimetry, impurity analysis, NIST thermal analysis purity set

Yomota, C., Yoshii, Y., Takahata, T. and Okada, S.: Separation of B-3 monodesamidoinulin from human insulin by high-performance liquid chromatography under alkaline conditions  
*J. Chromatogr. A*, 721, 89~96 (1996)

ヒトインスリン中に生成することが知られている、A-21位のモノデスアミド体およびB-3位のモノデスアミド体は、アルカリ性溶離液を用いる逆相液体クロマトグラフィーにより同時に分離分析可能であることを明らかにした。従来の純度試験に用いられている酸性溶離液を用いる方法では、B-3モノデスアミド体は、インスリン主ピークに含まれ、分離されていなかった。また、上記方法と同時にキャピラリー電気泳動によりB-3モノデスアミド体の生成を追い、長期保存されたインスリン製剤中にはA-21モノデスアミド体よりも、B-3モノデスアミド体が多く生成することを示した。

**Keywords** : human insulin, monodesamido body, HPLC

谷本 剛: 医薬品の迅速分析, A ヒト尿由来ウロキナーゼ (原体および製剤)

月刊薬事, 37(9), 2047~2050 (1995)

ヒト尿由来ウロキナーゼの力価は二段法と呼ばれる方法で測定されているが、この方法は操作が煩雑で精度も低く、測定コストが極めて高いという欠点がある。このような欠点は医薬品の監視業務の円滑な遂行にとって大きな障害となるので、高精度で簡便迅速な方法として合成ペプチド基質を用いた分光学的測定法を確立した。また、この迅速分析法を活用する上での留意点等について解説した。

**Keywords** : urokinase, urinary urokinase, simple and

rapid assay method

谷本 剛, 横田椅江, 早川堯夫: トロンビンの合成基質を用いた定量法の確立に関する基礎的研究  
医薬品研究, 27(3), 132~135 (1996)

日局トロンビンの定量法はフィブリノーゲンを用いて凝固時間を測定する方法であるが、この方法は操作が煩雑であるとともに測定精度が低いという欠点がある。この点を改良する目的で合成基質を用いた分光学的定量法の確立を試み、ペプチド合成基質, L-phenylalanyl-pipecoyl-arginine-p-nitroanilide (S-2238)を用いたトロンビンの活性測定条件を確立した。この活性測定法は日局に規定されている凝固法と比較して操作時間が約1/5に短縮され、操作自体も極めて容易な方法であった。測定精度に関しても、合成基質法はその変動係数が1.2%であり、日局法(変動係数:6~21%)より明らかに低く、この点に関しても合成基質法は優れていた。

**Keywords** : thrombin, colorimetric assay, chromogenic substrate

Komatsu, H. and Okada, S: Permeability of ethanol-induced interdigitated membrane

*Prog. Anesthetic Mech.*, 3, 362~367 (1995)

ジバルミトイルフォスファチジルコリンからなる大きな一枚膜リポソームの、エタノールによる膜透過性への影響について、リポソーム内水相に封入した蛍光色素カルセインの漏れを指標として検討した。その結果、0.5Mから1.3Mのエタノールが共存した場合、膜の透過性が急増した。このエタノール濃度領域では、指組み膜(Interdigitated Gel Structure Membrane)と呼ばれる特異な膜構造(向かい合った脂質のアシル鎖が互いにかみ合ったような構造)と通常の二分膜構造が共存する、いわゆる膜の相分離状態であった。指組み膜は、膜の厚みが通常の二分子膜に比べて小さく、また膜の疎水領域のアシル鎖の動きが小さく、堅いのが特徴である。したがって、相分離状態では、膜の相境界での構造の歪みが大きく、不安定であり、漏れが増加したと考えられた。このことは、生体膜の機能の一つである膜透過性制御に、指組み膜構造相の形成が関与している可能性を示唆するとともに、このような膜透過性の亢進がアルコールによってもたらされることを考えると、エタノールによる指組み膜形成とアルコール中毒症や依存症との関連性が示唆された。

**Keywords** : membrane permeability, liposome, interdigitation

Komatsu, H., Kitajima, A. and Okada, S.: Pharmaceutical characterization of commercially available intravenous fat emulsions: Estimation of average particle size, size distribution and surface potential using photon correlation spectroscopy

*Chem. Pharm. Bull.*, 43, 1412~1415 (1995)

市販の脂質エマルジョン製剤である、高カロリー輸液製剤(6品目)および脂溶性薬物の輸送担体であるリポ化製剤(4品目)の平均粒子径、粒子径分布、分散性および長期安定性の指標となる表面電位(ゼータ電位)を動的光散乱法により評価した。その結果、数換算、体積換算およびZ-平均粒子径、分散比等の粒子径プロファイルが製品により様々であった。また通常製剤評価指標として用いられている平均粒子径は、その製剤を評価するには不十分であり、粒度分布を示す指標、例えば、分散比等を併用することが必要であった。一方、ゼータ電位は、脂質分散系粒子

製剤の長期安定性予測のための有効な指標であることが、改めて確認された。しかし、測定の際の試料の希釈に際し、ゼータ電位が希釈液に依存することが実証され、希釈液の選択に注意を払わなければならないことが明らかとなった。

**Keywords** : fat emulsion, particle size, zeta potential

Itoh, N.\*, Komatsu, H., Handa, T.\* and Miyajima, K.\*: **Emulsion and vesicle formation of retinol and retinyl palmitate with egg yolk phosphatidylcholine** *J. Colloid Interface Sci.*, **174**, 148~155 (1995)

レチノール (ビタミン A) またはレチニルパルミテート (ビタミン A のパルミチン酸エステル) と卵黄レシチンとの混合性について拡張圧の測定から検討した。その結果、レチノールとレシチンは混合し、超音波処理により 2 分子膜を形成することが示された。一方、レチニルパルミテートとレシチンは混合せず、モル比 1.4 以上において、エマルジョン様粒子以外に過剰のレシチンにより形成されたラメラ構造が凍結切断法による電子顕微鏡写真や X 線小角散乱測定から明らかとなった。しかし、このラメラ構造は、通常見られるものと異なり、繰り返し間隔が 70 nm であり、また  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトル測定から、シャープな異方性ピークが観測された。このように、ビタミン A のエステル化やエステルの加水分解は、レチノールとレシチンからなる脂質分子集合体の構造に大きく影響を与えることが明らかとなり、ビタミン A の血中挙動を考える上で重要な指針となった。

**Keywords** : emulsion, retinol, liposome

\* 京都大学薬学部

Suzuki, T.\*, Komatsu, H. and Miyajima, K.\*: **Effects of glucose and its oligomers on the stability of freeze-dried liposomes**

*Biochim. Biophys. Acta.*, **1278**, 176~182 (1996)

リポソーム製剤の長期保存法として凍結乾燥法を検討する目的で、グルコースとそのオリゴ糖の凍結乾燥時のリポソーム破壊に対する保護作用のメカニズムにつき、リポソーム内の内水相に封入した蛍光色素カルセインのリークを指標として、種々のリン脂質からなるリポソームを用いて検討した。その結果、糖の長さが長いオリゴ糖ほど内封物の保持率が低下したが、これは長いオリゴ糖ほど疎水的な性質が増加し、リポソームの凝集や融合を促進するためであることが明らかとなった。また糖の再水和時と乾燥時での脂質膜の相状態がともにゲル相である場合は漏出が抑制されるが、ゲル相で他方が液晶相である場合、再水和時に膜の相分離が生じ、膜構造の不安定さから内封物のリークが増加した。一方、糖の添加により、リポソーム膜の相転移温度が低下し、乾燥時・再水和時ともにゲル相となることが示差走査熱分析法により確認され、凍結乾燥に対する糖の保護作用の機構が明らかとなった。

**Keywords** : liposome, freeze-dry, saccharide

\* 京都大学薬学部

Komatsu, H. and Okada, S: **Increased permeability of phase-separated liposomal membranes with mixtures of ethanol-induced interdigitated and non-interdigitated structure**

*Biochim. Biophys. Acta.*, **1237**, 169~175 (1995)

ジパルミトイルフォスファチジルコリンからなる大きな一枚膜リポソームのエタノールによる膜透過性への影響について、リポソーム内水相に内封した蛍光色素カルセインの漏れを指標として検討した。その結果、0.5 M から 1.3

M のエタノールが共存した場合、膜の透過性が急増した。このエタノール濃度領域では、指組み膜 (Interdigitated Gel Structure Membrane) と呼ばれる特異な膜構造 (向かい合った脂質のアシル鎖が互いにかみ合ったような構造) と通常の二分膜構造が共存する、いわゆる膜の相分離状態となっていた。指組み膜は、膜の厚みが通常の二分膜に比べて小さく、また膜の疎水領域のアシル鎖の動きが小さく、堅いのが特徴である。従って、この相分離状態では、膜の相境界での構造の歪みが大きく、不安定であり、漏れが増加したと考えられた。このことは、生体膜の機能の一つである膜透過性制御に、指組み膜構造相の形成が関与している可能性を示唆するとともに、このような膜透過性の亢進がアルコールによってもたらされることを考えると、指組み膜形成とアルコール中毒症や依存症との関連性が示唆された。

**Keywords** : liposome, ethanol, interdigitation

Komatsu, H. and Okada, S: **Ethanol-induced aggregation and fusion of small phosphatidylcholine liposomes: Participation of interdigitated membrane formation in their processes**

*Biochim. Biophys. Acta.*, **1235**, 270~1719 (1995)

超音波処理した小さなジパルミトイルレシチンリポソームのエタノールによる凝集と膜融合の機構について、動的散光法によるリポソームの見かけの粒子径変化の測定、蛍光エネルギー移動法による膜融合の挙動、およびフリーズフラクチャー法により調製した試料の電子顕微鏡写真撮影等により検討した。その結果、44 mg/ml 以上のエタノールが共存した場合、リポソームの顕著な凝集や融合が見られた。このエタノール濃度領域では、指組み膜 (Interdigitated Gel Structure Membrane) と呼ばれる膜構造 (向かい合った脂質のアシル鎖が互いにかみ合ったような構造) が形成される。この特異な膜構造の形成により、膜表面の疎水性が増し、このことにより膜間の疎水の相互作用が増加し、リポソームの凝集が誘起され、また一部の膜の融合が見られたことが明らかとなった。これらの結果は、このエタノールによる指組み構造膜の形成が、生体膜の機能制御に関与している可能性を示唆するとともに、アルコール中毒症や依存症とエタノールによる指組み構造膜の形成との関連性が示された。

**Keywords** : liposome, ethanol, interdigitation

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 中塚一美\*, 柴田正: **GC による農産物中のプロモブチド脱臭素体およびジメピペレート等 14 種含窒素農薬の分析** *食衛誌*, **36**, 613~621 (1995)

厚生省告示 (1995 年 9 月) 中の 10 種含窒素農薬の一斉分析法を応用して、ジメピペレート, テニルクロール, プロベナゾール, プロモブチドおよびプロモブチド脱臭素体を含む 15 種の化合物の一斉分析法を作成した。

穀類は 10.0 g, 果実, 野菜は 20.0 g をとり, アセトンを加え抽出した後, 酢酸エチルに転溶した。酢酸エチル溶液を脱水して濃縮し, 穀類はアセトニトリル・ヘキサン分配で脱脂した後, 抽出溶液とした。抽出溶液をフロリジルラムで精製した後アセトンを加えて正確に 5 ml とし, FTD-GC で測定して農薬を定量した。小麦中のエスプロカルブ, ジェトフェンカルブ, チオベンカルブは FTD による検出では妨害ピークのため測定できず, GC/MS (SIM) で定量した。15 種の化合物の 10 種農産物への添加回収率 (添加量: プロベナゾール 0.5 ppm, その他 0.1 ppm) は 65.9~103.4% であった。また検出限界は,

0.005~0.05 ppmであった。

**Keywords:** dimepiperate, bromobutide, gas chromatography

\*1 大阪薬科大学

津村ゆかり, 後藤祐之介\*1, 宗形 希\*2, 中村優美子, 外海泰秀, 柴田 正: GCによる農産物中のフェナリモールおよびレナシルの分析

食衛誌, 37, 119~122 (1996)

