

Katori, N., Ma, W., Aoyagi, N. and Kojima, S.: **Effect of destruction force on drug release from multiple unit controlled release dosage forms in humans**

*Pharma. Res.*, 13, 1541~1546 (1996)

ヒトにおける薬物吸収に大きな影響を与える消化管内の機械的破壊力を推定するため、アセトアミノフェン徐放顆粒を用いて試験した。被験者に強度の異なる2種の顆粒AG及びBGを空腹時及び食後投与した結果、硬いAGは食事の影響を示さなかったが、湿潤することにより強度の低下するBGからの薬物放出は食後で増大し、食事により薬物の放出促進が起こったことが示された。このことから食事の摂取により消化管内の機械的破壊力が増大することが示され、物理的な力により放出促進を起こすようなタイプの徐放性製剤の場合は、食事によりdose dumpingが起こり、副作用を起こす危険のあることが示唆された。

**Keywords**: GI mechanical destructive forces, Colonic release, food effect

Katori, N., Aoyagi, N. and Kojima, S.: **Effects of atropine and loperamide on the agitating force and GI transit time in dogs for drug absorption studies**

*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1338~1340 (1996)

イヌの経口吸収モデル動物としての欠点を改善し、よりヒトに近い消化管条件に近づけるために、消化管の運動を抑制する硫酸アトロピン及び塩酸ロペラミドの前投与を試みた。アトロピン投与後は消化管の運動が過剰に抑制され、ヒトよりも更に遅くなった。また、塩酸ロペラミドの前投与によるイヌの大腸到達時間の延長及び、生物学的利用率の増大効果は見られなかった。薬物処理の場合はイヌによる感受性の差が大きく、一律の効果をj得ることが困難であることも示された。

**Keywords**: drug absorption, GI mechanical destructive forces, GI transit time

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Determination of molecular mobility of lyophilized bovine serum albumin and gamma-globulin by solid-state <sup>1</sup>H NMR and relation to aggregation-susceptibility**

*Pharm. Res.*, 13, 926~930 (1996)

凍結乾燥品中のタンパク質分子の運動性を測定する手段として、固体プロトンNMRの有用性を検討した。牛血清アルブミン及びγグロブリンをモデルタンパク質とし、水分含量の異なる凍結乾燥品中のタンパク質プロトンのスピン-スピン緩和時間(T<sub>2</sub>)をソリッドエコー法によって測定すると同時に、サイズ排除クロマトグラフィーによってタンパク質の変性速度を測定した。その結果、いずれのタンパク質の凍結乾燥品も、水分含量が結合水以上になり、弱く結合した水の量が増大するにしたがってタンパク質分子の運動性が上昇し、それに伴ってタンパク質の安定性が低下することが明らかになった。更に水分含量が上昇し、タンパク質分子内部の疎水結合が強化されると、タンパク質分子の運動性が低下しはじめ、それに伴ってタンパク質の安定性が上昇することが示された。凍結乾燥品中のタンパク質の安定性はT<sub>2</sub>によって測定される分子の運動性に強く相関することが明らかになり、T<sub>2</sub>がタンパク質凍結乾燥品の安定性の予測に有用な指標であることが分かった。

**Keywords**: NMR, spin-spin relaxation time, protein stability

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Statistical evaluation**

**of shelf-life of pharmaceutical products estimated by matrixing**

*Drug Stability*, 1, 147~151 (1996)

包装及び処方jが複数ある製剤の有効期間を、マトリキシングを適用して推定する際の問題点をモンテカルロ法によって検討した。包装及び処方の違いによって薬物分解速度が10%以上変化する場合には、マトリキシングによる有効期間の一括推定では有意に長く不適切な推定値が得られることが分かり、マトリキシングの適用前に包装あるいは処方間の安定性の差を検定する必要があることが示された。包装あるいは処方間の有意差検定には、0.25の有意水準が適切であると考えられた。また有意差検定の検出力は分解データを得るための定量法の誤差の大きさに大きく依存することが示され、信頼性の高い有効期間を推定するためには、定量誤差を約0.5%以下に抑える必要があることが明らかになった。

**Keywords**: shelf-life, matrixing, ANOVA

Yoshioka, S., Aso, Y., Kojima, S. and LiWanPo, A.\*: **Power of analysis of variance for assessing batch-variation of stability data of pharmaceuticals**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1948~1950 (1996)

3ロットの試験データから推定される医薬品の有効期間に及ぼすロット間変動の影響をモンテカルロ法で検討した。月に0.2%のゼロ次分解を示す医薬品について、ロット間変動を評価するための有意差検定の検出力を有意水準及び定量誤差を変数として算出した。βエラーを20%に固定すると、25%の最小検出差を得るためには、0.25以上の有意水準が必要であることが明らかになった。得られた結果に基づいて、ICH国際調和ガイドラインに記されている有意水準の評価を行った。更に、定量誤差が増大するにしたがって検出力が著しく低下することを明らかにし、標準偏差0.5%以下の精度良い定量法を用いる必要性を明示した。

**Keywords**: shelf-life, batch-variation, ANOVA

\* School of Pharmacy, The University of Nottingham

Aso, Y., Yoshioka, S. and Kojima, S.: **Relationship between water mobility, measured as nuclear magnetic relaxation time, and the crystallization rate of amorphous nifedipine in the presence of some pharmaceutical excipients**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1065~1067 (1996)

医薬品添加剤との混合物におけるニフェジピンの結晶化速度を水分含量の関数として等温マイクロ熱量計を用いて測定した。同じ水分含量であっても、水のNMR緩和時間の小さい(すなわち、水分子の運動性の低い)添加剤ほど結晶化速度は小さく、ニフェジピンの安定であることが示された。結晶化速度は水がニフェジピンのマトリックスを可塑化することによって加速されるため、同じ水分含量であっても水の緩和時間の小さい添加剤は可塑化作用をもつ水の量が少ないことが明らかとなった。

**Keywords**: mobility, crystallization, NMR

Izutsu, K., Yoshioka, S., Kojima, S., Randolph, T. W.\*<sup>1</sup> and Carpenter, J. F.\*<sup>2</sup>: **Effect of sugars and polymers on crystallization of poly(ethylene glycol) in frozen solutions: Phase separation between incompatible polymers**

*Pharm. Res.*, 13, 1393~1400 (1996)

一般に水溶液を凍結すると氷の他に濃縮された過冷却 (アモルファス) 相や溶質結晶が生成することが知られる。これまで複数の溶質を含む過冷却相中では各種分子が均一に分散すると考えられてきたが、熱分析及びパルス NMR を用いた実験から、分子間の反発力などにより各溶質の局在 (相分離) が起こることを明らかにした。水性 2 相分離を起こす polyvinylpyrrolidone (PVP) と dextran などの高分子の組み合わせでは、複数のアモルファス相軟化温度が観察された。ショ糖や glucose は凍結溶液中で poly (ethylene glycol) (PEG) と混合アモルファス相を形成することで PEG 結晶化を抑制した。一方、dextran や trehalose などの添加では凍結溶液中で PEG 相と相分離し、結晶化抑制はみられなかった。凍結溶液中での相分離は水性 2 相分離を起こす濃度に比べはるかに低い濃度でも起こることから、氷の形成による過冷却相の濃縮が関与することが示唆された。タンパク質など比較的不安定な薬物やリポソームなど主薬と複数の添加剤を含む凍結乾燥薬品は年々増加しており、凍結溶液中の相分離など分子間相互作用を支配する物性の制御が製品の機能や安定性向上につながるものと考えられる。

**Keywords** : phase separation, freezing, molecular interaction

\*1 Department of Chemical Engineering, University of Colorado

\*2 School of Pharmacy, University of Colorado Health Sciences Center

石橋無味雄, 小島茂雄: 日本薬局方における試薬等の名称を IUPAC 名に整合させるための調査及び研究  
医薬品研究, 27, 177~189 (1996)

化合物の名称は、教科書や日本工業規格などにおいて、国際純正応用化学連合 (IUPAC) が定めた命名規則による名称 (英名) に整理統合される方向にあり、また、その日本名は日本化学会の定める化合物命名法の化合物名字訳基準により字訳したものが用いられている。しかし、日本薬局方 (JP) において用いている試薬の名称には旧来のものが数多くあり、その結果、薬学領域以外の学問分野や義務教育課程で用いられる教科書などとの間で化学物質の名称が異なる事態が生じている。一方、JP の目的や性格を考慮すると、その内容が国内的にも国際的にも誤りなく、かつ理解し易い方法で表記されている必要がある。このため JP 試薬の名称について、IUPAC に基づく名称と JP 名称との相違点などの調査を行い、その結果に基づき JP における試薬命名法の原則を定め、この原則により JP の改正を行い試薬の名称を試行的に改めた。

**Keywords** : pharmacopoeia, general tests, reagent

Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K., Foltz, R. L.\*1 and Mieczkowski, T.\*2: **Detection of LSD and norLSD in rat and human hair**

*J. Anal. Toxicol.*, 20, 323~329 (1996)

毛髪中の LSD 及びその代謝物の検出の可能性を調べるために、ラットに 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 mg/kg を毎日 1 回、10 日間腹腔内投与し、背部の毛を 4 週後に刈り取り、GC/MS 及び HPLC - 蛍光検出で分析した。投与量と LSD 毛髪濃度はよい相関関係を示し、LSD は 0.05 mg/kg 投与群でも検出されたが、脱メチル代謝物は 2 mg/kg 投与のみで検出された。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比較的良好に取り込まれることを確認した。本法を LSD 乱用者の毛髪分析に応用したところ、17 人中 2 例で 10 pg/mg 以上の LSD の存在を認められた。

**Keywords** : hair analysis, LSD, GC-MS

\*1 Center for Human Toxicology, University of Utah,

\*2 Department of Criminology, South Florida University

Sekine, H.\*1, Itoh, S.\*2, Nakahara, Y. and Suzuki, Y.\*3: **Abuse of smoking MA mixed with tobacco. Chemical degradation of N-cyanomethyl methamphetamine in water and biological fluids**

*Jap. J. Toxicol. Environ. Health*, 42, 223~235 (1996)

タバコに混ぜた覚醒剤の喫煙熱分解物である N-cyano methyl methamphetamine (CMMA) の熱分解に関する物理化学的性質を熱重量 - 示差熱分析計と熱重量質量 - 分析計を用いて調べた。CMMA は遊離塩基で加熱されたときは、80°C から気化が始まり、物質自体は安定であったが、塩酸塩では、熱に不安定で、100°C 以上で分解が始まり、重量が減少した。更に、溶液中の CMMA の安定性を調べたところ、塩酸塩は水、生理食塩水及び血漿中では不安定で、4°C では 2 時間後に初期の 65% に減少し、37°C では、2 時間後は完全に全て分解した。分解物は methamphetamine, フォルムアルデヒド, 青酸であった。

**Keywords** : methamphetamine, tobacco, pyrolysis

\*1 埼玉県科捜研

\*2 東京医科歯科大学

\*3 東北大学薬学部

Nakahara, Y. and Kikura, R.: **Hair analysis for drug abuse: XIII. Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair: the incorporation rates of amphetamine analogs**

*Arch. Toxicol.*, 70, 841~849 (1996)