著者らが作成した14種の含窒素農薬の一斉分析法を用いてフェナリモールおよびレナシルの定量を行い, この2農薬にも適用可能であることを示した。

穀類は10.0g, 果実, 野菜は20.0gをはかり, アセトンを加え抽出した後, 酢酸エチルに転溶した。酢酸エチル溶液を脱水して濃縮し, 穀類はアセトニトリル・ヘキサン分配で脱脂した後, 抽出溶液とした。抽出溶液をフロリジルカラムで精製した後アセトンを加えて正確に5mlとし, FTD-GCで測定して農薬を定量した。フェナリモールとレナシルの10種農産物への添加回収率(添加量: 果実・野菜は0.1ppm, 穀類は0.2ppm)は72.8~92.2%, 検出限界は0.01ppmであった。

**Keywords:** fenarimol, lenacil, gas chromatography

\*1 神戸農林水産消費技術センター

\*2 大阪薬科大学

外海泰秀, 中村優美子, 津村ゆかり, 柴田 正, 木村実加\*, 大田光恵\*, 平原嘉親\*, 宮田昌弘\*, 成田美加子\*, 関口幸弘\*, 糸山智子\*, 鯉口 智\*, 長谷川眞住\*, 三好智子\*, 鎌倉和政\*, 前田憲二\*, 山名孝善\*: ベンフラカルブおよびカルボスルファンのGC分析に及ぼす食品由来成分の影響

食衛誌, 36, 506~515 (1995)

農作物中のベンフラカルブ, カルボスルファン, カルボフランおよび3-ヒドロキシカルボフランを同時に抽出し, GCおよびHPLCで測定する分別定量法を検討した。ベンフラカルブおよびカルボスルファンは試験溶液中に食品成分が共存すると, GC測定時にカルボフランに分解するので, 分解防止には試験溶液をSep-Pakフロリジルなどで十分にクリーンアップする必要がある。

**Keywords:** benfuracarb, carbosulfan, carbofuran

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

糸山智子\*, 関口幸弘\*, 鯉口 智\*, 平原嘉親\*, 大田光恵\*, 木村実加\*, 三好智子\*, 成田美加子\*, 長谷川眞住\*, 宮田昌弘\*, 鎌倉和政\*, 前田憲二\*, 山名孝善\*, 外海泰秀: GC法による玄米中の各種農薬の簡易, 迅速な系統分析

食衛誌, 36, 516~524 (1995)

玄米中有機リン系43種, 有機含窒素系24種, 有機塩素系14種およびピレスロイド系11種, 合計92種類の農薬についてGCによる系統的分析法を検討した。本法により米国, 中国およびオーストラリアから輸入された玄米246検体について検査し, GC/MSで確認した結果, 米国産3検体, 中国産6検体よりマラチオンが0.01~0.1ppmの範囲で検出された。

**Keywords:** pesticide, gas chromatography, brown rice

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

長谷川眞住\*, 関口幸弘\*, 鯉口 智\*, 鎌倉和政\*, 成田美加子\*, 平原嘉親\*, 三好智子\*, 宮田昌弘\*, 前田憲二\*, 外海泰秀: 畜肉中の残留有機塩素系農薬および合

成抗菌剤の系統的分析法ならびに合成抗菌剤のGC/MSによる確認法の検討

衛生化学, 41, 470~477 (1995)

畜肉中の7種有機塩素系農薬および13種合成抗菌剤を試料からアセトニトリルで同時に抽出し, それぞれをクリーンアップした後, 前者はECD-GC, 後者はUV-HPLCで測定し, スクリーニングする方法について検討した。実試料から検出されたNCZをGC/MSで確認し, TMPについてもGC/MSによる確認法を作成した。

**Keywords:** organochlorine pesticide, synthetic antibacterial, HPLC

\* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

Ishimitsu, S., Ohmori\*, N., Tsuji. S. and Shibata, T.: Formation of a hydroxyl radical from tar dye by photo-illumination

Chem. Pharm. Bull., 43, 1810~1812 (1995)

フェニルアラニン存在下0.1Mクエン酸緩衝液中インジゴカルミン(B-2)を光照射すると水酸化が認められ, 水酸化生成物として*p*-, *m*-および*o*-tyrosineが生成した。しかし, 他の食用色素では水酸化は認められなかった。B-2の水酸化はpH依存性で, pH4.0付近で最大であった。溶液中に溶解している空気を窒素で置換しながら光照射したところ, 水酸化およびB-2の分解は完全に抑制された。一方, 酸素を通気させたところ水酸化およびB-2の分解は促進された。

スーパーオキシドディスムターゼおよびカタラーゼの添加により水酸化は抑制された。ヒドロキシルラジカルの捕捉剤の添加は水酸化を抑制した。これに反して, 一重項酸素の捕捉剤の添加では水酸化は抑制されなかった。これらの結果から, 好氣的条件下B-2を光照射することによりヒドロキシルラジカルが生成すること, また, ヒドロキシルラジカルはスーパーオキシドラジカルと過酸化水素との反応により生成することが明らかとなった。

**Keywords:** indigo carmine, photochemical reaction, hydroxylradical

\* 大阪薬科大学

山田真記子\*1, 加藤喜昭\*1, 中村幹雄\*1, 石光 進, 柴田 正, 伊藤啓志男\*2: HPLCによる食用赤色102号中の未反応原料および付随色素の定量法とその実態調査

食衛誌, 36, 417~422 (1995)

食用タール色素の中で食用赤色40号のみ純度試験として未反応原料, 反応中間体および付随色素の規格値およびHPLCによる試験法が設定されている。しかし, 他の11種類のタール色素にはこれらの規格値ならびに試験法は設定されていない。そこで, HPLCを用い食用赤色102号の未反応原料ならびにその不純物であるナフチオン酸(NA), G塩(GS), 7-ヒドロキシ-1,3,6-ナフタレントリスルホン酸塩(TS), R塩(RS), シェファー塩(SS)および付随色素であるボンソー6R(P6R), 食用赤色2号(R-2), ファーストレッドE(FRE)の定量法を作成した。本報での定量限界は, 0.05μg/gであった。市販品の定量を行ったところ, TSは0.005~0.044%, GSは0.044~0.284%, NAは0.013~0.196%であり, RSおよびSSは検出されなかった。付随色素はP6Rが0.008~0.169%, R-2がND~0.279%, FREが0.007~0.100%であった。

**Keywords:** new coccine, starting materials, subsidiary colors

\*1 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

\*2 武庫川女子大学薬学部

矢田朋子\*<sup>1</sup>, 扇間昌規\*<sup>1</sup>, 石橋正博\*<sup>2</sup>, 大澤テイ子\*<sup>3</sup>, 三島靖子\*<sup>3</sup>, 大城善昇\*<sup>4</sup>, 黒田弘之\*<sup>5</sup>, 後藤宗彦\*<sup>6</sup>, 齊藤和夫\*<sup>7</sup>, 西島基弘\*<sup>7</sup>, 佐藤 稔\*<sup>8</sup>, 辻 澄子, 宮川あし子\*<sup>9</sup>, 渡辺哲子\*<sup>9</sup>, 宮部正樹\*<sup>10</sup>, 山本勝彦\*<sup>10</sup>, 森田茂\*<sup>11</sup>, 深澤喜延\*<sup>12</sup>, 細貝祐太郎\*<sup>13</sup>, 広末トシ子\*<sup>13</sup>, 山田 隆, 山本 章\*<sup>14</sup>, 中垣俊郎\*<sup>14</sup>, 森下秀樹\*<sup>14</sup>, 川本明男\*<sup>15</sup>, 伊藤登志男\*<sup>1</sup>: 日本人の A 群食品添加物 (食品の常成分として存在しない食品添加物) の世代別, 食品群別および地域別一日摂取量調査研究  
日食化誌, 2, 54~63 (1995)

47種のA群食品添加物の世代別, 食品群別および地域別一日摂取量を調査した。食品添加物の一日摂取量の合計値は成人が最も高く, 次いで学童, 高齢者の順であった。三世代とも, 摂取量の最も高い食品添加物はプロピレングリコールであった。食品群別摂取量においては, 成人および学童では4群(魚介類, 肉類)および2群(穀類)が高く, 高齢者では4群が高かった。地域別摂取量においては三世代とも西部地域が高かった。ADIに対する割合が最も高かったのは学童のプロピレングリコールの5.9%であり, 低いレベルであることが判明した。

**Keywords**: food additives, daily intake, ADI

- \*<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部
- \*<sup>2</sup> 北九州市環境科学研究所
- \*<sup>3</sup> 仙台市衛生研究所
- \*<sup>4</sup> 沖縄県衛生環境研究所
- \*<sup>5</sup> 香川県衛生研究所
- \*<sup>6</sup> 島根県衛生公害研究所
- \*<sup>7</sup> 東京都立衛生研究所
- \*<sup>8</sup> 札幌市衛生研究所
- \*<sup>9</sup> 長野県衛生公害研究所
- \*<sup>10</sup> 名古屋市衛生研究所
- \*<sup>11</sup> 大阪市立環境科学研究所
- \*<sup>12</sup> 山梨県衛生公害研究所
- \*<sup>13</sup> 女子栄養大学
- \*<sup>14</sup> 厚生省生活衛生局食品化学課
- \*<sup>15</sup> 日本食品添加物協会

高 知美\*<sup>1</sup>, 矢田朋子\*<sup>1</sup>, 飛松佳江\*<sup>1</sup>, 浜崎奈津代\*<sup>1</sup>, 田淵佳子\*<sup>1</sup>, 藤井美樹\*<sup>1</sup>, 扇間昌規\*<sup>1</sup>, 辻 澄子, 柴田正, 伊藤登志男\*<sup>1</sup>: 日本人の食用タール色素の一日摂取量調査研究

日食化誌, 2, 64~68 (1995)

加工食品中の食用タール色素の日本人1人あたりの1日摂取量を, HPLCを用いて加工食品中の残留量を測定することにより求めた結果, 0.9 mg/dayであった。最も摂取の多い食品群は7群(果実類, 野菜類, 海藻類)であった。最も摂取の多い色素は黄色4号であり, その摂取量は0.63 mg/dayでADIの0.17%に相当した。また, 西部地域の摂取量は多く, 東部の2倍であった。世代別では成人が最も多く摂取しており, いずれの世代も7群(果実類, 野菜類, 海藻類)からの摂取が多かった。

**Keywords**: food coal-tar dyes, daily intake

- \*<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部

木村実加, 梅本美佳, 辻 澄子, 柴田 正, 山田真記子\*<sup>1</sup>, 加藤喜昭\*<sup>1</sup>, 井上哲男\*<sup>1</sup>, 中村幹雄\*<sup>1</sup>, 伊藤登志男\*<sup>2</sup>: 食用青色1号アルミニウムレーキ中の水溶性塩化物および水溶性硫酸塩試験法についての検討  
食衛誌, 36(6), 717~724 (1995)

公定法(第6版食品添加物公定書)を用いた食用青色1号アルミニウムレーキ中の水溶性硫酸塩の添加回収率は極めて低く, また水溶性塩化物の含量は抽出法の相違によ

て異なる値が得られた。そこで同レーキ中の水溶性塩化物および水溶性硫酸塩の試験法を改良した。改良法は塩化物イオン, 硫酸イオンのレーキからの遊離を促すリン酸緩衝液を用いるもので, 食用青色1号アルミニウムレーキ1.000 gを正確に量り, 0.1 Mリン酸緩衝液(pH 7) 10 mlおよび水90 mlを加え, 振とう機で5分間振とうし, ろ過後イオンクロマトグラフィーで測定するという方法である。この方法で再現性の良い結果が得られた。

**Keywords**: food blue No. 1 aluminium lake, water soluble chloride, ion chromatography

- \*<sup>1</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

- \*<sup>2</sup> 武庫川女子大学薬学部

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Developmental toxicity evaluation of mono-*n*-butyl phthalate in rats**

*Toxicol. Lett.*, 78, 101~106 (1995)

可塑剤 butyl benzyl phthalate および dibutyl phthalate のラットにおける主要な代謝物の一つである mono-*n*-butyl phthalate (MBuP) をラットの器官形成期に投与して, その発生毒性について検討した。250, 500 または 625 mg/kg の MBuP をラットの妊娠7日(精子発見日=妊娠0日)から妊娠15日まで経口投与し, 妊20日に妊娠ラットを帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。500 および 625 mg/kg 投与群における妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量は対照群に比べて有意に低かった。500 mg/kg 以上の投与量で対照群に比べて有意に高い着床後の胚-胎児死亡率, および有意に低い胎児体重が観察された。

奇形を有する胎児の発現頻度は500 および 625 mg/kg 投与群において対照群に比べて有意に高かった。口蓋裂, 頸椎, 胸椎などにおける椎体および椎弓の癒合および欠損, 胸骨分節癒合, 腎盂拡張などの異常が多く観察された。

**Keywords**: monobutyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Emma, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Comparative developmental toxicity of butyltin trichloride, dibutyltin dichloride and tributyltin chloride in rats**

*J. Appl. Toxicol.*, 15, 297~302 (1995)

ラットの妊娠7日および8日(精子発見日=妊娠0日)に1000, 1500 または 2000 mg/kg の butyltin trichloride (BTCl), 10 または 15 mg/kg の dibutyltin dichloride (DBTCl), 40 または 80 mg/kg の tributyltin chloride (TBTCI) を経口投与し, 妊娠20日に帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。BTCl 投与の結果, 1500 および 2000 mg/kg 投与で妊娠ラットの死亡率が有意に上昇し, 1000 および 1500 mg/kg 投与で妊娠ラットの体重増加が有意に低下したが, 着床後の胚-胎児死亡率および奇形胎児発現頻度の有意の上昇は見られなかった。DBTCl 投与の結果, 妊娠ラットの体重増加および胎児体重の有意の低下, 着床後の胚-胎児死亡率および奇形胎児発現頻度の有意の上昇が両投与群で認められた。外脳症, 下顎裂, 唇裂, 舌癒合, 湾曲足, 椎骨および肋骨異常, 小無眼症などが DBTCl 投与によってみられた。TBTCI 投与群では妊娠ラットの体重増加が有意に低下し, 着床後の胚-胎児死亡率が有意に上昇したが, 奇形胎児の発現率の上昇は見られなかった。これらの結果から, BTCl, DBTCl および TBTCI の発生毒性の感度および発現様式は異なることが示唆された。

**Keywords** : butyltins, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Iwase, T.\*, Iwase, Y.\* and Ogawa, Y.: **Dysmorphogenic effects of di-*n*-butyltin dichloride in cultured rat embryos**

*Toxic. in Vitro*, 9, 703~709 (1995)

妊娠8日のラットに投与したときに強い催奇形作用を示す di-*n*-butyltin dichloride (DBTCl) の全胚培養系における奇形誘発作用を検討した。妊娠8日のラット胚を3, 10または30 ng/mlのDBTClを加えた培養液で68時間培養した。30 ng/ml暴露群において胚および卵黄囊の血管発育良好な胚の頻度, 卵黄囊径, 胚の頭腎長, 胚の体節数の有意の低下が観察された。DBTClの暴露濃度に比例した形態異常指標の低下および形態異常胚の出現頻度の増加が見られ, これらには10および30 ng/ml暴露群において対照群との間の有意差が認められた。前神経管閉存および頭顔部の異常が高頻度で見られた。これらの結果から, DBTClは *in vitro* における着床後のラット胚に対して胚毒性を有し, また, 奇形誘発作用をも有することが明らかになった。

**Keywords** : dibutyltin dichloride, whole embryo culture, embryotoxicity

\* Toxicology Laboratory, Yokohama Research Center, Mitsubishi Chemical Co.

Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Comparative developmental toxicity of di-, tri- and tetrabutyltin compounds after administration during late organogenesis in rats**

*J. Appl. Toxicology*, 16, 71~76 (1996)

ラットの妊娠13日~15日(精子発見日=妊娠0日)に165または330  $\mu\text{mol/kg}$  の dibutyltin dichloride (DBTCl) または tributyltin chloride (TBTCI), 330, 660, 1320, 2640 または 5280  $\mu\text{mol/kg}$  の tetrabutyltin (TeBT) を経口投与し, 妊娠20日に妊娠ラットを帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。DBTCl 両投与群において妊娠ラットの体重増加および胎児体重の有意の低下がみられたが, 着床後の胚-胎児死亡率および奇形胎児の発現頻度の上昇は認められなかった。TBTCI 投与の結果, 両投与群における妊娠ラットの体重増加および330  $\mu\text{mol/kg}$  投与群における胎児体重の有意の低下がみられ, 両投与群において口蓋裂を有する胎児の発現頻度が有意に上昇した。TeBT 投与の結果, 660  $\mu\text{mol/kg}$  以上の投与量で妊娠ラットの体重増加の抑制, 5280  $\mu\text{mol/kg}$  投与群において口蓋裂を有する胎児発現頻度の有意の上昇が認められた。これらの結果から, DBTCl, TBTCI および TeBT では発生毒性の発現様式およびその強さが異なることが示唆された。

**Keywords** : butyltins, developmental toxicity, teratogenicity

中村ゆかり, 黒坂麗子, 村井敏美, 小川義之: **医療用具抽出液のサイトカイン誘導活性およびリムルス活性**  
防菌防黴誌, 23, 395~400 (1995)

サイトカイン産生誘導活性を指標とする医用材料および医療用具の安全性, 生体適合性の評価系の確立を目標として, 人工腎臓, 血漿分離器, および血液濾過器から抽出液を調製し, それらの培養マクロファージに対する発熱性サイトカイン産生誘導活性を調べた。3種の医療用具の中で, セルロース系膜を用いた人工腎臓抽出液にラット肺胞マクロファージに対する腫瘍壊死因子 (TNF) 産生誘導活性

が認められた。この抽出液のリムルス活性を調べたところ, エンドトキシンによるリムルス活性は検出されなかったが,  $\beta$ -グルカンが存在することが明らかになった。これらの成績から, マクロファージを用いる試験系はエンドトキシンだけでなく他の発熱性サイトカイン産生誘導物質を広く検出できるバイオアッセイ系として有用であることが示唆された。

**Keywords** : medical devices, cytokines, Limulus activity

Nakamura, Y., Murai, T. and Ogawa, Y.: **Effect of *in vitro* and *in vivo* administration of dexamethasone on rat macrophage functions: comparison between alveolar and peritoneal macrophages**

*Eur. Respir. J.*, 9, 301~306 (1996)

免疫抑制剤に対するマクロファージの感受性がその生体内での存在部位によって異なるか否かを調べる目的で, ラットの肺胞および腹腔マクロファージについて, それらの食能および腫瘍壊死因子 (TNF) 産生能に及ぼすデキサメタゾン投与の影響を *in vitro* および *in vivo* で比較検討した。その結果, 腹腔マクロファージよりも肺胞マクロファージの方がデキサメタゾンに対する感受性が高く, 機能抑制を受けやすいことが明らかとなった。この理由として, 両マクロファージはそれぞれの存在環境に適合するように分化を遂げており, デキサメタゾンに対する感受性に細胞レベルで差があること, さらにマクロファージの存在する微細環境もデキサメタゾンに対する応答性に影響を及ぼすことが示唆された。

**Keywords** : alveolar macrophages, peritoneal macrophages, dexamethasone

姉帯正樹\*, 兼俊明夫\*, 柴田敏郎, 飯田 修, 畠山好雄: **ナイモウオウギを基源とする北海道産黄耆の化学的品質評価**

*Natural Medicines*, 50(2), 163~169 (1996)

ナイモウオウギは中国の黒龍江省, 吉林省, 河北省, 山西省, 内モンゴル自治区などに分布する多年草で, 国内での栽培試験報告は少ない。北海道薬用植物栽培試験場では大阪大学より種子を導入し, 試作したところ, 2年生根において分枝根の発生, 伸長が著しかった。分枝根は第十二改正日本薬局方の「通例, 分枝することはない」という性状を満たさず, 栽培上最大の問題点である。そこで, 北海道で試験的に栽培した1~3年生のナイモウオウギについて, 基準値以上の太い根と基準値以下の細い根の成分を定量し, 直根性および太さの意義を調べると共に, 年次変化についても検討を加えた。

**Keywords** : *Astragalus mongholicus*, isoflavonoid, astragaloside

\* 北海道立衛生研究所

柴田敏郎, 畠山好雄, 有本恵子\*, 永井吉澄\*: **中国産生薬の基原・品質に関する調査・研究 (第1報) 青海省東南部地域に見られた生薬基原植物について**

*Natural Medicines*, 50(1), 58~64 (1995)

青海省東南部に野生するダイオウは *Rheum tanguticum*, *R. palmatum* もしくは両者の中間型が混在する。ダイオウの他, 冬虫夏草・*Paeonia veitchii*, *Glycyrrhiza uralensis* の自生を確認した。

**Keywords** : Qinghai province, *Rheum tanguticum*, *Rheum palmatum*

\* 三国(株)

柴田敏郎, 畠山好雄, 牧野恵子\*, 河野恭広\*: *Astragalus mongholicus* BUNGE 根の生育に及ぼす土壌環境の影響

*Natural Medicines*, 49(4), 455~461 (1995)

発根後, 1, 2, 4 週目に 48 時間たん水状態におき, 発根後 3 か月における生育および分枝根の発生について比較した結果, 根径が太く, 高次の側根を発生する 1 次側根は, たん水処理時期が遅れるほどその発生位置が下方へ移行することが認められた. 主根とほぼ同じ内部形態を示す太い 1 次側根は, たん水処理時の位置に多く認められた.

**Keywords**: *Astragalus mongholicus*, lateral root, water-logging treatment

\* 名古屋大学

Satou, T.\*, Mimaki, Y.\*, Kuroda, M.\*, Sashida, Y.\* and Hatakeyama, Y.: A pyrroline glucoside ester and steroidal saponins from *Lilium martagon*

*Phytochemistry*, 41(4), 1225~1230 (1996)

マルタゴンリリーの新鮮球茎からフェニールプロパノイドエステルの新規物質 1 種とステロイドサポニン 2 種が単離された. マルタゴンリリーはタケシマユリと交配して園芸品種が作られているが, 両者の二次代謝産物はよく似ており, 二次代謝産物と交雑親和性の間には密接な関係がある好例と思われる.

**Keywords**: *Lilium martagon*, phenylpropanoid esters, steroidal saponins

\* 東京薬科大学

姉帯正樹\*, 柴田敏郎, 畠山好雄: 吸光光度法と HPLC 法による北海道産黄連中のベルベリン型アルカロイドの定量

道衛研所報, 45, 66~68 (1995)

北海道産黄連 29 試料について, 吸光光度法と HPLC 法によりアルカロイドを定量し, 吸光光度法の実用性について検討を加えたところ, 両者の間には高い相関性がみられたが, 高含量試料では前者は後者より 1 割程度低い値が得られる傾向が認められた.

吸光光度法による定量値は近似値でしかないが, 迅速さ, 簡便さの点で優れており, 一般試験法として適している.

**Keywords**: *coptis rhizome*, berberine alkaloids, spectrophotometre

\* 北海道立衛生研究所

Shibata, T. and Hatakeyama, Y.: Breaking of dormancy in the seeds of *Astragalus mongholicus* BUNGE (Leguminosae)

*J. Plant Physiology*, 146, 366~368 (1995)

生薬黄耆の基原植物であるマメ科の *Astragalus mongholicus* (ナイモウオウギ) の種子は発芽が不良であるが, この原因は種皮の硬実化に由来すること, この硬実性は種子を水と共に  $-22^{\circ}\text{C}$  で 30 日間以上凍結後解凍することにより, 打破できることを明らかにし, 圃場での大量栽培を可能にした.

**Keywords**: *Astragalus mongholicus*, freezing treatment, hard-seed

Shibata, T., Sakai, E. and Shimomura, K.: Effect of rapid freezing and thawing on hard-seed breaking in *Astragalus mongholicus* BUNGE (Leguminosae)

*J. Plant Physiology*, 147, 127~131 (1995)

生薬黄耆の基原植物であるマメ科 *Astragalus mongh-*

*olicus* (ナイモウオウギ) の種子にみられる硬実性は, 種子を水と共に  $-20^{\circ}\text{C}$  で急速冷凍し, 24 時間後に急速解凍することにより, 容易に打破でき, 且つ苗への傷害も全く生じないことを明らかにし, 短時間で簡便な実用的処理方法を確立した.