血液から毛髪への薬物取込機構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 AUC と 4 週後の毛髪中薬物濃度を測定し、AUC に対する毛髪中薬物濃度を ICR として定義した。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. 窒素に置換した炭素側鎖の長さ (C3 > C2 > C1 > H) に従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の導入は毛髪への取込にプラスに強く働く。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、ビニル基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、毛髪への取込は消失する。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。7. ハロゲン置換基は毛髪への取込にプラスに働く。これらの結果は化学構造因子が毛髪への薬物の取込率に大きく影響することを示唆した。

**Keywords** : hair, drug disposition, structure relationship

Nakahara, Y. and Kikura, R.: **Hair analysis for drug abuse: XIV. Identification of substances causing acute poisonings using hair roots. I. Methamphetamine**

*Forensic Sci. Inter.*, 84, 157~164 (1997)

動物モデルでの覚醒剤中毒と覚醒剤死亡原因を証明するための検体として、毛根試料を検討した。有色毛のラットに覚醒剤の急性中毒量を投与し、経時的に毛根を採取した。毛根試料は、直接及び洗剤洗浄後、室温で 14 時間塩酸メタノールで抽出した。抽出物は、PFP 誘導体として、GC - MS で分析した。投与後 5 分から覚醒剤が毛根中に検出

され、最高150 ng/mgのメタンフェタミン (MA) と代謝物のアンフェタミン (AP) が検出された。生存ラットでは、2時間まで毛根中の覚醒剤濃度は上昇し、その後24時間まで徐々に減少していった。死亡ラットでは、死亡後の覚醒剤濃度の変化は見られなかった。この事は死亡により薬物の取込活動は停止したことを物語っている。AP/MA比は生存中のラットでは時間と共に上昇したが、死亡後は一定の値を示した。死亡により、代謝機能が停止したことを示唆した。これらの結果から、覚醒剤急性中毒の証明に良好な検査試料と成ることが実証された。

**Keywords** : hair root, methamphetamine, acute poisonings

Kikura, R., Nakahara, Y., Mieczkowski, T.\*<sup>1</sup> and Tagliaro, F.\*<sup>2</sup>: **Hair analysis for drug abuse: XV. Disposition of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its related compounds into rat hair and application to hair analysis for MDMA abuse**

*Forensic Sci. Inter.*, 84, 165~177 (1997)

毛髪への薬物の取込機構を究明するため、6種のメチレンジオキシ系幻覚剤の毛髪への分布を動物モデルで調べた。有色毛ラットに6種の薬物をそれぞれ毎日1回、10日間連続して腹腔内投与し、初回投与後の血液を経時的に採取すると共に、28日後の背部の毛を採取した。それぞれの薬物濃度をGC-MSにて測定し、血漿中のAUCに対する毛髪中濃度の比(ICR)を比較検討した結果、(1)ベンゼン環上のメチレンジオキシ基は毛髪への移行性を強めること、(2)Nの側鎖の炭素数に従い毛髪への移行性が高まること、(3)ベンゼン環上のメチレンジオキシ基の他にメトキシ基が加わるとICRが数倍高い値を示すこと、(4)水酸基は毛髪への移行性を低めることなどが明らかになった。一方、MDMA乱用者の頭髪を分析した結果、MDMAとその代謝物が全ての試料から検出された。また、いくつかの検体でエチル類縁体も併せて検出された。

**Keywords** : hair analysis, drug disposition, methylenedioxyamphetamines

\*<sup>1</sup> Department of Criminology, South Florida University, USA

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

Hayakawa, T.: **Viral safety and evaluation of viral clearance from biopharmaceutical products - Issues related to harmonization of testing requirements for viral safety**

*Dev. Biol. Stand.*, 88, 15~18 (1996)

バイオ医薬品におけるウイルス安全性を保証するために、どのような技術的アプローチが必要か、そのための国際ガイドライン作成にあたって、当面の主な課題は何かについてまとめた。その結果、(1)試験法の科学的合理性の明確化、(2)細胞レベルにおける細胞の適格性を明らかにするためのウイルス試験法とその程度並びに細胞培養工程評価に必要なウイルス試験法とその程度、(3)未精製バルクハーベストでのウイルス試験の範囲、程度、頻度、(4)存在の可能性があるウイルスに対して精製工程が示すクリアランス能力評価と、工程がウイルスクリアランスに関してどのような特性を有するかに関する解析を行う試験において、それぞれ選択すべきウイルスの種類などに関する討議がなされるべきことを指摘した。

**Keywords** : ICH document, viral safety, biotechnology drugs

Hayakawa, T.: **Viral safety and evaluation of viral clearance from biopharmaceutical products - Fu-**

**ture development harmonized guidelines**

*Dev. Biol. Stand.*, 88, 331~332 (1996)

生物薬品(バイオ医薬品/生物起源由来医薬品)のウイルス面での安全性確保に関して、歴史的体験、製品に関する情報、及び臨床上の用法、目的などの観点から寄せられた生データを集めて評価、総括した。更に詳細には、製品の種類に依存するウイルス試験法のあり方、一般的試験法と新たな試験法、セルバンクを含む製造工程での管理や試験のあり方、工程に採用が望まれるウイルス除去技術、工程を変更した際の対応、工程でのウイルスクリアランス評価と特性解析方法、治験を開始する初期段階におけるウイルス安全性評価のあり方と製品の臨床上の用法、目的に応じた試験の程度などについて論述した。将来、治験薬のウイルス安全性のあり方に関する国際調和ガイドラインが作成されることの必要性についても言及した。

**Keywords** : viral safety, biological products, evaluation of viral clearance

Kawakami, N.\*<sup>1</sup>, Shimohama, S.\*<sup>2</sup>, Hayakawa, T., Sumida, Y.\*<sup>1</sup> and Fujimoto, S.\*<sup>1</sup> : **Tyrosine phosphorylation and translocation of phospholipase C- $\gamma$  2 in polymorphonuclear leukocytes treated with pervanadate**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1314, 167~174 (1996)

多形核白血球(PMNs)は、チロシンフォスファターゼ阻害剤である過バナジン酸処理により活性化され、活性酸素を産生するが、その過程で活性化に関与すると思われるタンパク質チロシンリン酸化について検討した。過バナジン酸はPMNsにおいて少なくとも11種以上のタンパク質にチロシンリン酸化を引き起こす。そのうち、145KDaを示すタンパク質がイノシトールリン脂質に特異性をもつフォスフォリパーゼC (PLC)  $\gamma$  2に対する特異抗体と反応することが判明した。PLC $\gamma$ 2は活性化前のPMNsでは細胞質に局在しているが、過バナジン酸で活性化後は細胞質分画と膜分画に分布していた。また、活性化後のPMNsにおけるPLC $\gamma$ 2活性はトータルとして活性化前のPMNsより上昇していたが、興味深いことに、活性化後のPMNsにおいて細胞質分画のPLC $\gamma$ 2活性は有意な減少を示しているのに対し、膜分画のPLC $\gamma$ 2活性は有意な増加を示していた。以上のことから、過バナジン酸処理によるPMNsの活性化過程のなかに、PLC $\gamma$ 2のチロシン残基のリン酸化とリン酸化されたPLC $\gamma$ 2の細胞質から膜へのトランスロケーションが含まれることが示唆された。

**Keywords** : polymorphonuclear leukocyte activation, tyrosine-phosphorylated protein, phospholipase C

\*<sup>1</sup> 京都薬科大学

\*<sup>2</sup> 京都大学医学部

Kawakami, N.\*<sup>1</sup>, Sumida, Y.\*<sup>1</sup>, Tanaka, J.\*<sup>1</sup>, Ohara, A.\*<sup>1</sup>, Hayakawa, T. and Fujimoto, S.\*<sup>1</sup>: **Inhibitory effect of acetylshikonin on the activation of NADPH oxidase from polymorphonuclear leukocytes in both whole cell and cell-free systems**

*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1266~1270 (1996)

シコニン誘導体は、火傷、炎症、創傷等の治療に効果があり、その機構の一つとして抗炎症作用を示すことが知られているが、その機構の詳細については明らかではない。本研究では多形核白血球(モルモットPMNs)のNADPH酸化酵素の活性化に及ぼすアセチルシコニン(AS)の影響を、細胞及び無細胞系を用いて検討した。PMNsをあらかじめASで処理し、PMAで活性化を誘導した場合、O<sub>2</sub><sup>-</sup>

の産生は著しく阻害されたが、PMA でいったん活性化を引き起こした PMNs には AS の効果は認められなかった。また AS は、細胞質分画で再構成した無細胞系におけるミリスチン酸による NADPH 酸化酵素の活性化を阻害したが、すでに活性化された酵素の活性は阻害しなかった。以上の結果から、AS は PMNs の活性化過程における NADPH 酸化酵素複合体の形成を阻害するが、すでに形成された活性化酵素は阻害しないことが示された。

**Keywords:** polymorphonuclear leukocyte activation, acetylshikonin, anti-inflammatory activity

\* 京都薬科大学

Nakagawa, T.\*<sup>1</sup>, Mizuguchi, H.\*<sup>1</sup>, Imazu, S.\*<sup>1</sup>, Nakanishi, M.\*<sup>2</sup>, Nakagawa, S.\*<sup>1</sup>, Hayakawa, T. and Mayumi, T.\*<sup>1</sup>: **Characterization of fusogenic liposomes as a gene transfer vector**

*Drug Delivery System*, 11, 411~417 (1996)

リポソームと不活化センダイウイルスより膜融合リポソームを調製し、遺伝子導入ベクターとしての特性を解析した。プラスミド DNA はルシフェラーゼを発現するもの (pCAL 2) として調製した。pCAL 2 封入膜融合リポソームをマウス L 細胞に作用させ、細胞における遺伝子発現パターンを調べたところ、1分間という短時間でも高い遺伝子発現が認められ、すみやかな細胞融合能を有することが明らかとなった。細胞障害性については非常に高濃度 (OD<sub>50</sub>=3.0, DNA 6.0µg/ml) においても認められなかった。遺伝子発現効率を、L, HeLa, MDCK, BAEC など各種細胞を用いて検討したところ、他のカチオンリポソーム・DNA 複合体に比し、1.5~100倍以上の効率を示した。また pCAL 濃度が低いほど、効率比の差は拡大した。S-180 腹水腫マウスを用いた *in vivo* 直接遺伝子導入を検討したところ、0.75µg の pCAL 封入膜融合リポソームの投与により、顕著な遺伝子発現が認められた。カチオンリポソーム・pCAL 2 複合体の場合、50倍以上の pCAL 2 投与でもほとんど発現はみられなかった。以上の実験から、膜融合リポソームが、ウイルスベクターの持つ高い遺伝子導入効率と、非ウイルスベクターが有する導入遺伝子選択の自由度や安全性を併せもつ、ハイブリッド型の新しい有用なベクターであることが示された。

**Keywords:** fusogenic liposomes, cationic liposome, gene transfer vector

\*<sup>1</sup> 大阪大学薬学部

\*<sup>2</sup> 大阪大学微生物病研究所

Tokumura, A.\*<sup>1</sup>, Moriyama, T.\*<sup>1</sup>, Minamino, H.\*<sup>1</sup>, Hayakawa, T. and Tsukatani, H.\*<sup>1</sup>: **Exogenous phosphatidic acid with saturated short-chain fatty acyl groups induces superoxide anion release from guinea-pig peritoneal polymorphonuclear leukocytes by three different mechanisms**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1344, 87~102 (1997)