**Keywords**: *Astragalus mongholicus*, liquid nitrogen, freezing-thawing-treatment

柴田敏郎, 畠山好雄, 牧野佳子\*, 河野恭広\*: *Astragalus mongholicus* BUNGE 根の生育に及ぼす土壌環境の影響

*Natural Medicines*, 49(4), 455~461 (1995)

生薬黄耆の基原植物 *Astragalus mongholicus* (ナイモウオウギ) の根の生育・形態に及ぼす土壌環境の影響を検討し, 主根の伸長や分枝根の発生には, 地下水位のレベルが密接に関係していることを明らかにした.

**Keywords**: *Astragalus mongholicus*, lateral root, water-logging treatment

\* 名古屋大学農学部

柴田 敏郎, 畠山 好雄, 有本 恵子\*, 永井 吉澄\*: 中国産生薬の基原・品質に関する調査・研究 (第 1 報) 青海省東南部地域に見られた生薬基原植物について

*Natural Medicines*, 50(1), 58~64 (1996)

中国青海省東南部地域 (青藏高原, 標高 2,000 m ~ 4,200 m) に産する生薬については情報が少ない. 今回現地調査を実施し, そこで見られた生薬大黃, 甘草, 冬虫夏草および川芍薬の基原植物およびそれらの自生環境について報告した.

**Keywords**: Qinghai province, Rhei Rhizoma, Glycyrrhizoma Radix (甘草)

\* 三国(株)

田中俊弘\*<sup>1</sup>, 大場幸次\*<sup>2</sup>, 川原一仁\*<sup>3</sup>, 酒井英二: 市場品麻黄各種の成分組成の比較エフェドリン系アルカロイドについて

*Natural Medicines*, 49, 418~424 (1995)

麻黄は, 中国, パキスタン, ロシアなどから輸入される重要な生薬である. 市場品現状の把握を目的に, 過去 19 年間に輸入された生薬麻黄について, エフェドリン系アルカロイドを測定し, 多くの場合主アルカロイドは ephedrine および pseudoephedrine であること, アルカロイド組成に地域差が認められ甘肅省, 青海省からの輸入品で pseudoephedrine 含量が高いことを明らかにした.

**Keywords**: *Ephedra* spp., crude drug, alkaloid

\*<sup>1</sup> 岐阜薬科大学

\*<sup>2</sup> アスゲン製薬

\*<sup>3</sup> 日野薬品

酒井英二, 柴田敏郎, 川村智子\*<sup>1</sup>, 久田陽一\*<sup>1</sup>, 野呂征男\*<sup>1</sup>, 吉田将士\*<sup>2</sup>, 田中俊弘\*<sup>3</sup>: ジュウヤクの生薬学的研究 (2), 遮光条件下で栽培したドクダミの生育およびフラボノイド配糖体含量

*Natural Medicines*, 50(1), 45~48 (1996)

ドクダミ, *Houttunyyia cordata* THUNB. は, 利尿, 消炎剤として民間で利用されており, 生薬『ジュウヤク』として日本薬局方に収載されている. しかし, その栽培に関する研究は少ない. 今回, 植物の生育に大きな影響を与える光条件について検討し, 遮光することでフラボノイド配糖体含量が低くなることを明らかにした.

**Keywords**: *Houttunyyia cordata*, cultivation, flavonoid

## glycoside content

- \*1 名城大学薬学部  
\*2 本草製薬(株)  
\*3 岐阜薬科大学

Tada, H.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*:  
**Polyacetylenes in hairy root of *Lobelia chinensis***  
LOUR.

*J. Plant Physiology*, 146, 199~202 (1995)

*Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834 により誘導したロベリア毛状根を、植物ホルモン無添加 Murashige-Skoog, Gamborg B5, Woody Plant, Root Culture 培地で培養し、ポリアセチレン類, lobetyol, lobetyolin, lobetyolinin の生産を検討したところ、Woody Plant 培地、暗所で培養した毛状根がもっとも高い生産量を示した。照明下で培養すると緑化が認められたが、生育およびポリアセチレン生産への影響は認められなかった。

**Keywords** : *Lobelia chinensis* LOUR., hairy roots, polyacetylene

- \* 佐賀大学農学部

Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>, Nishikawa, K.\*<sup>1</sup>, Omoto, T.\*<sup>2</sup>, Asai, I.\*<sup>3</sup>, Yoshihira, K.\*<sup>3</sup> and Shimomura, K.: **Two flavone 2'-glucosides from *Scutellaria baicalensis***

*Phytochemistry*, 40, 279~281 (1995)

コガネバナの根のメタノール-水エキスから、二種の新規フラボン配糖体、5, 2', 6'-trihydroxy-6, 7, 8-trimethoxyflavone 2'-O-glucoside と 5, 2', 6'-trihydroxy-6, 7-dimethoxyflavone 2'-O-glucoside を単離構造決定した。また、同エキスから七種のフェノール類、5, 7, 2', 6'-tetrahydroxyflavone, 5, 7, 2', 5'-tetrahydroxy-8, 6'-dimethoxyflavone, skullcapflacon II, baicalin methyl ester, wogonin 7-glucuronide, 3, 5, 7, 2', 6'-pentahydroxyflavonone を単離した。

**Keywords** : flavone, *Scutellaria baicalensis*

- \*1 佐賀大学農学部  
\*2 三栄源エフエフアイ  
\*3 東亜大学大学院

Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>, Omoto, T.\*<sup>2</sup>, Asai, I.\*<sup>3</sup>, Ezaki, K. and Shimomura, K.: **Taxifolin 3-arabinosides from *Fragaria x ananassa***

*Phytochemistry*, 40, 345~347 (1995)

イチゴの根から、新規フラボノイド、(+)-taxifolin 3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranoside を単離し、化学的性状および分光学的データより構造決定をした。また、この根から、加水分解型タンニンである pedunculagin と縮合型タンニン類、(+)-catechin, (+)-afzelechin-(4 $\alpha$ -8)-(+) -catechin, procyanidin B3, procyanidin B-6 を単離した。

**Keywords** : *Fragaria x ananassa*, flavonoid, tannin

- \*1 佐賀大学農学部  
\*2 三栄源エフエフアイ  
\*3 東亜大学大学院

Umetsu, H.\*<sup>1</sup>, Wake, H.\*<sup>2</sup>, Saitoh, M.\*<sup>2</sup>, Yamaguchi, H.\*<sup>3</sup> and Shimomura, K.: **Characteristics of cold-preserved embryogenic suspension cells in Fennel, *Foeniculum vulgare* MILLER**

*J. Plant Physiology*, 146, 337~342 (1995)

不定胚形成能を有するウイキョウの懸濁培養細胞を、4℃で一定期間保存した後25℃で二週間培養し、低温保存

がその後の細胞の性質に与える影響を調べた。低温保存期間が長くなるにつれて、その後25℃で培養したときの生育が不良となり、不定胚形成能の著しい低下が認められた。2, 4週間の低温保存を行った細胞は、正常な不定胚形成およびその後の植物体再生が認められ、また、低温処理を行っていない細胞から得られた対照群の不定胚と同レベルのアネートルが検出されたが、得られた不定胚は、対照群とは異なったアイソザイムパターンを示した。

**Keywords** : *Foeniculum vulgare*, somatic embryogenesis, cold-preservation

- \*1 青森大学工学部  
\*2 べんてる(株)中央研究所  
\*3 佐賀県農業指導所

Yamanaka, M.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Sasaki, K., Yoshihira, K.\*<sup>2</sup> and Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>: **Glucosylation of phenolics by hairy root cultures of *Lobelia sessilifolia***

*Phytochemistry*, 40, 1149~1150 (1995)

高い配糖化能を有するロベリア毛状根に、4種のフェノール類を基質として与え、生物変換反応を調べた。その結果、(-)-epicatechinあるいはprotocatechuic acidを投与したロベリア毛状根から、新規配糖体、7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside と protocatechuic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside をそれぞれ単離構造決定した。

**Keywords** : *Lobelia sessilifolia*, hairy root culture, biotransformation

- \*1 佐賀大学農学部  
\*2 東亜大学大学院

Tanaka, N.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*: **Tannin production in callus cultures of *Quercus acutissima***

*Phytochemistry*, 40, 1151~1154 (1995)

クヌギのカルスから、13種類のフェノール類、(+)-catechin, gallic acid,  $\beta$ -glucogallin, gallic acid 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranoside, 1-desgalloyleugeniin, eugeniin, pedunculagin, 1-O-galloylpedunculagin, casuarinin, stachyurin, castalagin, vescalagin を単離した。培地から硝酸アンモニウムを除くと、カルスの生長量およびタンニン類の生産量が増加した。IAA と BA を組み合わせて添加し、5%のしょ糖を含むMS培地で培養したカルスは良好に生育し、最も高いタンニン類含量を示した。

**Keywords** : *Quercus acutissima*, tannin, callus

- \* 佐賀大学農学部

Asai, I.\*<sup>1</sup>, Yoshihira, K.\*<sup>1</sup>, Omoto, T.\*<sup>2</sup> and Shimomura, K.: **Growth and essential oil production in shoot culture and regenerates of *Anthemis nobilis* L.**

*Plant Tissue Culture Letters*, 12, 303~311 (1995)

ローマカミツレの若芽から、シュート培養を確立し、精油生産について検討した。ローマカミツレの精油の主成分はangelate類であることが知られているが、シュート培養ではangelate類とともにgeranyl isovalerateが多く生産された。また、無菌植物体の根にはangelate類は検出されず、geranyl isovalerateが認められた。無菌植物体を鉢に植え出して栽培すると、栽培期間が長くなるとともにisobutyl angelateが主精油成分となり、geranyl isovalerate含量は徐々に低下した。

**Keywords** : *Anthemis nobilis* L., essential oil, shoot culture

\*<sup>1</sup> 東亜大学大学院

\*<sup>2</sup> 三栄源エフエフアイ

Yamazaki, M.\*<sup>1</sup>, Sato, A.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Inoue, K.\*<sup>2</sup>, Ebizuka, Y.\*<sup>2</sup>, Murakoshi, I.\*<sup>1</sup> and Saito, K.\*<sup>1</sup>: **Extraction of DNA and RAPD analysis from dried licorice root**

*Natural Medicines*, 49, 488~490 (1995)

*Glycyrrhiza* 属植物の生薬より酸性バッファーおよび CTAB 法を用いて DNA を抽出し, RAPD 分析を行った。生薬と栽培植物を分析した結果, RAPD 分析により販売されている甘草の植物学的同定も可能なことが判った。

**Keywords** : DNA extraction, random amplified polymorphic DNA (RAPD), *Glycyrrhiza* sp.

\*<sup>1</sup> 千葉大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東京大学薬学部

Sakamoto, K.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Komeda, Y.\*<sup>2</sup>, Kamada, H.\*<sup>1</sup> and Satoh, S.\*<sup>1</sup>: **A male-associated DNA sequence in a dioecious plant, *Cannabis sativa* L.**

*Plant Cell Physiol.*, 36, 1549~1554 (1995)

性染色体があるといわれている雌雄異株植物アサにおける雄性関連した DNA シークエンスの解析を行った。雄株および雌株それぞれから, DNA を単離し, RAPD 分析を行った。雄株だけに認められた 500 および 730 bp の DNA フラグメントをプローブとして染色体 DNA とのハイブリダイゼーションを行ったところ, 730 bp の DNA フラグメントをプローブとして用いた場合に雄株特有の強いバンドが検出された。このフラグメントは, これまでに報告されてきたシークエンスとは全く異なった配列を持ち, MACDC1 (male-associated DNA sequence in *Cannabis sativa*) と命名した。

**Keywords** : *Cannabis sativa*, polymorphic DNA, sex chromosome

\*<sup>1</sup> 筑波大学生物科学系

\*<sup>2</sup> 北海道大学理学部

Zhiri, A.\*<sup>1</sup>, Jaziri, M.\*<sup>1</sup>, Guo, Y.\*<sup>1</sup>, Vanhaelen-Fastré, R.\*<sup>1</sup>, Vanhaelen, M.\*<sup>1</sup>, Homès, J.\*<sup>1</sup>, Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **Tissue cultures of *Taxus baccata* as a source of 10-deacetylbaconin III, a precursor for the hemisynthesis of Taxol**

*Bio. Chem Hoppe-Syler*, 376, 583~586 (1995)

10-succinyl-10-deacetylbaconin III を抗原とする抗体を用いた ELISA 法を確立し, ヨーロッパイチイ (*Taxus baccata*) のカルス培養による 10-deacetylbaconin III (抗癌剤 Taxol の前駆体) 生産について検討した。その結果, 葉から誘導したカルスのエキスに最も高い含量が認められた。

**Keywords** : ELISA, taxoids, *Taxus* sp.

\* ブリュッセル自由大学

Yamanaka, M.\*<sup>1</sup>, Ishibashi, K.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>: **Polyacetylene glucosides in hairy root of *Lobelia cardinalis***

*Phytochemistry*, 41, 183~185 (1996)

北アメリカ原産のキキョウ科植物 *Lobelia cardinalis* の毛状根を誘導し, polyacetylene 類の生産を検討した。ホ

ルモン無添加 MS 培地 (50 mL) で培養した所, 配糖化された lobetyolin および lobetyolinin をそれぞれフラスコ当たり約 19 mg と 25 mg を生産し, 配糖化能が最も高いことが判明した。

**Keywords** : *Lobelia cardinalis*, hairy root culture, polyacetylene glucoside

\* 佐賀大学農学部

Ozeki, Y.\*<sup>1</sup>, Wake, H.\*<sup>2</sup>, Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **A rapid Method for Genomic DNA Preparation from Dried Materials of genus *Panax* for PCR Analysis**

*Natural Medicines*, 50, 24~27 (1996)

GTC 溶液を抽出バッファーとし *Panax ginseng*, *P. japonicus*, *P. quinquefolium* の乾燥試料からゲノム DNA を効率よく抽出できることを明らかにし, *P. ginseng* のカルスと親植物の根のゲノム DNA が同一の RAPD PCR パターンを示すことを明らかにした。

**Keywords** : genomic DNA, guanidine isothiocyanate, *Panax*

\*<sup>1</sup> 東京大学教養学部

\*<sup>2</sup> べんてる(株)中央研究所

Inoue, K.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Kobayashi, S.\*<sup>1</sup>, Sankawa, U.\*<sup>1</sup> and Ebizuka, Y.\*<sup>1</sup>: **Conversion of furostanol glycoside to spirostanol glycoside by  $\beta$ -glucosidase in *Costus speciosus***

*Phytochemistry*, 41, 725~727 (1996)

Diosgenin リッチである *Cosutus speciosus* が furostanol glycoside である protogracillin から spirostanol glycoside である gracillin に変換する  $\beta$ -glucosidase を含むことを見だし, 本酵素の性質を調べた。

**Keywords** : *Costus speciosus*, post-harvest hydrolysis,  $\beta$ -glucosidase

\* 東京大学薬学部

Tada, H.\*<sup>1</sup>, Ikeda, Y.\*<sup>2</sup>, Omoto, T.\*<sup>3</sup>, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>: **Rosmarinic acid and related phenolics in hairy root cultures of *Ocimum basilicum* L.**

*Plant Tissue Culture letters*, 13, 69~71 (1996)

*Ocimum basilicum* (スイートバジル) の不定根は 8 週間培養で約 6.8% の rosmarinic acid を, また約 0.5% lithospermic acid を生産し, 親植物より高い含量であることを報告した。

**Keywords** : *Ocimum basilicum* L., rosmarinic acid, adventitious root cultures

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部

\*<sup>2</sup> 佐賀県農業指導所

\*<sup>3</sup> 三栄源エフエフアイ

Motoyama, E.\*<sup>1</sup>, Tada, H.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Yoshihira, K.\*<sup>2</sup> and Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>: **Caffeic acid esters in tissue cultures of *Heliotropium peruvianum***

*Plant Tissue Culture letters*, 13, 73~74 (1996)

ヘリオトロープ (*Heliotropium peruvianum*) の植物体, 茎葉および不定根培養における抗酸化物質の生産を比較し, 特に培養した茎葉に rosmarinic acid の含量が高いことを明らかにした。

**Keywords** : *Heliotropium peruvianum*, caffeic acid esters, tissue cultures

\*1 佐賀大学農学部

\*2 東亜大学大学院

Tada, H.\*1, Terahara, N.\*2, Motoyama, E.\*1, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*1: **Anthocyanins in *Lobelia chinensis* hairy roots***Plant Tissue Culture letters*, 13, 85~86 (1996)

*Lobelia chinensis* の毛状根を照明下で培養すると anthocyanin 類が生産されることを見いだした。2種の anthocyanin を HPLC にて分離定量した結果、B5 培地で培養した毛状根が最も生産することを明らかにした。

**Keywords** : *Lobelia chinensis*, hairy root cultures, anthocyanins

\*1 佐賀大学農学部

\*2 南九州大学園芸学部

Ishimaru, K.\*1, Yamaguchi, Y.\*1, Shimomura, K. and Yoshihira, K.\*2: **Polyacetylene production in hairy root cultures of *Lobelia inflata****Japanese J. Food Chemistry*, 2, 80~84 (1996)

*Lobelia inflata* 毛状根を Root Culture 培地を用い種々の培養条件 (培地組成: 金属イオン, 添加物, 光等) を検討した結果, ミオイノシトールの添加が最も生育とポリアセチレン類生産を改善することを明らかにした。

**Keywords** : *Lobelia inflata*, hairy root cultures polyacetylene

\*1 佐賀大学農学部

\*2 東亜大学大学院

Yoshimatsu, K., Yamaguchi, H.\*1, Shimomura, K.: **Traits of *Panax ginseng* hairy roots after cold storage and cryopreservation***Plant Cell Reports*, 15, 555~560 (1996)

オタネニンジン毛状根の低温およびガラス化法による低温保存について検討した。低温保存期間中は全く根の成長が認められなかったが、25℃でさらに培養すると生育が開始し、4カ月間の保存後においても、根の成長が観察された。しかし、2カ月間以上の低温保存後では、側根の形成が著しく阻害された。一方、根の先端を 0.3 M sucrose と 0.1 mg/l 2,4-D を含む培地で3日間前培養し、ガラス化法で液体窒素に保存した毛状根は、15週間の保存後においても、54%の再生率を示し、25℃で継代培養を行っている対照群と同様、良く生育し、同じジンセノシドパターンおよび含量を示した。

**Keywords** : *Panax ginseng*, cryopreservation, hairy roots

\* 佐賀県薬業指導所

青柳伸男: **製剤の新しい評価**

薬事新報, No. 1883, 9~13 (1996)

溶出試験法はバイオアベイラビリティと関連する製剤の重要な試験法である。製剤の新しい評価法に関して溶出試験による製剤評価法を取り上げ、溶出速度とバイオアベイラビリティとの相関性、日局における溶出試験の位置づけ、生物学的同等性評価に果たす溶出試験の役割と有用性について紹介した。

**Keywords** : dissolution test, bioavailability, bioequivalence

鹿庭なほ子: **分析法バリデーションについて**

医薬品研究, 26, 1002~1023 (1995)

ICH の「分析法バリデーションに関するテキスト」が step 5 に達したのに伴い、医薬品の品質に関する分析法バリデーションの考え方を、以下の観点から解説した。

1.ICH の分析法バリデーションの特徴, 2.分析法バリデーションの目的と意義, 3.対象となる試験法と検討が必要な分析能パラメータ, 4.実施方法

**Keywords** : Validation of analytical procedures, ICH, validation characteristics

香取典子: **第十三改正日本薬局方の改正点/含量均一性試験および重量偏差試験**

薬局, 47, 721~726 (1996)

第13改正日本薬局方の含量均一性試験および重量偏差試験法の改正案について、案の概要を述べ、改正点の統計的背景等を解説した。

**Keywords** : content uniformity test, weight variation test, Japanese Pharmacopoeia

Izutsu, K. and Yoshioka, S.: **Stabilization of protein pharmaceuticals in freeze-dried formulations***Drug Stability*, 1, 11~21 (1995)

タンパク質溶液の凍結, 凍結乾燥, 保存時の失活機構と添加剤による安定化について考察した。各段階においてタンパク質失活の原因となる物理化学的ストレスについて解説し、添加剤による安定化のメカニズムに関する文献を紹介した。

**Keywords** : freeze-drying, protein formulation, stability

最所和宏, 石橋無味雄: **医薬品の迅速分析法—β-アドレナリン遮断薬—**

月刊薬事, 37(8), 141~145 (1995)

厚生省薬務局監視指導課の研究班において国立衛生試験所が作成した原案を東京医薬品工業会および大阪医薬品協会にて検討を加え、その結果に基づき作成されたβ-アドレナリン遮断薬の HPLC 法による迅速分析法の概要および試験法を実施するにあたっての注意点等を解説した。

**Keywords** : β-adrenergic blocker, rapid analysis, HPLC

中原雄二: **毛髪分析による薬物乱用歴の推定**

ぶんせき, 10, 823~829 (1995)

毛髪薬物分析の基本操作を説明し、次いで、以下の項目で毛髪分析による薬物乱用歴の推定について述べた。

(1)毛髪分析の基本 (毛髪について、表面洗浄, 分画, 抽出法, 標準的分析方法 (覚醒剤の例)), (2)毛髪中での薬物の挙動 (毛髪の成長の結果), (3)覚醒剤乱用者の毛髪分析 (毛髪中の薬物分布と薬物使用歴), (4)毛髪中の薬物の安定性, (5)毛髪分析による薬物依存症の診断への試み (薬物使用量と毛髪中薬物濃度の相関, 覚醒剤依存状態の診断), (6)妊婦の薬物乱用と胎児, (7)コカイン, ヘロイン, 多剤乱用, (8)最長過去の部位の検出

**Keywords** : hair analysis, drug monitoring, drug abuse

川西 徹: **高速走査型共焦点レーザー顕微鏡による細胞内カルシウムイオン濃度のリアルタイムイメージング**

現代医療, 3, 79~81 (1996)

蛍光プローブと蛍光顕微鏡画像解析法による細胞内カルシウムイオン濃度の画像化において、測定機器として高速走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いて、空間分解能と時間分解能を両立させながらリアルタイム高分解能画像取得技術を完成させた経緯、画像化例、および将来展望について述べた。

**Keywords** : confocal microscopy, calcium, imaging

早川堯夫：バイオテクノロジー応用医薬品の品質

月刊薬事, 38, 955~959 (1996)

バイオテクノロジー応用医薬品の品質に関する ICH-3 のトピックスであった 1) ヒトおよび動物細胞株由来のバイオテク製品のウイルス面からみた安全性確保問題, 2) 組換え DNA 応用タンパク質の生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析や安定性評価問題, 3) バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の安定性試験のあり方, 4) バイオテクノロジー応用製品/生物起源由来製品の生産に用いられる細胞基材の由来に関する必要条件, 細胞バンクの樹立と特性解析問題について, それぞれのトピックスの ICH-3 での成果と進展, 今後の課題について論述した。

**Keywords** : ICH-3, biotechnology drug, viral safety

佐竹元吉：第一三改正日本薬局方の改正点 生薬・生薬製剤および油脂関連の改正点

薬局, 47(5), 737~840 (1996)

薬局方の生薬・生薬製剤および油脂関連の改正点を述べた。新規収載はアカメガシワ, インチンコウ, ウイキョウ末, サンヤク末, チョレイ末, トウニン末, トコンシロップの7品目で, その他は既収載品目における一部の改正である。改正の内容としては, (1)成分規格の充実を図り, 定量法を改正および成分含量測定法を新設, (2)基原植物を追加または削除, (3)性状の記載内容を統一又は一部変更し, 成分含有量に関する記載を削除, (4)確認試験の記載を追加・変更し, 有害試薬を削除, (5)成分定量法の充実に伴い乾燥減量を新設又は乾燥時間を追加, (6)醸造の恐れのある生薬には純度試験を新設, (7)別名の漢字を利用しやすい文字に変更, 等である。

**Keywords** : herbal medicinals, oil and fats, pharmacopoeia

佐竹元吉：伝統薬の更なる発展を求めて

JICWES news, 156(1), 2~5 (1996)