短鎖の脂肪酸を持つフォスファチデン酸 (PA) がモルトの多形核白血球 (PMNs) の活性酸素産生を一定の lag time 後に引き起こすことを見いだした。4種の PA を用いて、脂肪酸の鎖の長さが活性化に及ぼす影響、細胞外カルシウムが PA の作用に及ぼす影響、各種プロテインキナーゼ阻害剤 (スタウロスポリン, H-7, TMB-8) が PA の作用に及ぼす影響、これら阻害剤の影響と PA 濃度との関係、PA の PMNs 中での代謝に及ぼすプロラノールの影響などについて詳細に解析した。その結果、多形核白血球の活性酸素産生の機構として、プロテインキナーゼ C 経

路及びプロテインキナーゼ C 非依存性経路 2 種の計 3 種が存在すること、この 3 経路において PA は、それ自体が代謝産物であるジアシルグリセロールより重要であることを示唆する結果を得た。

**Keywords:** polymorphonuclear leukocyte activation, phosphatidic acid, protein kinase C

\* 徳島大学薬学部

中西真人\*<sup>1</sup>, 真弓忠範\*<sup>2</sup>, 早川堯夫: **遺伝子治療の発展に必要な基盤技術の開発**

治療学, 31, 11~14 (1997)

遺伝子治療への取り組みとして、現在先行している 3つの領域、すなわち、①導入した遺伝子の発現産物を抗原として免疫を誘導し、感染症などをコントロールしようとする遺伝子ワクチン、②サイトカインなどを発現させて生体の抗癌作用の増強を目指す癌の遺伝子治療、③導入した遺伝子を永続的に発現させて新しい補充療法を目指す遺伝的代謝疾患の治療のそれぞれについて、技術的な面を中心に現在の問題点と将来への展望について考察した。更に、遺伝子治療における次世代基盤技術として著者らが開発を進めているハイブリッドベクター (ウイルスの必要機能を具備した非ウイルスベクター) のコンセプトと現状について論述した。

**Keywords:** gene therapy, hybrid vector

\*<sup>1</sup> 大阪大学微生物病研究所

\*<sup>2</sup> 大阪大学薬学部

Morimoto, K., Tsuda, E.\*<sup>1</sup>, Said, A. A.\*<sup>2</sup>, Uchida, E., Hatakeyama, S.\*<sup>1</sup>, Ueda, M.\*<sup>1</sup> and Hayakawa, T.: **Biological and physicochemical characterization of recombinant human erythropoietins fractionated by Mono Q column chromatography and their modification with sialyltransferase**

*Glycoconjugate J.*, 13, 1013~1020 (1996)

BHK 細胞由来ヒト EPO を Mono Q カラムにて 10種類に分画した。各分画はシアル酸含量の違いに基づいて分画されており、それらのアシアロ糖鎖構造には大きな差異はなかった。また、生物活性の測定より、*in vitro* の生物活性の低下とシアル酸の増加とは、ほぼ規則的に良好な逆相関を示したが、*in vivo* 活性は、シアル酸の増加にもかかわらず、ある分画付近でプラトーになり、至適シアル酸含量は、11.5-12.1 mole/mole EPO と考えられた。シアル酸含量の低い分画では、酵素的なシアル酸の導入が観察され、その結果 *in vivo* 活性の上昇が認められた。シアル酸の導入の程度は、分画 a で 1.2 mole/mole 程度であり、特定箇所へのシアル酸の導入が生物活性の上昇に有効であることが示唆された。

**Keywords:** recombinant erythropoietin, sialic acid, bioactivity

\*<sup>1</sup> 雪印乳業(株)生物科学研究所

\*<sup>2</sup> Zagazig University

Niimi, S., Oshizawa, T. and Hayakawa, T.: **Comparison of potency of recombinant and urinary human thrombomodulins by two assay systems**

医薬品研究, 28, 337~342 (1997)

トロンボモジュリン (TM) は有望な抗血栓薬として現在開発中の糖タンパク質であるが、組換えヒト型 TM 及びヒト尿由来 TM の活性はそれぞれ蛍光強度を用いた系、吸光度を用いた系と異なった系で測定され、かつ力価(単位)の定義は両者で異なっている。そこで各 TM の社内力価(単

位)の相互関係,二種類の測定系に対する反応性を調べた。その結果,各TMは両測定系において直線関係を示し,かつ同様な濃度反応性を示した。更に両測定系においてある一定の換算係数を用い,それぞれ独自に設定された社内力価(単位)から新しい共通の単位に変換することが可能であることが示された。

**Keywords:** thrombomodulin potency, protein C - activating cofactor activity

Kogi, M., Yamaguchi, T., Oshizawa, T. and Hayakawa, T.: **Effects of calyculin A and FK506 on the  $O_2^-$  generation of rat peritoneal macrophages**

*Tokai J. Exp. Clin. Med.*, 21, 37~43 (1996)

食細胞の活性酸素産生系の制御機構におけるリン酸化反応の関与を明らかにする目的で,ラットの腹水マクロファージを用い,脱リン酸化阻害剤(カリクリンA)の活性酸素生成への影響について解析した。その結果,カリクリンAは低濃度でop-ZY及びIgG-ZYによって誘導される活性酸素生成を顕著に阻害することが認められた。この活性酸素生成活性の阻害パターンは,いずれを刺激剤として用いた場合でも同様の用量曲線を示した。本研究により,活性酸素産生系の活性化には,リン酸化だけでなく,ホスファターゼ1あるいは2Aが関与する脱リン酸化が必要であることが示唆された。

**Keywords:** calyculin A, hyperphosphorylation, superoxide

Kogi, M., Fukushige, S.\*, Lefevre, C.\*, Hadano, S.\* and Ikeda, J.\*: **A novel tandem repeat sequence located on human chromosome 4 p: Isolation and characterization**

*Genomics*, 42, 278~283 (1997)

ハンチントン病や他の遺伝病がマップされているヒト4番染色体の短腕端部(1/2)の染色体領域を解析するためにマイクロダイセクション法により,染色体領域特異的ゲノミックDNAライブラリーを作成し,プローブに用いて,ヒトゲノミックDNAのコスミドライブラリーのスクリーニングをおこなった。その結果,10個のポジティブクローンを得,そのうちの1つ4.7Kbをユニットとした反復配列を含むコスミドクローンを分離した。この反復配列は4p15に特異的に存在し,1ゲノム当たり50~70コピーあることが明らかになった。この基本ユニット4.7Kbのすべての塩基配列を決定したところ,4,752bpと算定され,この中に1,590bpのORFが含まれていた。このORFにはホモロジーがなく,新規なものであった。このような反復配列はX染色体にはその存在が知られているが,常染色体では初めてである。

**Keywords:** tandem repeat sequence, chromosome 4 p

\* 東海大学

Tanaka, H.\*, Kawanishi, T., Matsuda, T.\*, Takahashi, M. and Shigenobu, K.\*: **Intracellular free  $Ca^{2+}$  movement in cultured cardiac myocytes as revealed by rapid scanning confocal microscopy**

*J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 27, 761~769 (1996)

高速走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いて,初代培養マウス心筋細胞の細胞内カルシウムイオン濃度変化の画像化を行った。マウス心筋細胞は培養直後には拍動していないが,1,2日培養すると自律的な拍動を示す細胞が現われる。この細胞の $[Ca^{2+}]_i$ を画像化してみると,二種類の動きが観察された。即ち細胞の特定の場所からカルシウムイオンが吹き出るように上昇し,周囲に拡散するようなウェ

ーブ状の動きと,拍動に伴い細胞全体が同期して0.1秒以内に最大濃度までスパイク状に上昇する動きである。これら二つのカルシウムイオンの動きは同一の細胞で観察されることもあるし,また一方のみが観察される細胞もある。薬理的検討の結果,前者は細胞内カルシウムイオン貯蔵部位からの $Ca^{2+}$ の放出及び $Ca^{2+}$ -induced- $Ca^{2+}$ -release機構による伝播,後者は細胞の電気的興奮に伴う筋繊維鞘からの $Ca^{2+}$ の流入が引き金となった細胞全体の上昇であることが明らかとなった。

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

\* 東邦大学

Tanaka, H.\*, Matsui, S.\*, Kawanishi, T. and Shigenobu, K.\*: **Use of chloride blockers: A novel approach for cardioprotection against ischemia-reperfusion damage**

*J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 278, 854~861 (1996)

虚血-再灌流による心筋障害に対する二つのクロライドチャンネル阻害剤,anthracene-9-carboxylic acid(9-AC)と4-acetamide-4'-isothiocyanatostibene-2,2'-disulfonic acid(SITS)の防御効果を調べた。モルモット単離心室筋細胞ではイソプロテレノールによって増加したクロライド電流を9-ACは抑えたが,SITSは抑えなかった。次にモルモット摘出心室筋を無灌流状態に置くと,活動電位は減少し収縮力は消失したが,再灌流によって回復がみられた。9-AC及びSITSとも正常あるいは虚血時の心室筋の収縮力には影響しないが,9-ACは再灌流時の収縮力の回復をより強めた。また9-AC,SITSとも虚血時の活動電位の減少を抑制した。虚血時には細胞内pHは一時的に増加し,その後減少するが,この減少はSITSによって抑制された。以上のようにクロライドチャンネル阻害剤の9-ACとSITSは心筋抑制作用はないが,虚血再灌流障害に対する抑制効果を示す。

**Keywords:** chloride blocker, ischemia-reperfusion damage, pH

\* 東邦大学

Kobayashi, Y.\*, Yamashiro, T.\*, Jinnai, T.\*, Nakano, A.\*, Watanabe, N.\*, Kawanishi, T., Tanaka, H.\* and Shigenobu, K.\*: **Target cell-induced calcium signals in human Natural Killer leukemia cells as revealed by confocal fluorescence microscopy**

*Exp. Cell Res.*, 232, 42~46 (1997)

ナチュラルキラー細胞(NK細胞)において,標的細胞によって誘発されるカルシウム反応をindo-1と共焦点レーザー顕微鏡を用いて画像化した。実験にはヒト由来NK白血球細胞株YTNを用いたが,感受性標的細胞のJY細胞を加えるとラグタイムの後ほとんどの細胞で細胞内カルシウムイオンは上昇するが,非感受性標的細胞のK562細胞では上昇しなかった。この上昇反応は2mMのEGTAで阻害され,10 $\mu$ Mのニカルジピンでは上昇の大きさが半分程度にまで抑えられたが,この抑制の程度は細胞毒性活性と相関があった。これらの結果から,YTN細胞におけるカルシウム反応は細胞毒性発現に必須の過程であると考えられた。

**Keywords:** Natural Killer cell, calcium, confocal microscopy

\* 東邦大学

横田 崎江, 谷本 剛, 川西 徹, 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研究(市販製剤への応用)**

医薬品研究, 27, 708~711 (1996)

日局トロンビンの定量法は操作が煩雑であると共に測定精度も低い。そこでトロンビンに対する特異性の高いペプチド合成基質を用いるトロンビン活性定量法が日局法に置き換わりうるか検討するため、市販製剤についてトロンビン活性を測定し、日局法との比較を行った。その結果、4種の代表的市販製剤において、製剤間に測定値の違いはみられたものの、各製剤について日局法と合成基質法の測定値はほぼ等しい値が得られた。またペプチド合成基質の基質特異性から問題となる可能性のあるトリプシンの影響に関しても、現状の製法で得られたトロンビンに関しては問題とならないことを示唆する結果が得られた。一方、他の報文に報告されている日局法と合成基質法との間の測定値の解離については本研究では確認されず、また現象そのものが異常な条件下で生じていることから、合成基質法への切り替えの支障にはならないと考えられた。以上、ペプチド合成基質を用いたトロンビン活性測定法は現在の日局法に変わりうるトロンビン測定法と考えられた。