「伝統薬の品質保証」と題して, 第6回必須医薬品製造管理研修ワークショップ [平成7年11月1日, 東京] の総括報告である。参加者はフィリピン, マレーシア, インドネシア, スリランカ, ベトナム, 中国, タイ, ラオス, モンゴル, ミャンマーの10カ国で, 検討された内容をまとめあげた。

1. 薬局方の問題 (伝統薬または原料生薬を薬局方に収載することが必要である。薬局方を有しない国では, 薬品全般に関して薬局方を制定する必要がある)。

2. 伝統薬の規格の国際調和 (同一の生薬, または類似した生薬を用いる国が多いので, 原料生薬の規格のハーモナライゼーションは伝統薬の円滑な流通の面からも必要である)。

3. 微生物汚染および残留農薬 (伝統薬は天然の素材を用いるので, 最終製品における微生物汚染および残留農薬の試験を行い, 安全性を確保する必要がある。また, これらの規制値を作る必要がある)。

**Keywords** : herbal medicinals, traditional medicines, quality control

中村晃忠：ヘルスケア技術分野における国際規格・基準づくりの ISO/IEC 指針案 (訳)

生体材料, 13, 37~42 (1995)

国際標準化機構 (ISO) などの場で医療用具の国際規格・基準作成あるいは国際調和作業が盛んになっているが,

このような人の保健増進を目的とする製品の規格・基準づくりの一般指針 (案) である。ISO/IEC Publication 51「安全性基準に安全性に関する事項を含めるためのガイド」を補足したもので, これからの国際基準づくりの方向性を決める文書であると考え, 翻訳した。

**Keywords** : ISO, standardization, health-care products

中村晃忠：プラスチック製医薬品容器および同試験法

薬局, 47, 703~705 (1996)

JPXII の「輸液用プラスチック容器試験法」を改め, JPXIII に「参考情報：プラスチック製医薬品容器」と「一般試験法：プラスチック製医薬品容器試験法」を設定したが, その背景と内容を解説した。

**Keywords** : JPXIII, plastic containers

中村晃忠：欧州規格案「医療用具のリスク分析」について (翻訳)

生体材料, 14, 86~93 (1996)

現在, 国際標準化機構第210技術委員会 (ISO/TC210) で議論されている課題の原案を翻訳した。医療用具に関する EC 指令の文章「医療用具のリスクは許容されるものでなければならない。」を判断するためのスキームを示したものである。

**Keywords** : ISO/TC210, risk analysis, medical devices

新谷英晴：BIER の有用性, デルフト会議報告

ファーマテックジャパン, 12, 627~634 (1996)

1995年10月に開催された第8回 ISO 東京会議後の議論の続きを ISO/TC198/WG4 のグループのみで1996年2月にオランダデルフト市に於いて ISO/WD14161 を CD にするための TC198/WG4 会議が開かれた。その結果を基に解説した。

**Keywords** : biological indicator, BIER, ISO

新谷英晴：BI のバリデーションの検討経過

ファーマテックジャパン, 12, 351~353 (1996)

生物指標を用いて滅菌する際のバリデーションを ISO ドキュメントを基に解説した。

**Keywords** : biological indicator, validation, ISO

新谷英晴：蒸気滅菌に用いる迅速滅菌生物指標

防菌防微, 23, 658 (1995)

高圧蒸気滅菌の滅菌保証に *Bacillus stearothermophilus* (*B. stearothermophilus*) を濾紙担体に塗布したペーパーストリップ BI (バイオロジカルインジケーター, 生物指標) が一般に用いられている。この場合滅菌効果の結果を得るまでに数日間培養しなければならない。Rapid sterility indicator は *B. stearothermophilus* に特有の酵素を抽出し, それをカプセル内に固定化してガラス管に入れそこに 121°C 0~15 分間蒸気滅菌を行った後, 別に用意した試液添加し, 10 秒後のカプセルの色調の変化より滅菌の達成度を判定するものである。迅速法と従来法を比較したところ生残曲線は殆ど近似し (相関係数 0.99) それゆえ得られる D 値もほぼ同じであった。このことは迅速 BI が従来の BI と同様に使用できることを意味する。迅速 BI の利点は培養を必要としないために迅速に結果が得られるため出荷速度が早まること, 操作が簡単なこと, 精度が従来法に比べ遜色ないこと, 培地が不要なため BI の培地への無菌操作が不要なこと, 培地が不要なため全体的なコストダウンが達成される等である。

**Keywords** : biological indicator, autoclave sterilization,

### B. *stearothermophilus*

新谷英晴：高圧蒸気滅菌に用いる培養を要しない新規生物指標製品について

医科器械学会誌, 65, 491 (1995)

高圧蒸気滅菌の滅菌保証に *Bacillus stearothermophilus* (B. *stearothermophilus*) ATCC7953 等を濾紙担体に塗布したバイオロジカルインジケータ (生物指標, BI) が一般に用いられている。NAMSA (株)より市販されている Rapid sterility indicator<sup>®</sup> と言われる 121°C 高圧蒸気滅菌用 BI キットは *B. stearothermophilus* に特有の酵素を抽出し、カプセルに酵素を固定化し、それをガラス管に入れ蒸気が通るためのゴム栓を施す。

それに 121°C 0~15 分間蒸気滅菌を行った後、別に用意した試液を 5 滴添加し、10 秒後のカプセルの色調より滅菌の有効性の有無を判定する。

この結果と生物指標評価装置 (BIER) を用いた従来の *B. stearothermophilus* を塗布した BI との結果を比較すると生残曲線は殆ど近似し (相関係数 0.99) それゆえ得られる BI の D 値もほぼ同じであった。Rapid sterility indicator<sup>®</sup> の利点は培養を必要としないために迅速に結果が得られそのため出荷速度が早まること、操作が簡単なこと、精度が従来法に比べ遜色ないこと、培養が不要なため無菌操作が不要なこと、培地が不要なため全体的なコストダウンが達成されること等の利点が挙げられる。

**Keywords** : biological indicator, autoclave sterilization, moist heat sterilization

Shintani, H.: Formation and elution of toxic compounds from irradiated medical products

Journal of Biomaterials Applications, 10, 23~58 (1995)

ポリウレタンの製造でイソシアネートの組成ならびにポリオール組成ならびに分子量を変えた物にガンマ線照射滅菌、高圧蒸気滅菌、エチレンオキサイド滅菌を行い組成の差ならびに滅菌の違いによる毒性化合物の生成の違いを調べた。

**Keywords** : gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization, ethylene oxide sterilization

Shintani, H.: Formation and residue of toxic compound in sterilized medical products

Radiation Physics Chemistry, 47, 139~148 (1996)

熱硬化性ならびに熱可塑性ポリウレタンに放射線滅菌ならびに高圧蒸気滅菌を行い 4, 4'-メチレンジアニリン (MDA) ならびにその他の変異原性化合物の生成について検討し、毒性化合物の生成の観点から医療用具に対する放射線滅菌あるいは高圧蒸気滅菌の有用性を比較した。

**Keywords** : gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization, methylenedianiline

松村年郎：化学物質による室内空気汚染について  
空気清浄, 33, 59~69 (1995)

近年、chemical sensitivity (CB), sick building syndrome (SBS) に関連して、化学物質による室内空気汚染が世界的に注目を集めている。本論文においては、室内空気汚染の経緯、室内発生源の種類、挙動と分布、ヒトへの影響、各国のガイドラインの状況等を著者らの研究報告および内外の文献等を参考に解説した。

**Keywords** : indoor air pollution, volatile organic compounds (VOC)

村山三徳、齋藤行生：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法 (その1) —オキシテトラサイクリンの試験法—

食品衛生研究, 46(3), 7~15 (1996)

平成7年度食品衛生法の改正に伴い新たに規格基準の設定された食品中の抗生物質、オキシテトラサイクリンの試験方法について、公定法としての基本的考え方、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点などを解説した。

**Keywords** : oxytetracycline, official analytical method

村山三徳、齋藤行生：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法 (その2) —イベルメクチン、クロサントル、フルベンダゾールの試験法—

食品衛生研究, 46(4), 53~65 (1996)

平成7年度食品衛生法の改正に伴い新たに規格基準の設定された食品中の内寄生虫用剤、イベルメクチン、クロサントル、フルベンダゾールの試験方法について、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点などを解説した。

**Keywords** : ivermectin, closantel, flubendazole

村山三徳、齋藤行生：畜水産食品に残留する動物用医薬品の試験法 (その3) —ゼラノール、トレンボロンの試験法—

食品衛生研究, 46(5), 7~15 (1996)

平成7年度食品衛生法の改正に伴い新たに規格基準の設定された食品中のホルモン剤、ゼラノール、トレンボロンの試験方法について、試験法設定の経緯、試験実施にあたっての注意点および試験法の精度などについて解説した。

**Keywords** : zeranol, trenbolone

Ishiwata, H.: Imported food safety assurance

Bull. Dept. Med. Sci., 37, 367~375 (1995)

わが国における輸入食品の検査を例に、食品衛生の傾向と対策について解説した。内容は、輸入食品特有の問題点、輸入手続きと検査、違反事例、安全確保のための方法等である。

**Keywords** : imported food, inspection, food safety

河村葉子：照射食品検知法の現状

放射線と産業, 69, 29~33 (1996)

照射食品検知法の開発の経緯、試験法としての必要条件および現在開発が進められている ESR 法、熱発光法、PSL 法、インピーダンス法、粘度測定法、揮発性炭化水素法、シクロブタノン法、DNA 法、免疫化学的検出法、DEFT/APC 法、Half-embryo 法について、原理、測定方法、検出限界、対象食品等を紹介するとともに、将来の見通しについても述べた。

**Keywords** : food irradiation, detection methods, thermoluminescence

山田 隆：食品衛生法の改正と食品添加物

衛生化学, 42, 115~120 (1996)

1947年に制定された食品衛生法が1995年5月に改正された。1982年の改正から20年以上が経過し、この間の食をとりまく環境の変化のため、改正が必要となった。最も大きな変化は、食習慣の変化であり他は輸入食品の量や種類の増加である。人々の健康に関する関心が増し、食事に気を配る人が多くなったこともある。旧法に較べると、改正法で最も重要な変更になった点は、いわゆる「天然添加物」に付いてである。すなわち、改正法施行後は、新しい「天然添加物」を使用する際には厚生大臣の許可が必要と

なる。

改正法施行後は、食品添加物は、以下の4つのグループから成ることになる。「指定添加物(化学的合成品および法改正後の天然添加物を含む)」、「既存天然添加物」、「天然香料」、「一般に食品として使用される添加物」である。「既存天然添加物」のリスト、「天然香料基原物質」および「一般に食品として使用される添加物」の例をあげたリストが出版されている。これらいずれの添加物も、使用した際には原則として表示が必要である。

**Keywords** : food additives, food sanitation law, natural food additives

手島玲子：**FcεR1のシグナル伝達機構**

アレルギー科, 1(2), 177~184 (1996)

マスト細胞や好塩基球細胞上に存在し、アレルギー発症の要となる高親和性IgE受容体(FcεR1)の構造と受容体の架橋形成を介する情報伝達機構について主として細胞膜上およびその近傍でおこる現象について記述し、さらに核への情報の伝達される可能性、ならびに細胞からのケミカルメディエータの放出について概説した。

**Keywords** : IgE receptors, mast cell, allergy

澤田純一, 田中東一：**イムノアッセイ**

分析, 1996(4), 277~284 (1996)

ラジオイムノアッセイやエンザイムイムノアッセイの新しい試薬や方法に関する最近の進歩を、抗体工学的手法を含めて解説した。

**Keywords** : immunoassay, antibody

三瀬勝利：**食品衛生上の国際問題**

家庭科学, 62, 35~41 (1995)

食品病害の現状や輸入食品を巡る食品衛生上の問題を論ずると共に、食品衛生上の規制や試験法の差がもたらす国際間のトラブルについても解説した。こうした現状を踏まえ、相互依存の世界の中で日本がなさねばならないと思うことを言及した。

**Keywords** : food-poisoning bacteria, imported foods, standard methods of analysis in food safety regulation

三瀬勝利：**非無菌製剤の微生物限度試験法**

防菌防微誌, 23, 355~361 (1995)

JP12局第二追補で新設された非無菌製剤のための微生物限度試験法の全体的な解説を行った。併せて将来設定される可能性のある微生物限度基準ガイドラインについても私見を述べた。

**Keywords** : Microbial Limit Tests, JPXII suppl. 2

三瀬勝利：**第十二改正日本薬局方第二追補。一般試験法(微生物限度試験法, 無菌試験法)**

医薬品研究, 26, 310~325 (1995)

JP12局第二追補で新設・改訂された微生物限度試験法と無菌試験法について解説を加えた。また、JPXIIIにむけて進行中の微生物試験法についてそのアウトラインを紹介した。

**Keywords** : JPXII suppl. 2, Microbial Limit Tests, Sterility Tests

三瀬勝利：**日本薬局方関連情報誌とその利用について。微生物限度試験法**

医薬品研究, 26, 494~499 (1995)

微生物限度試験法に関連して、生菌数測定のための自動

化法、最確数法、培地の性能試験に利用される菌株、培地の同一性等に解説を加えた。

**Keywords** : Microbial Limit Tests, rapid methods, standard type strains for validation

小沼博隆, 品川邦汎<sup>\*1</sup>, 熊谷 進<sup>\*2</sup>：**サルモネラ食中毒と鶏卵**

モダンメディア, 41, 230~244 (1995)

最近における鶏卵とサルモネラエンテリティディス(SE)食中毒の調査研究の中から、特に国内外のSE食中毒事例や卵の加工・流通段階および卵製品におけるサルモネラの動態とその制御方法について解説した。主な項目は、①SE食中毒発生事例、②感染鶏卵による卵のSE汚染、③殻付卵中でのSEの増殖、④卵殻通過によるサルモネラ汚染と侵入性、⑤鶏卵の保存による卵中身の細菌の増殖、⑥殻付き卵のサルモネラ汚染防止対策および⑦卵製品の衛生管理などである。

**Keywords** : *Salmonella enteritidis*, liquid egg, penetration

<sup>\*1</sup> 岩手大学

<sup>\*2</sup> 国立予防衛生研究所

小沼博隆：**市販カット野菜の微生物汚染状況**

食品衛生研究, 45, 25~37 (1995)

カット野菜の歴史、製造方法、微生物汚染状況と微生物叢および衛生管理について解説した。主な項目は、①カット野菜の製造工程、②一般細菌数、③大腸菌群、④大腸菌、⑤セレウス菌、⑥黄色ブドウ球菌、⑦微生物叢および⑧衛生管理などである。

**Keywords** : fresh vegetable, microflora, *Bacillus cereus*

小沼博隆：**細菌の検出・測定法の簡易、迅速、自動化機器の現状**

ジャパンフードサイエンス, 35, 25~39 (1996)

食品の日常の微生物検査に活用あるいはその使用が期待される代表的な簡易、迅速、自動化機器類について、その原理、特徴、長所と注意点、適応食品および機器名などを中心に解説した。主な項目は、①従来の微生物検査法を簡易、迅速、自動化した方法、②新しい原理に基づいて微生物検査法を簡易、迅速、自動化した方法および③微生物同定自動化機器などである。

**Keywords** : HACCP, rapid method, automation

熊谷 進<sup>\*1</sup>, 小久保彌太郎<sup>\*2</sup>, 小沼博隆, 豊福 肇<sup>\*3</sup>：**危害分析重要管理点(HACCP)システムによる食品の衛生管理**

食衛誌, 37, J1~J7 (1996)

食品の衛生管理の方法として米国で開発されたHACCP(Hazard Analysis Critical Control Point)システムについて、危害分析と重要管理点を中心に総論的に解説した。主な項目は、①HACCPシステムの経緯、②HACCPシステムの基本概念、③従来の衛生管理方法との比較における特徴、④HACCPシステムによる管理計画作成の準備、⑤危害分析方法、⑥HACCP方式による管理に先だって必要な一般的な衛生要件、⑦重要管理点、⑧管理基準、⑨モニタリング法、⑩改善措置、⑪検証方法、⑫記録方法および⑬人的体制などである。

**Keywords** : HACCP, critical limit, verification

<sup>\*1</sup> 国立予防衛生研究所

<sup>\*2</sup> 都立衛生研究所

<sup>\*3</sup> 国立公衆衛生院

熊谷 進\*<sup>1</sup>, 小沼博隆, 小久保彌太郎\*<sup>2</sup>, 豊福 肇\*<sup>3</sup>:  
**危害分析重要管理点 (HACCP) システムによる食品の衛生管理**

食品衛生研究, 45, 23~40 (1995)

食品の衛生管理の方法として米国で開発された HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) について, 危害分析と重要管理点を中心に総論的に解説した。主な項目は, ① HACCP システムの経緯, ② HACCP システムの基本概念, ③ 従来の衛生管理方法との比較における特徴, ④ 危害分析方法, ⑤ HACCP 方式による管理に先だてて必要な一般的な衛生要件, ⑥ 重要管理点, ⑦ 管理基準, ⑧ モニタリング法, ⑨ 改善措置, ⑩ 検証方法, ⑪ 記録方法および⑫ 人的体制などである。

**Keywords**: HACCP, critical limit, verification

\*<sup>1</sup> 国立予防衛生研究所

\*<sup>2</sup> 都立衛生研究所

\*<sup>3</sup> 国立公衆衛生院

神保勝彦\*<sup>1</sup>, 片岡 潤\*<sup>1</sup>, 小久保彌太郎\*<sup>1</sup>, 小沼博隆,  
 近藤房生\*<sup>2</sup>: **畜水産食品中の残留抗菌性物質検査における微生物学的簡易検査法の検出感度**

食衛誌, 36, 525~531 (1995)

平成6年7月1日, 厚生省「畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施」が通知された。本通知では, 残留抗菌性物質検査は微生物学的簡易検査法(簡易検査法)でスクリーニングし, 陽性になった食品については分別推定法(簡易系統別検査法)で残留抗生物質を系統別に同定する方法が採用されている。しかし, 分別推定法の各抗生物質に対する検出感度については明らかにされているが, 簡易検査法の検出感度については不明である。そこで, 現在動物用医薬品として使用が許可されている抗生物質の中から代表的な36種類を選び, それら抗生物質に対する簡易検査法の検出感度を食肉および魚介類を対象に調べ, 以下の結果を得た。

1. ペニシリン系抗生物質に対する検出感度は0.2~12.5 µg/gであった。
2. セフェム系抗生物質に対する検出感度は1.56~3.13 µg/gであった。
3. アミノグリコシド系抗生物質に対する検出感度は, 筋肉で3.13~12.5 µg/g, 肝臓で6.25~50.0 µg/gであった。
4. マクロライド系抗生物質に対する検出感度は0.78~12.5 µg/gであった。検出感度は肝臓が筋肉に比べ悪かった。
5. ロイコマイシン, ポリペプチド系, テトラサイクリン系およびその他の抗生物質に対する検出感度は0.1~25.0 µg/gであった。また, 検出感度は検体の種類による影響はみられなかった。

**Keywords**: residual antibiotics, simplified method, animal food

\*<sup>1</sup> 都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 宮崎大学農学部

高島浩介, 李 憲俊\*<sup>1</sup>: **カビの発生を防ぐ**

Proof, 10(1), 50~52 (1995)

住環境に発生するカビの生態, 分布, 発生条件を述べた。また, 生体に有害となる代表的なカビについてその特徴を記し, これらカビを防御するための具体的手法まとめた。

**Keywords**: mold, living environment, anti-mold counterplan

\*<sup>1</sup> (財)食品薬品安全センター

黒川雄二: **日本における新しい食品添加物安全性ガイドライン**

Food & Food Ingredients Journal of Japan, No. 167, 2~3 (1996)

1995年6月に食品衛生調査会報告として出された「食品添加物の指定および使用規準改正に関する指針(案)」に関して, 特に安全性試験に関する標準的実施方法について概略を記した。

**Keywords**: food additive, guideline, Food Sanitation Survey Committee

Kurokawa, Y: **Current status of the international toxicology guidelines, focusing on the OECD and ICH guidelines**

J. Toxicol. Sci., 21, 65~67 (1996)

現在国際的に最も重要かつ注目を浴びていると思われる, OECDおよびICHのガイドラインに関して, 特に毒性関連のものについて最新の情報を記した。

**Keywords**: OECD, ICH, guideline

黒川雄二: **ICH-3の成果と課題, 安全性に関する成果と進展**

月刊薬事, 38, 53~56 (1996)

1995年11月に横浜で開催されたICH-3における安全性分野の進展等について概説した。

**Keywords**: ICH, guideline, toxicology

黒川雄二: **最大無作用量から無毒性量へ**

食品衛生研究, 46(3), 5 (1996)

農薬および食品添加物のガイドラインにおいて, 最近無毒性量が用いられるに至った経緯を説明した。

**Keywords**: NOAEL, No toxic dose, guideline

黒川雄二: **Topics on regulatory toxicology (1), ICH 概説, 特にICH-3をめぐって**

J. Toxicol. Sci., 21, Appendix, 75~82 (1996)

厚生科学研究費で行われているICH安全性分野における活動状況を, ICH-3を中心に解説した。

**Keywords**: ICH, guideline, toxicology

平林容子, 井上 達: **連載 遺伝子工学・分子生物学基礎講座 DNA診断, 細胞移植, 遺伝子治療による臨床医学の新たな展開 「4. 細胞から個体への発生工学: 哺乳動物の分子遺伝学と疾患モデル (a) 遺伝子操作哺乳類と疾患モデル」**

造血因子, 6, 81~87 (1995)

生理的あるいは病的素材からクローニングされた遺伝子の機能を明らかにする事の為には, それら遺伝子を用いて, 遺伝子導入(トランスジェニック)マウスや遺伝子欠失(ノックアウト)マウスを作成する事が有力な方法となる。こうした遺伝子改変動物の作製は日を迫って報告数を増しているが, それらの作製法とともにその例をあげて, 進展ぶりを紹介した。筆者自身の取り扱った遺伝子改変動物の特徴も取り上げ, 技術面でも具体的に解説した。

**Keywords**: transgenic mouse, knock-out mouse, biotechnological recombinant mouse

長嶋洋治\*, 井上 達: **今月の主題 検査室の安全対策 バイオハザードとその対策「病理解剖」**

臨床検査, 40, 23~26 (1996)

結核症や, ウイルス感染の場となりやすい病理解剖施設

の改造のための指針を筆者の建築上の経験に照らして解説した。

**Keywords** : biohazard, autopsy facility

\* 横浜市立大学医学部

長嶋洋治\*, 井上 達 : 連載 病理領域における業務感染の問題点「新しい病理検査室のあり方・考え方」

病理と臨床, 14, 219~220 (1996)

病理学領域における業務上感染の場の一つとして病理検査室をとりあげ、対策の原則を示した。1) 感染源対策, 2) 汚染防護の考え方, 3) 除染防護の考え方を簡潔にまとめた。

**Keywords** : occupational infections, anti-biohazard laboratory

\* 横浜市立大学医学部

金子豊蔵 : 代替法バリデーションにおいて比較対照となる在来法の評価の重要性について—眼粘膜刺激性を中心に—

組織培養, 22, 218~223 (1996)

Draize 眼粘膜刺激性試験におけるスコアのバラツキの要因について、スコアと病理組織学的な変化の関連を検討するとともに、個体差、系統差、手技上の問題点、観察の問題点について検討し、動物の個体差が最も大きなスコアの変動要因となり、特に moderate irritants に評価される物質を点眼したときに回復期での個体差が大きいことを明らかにした。

**Keywords** : draize score, variance, individual difference

大野泰雄 : 薬物相互作用—動物実験からヒトへ—  
ファルマシア, 31(9), 1020~1022 (1995)

薬物相互作用の発現機構を整理し、それらの内、臨床的に問題となる可能性があり、非臨床試験で検討しておいた方が良いと思われるものを抽出した。

**Keywords** : drug interaction, non-clinical test

小泉修一 : ATP 受容体と精神分裂病

蛋白質核酸酵素, 40, 1953~1954 (1995)