**Keywords:** thrombin, colorimetric assay, chromogenic substrate

Fukuoka, M., Niimi, S., Zhou, Y.\*, Kobayashi, T. and Hayakawa, T.: **Responsiveness of rat nonparenchymal liver cells and spleen cells to the decomposition of erythrocytes exposed to DBP and its metabolite**  
*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1154~1159 (1996)

ジブチルフタル酸エステルとその代謝物によって変化を受けた赤血球の分解に、肝非実質細胞が関与することが示唆された。

**Keywords:** nonparenchymal liver cells, phthalate, erythrocytes

\* ファイザー

Fukuoka, M., Niimi, S., Kobayashi, T., Zhou, Y.\* and Hayakawa, T.: **Possible origin of testicular damage by phthalic acid esters**  
*Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 43, p-21 (1997)

フタル酸エステルによる精巣障害の原因として、赤血球及びヘモグロビンとの関連を考察した。

**Keywords:** testicular damage, phthalate, erythrocytes

\* ファイザー

下村裕子, 佐竹元吉, 杉山玲子: **製剤中に含まれる粉末生薬の同定(6), 柑橘類果実生薬の粉末**

*Journal of Japanese Botany*, 71, 145~162 (1996)

胃腸薬承認基準の5種の柑橘類果実生薬の粉末について鏡検により粉末の構成要素を解明した。1. トウヒ, 枳殻またはキジツ, チンピ及び四花青皮は組織細胞の有無や形状の特徴, 細胞含有物の消長を指標として鏡検により鑑別することが可能である。2. 枳殻とキジツは識別は出来ない。

**Keywords:** powdered crude drugs, Citrus fruit, microscopical determination

Emi Okuyama\*, Yoshiko Okamoto\*, Mikio Yamazaki\* and Motoyoshi Satake: **Pharmacologically active components from Peruvian medicinal plant, Huanarpo (*Jatropha cillata*)**

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

ペルーの薬用植物から緩和安定作用のある化合物が数種単離された。活性のあったものはフラボノイドの化合物 isoorientin, orientin, fraxetin である。

**Keywords:** Peruvian medicinal plant, *Jatropha cillata*, Hua-

narpo

\* 千葉大学薬学部

杉山玲子, 下村裕子, 佐竹元吉: **局方粉末生薬の研究, ゲンノショウコ末**

*Natural Medicine*, 50, 212~217 (1996)

ゲンノショウコ末の形態的特徴を明らかにした。特徴は単細胞毛, 短腺毛, 長腺毛, 厚膜細胞, さく状組織中の1個のシユウ酸カルシウムの集晶, でんぷん粒などが認められ, 大きさ等で類似粉末との区別が可能である。

**Keywords:** powdered crude drugs, powdered *Geranium*, microscopical determination

杉山玲子, 佐竹元吉: **局方粉末生薬の研究, コウジン末**  
*Natural Medicine*, 50, 218~221 (1996)

コウジン末の形態的特徴を明らかにした。特徴はのり化したでんぷんを充満する柔組織, 厚壁細胞, コルク層, シユウ酸カルシウムの集晶等である。厚壁組織の肥厚の程度で, 類似した粉末との区別が可能である。

**Keywords:** powdered crude drugs, powdered red *Ginseng*, microscopical determination

樋口行人<sup>\*1</sup>, 山下樹三裕<sup>\*2</sup>, 谷山紘太郎<sup>\*2</sup>, 佐竹元吉, 尾崎正若<sup>\*1</sup>: **七物降下湯の脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット (SHRSP) の脳卒中予防とフリーラジカル関連酵素活性に対する効果**

日薬理誌, 108, 13~22 (1996)

漢方処方七物降下湯を脳卒中易発症性自然発症高血圧ラット (SHRSP) に連続投与したところ, 脳卒中を起こさず, 延命効果が見られた。この作用はフリーラジカル関連酵素活性に対する阻害作用とフリーラジカル消去作用の両方によってもたらされる効果と推測された。

**Keywords:** Shichimotsukoukato, stroke-prone spontaneously hypertensive rats, free-radical-related enzyme

\*1 東亜大・大学院・総合学術

\*2 長崎大・医

Ozaki, Y., Lujian Xing and Satake, M.: **Anti-inflammatory effect of *Trichosanthes kirikowii* Maxim. and its effective parts**

*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1046~1048 (1996)

中国で種々炎症の治療に用いられている処方構成生薬の抗炎症作用を検討した。*Trichosanthes kirikowii* Maxim. の50%メタノールエキスは経口投与でマウスを用いての酢酸誘発色素透過性亢進の抑制, 酢酸誘発 writhing の抑制, ラットを用いてのカラゲニン誘発浮腫および綿球誘発肉芽組織形成の抑制などの抗炎症作用および鎮痛作用を示した。さらに, 活性成分を検討するためにこの生薬から種子を分離し, この種子の50%エタノールエキスも同様の方法により検討した結果, このエキスの経口投与は抗炎症作用および鎮痛作用を示した。これらのことから, この抗炎症作用は炎症過程での比較的早い過程, さらに, 遅い過程で発現していることが考えられた。さらに, これら抗炎症作用および鎮痛作用を示す活性成分は種子に存在することが明らかとなった。

**Keywords:** *Trichosanthes kirikowii* Maxim., anti-inflammatory effect, seed fraction

尾崎幸紘: **生薬の薬効評価に対する含有成分の薬理学的関与について**

*Antibac. Antifung. Agents*, 24, 415~420 (1996)

現在、生薬製剤およびこれに用いられている生薬の品質評価は、これら製剤および生薬に含まれる測定可能な成分を定性的あるいは定量的に検討することによりなされている。この場合、検討すべき成分は何が最もよいか、また、その含有量はどの程度必要であるかなどを明らかにすることは必要であり重要な課題である。このことから、種々の生薬の示す薬理作用を調べ、その薬理活性成分の本体を検討し、その成分のものと生薬が示す薬理効果への関与の程度を明らかにして、生薬中に含有されるどの成分を指標として生薬の品質を評価することが妥当であるかを検討するため、生薬の薬理作用の検討方法および得られた成果の解析、さらに、注意すべき点について、現在までに検討して得られた生薬の薬理作用の結果を参考にして解説した。

**Keywords:** pharmacological study of crude drugs, pharmacological evaluation of crude drugs, pharmacological experiment of crude drugs

相楽和彦<sup>\*1</sup>、平山総良<sup>\*1</sup>、宮川辰治<sup>\*1</sup>、伊藤裕二<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センナ中のセンノシド A 及び B の定量法  
医薬品研究, 27, 291~296 (1996)

センナ中のセンノシド A 及び B の定量法を JP13 に収載するために、成分測定用センノシド A および B の規格、並びに臭化テトラ-n-ヘプチルアンモニウムをカウンターイオンとするイオンペア HPLC 法による繁殖性のある定量法を設定した。また、規格設定のために市場品について乾燥減量の測定及びセンノシド A および B の定量を行い、その結果から JP13 に収載する案として、乾燥減量 12% 以下、総センノシド含量 1.0% 以上が提案された。

**Keywords:** sennoside A, sennoside B, *Sennae Folium*

<sup>\*1</sup> 東京医薬品工業協会

<sup>\*2</sup> 日本生薬連合会

佐竹元吉、鈴木英世、永井吉澄<sup>\*1</sup>、岡田 稔<sup>\*2</sup>、相楽和彦<sup>\*3</sup>、檀浦國夫<sup>\*4</sup>、倉重満雄<sup>\*5</sup>：生薬の純度試験に関する検討

医薬品研究, 27, 467~480 (1996)

局方生薬の残留農薬について、これまでの文献調査並びに分析による実態調査をした。生薬の選定には、過去の汚染報告や、使用部位、需要量などを考慮に入れ、トウキなど 14 種類を選んだ。また農薬は、1990 年まで衛生試験法で対象としていた有機塩素剤 13 種類、有機リン剤 6 種、カルバメート剤 1 種とした。測定値で問題になったものは、センナ及びニンジンに残留する BHC と DDT であった。次にそれらの分析の標準測定法を設定すると共に、測定上の注意点を検討した。

**Keywords:** residual pesticide, Senna, Ginseng

<sup>\*1</sup> 日本生薬連合会

<sup>\*2</sup> 東京生薬協会

<sup>\*3</sup> 東京医薬品工業協会

<sup>\*4</sup> 大阪医薬品協会

<sup>\*5</sup> 日本植物油協会

佐竹元吉、関田節子、安田一郎<sup>\*1</sup>、藤田正雄<sup>\*2</sup>、白鳥誠<sup>\*2</sup>、人見信之<sup>\*3</sup>、清水袈裟光<sup>\*3</sup>、岡田 稔<sup>\*2</sup>、箕浦修介<sup>\*2</sup>、新 邦夫<sup>\*3</sup>、永井吉澄<sup>\*4</sup>、有本恵子<sup>\*4</sup>：生薬の微生物限度に関する研究

医薬品研究, 27, 706~707 (1996)

日局 (JP12) に微生物限度試験法が収載されたことにより、生薬への同法の適用が提案されている。このため、今後の改正時に参考とする資料を作成し、生薬及び生薬製剤

への設定の可能性を検討するため、原形生薬、粉末生薬、生薬製剤、エキス剤について実態調査を行った。その結果カンゾウ、ニンジンに細菌数が、オウゴン、オウレン、ケイヒ、トウキに真菌数が多く検出され、粉末生薬でも同様の傾向が認められた。これらの生薬は、形状が複雑で土を落とし難いことが一因と考えられるが、調整時、保管時、輸送時等の諸条件について今後の調査が必要であることが認識された。

**Keywords:** plant medicines, microbial contamination, microbial limit test

<sup>\*1</sup> 東京都立衛生研究所

<sup>\*2</sup> 東京生薬協会

<sup>\*3</sup> 日本漢方生薬製剤

<sup>\*4</sup> 日本生薬連合会

Kuroyanagi, M.<sup>\*1</sup>, Ueno, A.<sup>\*1</sup>, Hirayama, Y.<sup>\*2</sup>, Hakamata, Y.<sup>\*2</sup>, Gokita, T.<sup>\*2</sup>, Ishimaru, T.<sup>\*2</sup>, Kameyama, S.<sup>\*2</sup>, Yanagawa, T.<sup>\*2</sup>, Satake, M. and Sekita, S.: **Anti-androgen active constituents from *Dalbergia cochinchinensis* Pierre**  
*Natural Medicines*, 50, 408~412 (1996)

抗アンドロジェン活性を示す *Dalbergia cochinchinensis* の活性成分として 3 種の新規化合物を含む 10 化合物を単離し、構造決定を行った。主成分であるラテフォリンとメチルダルベルギオンはテストステロン 5 $\alpha$ -レダクターゼならびにジヒドロテストステロン受容体に対し強い競合型阻害活性を示した。

**Keywords:** *Dalbergia cochinchinensis* Pierre, neoflavone, anti-androgen activity

<sup>\*1</sup> 静岡県立大・薬

<sup>\*2</sup> ライオン(株)

Ayer, W. A.\*<sup>\*</sup>, Cruz, E. R.\*<sup>\*</sup>, Kawahara, N, Muir, D. J.\*<sup>\*</sup> and Ptaszynska, K.\*<sup>\*</sup>: **Chemistry associated with black galls on aspen of *Lecythophora hoffmannii***  
*Rev. Latinoamer. Quim.*, 24, 183~190 (1996)

カナダにおいて最も重要な木材資源の一つであるアスペンは、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きている。現在までに青変菌に拮抗する菌類のスクリーニングより見出された真菌、*Lecythophora hoffmannii* の活性成分の検索を行い、米培地アセトン抽出エキスより新規抗真菌性物質 lecythophorin を単離、構造決定した。今回さらに lecythophorin の脂肪酸側鎖の水酸基の絶対配置を決定すると共に、液体培地による培養を試み、培養液の酢酸エチル抽出エキスより、lecythoside と命名した新規化合物を単離、構造決定した。

**Keywords:** lecythophorin, lecythoside, *Lecythophora hoffmannii*

\* アルバータ大

Nakamura, A., Kojima, S., Isama, K., Umemura, T., Kawasaki, Y., Takada, K., Tsuda, M. and Kurokawa, Y.: **The effects of oligomers content and surface morphology on foreign-body tumorigenesis with polyetherurethanes: Two years subcutaneous implantation study in rats**

*J. Long-Term Effects of Med. Devices*, 5, 263~273 (1995)

ポリエーテルウレタン (PEU) の異物発癌性に対するオリゴマーと表面性状の寄与を明らかにする目的で、以下の実験を行った。すなわち、オリゴマーを徹底的に抽出除去した PEU (UR)、未処理 PEU に抽出したオリゴマーを加

えたもの (UA), 未処理 PEU (UN) の3種類それぞれをテトラヒドロフラン (THF) 又はジメチルホルムアミド (DMF) に溶かした後, 溶媒を揮発させてフィルムを作成した. THF 溶液からは表面が平滑なフィルムが得られ, DMF 溶液からはフォーム状のものが得られた. これらの6種類をラット皮下に2年間埋植し, 腫瘍の発生と局所の病理検査を行った. 表面が平滑なフィルムでは, 腫瘍の発生率及び周囲組織の病理所見について, UR, UN, UA 群間に有意差はなかった. すなわち, オリゴマー量の違いは発癌性に影響を与えなかった. 一方, 表面が平滑なものとはフォーム状のものを比較すると, UR, UN, UA いずれから製したもので, フォーム状の方が平滑な場合に比べて, 腫瘍の発生時期が6~9ヶ月遅れ, 総発癌数も少なくなった.

**Keywords:** implant tumorigenesis, polyetherurethane, foamed material

**Kaniwa, M.: Chemical analysis to check relations between causative products and component chemicals in allergic contact dermatitis**

*Environmental Dermatology*, 3 (Suppl 1), 97~102 (1996)

アレルギー性接触皮膚炎における原因製品と原因化学物質の関連性を確認するために, メーカーからの製品情報の収集, 臨床皮膚科医による患者でのパッチテスト及び毒理学による動物実験におけるアレルギー性試験, 分析化学者による原因製品中のアレルギー性物質の分析調査等, 異分野の研究者間の共同研究における成果を総合することによって, 原因化学物質を効率良く, 的確に特定することができる.

**Keywords:** allergic contact dermatitis, causative product and chemical relevance

**Kaniwa, M.: Allergen explanation. diphenylguanidine (DPG), styrenated phenol (SP), dioxydiphenyl (DOD), p-tert-butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR)**

*Environmental Dermatology*, 3, 120~127 (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, 事例報告並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, ゴム添加剤のうち, ゴム加硫促進剤として使用される diphenylguanidine (DPG), 老化防止剤として使用される styrenated phenol (SP), dioxydiphenyl (DOD), クロロブレンゴム系接着剤の樹脂成分として使用される p-tert-butylphenol formaldehyde resin (PTBP-FR) 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, rubber additive

**Kaniwa, M., Nishioka, K.\*<sup>1</sup>, Miyako, F.\*<sup>2</sup>, Jidoi, J.\*<sup>2</sup>, Isama, K. and Nakamura, A.: Analysis of allergenic chemicals in farmer's rubber boots causing allergic contact dermatitis and a trial for hypoallergenic rubber boots**

*Environmental Dermatology*, 3, 64~70 (1996)

農作業用ゴム長靴によるアレルギー性接触皮膚炎事例7例について原因化学物質の究明を実施した結果, 代表的なゴムアレルギーであるアミン系老化防止剤の N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (IPPD) と共に, アレルギー性物質であることが確認されている老化防止剤の N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (DMBPPD),

6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ) 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っていたことを明らかにできた. 更に, 農作業用ゴム長靴メーカーの協力により, これらのアレルギー性老化防止剤を使用しない改良品を作成した.

**Keywords:** allergic contact dermatitis, farmer's rubber boot, amine-type antioxidant

\*<sup>1</sup> 山口赤十字病院皮膚科

\*<sup>2</sup> 島根医科大学皮膚科

**Nishioka, K.\*<sup>1</sup>, Murata, M.\*<sup>1</sup>, Ishikawa, T.\*<sup>1</sup> and Kaniwa, M.: Contact dermatitis due to rubber boots worn by Japanese farmers, with special attention to 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ) sensitivity**

*Contact Dermatitis*, 35, 241~245 (1996)

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, 6例, 9名の患者について検討した. 患者でのパッチテスト及び原因製品の分析調査により, ゴムアレルギーとして知られる p-フェニレンジアミン系老化防止剤の N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (IPPD), N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (DMBPPD) が原因化学物質として確認できた. 一方, 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ) がゴム製品による事例において原因化学物質となっていたことが確認できたのは著者らの報告が最初である.

**Keywords:** allergic contact dermatitis, farmer's rubber boot, amine-type antioxidant

\*<sup>1</sup> 山口赤十字病院皮膚科

**Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A. and Shono, M.\*: Esterase from ammoniated latex: Biochemical characterization and antigenicity**

*Food & Agric. Immunol.*, 8, 121~136 (1996)

ラテックスアレルギーの特徴の一つとして, 植物性食品や花粉に対する交差反応が挙げられる. しかし, 交差反応性抗原に対する具体的な説明はなされていない. 著者らは, 植物の生体防御蛋白質群が交差反応性抗原になる, という仮説を立てた. 本研究ではこの仮説を検証するため, ゴムの木の生体防御に関与すると考えられるエステラーゼをアンモニアラテックスから分離し, その性質及びラテックスアレルギーとの関連性について調べた. 分離されたエステラーゼは, 非変性条件下で約80kDの分子量を有するものの, 変性条件下では複数のユニットに解離することがゲル電気泳動法で確認できた. またこの酵素は, 液胞由来の lutoid から以前に分離されたエステラーゼ hevain ℓ に似た特徴を有していることがわかった. 更に, ラテックスアレルギー患者血清中の 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, イムノブロットングにより示された. 以上の結果は, このエステラーゼとラテックスアレルギーとの関連性を明示すると共に, 著者らの仮説の正当性を支持している.

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

\* しょうの皮膚科

**矢上 健: 植物のストレス誘導性蛋白質とラテックスアレルギー**

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 1, 38~41 (1997)

ラテックスアレルギーに伴う巾広い交差反応性に関連し, 植物の生体防御蛋白質群が交差反応をも引き起こすアレルギーになる, という解釈を提言した. また, 市販され



ている天然ゴム製手袋やアンモニアラテックスの抽出液から検出したことを既に報告している, キチナーゼやリゾチーム,  $\beta$ -1,3-グルカナーゼ, エステラーゼに加えて, リボヌクレアーゼやアルカリ性プロテアーゼインヒビターの活性を天然ゴムラテックスの抽出液中に検出した結果を報告した. このような加水分解酵素及び酵素インヒビターは, 植物の生体防御反応に深く関与するとされているものである.

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

Kitagawa, K.\*<sup>1</sup>, Aida, C.\*<sup>1</sup>, Fujiwara, H.\*<sup>1</sup>, Yagami, T. and Futaki, S.\*<sup>2</sup>: **Efficient solid-phase synthesis of sulfated tyrosine-containing peptides using 2-chlorotriptyl resin: Facile synthesis of gastrin/cholecystokinin peptides**

*Tetrahedron Lett.*, 38, 599~602 (1997)

硫酸化チロシン [Tyr(SO<sub>3</sub>H)] 含有ペプチドの, 効率的かつ簡便な化学合成法を開発した. この合成法は, 弱酸処理により切り出し可能な2-クロロトリチル樹脂を固相担体として用い, Tyr(SO<sub>3</sub>H)残基を直接導入するFmoc型固相法によりペプチド鎖を構築し, Tyr(SO<sub>3</sub>H)残基の脱硫酸化反応を最小限に抑制できる二段階の酸処理を施して目的の硫酸化ペプチドを得るという戦略からなる. 本合成手法を適用することで, 従来から化学合成が困難であるとされてきた様々な鎖長を有するガストリン-II及びコレスチキニン(CCK)を, 収率良く合成することに成功した.

**Keywords:** peptide synthesis, tyrosine-O-sulfate, cholecystokinin

\*<sup>1</sup> 新潟薬科大学

\*<sup>2</sup> 徳島大学薬学部

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Application of sensitive mouse lymph node assay for detection of contact sensitization capacity of dyes**

*J. Appl. Toxicology*, 16, 349~354 (1996)

先に確立したマウスを用いた感作性試験法SLNAが着色性物質の皮膚感作性の検出に応用できるか検討した. リンパ節活性化反応を評価する本法での結果はヒトパッチテストやモルモット試験法での結果とよく一致した. SLNA法は試験物質の着色性に影響されず, 十分な感度をもつ優れた試験法であることがわかった.

**Keywords:** mouse, sensitization test, dye

Ikarashi, Y., Momma, J., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Evaluation of skin sensitization potential of nickel, chromium, titanium and zirconium salts using guinea-pigs and mice**

*Biomaterials*, 17, 2103~2108 (1996)

ニッケル, クロム, ジルコニウム及びチタン塩の感作性強度をモルモット Maximization 法及びマウスを用いたSLNA法により評価した. 感作及び惹起濃度から感作強度の順序を求めたところ, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> > NiSO<sub>4</sub> > TiCl<sub>4</sub> > ZrCl<sub>4</sub> の順であった. これら金属塩間で交差反応は認めなかったことから, ニッケルアレルギーなどを有する患者はチタンなどが代替材料として用いられることを明らかにした.

**Keywords:** contact hypersensitivity, titanium, nickel

Nakaoka, R., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Studies on the tumor-promoting activity of polyethylene: in-**

**hibitory activity of metabolic cooperation of polyethylene films containing an antioxidant**

*J. Long-Term Effects Med. Implants*, 5, 253~262 (1995)

モデル酸化防止剤としてフェノール系化合物を含有したポリエチレンフィルムが細胞間連絡作用に与える影響を, 代謝協同阻害試験を用いて検討した. まず, 化合物に関して検討したところ, この化合物には阻害活性があることが認められた. 次に, フィルムから培地への溶出物に関して検討したところ, 化合物が非水溶性であるにもかかわらず, フィルム中の化合物含有量が増大するにしたがって溶出物の阻害作用が増強されることが明らかとなった. しかしながら, 化合物を含まないフィルムに関しては, 溶出物の阻害活性は認められないものの, その上で培養した細胞に対して代謝協同阻害活性があることが認められた. このことから, ポリエチレンの発癌プロモーター活性には, 添加物の種類や量だけでなくその表面特性が影響を与えることが示された.