精神分裂病は病気の実体が最もよく分かっていない精神疾患の一つであり、ハロペリドール (HPD) およびクロルプロマジン (CPZ) はこの疾患の代表的な治療薬である。この様に、臨床的に有効性が認められている薬物がある場合には、その薬理学的プロフィールを片っ端から調べることで、治療効果との因果関係を推測でき、これが逆に病因の解明に結びつく可能性がある。HPD および CPZ は強力なドパミン D2 受容体拮抗薬であり、この作用が治療効果と密接に関係していると考えられているが、他にもカルシウムチャンネル阻害作用およびカルモジュリン阻害作用などが知られている。HPD および CPZ は、上述した薬理作用とは無関係に、ATP 受容体/チャンネルを直接抑制することが明らかとなった。ATP は脳内で神経伝達物質として働いている。従って、ATP による、神経伝達過剰が分裂病と関わっている可能性も無視できなくなってきたわけである。

**Keywords** : schizophrenia, ATP, antipsychotic drugs

藤森観之助 : 化学物質の規制と安全性評価の国際動向—  
農薬を中心として—

植物防疫, 49, 293~300 (1995)

農薬を中心に化学物質の安全性評価に関する国際機関の活動を紹介している。とくに残留農薬の毒性評価に関わる

FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議 (JMPR) における評価作業および関与する国連機関ならびに国際食品規格の組織について、これまでのいきさつと今後の活動予定について解説している。さらに残留農薬の毒性評価法ならびに要求する毒性試験に関するガイドラインについて、改正中の OECD 化学物質毒性試験ガイドラインの紹介ならびに欧州連合 (EU) ガイドラインの動向およびアメリカにおける残留農薬ガイドライン (EPA) における最近の動向について解説している。

**Keywords** : pesticide residue, JMPR, guideline

高橋道人 : 精巣毒性

静岡実験動物研究会会報, Vol. 22, No. 1, 12~20 (1995)

精巣の解剖学的、生理学的特性の説明に始まり、精巣毒性の発現メカニズムを解説し、精巣毒性を検出するための病理組織標本の作り方まで紹介してある。

1. 精巣の特性 : 1) 生殖細胞の分化, 2) 血液精巣関門, 3) 精巣のホルモン支配, 4) 精子形成サイクル

2. 精巣毒性の発生機序 : 1) 精上皮を直接傷害するもの, (1)精粗細胞の障害, (2)セルトリ細胞の障害, 2) ホルモンを介して間接的に精子形成を阻害するもの, (1)抗アンドロゲン作用, (2)テストステロン合成阻害, (3)性腺刺激ホルモン抑制, (4)プロラクチン分泌の亢進, 3) 精子形成が完了してから精子を傷害するもの, 4) 循環障害を介して実質を傷害するもの

3. 精巣毒性検出のための病理検査 : 1) 精巣の組織標本作製法, 2) 精巣の病理組織評価

**Keywords** : testes, testicular toxicity, adriamycin

三森国敏 : 動物様医薬品等の残留基準値の設定について  
食品衛生研究, 45, 39~52 (1995)

畜産動物に摂取された動物用医薬品等は、農産物に使用される農薬等と異なり、生体内で様々な代謝過程を経て排泄または生体内に残留または生体内組織の一部として吸収されることになる。これらの生体内に残留する残留物には、抽出されてこない結合型残留物があり、これらの残留物の毒性学的な評価を含めた新しい評価方法にもとづく残留基準値 (MRL) の策定が、FAO/WHO 合同食品規格委員会で行われており、米国ではすでに、独自の方法で毒性および残留データから結合型残留物の存在を考慮した残留基準値を設定しているが、ヨーロッパ連合 (EU) においては、FAO/WHO の MRL の概念を導入し、動物用医薬品等の残留基準値の見直しが行われている。このような国際的動きの中で、わが国においても個別物質ごとの安全性評価が可能になり、抗生物質・合成抗菌剤の一律に含有してはならないとする規制は合理性を失いつつあることから、新しい安全性評価法を取り入れた残留基準値の設定の作業が進行中である。

**Keywords** : veterinary drugs, maximum residue levels

高橋道人 : 医薬品および化学物質の精巣への影響 (2)

医薬品開発における精巣毒性—ICH を中心に—

薬の知識, Vol. 46, No. 8, 17~20 (1995)

ICH の安全性分野で、雄投精能を評価するにはどのくらいの期間必要であるのか議論され、我が国においても安全性を確保でき科学的妥当性を確認するため、国立衛生試験所を中心に製薬企業等 16 機関の協力を得て共同研究を実施した。その結果、最も鋭敏な指標は病理組織学的検査であり、検討された化合物の投与も 4 週間 (28 日) で精巣毒性が検出できることが判明した。そのためには固定が適切であること、病理検査では精子形成サイクルのステー

ジを考慮に入れた検索がときに必要であること、成熟した精子に影響を与えるような物質では精子検査が必要であることなどが分かった。内容は、1) 精巣の特異性、2) 精巣毒性の発生機序機序、3) 精巣毒性検出のための病理検査からなる。

**Keywords** : testicular toxicity, ICH, pharmaceuticals

能美健彦：突然変異誘発を促進する遺伝子群：大腸菌 *umuDC* 遺伝子とそのホモログ

放射線生物研究, 30, 157~175 (1995)

突然変異誘発を促進する蛋白質である大腸菌の *umuDC* 遺伝子とそのホモログについて、その発現調節機構、変異誘発における役割、生化学的作用機序、真核生物に存在する類似遺伝子について研究の現状を紹介した。

**Keywords** : mutation, *umuDC*, translesion DNA synthesis

原澤 亮\*1, 水沢 博, 竹内昌男\*2：動物細胞培養における“コンタミ”の簡易検出

蛋白質・核酸・酵素, 40, 2361~2368 (1995)

培養細胞はしばしば微生物の汚染にみまわれる。しかし、目視により簡単に検出される場合はともかく、細胞と共存してしまうようなマイコプラズマやペスティウイルスによる汚染の場合はしばしば見過ごされてしまったり、研究者に問題意識が無かったりして、汚染細胞が実験に使われてしまうケースが意外に多い。汚染細胞を用いた研究は如何に良い結果であろうと、欧米ではそのような結果は意味が無いものと認識されることが最近では一般的な風潮であることから十分に注意すべきである。汚染を避ける最も確実な方法は、実験中においても適宜汚染の検出を実施し汚染が無いことを確認することである。最近の分子生物学の発展により、様々な汚染微生物を標的にしたプライマーが明らかにされ、PCR法をこのような汚染の検出にも活用する動きが活発になってきているので、大いに活用すべきである。PCR法により増幅された遺伝子領域を、制限酵素により切断して分析したり、塩基配列の解析をすることにより、汚染した事実だけでなく、どのような汚染微生物によるかの特定も可能で、その後の除去にとっても有効な情報を与えてくれるものである。本稿では、マイコプラズマとペスティウイルスによる汚染を検出するためのPCR法を紹介し、あわせて汚染防止のための具体策を示した。

**Keywords** : contamination, mycoplasma, pestivirus

\*1 東京大学医学部附属動物実験施設

\*2 財団法人発酵研究所

田辺秀之, 祖父尼俊雄, 水沢 博：Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法による細胞ゲノム解析組織培養, 22, 194~198 (1996)

Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法は、対象とする細胞（腫瘍細胞）のゲノム DNA のコピー数の変化とその染色体領域を Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) によって特定することができるとする画期的な手法である。CGH 法は細胞ゲノム全体を対象とした品質管理手法として有力であり、国立衛生試験所・細胞バンクに保存されている細胞株の性状把握と個別識別への応用という視点から CGH 法による解析例を挙げて、CGH 法の基本原理・方法と簡便な画像解析法について概説した。

**Keywords** : comparative genomic hybridization, chromosomal characterization, cell line identification

岡田敏史：日本薬局方標準品

大阪医薬品協会会報, No. 563, p.7~20 (1995)

大阪医薬品協会の技術研究委員会における講演内容をまとめたものであり、日本薬局方標準品の現状と将来展望について概説した。特に、12局以降の標準品供給体制、国立衛生試験所と第三者機関（日本公定書協会）の役割分担、第三者機関における品質試験体制と試験成績の評価体制、日局標準品の規格および試験方法、日局「試薬・試液」中の標準物質などに焦点を当てて解説した。

**Keywords** : reference standard, Japanese Pharmacopoeia, distribution system

四方田千佳子：キトサンの特定保健用食品としての表示許可

キチン・キトサン研究, 2, 48~49 (1996)

1996年10月にキトサンを含む2種の食品が、特殊栄養食品中の特定保健用食品として表示することが許可された。キトサンは我が国では従来から天然物という扱いで食品に配合されてきたが、今回の表示許可は、キトサンのコレステロール吸収阻害作用という保健効果が、医学・栄養学的に認められたことを意味するものと解釈された。

**Keywords** : chitosan, food

小松裕明：静注用脂肪乳剤の粒子径測定

日本病院薬剤師会雑誌, 32, 555~556 (1996)

脂質エマルジョン（静脈注射用高カロリー輸液製剤や脂溶性薬物の輸送担体であるリポ化製剤）やリポソーム製剤など脂質微小分散系製剤の粒子径評価法について解説した。一般的な微小分散系粒子のさまざまな粒子径測定法を解説するとともに、USPにおいて公開されている静注用脂肪乳剤の粒子径測定条件・方法、解析法および粒子径規格案について紹介した。また脂肪乳剤の粒子径評価が的確に行える評価因子についても考察を行った。さらに、現在市販されている静注用脂肪乳剤にこの規格案を適用し、動的光散乱法により評価した結果についても言及した。

**Keywords** : fat emulsion, particle size, liposome

小松裕明：静注用脂肪乳剤の粒子径測定—動的光散乱法—

日本薬剤学会会報, 11, 6~7 (1995)

USPの静注用脂肪乳剤の規格案が公表されているが、この中で静注用脂肪乳剤の粒子径測定条件・方法、解析法および粒子径規格案が示されている。この規格案で粒子径測定法の1つとして取り上げられている動的光散乱法の原理や特徴について紹介し、リポソーム製剤等を含めた脂質分散系製剤に対する粒子径規格のあり方に関する考察を行った。また、現在市販されている静注用脂肪乳剤（高カロリー輸液や脂肪乳剤を薬物担体とした製剤）にこの規格案を適用し、その評価結果も示した。

**Keywords** : fat emulsion, particle size, size distribution

小川義之：日本薬局方関連情報誌とその利用について；エンドトキシン試験法

医薬品研究, 26(7), 500~509 (1995)

日局12におけるエンドトキシン試験法は、日局13で大幅改正する作業が進められているが、日局12での本試験法の問題点と、新たに追加収載される予定の比濁法および比色法の概要を述べた。

**Keywords** : bacterial endotoxin test, Limulus assay, Japanese Pharmacopoeia

小川義之：エンドトキシン試験法の改正点について

薬局, 47(5), 51~54 (1996)

日局 12 のエンドトキシン試験法は, 日局 13 では大幅に改正されて, ゲル化法 (限度試験法と定量試験法), 比濁法および比色法の 3 種の方法が収載された。各試験方法および試験のバリデーションに関する事項, 本試験法が国際調和案として作成されてきた経緯等について解説した。

**Keywords** : bacterial endotoxin test, JP13, international harmonization

下村 講一郎 : 薬用植物の形質転換体 (毛状根) による有用物質の生産制御

*Natural Medicines*, 50, 1~8 (1996)

平成 6 年度日本生薬学会学術奨励賞を中心に薬用植物の形質転換根である毛状根培養による有用二次代謝物, アル

カロイド, フェノール性化合物, テルペン類, ポリアセチレン類等の生産制御について解説した。

**Keywords** : hairy roots, *Agrobacterium rhizogenes*, secondary metabolites

野口 衛 : 身近な薬草ガイド

雑誌「家の光」, 1995. 4, 別冊付録

身近な薬草, アシタバ, ウイキョウ, ウコン, エビスグサ, キキョウ, ゲンノショコ, トウキ, ドクダミ, ハトムギ, ベニバナ, ミシマサイコ, カミツレ, セージ, ポリジ, ローズマリーを取り上げ, その栽培法, 調製加工法, 食用その他日常生活での利用法について論述した。

**Keywords** : medical plants, cultivation, utilization for foods