**Keywords:** tumor-promotion, polyethylene film, metabolic cooperation assay

Nakaoka, R., Tabata, Y.\* and Ikada, Y.\*: **Antibody production by administration of biodegradable granules incorporating antigen through different injection routes**

*J. Controlled Release*, 40, 11~21 (1996)

モデル抗原であるオブアルブミン(OVA)を包含した生分解性高分子であるポリDL乳酸からなる微粉末を新規な方法で調製し, OVA徐放挙動を検討した. その結果, 微粉末からのOVAの放出は35日以上続くことが認められた. その微粉末をマウスに種々の方法で投与したあとの, OVA特異抗体の産生量変化をELISA法で検討したところ, 投与部位に関わらず, 抗原特異抗体の産生が長期にわたって増強された. これは, 投与部位に留まった微粉末からの抗原放出が長期間続いている上, その周囲での強い炎症反応により微粉末周囲の免疫系細胞の局所密度が大きいことによることが示唆された.

**Keywords:** immunological adjuvant, poly(DL-lactic acid) granule, antigen release

\* 京都大学生体医療工学研究センター

Nakaoka, R., Tabata, Y.\* and Ikada, Y.\*: **Production of interleukin 1 from macrophages incubated with poly(DL-lactic acid) granules containing ovalbumin.**

*Biomaterials*, 17, 2253~2258 (1996)

モデル抗原であるオブアルブミン(OVA)を包含した生分解性高分子であるポリDL乳酸からなる様々な微粉末を種々の条件で調製した. これらの微粉末をマウス腹腔内マクロファージと同時に培養し, 産生されるインターロイキン1(IL-1)の量を測定した. その結果, OVA含有微粉末を添加したところ, OVAと空の微粉末を混合して添加した場合と比較してIL-1の産生量は著しく増強されることが認められた. また, 微粉末によって誘導されたIL-1産生量は, OVAの初期放出量や添加された微粉末の量に影響を受けることが明らかとなった. これらのことから, OVA含有微粉末によるIL-1産生の増強には, マクロファージと微粉末が接触し, その近傍においてOVA放出が行われることにより, マクロファージが効率良く活性化された結果によることが示唆された.

**Keywords:** biodegradable granules, macrophage activation, protein release

\*京都大学生体医療工学研究センター

**Nakaoka, R., Inoue, Y.\*, Tabata, Y.\* and Ikada, Y.\*: Size effect on the antibody production induced by biodegradable microspheres containing antigen**

*Vaccine*, 14, 1251~1256 (1996)

液中乾燥法を用いてオプアルブミン (OVA) を包含したポリ乳酸微粒子を調製し、これらを細胞分画用エルトリエータを利用して種々の大きさに分画することができた。これらの粒子からの OVA の放出は、粒子径に関わらず、80 日以上にわたって認められた。これらの粒子をマウスに投与した後の OVA 特異抗体の産生を ELISA 法を用いて検討したところ、粒子径の減少にしたがって抗体産生は増強する傾向が認められた。このことは、粒子径の減少にしたがって投与される粒子数が増大し、粒子と抗原提示細胞との相互作用が生じ易いためだと考えられる。

**Keywords**: immunological adjuvant, poly(L-lactic acid) microspheres, size effect

\*京都大学生体医療工学研究センター

**Nakaoka, R., Tabata, Y.\* and Ikada, Y.\*: Adjuvant effect of biodegradable poly(DL-lactic acid) granules capable for antigen release following intraperitoneal injection**

*Vaccine*, 14, 1671~1676 (1996)

モデル抗原であるオプアルブミン (OVA) を包含した生分解性高分子であるポリ DL 乳酸からなる様々な微粉末を種々の条件で調製することで、種々の OVA 放出挙動をもつ微粉末を得た。これらの微粉末をマウス腹腔内に投与した後の OVA 特異抗体の産生量を ELISA 法で測定したところ、その粉末からの OVA 放出挙動に関わらず、いずれの微粉末の場合においても抗体産生量が増強されることが認められた。それに対して、抗体産生量は投与した微粉末量に影響され、その影響は微粉末を高分子のゲルからなるチューブ内に包含して埋入することでみられなくなった。これらのことから、微粉末による抗体産生の増強には、OVA が徐放されることが必須であるもののその徐放挙動による影響は小さく、投与された微粉末の量による影響が大きいことが明らかとなった。

**Keywords**: biodegradable granules, antigen release profile, antibody production

\*京都大学生体医療工学研究センター

**Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: A new hypothesis of tumorigenesis induced by biomaterials: inhibitory potentials of intercellular communication play an important role on the tumor-promotion stage**

*J. Long - Term Effects Med. Implants*, 5, 233~242 (1995)

セグメント化ポリエーテルウレタンをモデル医用材料として、現在までに明らかになった腫瘍発生機構について、論じた。更に、我々の一連の研究結果から、医用材料で誘発される異物発癌において、ギャップ結合蛋白であるコネキシンの細胞間連絡機能が細胞/材料界面で破壊される活性強度が、異物発癌のプロモーション過程において重要な因子である仮説を提示した。

**Keywords**: biomaterials, tumor-promotion, gap-junctional intercellular communication

**Tsuchiya, T., Ikarashi, Y. and Nakamura, A.: Studies on the tumor-promoting activities of additives in biomaterials: inhibition of metabolic cooperation by addi-**

**tives such as pigments and phenolic antioxidants**

*J. Long - Term Effects Med. Implants*, 5, 243~252 (1995)

V79代謝協同阻害試験法を用いて、医療用材料等の添加物である色素のギャップ結合細胞間連絡阻害活性を調べた。6種の色素の中で、4種が阻害陽性反応を示した。sudan I 及び purple 201 は既知発癌プロモーターであるリトコール酸より低濃度で阻害作用を示すことが明らかになった。医療用材料中に含まれるオリゴマー、反応触媒、種々の添加物、材料表面特性等、材料による癌化を促進する可能性のある因子について論じた。

**Keywords**: tumor-promotion, pigments, gap-junctional intercellular communication

**Tsuchiya, T., Nakaoka, R., Degawa, H. and Nakamura, A.: Studies on the mechanisms of tumorigenesis induced by polyetherurethanes in rats: Leachable and biodegradable oligomers involving the diphenyl-carbamate structure acted as an initiator on the transformation of Balb 3 T 3 cells**

*J. Biomed. Mater. Res.*, 31, 299~303 (1996)

ポリエーテルウレタンのメタノール抽出物中に弱い発癌イニシエーション活性が検出された。ハードセグメントの部分モデル化合物は、Balb 3 T 3 細胞トランスフォーメーション試験でイニシエーション活性を示したが、ソフトセグメント構成ポリオールや、鎖延長剤では、活性は検出されなかった。

ガラスディッシュに発癌強度の異なるポリウレタン2種を半面コートし、トランスフォーメーション試験を行った結果、発癌強度の高い材料上で有意に高い形質転換活性が認められた。また、コート量を減少させると活性が消失した。従って、細胞と材料との直接の相互作用の結果、ポリウレタンが生分解をうけ、ハードセグメントによるイニシエーション作用が生じることを *in vitro* の結果から明らかにした。

**Keywords**: polyetherurethanes, hard segment, tumor-initiation

**Tsuchiya, T., Oguri, i., Nakajima Yamakoshi, Y. and Miyata, N.: Effects of [60]fullerene on the chondrogenesis in mouse embryonic limb bud cell culture system**

*Fullerene Sciences & Technology*, 4, 989~999 (1996)

ポリビニルピロリドンで水溶化した C<sub>60</sub> フラーレンが、マウス胎仔肢芽細胞の軟骨分化促進作用を示す事を明らかにした。高濃度フルーレンが誘発する細胞融解は、活性酸素スキベンジャーにより消失したことより、フルーレンは本実験条件下で活性酸素を産生し、高濃度存在下では細胞毒性の原因となる事を明らかにした。

**Keywords**: C<sub>60</sub> fullerene, mouse limb buds, chondrogenesis

**Tsuchiya, T., Oguri, i., Nakajima Yamakoshi, Y. and Miyata, N.: Novel harmful effects of [60]fullerene on the mouse embryos *in vitro* and *in vivo*.**

*FEBS Letters*, 393, 139~145 (1996)

C<sub>60</sub> フラーレンをポリビニルピロリドンで水溶化し、マウスの中脳細胞の分化培養系で試験した。フルーレンは神経分化及び増殖を強く阻害したが、溶媒コントロールであるポリビニルピロリドン単独よりも阻害活性は減弱していた。一方、マウス腹腔内へフルーレンを注入した結果、yolk sac 及び胎仔にフルーレンが移行し分布することが明らかになった。光学顕微鏡で観察した結果、マウスの神経管及び頭部に形態異常を生じている事、また、*in vitro* での結

果から、フラレンから産生される活性酸素がこれらの発生異常に関与している可能性を明らかにした。

**Keywords:** C<sub>60</sub>fullerene, neuronal differentiation, mid brain cells

Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Research and regulatory situation of tissue engineering in Japan**

*Tissue Engineering*, 3, 105~108 (1997)

組織工学的手法を用いた人工臓器の開発研究が世界各国で行われており、欧米ではその市場化が現実のものとなっている。わが国ではそれらの医療用具を取り扱うためのガイドラインが現在ない。そこで、ガイドライン化にむけての問題点と基本的な枠組みについて述べた。

**Keywords:** tissue engineering products, safety, effectiveness

Hayashi, Y., Matsuda, R. and Poe, R.B.: **Probabilistic approach to confidence intervals of linear calibration**

*Analyst*, 121, 591~599 (1996)

同じ実験条件から得られた検量線のバラツキは検量線の信頼区間として表される。この論文では、実験値の標準偏差と理論的 (FUMI 理論により) に求めて検量線の信頼区間を計算する方法を示し、得られた信頼区間自体のバラツキが従来の方法より小さいことを示した。

**Keywords:** precision, calibration, confidence intervals

Shintani, H.: **Possibility of sterility resistance difference of microorganisms between biological indicator (BI) of one microorganism in single carrier and two microorganisms in single carrier**

*Biocontrol Science*, 2, 43~45 (1997)

生物指標 (BI) に関する国際規格 (ISO) である ISO11138 では 1 担体に多菌種添加した BI は個々の菌種間で干渉の影響が考えられるため除外された。この推察が正しいかどうかを確認するため個別と混在の菌で抵抗性 (D 値) が変化するかどうかを実験した。BI は 10<sup>6</sup> を有する *B. subtilis* 並びに *B. stearothermophilis* を個別並びに同一の濾紙に添加して作成した。BI 作成後 ISO11138-2 に従って滅菌した。個々並びに複合の *B. subtilis* の D 値は変化がなく、このことは抵抗性に影響が無いことを意味している。同様な結果が高圧蒸気滅菌で *B. stearothermophilis* の場合にも見られた。

**Keywords:** biological indicator, ethylene oxide sterilization, moist heat sterilization

新谷英晴: **イオン交換クロマトグラフィーによる人血清尿素の分析**

医科器械, 66, 414~416 (1996)

尿毒症に罹患すると血中に尿素等の尿毒症成分が蓄積するため、それらを除去する必要がある。その除去効果は血中尿素等を精度よく測定することによって行える。その目的のためには選択的分析法の開発が必要である。現在臨床検査で専ら用いられている尿素の分析にはイオン選択電極法、比色法、自動分析法等がある。これらの測定原理は尿素をウレアーゼでアンモニアにしアンモニアとして測るか (イオン選択電極法)、アンモニアを種々の試薬で発色させるか (例えばインドフェノール法)、専ら比色法を用いた自動分析機での測定、並びにトランスアミナーゼと補酵素 NAD を介して NADH の吸収 (340nm) で測定する方法等が用いられている。これらの方法を用いた場合、内因性アンモニアと尿素との分別分析が不可能な欠点がある。更に現在の臨床検査では結合型尿素と遊離型尿素との分別分

析が考慮されていない。遊離型尿素のみを特異的に測定する必要がある。以上の目的のために尿素分析を種々検討した結果、イオン交換クロマトグラフィーで血清尿素と夾雑成分並びに内因性アンモニアとの分別分析が達成された。選択的な遊離型尿素の分析は限外ろ過で達成された。

**Keywords:** urea, ion exchange chromatography, uremia

Shintani, H.: **Factors in the pretreatment of biological indicators that affect the decimal reduction time**

*Biomedical Instrumentation Technology*, 30, 449~453 (1996)

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、菌担体並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、菌担体並びに菌培養培地が影響を与える可能性がある。菌懸濁液、菌担体並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 CD 14161 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を確認する必要がある。

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

Isozaki T.\*, Morita Y.\* and Matsumura T.: **Direct determination of lead in suspended particulate matter in air tungsten furnace-atomic absorption spectrometry with punching technique**

*Analytical Sciences*, 12, 755~759 (1996)

空気中の微量の鉛を原子吸光度法を用いて検討した。本法は空気中の粒子状鉛を low volume air sampler を用いてニトロセルロースフィルターに捕集する。捕集後、フィルターを直径 2 mm の大きさにパンチでくりぬき試料とする。この試料をタングステン炉にセットする。ついで塩化パラジウム溶液 (パラジウムとして 1 µg) を添加後、300°C で 30 秒乾燥、1000°C で 30 秒間灰化する。ついで、2000°C で 2 秒間原子化し、283.3nm でピークエリアを測定する。本法の変動係数は 14.3%、最小検出濃度は 0.035 µg/m<sup>3</sup> である。

**Keywords:** direct determination, lead, suspended particulate matter

徳永裕司, 木嶋敬二, 安藤正典: **サリチル酸を透過指標物質とする界面活性剤のモルモット剥離皮膚への影響**

医薬品研究, 27, 606~612 (1996)

モルモットの剥離皮膚に対する 6 種類のアニオン性界面活性剤、8 種類のカチオン性界面活性剤及び 13 種類のノニオン性界面活性剤の影響をサリチル酸 (SA) の皮膚透過速度を指標として検討した。アニオン性あるいはカチオン性界面活性剤で剥離皮膚を処理した時、界面活性剤の一番長い脂肪族炭化水素の炭素数が 12 あるいは 14 の場合に最も大きな SA の透過速度を与え、既に報告したメチルパラベンとの透過と非常によく相関関係を示した。ノニオン性界面活性剤の親水性親油性バランスと SA の透過速度の間に相関関係は認められなかった。

**Keywords:** salicylic acid, surfactant, skin permeation

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: **ヘマトポルフィリン-**

### UVA 増感による 3 次元培養細胞 (Skin<sup>2</sup>) 中の過酸化脂質含量への影響

香粧会誌, 20, 259~264 (1996)

UVA の生体影響を予測するために 3 次元培養細胞 (Skin<sup>2</sup>) に光増感剤であるヘマトポルフィリン (HP) 存在下 UVA (350 - 380nm) を照射し細胞の生存率及びスクワレンモノヒドロペルオキシド (SQOOH) と 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) 含量に与える影響を検討した。その結果、HP 非存在下では細胞毒性及び SQOOH, TBA-RS 含量の有意な増加は見られなかったが、HP 存在下では濃度依存的に細胞毒性及び SQOOH, TBA-RS 含量の有意な増加が見られた。これらの結果から、UVA 照射により生じた<sup>1</sup>O<sub>2</sub>により生成した SQOOH と、これより生じた TBA-RS が細胞毒性に関与していることを示唆した。

**Keywords** : UVA, Skin<sup>2</sup>, hematoporphyrin

### Uchino, T., Tokunaga, H. and Ando, M.: Effects of UV-sensitization of hematoporphyrin on lipid hydroperoxides in erythrocytes and on their hemolysis

*Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 43, 101~107 (1997)

前報においてヘマトポルフィリン-UVA 増感による赤血球中の過酸化脂質含量及び溶血への影響について報告したが、今回は UVB 照射時において同様に検討を行い UVA 照射時との比較を行った。その結果、溶血に先立って過酸化脂質含量の増加が起こり、また UVB 照射時には phosphatidylethanolamine hydroperoxide (PEOOH) 及び 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) 含量が UVA 照射時より早く増加することを明らかにした。また抗酸化剤を添加し、UVA 及び UVB 照射時の溶血への影響について検討した結果、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>阻害剤であるアジ化ナトリウムやヒスチジンはいずれも溶血を阻害したが OH ラジカル消去剤のマニトールやソルビトールは UVB 照射時は溶血を阻害しなかった。これらの結果から、UV 照射によって生じた<sup>1</sup>O<sub>2</sub>が赤血球膜脂質を過酸化し、それが自動酸化反応によってある一定レベル以上に増大して溶血にいたることを示唆した。

**Keywords** : UVA, UVB, hematoporphyrin

### Hanioka, N., Omae, E.\*<sup>1</sup>, Nishimura, T., Jinno, H., Onodera, S.\*<sup>2</sup>, Yoda, R.\*<sup>1</sup> and Ando, M.: interaction of 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether with microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenases in rat liver

*Chemosphere*, 33, 265~276 (1996)

2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル (Irgasan DP300) の毒性発現機構を解明するための一環として、*in vitro* 系におけるシトクロム P450 依存性酵素活性に及ぼす Irgasan DP300 の影響について検討した。3-メチルコランズレン、フェノバルビタール、ピリジン、デキサメタゾン及びクロフィブレートでそれぞれ処理したラット肝ミクロゾームに Irgasan DP300 を添加し、6 種類のシトクロム 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-ペンチラーゼ活性は、Irgasan DP300 により非競合的に強く阻害された (Ki=1.48mM)。また、フェノバルビタール処理ラット肝ミクロゾームのフェナセチン O-デエチラーゼ及び p-ニトロフェノールヒドロキシラーゼ活性も Irgasan DP300 により競合的あるいは非競合的に阻害され、それらの Ki は、他の肝ミクロゾームより低かった。以上の結果より、Irgasan DP300 は、CYP 2B サブファミリーシトクロム P450 分子種と何らかの相互作用を起こし、

このシトクロム P450 分子種が Irgasan DP300 の代謝及び毒性に関与していることが示唆された。

**Keywords** : Irgasan DP300, cytochrome P450, liver microsomes

\*<sup>1</sup> 共立薬科大学

\*<sup>2</sup> 東京理科大学

### Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: Effect of 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether on cytochrome P450 enzymes in the rat liver

*Chemosphere*, 34, 719~730 (1997)

2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル (Irgasan DP300) の毒性発現機構を解明するための一環として、ラットに Irgasan DP300 (0.2, 0.4 及び 0.8mmol/kg) を 1 日 1 回 4 日間腹腔内投与し、シトクロム P450 に及ぼす Irgasan DP300 の影響について検討した。CYP 2B1/2 依存性酵素である 7-ベンジルオキシレゾルフィン O-デベンジラーゼ及び 7-ペントキシレゾルフィン O-ペンチラーゼ活性は、Irgasan DP300 投与により用量依存的に増加した (5.6~22.3 倍及び 4.9~20.2 倍)。また、抗ラット CYP 2B1/2 抗体を用いたウエスタンブロッティングからも、Irgasan DP300 による CYP 2B1/2 タンパクの顕著な誘導が認められた。しかし、Irgasan DP300 は、他のシトクロム P450 分子種 (CYP 1A1/2, CYP 2C11/6, CYP 2E1, CYP 3A2/1 及び CYP 4A1) にはほとんど影響を与えず、Irgasan DP300 の毒性には CYP 2B サブファミリーシトクロム P450 分子種が何らかの形で関与していることが示唆された。

**Keywords** : Irgasan DP300, cytochrome P450, liver microsomes

### Hanioka, N., Omae, E.\*<sup>1</sup>, Yoda, R.\*<sup>1</sup>, Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: Effect of trichloroethylene on cytochrome P450 enzymes in the rat liver

*Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58, 628~635 (1997)

トリクロロエチレンの毒性発現機構を解明するための一環として、ラットにトリクロロエチレン (400, 800 及び 1200 mg/kg) を 1 日 1 回 4 日間腹腔内投与し、シトクロム P450 に及ぼすトリクロロエチレンの影響について検討した。ラウリン酸 w-ヒドロキシラーゼ活性は、いずれの投与量のトリクロロエチレンでも有意に増加し、その誘導率は、対照群ラットの 2.9~3.0 倍であった。また、p-ニトロフェノールヒドロキシラーゼ及びテストステロン 6b-ヒドロキシラーゼ活性もトリクロロエチレンにより用量依存的に増加した。しかし、テストステロン 2a-ヒドロキシラーゼ活性は、1200mg/kg トリクロロエチレンで有意に低下した。更に、抗ラットシトクロム P450 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、トリクロロエチレン投与による CYP 4A1 タンパクの顕著な誘導が認められた。また、トリクロロエチレン投与による CYP 2E1, CYP 3A2/1 タンパクの増加及び CYP 2C11/6 タンパクの減少も認められた。以上の結果より、トリクロロエチレンの毒性は、常在性シトクロム P450 分子種の変動により発現することが示唆された。

**Keywords** : trichloroethylene, cytochrome P450, liver microsomes

\* 共立薬科大学

Watanabe, K.\*<sup>1</sup>, Toyoda, M., Hashimoto, H.\*<sup>2</sup>, Nakagawa, K.\*<sup>2</sup>, Nakamura, K.\*<sup>3</sup>, Yabusaki, Y.\*<sup>3</sup>, Tanimura, A.\*<sup>1</sup> and Saito, Y.: Expression of 135-kDa insecticidal protein

**gene from *Bacillus thuringiensis* in the yeast *Saccharomyces cerevisiae****Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 1483~1485 (1996)

*Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* は130-kDa 及び135-kDa (CryIA (a)) の殺虫蛋白質を生産する。 *Saccharomyces cerevisiae* を CryIA (a) 遺伝子含有ベクターで形質転換した場合、遺伝子の発現はなかった。そこで開始コドンの5'上流域を合成オリゴヌクレオチドで置換した場合、CryIA (a) 蛋白質は酵母中で成功裏に発現した。CryIA (a) 蛋白質を含む酵母抽出液は *Plutella xylostella* 幼虫に対し殺虫活性を示すことが分かった。

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*, insecticidal protein, yeast\*<sup>1</sup> 昭和女子大学\*<sup>2</sup> ニッカウイスキー生産技術研究所\*<sup>3</sup> 住友化学工業生命工学研究所**Suzuki, T., Yamada, H.\*<sup>1</sup>, Yamamoto, I.\*<sup>2</sup>, Nishimura, K.\*<sup>2</sup>, Kondo, K., Murayama, M. and Uchiyama, M.: Chemical species of organotin compounds in seawater and their seasonal variations***J. Agric. Food Chem.*, 44, 3989~3995 (1996)

トリ-*n*-ブチルスズ及びその分解物を横須賀市、油壺湾の最も深い位置に存在するマリーナにおいて1994年7月から1995年の8月にかけて測定した。トリブチルスズ及びジブチルスズの水酸化体、オキソ体、カルボキシル誘導体が夏期に生ずることが確認された。他のシーズンでは存在したとしても極く微量であった。これらの構造はGC/MIP/AED並びに4本のカラムを用いて合成標品との比較により確認した。1992年から1995年にかけての海水中の分解物のパターンと同一海域に棲息する牡蠣のパターンとは極めて類似していた。このことはトリブチルスズ化合物は夏期に増加する微生物によって分解されることを示唆する。

**Keywords:** seawater, seasonal variation, organotin compounds\*<sup>1</sup> 水産庁中央水産研究所\*<sup>2</sup> 北海道立衛生研究所**Yamamoto, I.\*<sup>1</sup>, Nishimura, K.\*<sup>1</sup>, Suzuki, T., Takagi, K., Yamada, H.\*<sup>2</sup>, Kondo, K. and Murayama, M.: Accumulation, transformation, and elimination of bis (tri-*n*-butyltin) oxide in red sea bream, *Pagrus major*, under laboratory conditions***J. Agric. Food Chem.*, 45, 1437~1446 (1997)

マダイ (*Pagrus major*) をビス (トリ-*n*-ブチルスズ) オキシド (TBTO) に実験室下に曝露し、筋肉、肝臓、鰓、消化管における蓄積、代謝、排泄について観察した。筋肉中ではトリ-*n*-ブチルスズクロリド (TBTC) 及びジ-*n*-ブチルスズクロリド (DBTC) のみが検出され、TBTO 処理後8週後には有機スズの96%以上をTBTCが占めていた。これらの化合物以外に、TBTC並びにDBTCの水酸化体、カルボン酸、及びオキソ体が肝臓、鰓、消化管に見いだされた。マダイの肝臓における代謝パターンは哺乳類のそれとは著しく異なるが、鰓、消化管との間で良く似ており、また以前に確認した自然環境下で採取した魚のパターンと一致した。

**Keywords:** TBTO, metabolism, elimination\*<sup>1</sup> 北海道立衛生研究所\*<sup>2</sup> 水産庁中央水産研究所**Murayama, M., Dasgupta, P. K.\*: Liquid chromatographic determination of nitro-substituted polynuclear aro-****matic hydrocarbons by sequential electrochemical and fluorescence detection***Anal. Chem.*, 68, 1226~1232 (1996)

ニトロ多環芳香族化合物の高速液体クロマトグラフィーによる分析法を確立した。クロマトグラフィーにより分離されたニトロ多環芳香族化合物を電気化学検出器により還元し、生じたアミノ多環芳香族化合物を蛍光検出器により測定した。定量は蛍光により行い、定性は電気化学及び蛍光のピークの保持時間が一致すること、また電気化学反応を行わないとき、蛍光が現れないことを利用して行った。9種類のニトロ多環芳香族化合物標準品について測定した結果、定量下限(S/N=3)は0.75~4.5pmolであり、RSD (n=8)は30pmolにおいて1.3~5.3%であった。ディーゼルエンジンの排気ガス中の粒子を集め、本法によりニトロ多環芳香族化合物の分析を行った結果、9-nitroanthraceneを検出した。

**Keywords:** nitro-substituted polynuclear aromatic hydrocarbons, electrochemical detector, fluorescence detector

\* Texas Tech University

**藤田和弘\*, 伊藤嘉奈子\*, 高山正彦\*, 丹野憲二\*, 村山三徳, 齋藤行生: プロポリス中の残留テトラサイクリン系抗生物質の分析法**

食衛誌, 37, 222~225 (1996)

プロポリス中のテトラサイクリン系抗生物質の分析法について検討した。0.001 M EDTA-2 Na 含有5%クエン酸溶液で抽出し、ヘキササン及びジエチルエーテルで洗浄した後、Sep-Pak Plus PS 2で精製し、更にプロポリス由来の抗菌性成分を除去するためにポリアミド樹脂により精製を行った。定量は円筒平板法による微生物学的方法を用い、同定はマイクロバイオオートグラフィーにより行った。平均回収率はオキシテトラサイクリン97.6%、テトラサイクリン92.7%、クロルテトラサイクリン86.3%であった。検出限界はオキシテトラサイクリン及びテトラサイクリン0.1 ppm、クロルテトラサイクリン0.02ppmであった。

**Keywords:** propolis, tetracycline, microbiology assay

\* 日本食品分析センター

**藤田和弘\*, 伊藤嘉奈子\*, 荒木恵美子\*, 丹野憲二\*, 村山三徳, 齋藤行生: 畜水産食品中の残留オキシテトラサイクリンの分析法**

食衛誌, 38, 12~15 (1997)

畜水産食品中のオキシテトラサイクリンの分析法について検討を行った。0.01M EDTA-2 Na 含有マッキルベイン緩衝液(pH4.0)で抽出し、ヘキササン洗浄した後、Sep-Pak Plus PS 2で精製し、HPLCにより定量する方法を確立した。本法による測定結果は微生物学的試験法と高い相関が認められ、本法による食品衛生法の残留基準値レベルでの平均回収率は90.4%であり、定量下限は肉、魚介類、牛乳中で0.02ppm、肝臓、腎臓、鶏卵中で0.04ppm、脂肪中で0.002ppmであった。

**Keywords:** oxytetracycline, microbiology assay, HPLC

\* 日本食品分析センター

**Goda, Y., Shimizu, T.\*<sup>1</sup>, Kato, Y.\*<sup>1</sup>, Nakamura, M.\*<sup>1</sup>, Maitani, T., Yamada, T., Terahara, M.\*<sup>2</sup> and Yamaguchi, M.\*<sup>2</sup>: Two acylated anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas****Phytochemistry*, 44, 183~186 (1997)

サツマイモ (*Ipomoea batatas*) の根より2つの新規アシル化アントシアニンを単離した。各種機器分析の結果より

これらの化合物を cyanidin と peonidin の 3-O-(6-O-trans-caffeoyl-2-O-β-glucopyranosyl-β-glucopyranoside)-5-O-β-glucoside と同定した。

**Keywords:** *Ipomoea batatas*, purple sweet potato, acylated anthocyanin

\*<sup>1</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ (株)

\*<sup>2</sup> 南九州大学園芸学部

Yamada, M.<sup>\*</sup>, Nakamura, M.<sup>\*</sup>, Yamada, T., Maitani, T. and Goda, Y.: **Structural determination of unknown subsidiary colors in Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF)**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1624~1627 (1996)

食用黄色 5 号中の主付随色素 2 種の単離を行い、各種機器分析の結果から、付随色素 A, B の構造を、それぞれ trisodium salt of 6-hydroxy-7-(4-sulfophenyl)-5-(4-sulfophenylazo)-2-naphthalenesulfonic acid, disodium salt of 3-hydroxy-4-(4-sulfophenylazo)-2-naphthalenesulfonic acid と決定した。

**Keywords:** Food Yellow No. 5, Sunset Yellow FCF, subsidiary color

\* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

Goda, Y., Noguchi, H.<sup>\*</sup>, Maitani, T., Takeda, M. and Sankawa, U.<sup>\*</sup>: **Structural determination of bixin by nuclear magnetic resonance spectroscopy**

*Jap. J. Food Chem.*, 3, 27~29 (1996)

最も著名な天然着色料の一つであるアナトー色素の主色素成分ビキシンは、9つの二重結合のうち、1カ所(Z)構造をとることが知られている。本研究では、天然添加物の規格作成のための基礎的研究として、HMBC スペクトル測定を行い、(Z)二重結合が、既報で推定されていた位置(16位)で間違いないことを確認した。更に、主に本測定で得られた情報から、<sup>13</sup>C-NMR スペクトルの帰属を行った。これまで、ビキシンの全(E)異性体は、色々な名前前で呼称されてきたが、今後は、異性の位置を確定出来る(16E)-ビキシンの名称を用いることが好ましいものとする。

**Keywords:** bixin, annatto, *Bixa orellana*

\* 東京大学薬学部

山田真記子<sup>\*</sup>, 中村幹雄<sup>\*</sup>, 山田 隆, 米谷民雄, 合田幸広: **食用黄色 5 号中の副成色素, 原料物質及び反応中間体の実態調査**

日食化誌, 3, 151~155 (1996)

HPLC を用い、食用黄色 5 号中の副成色素, 原料物質及び反応中間体の実態調査を行った。その結果市販色素は、副成色素の存在パターンで、すべての副成色素が少ないもの、副成色素 A が多いもの、副成色素 B が多いもの、どの副成色素も比較的多いもの、特に RS-SA が多いものの 4 つのタイプに分類されることが判った。

**Keywords:** Food Yellow No. 5, Sunset Yellow FCF, HPLC

\* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

清水孝重<sup>\*</sup>, 市 隆人<sup>\*</sup>, 岩淵久克<sup>\*</sup>, 加藤喜昭<sup>\*</sup>, 合田幸広: **赤ダイコン (*Raphanus sativus* L.) の色素成分の化学構造**

日食化誌, 3, 5~9 (1996)

赤ダイコン色素の詳細な成分研究を行い、HPLC 及び LC/MS の結果から主色素成分として 8 種の色素があることを明らかにした。これらの色素成分のアグリコンはすべて pelargonidin で、この内 2 成分の構造を、5-O-β-glucopyra-

nosyl-pelargonidin 6-O-ferulyl-(2-O-(β-glucopyranosyl)-3-O-β-glucopyranoside) 及び<sup>\*</sup>, 5-O-β-glucopyranosyl-pelargonidin 6-O-ferulyl-(2-O-(6-O-ferulyl-β-glucopyranosyl)-3-O-β-glucopyranoside) と決定した。

**Keywords:** *Raphanus sativus*, acylated anthocyanin, red radish pigments

\* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

Akiyama, H., Chen, D., Miyahara, M., Toyoda, M. and Saito, Y.: **Simple HPLC determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in nuts and corn**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 37, 195~201 (1996)

ナッツ類とトウモロコシにおけるアフラトキシン B1, B2, G1, G2 の迅速、高感度な簡易分析法を作成した。その方法は、試料からアセトニトリル-水 (9:1, V/V) で抽出し、多機能固相抽出カラムにより精製し、蛍光検出 HPLC 法により分析するものである。確立された方法により有機塩素系の溶媒を使用しないで分析が可能となった。ナッツ類、トウモロコシへアフラトキシン B1, B2, G1, G2 を各 10ppb 添加した際の平均回収率は、各々 92.3%, 93.0%, 93.9%, 90.3% であった。ピーナッツにおけるアフラトキシン B1 の検出限界は 0.01ng/g であった。

**Keywords:** aflatoxins, solid phase extraction, nuts

Akiyama, H., Teshima, R., Akasaka, R., Fujimari, K., Goda, Y., Sawada, J. and Toyoda, M.: **Quantitative evaluation of passive cutaneous anaphylaxis (PCA) using a hand-held spectrophotometer**

*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1112~1114 (1996)

抗 TNP-IgE と TNP-BSA によって生じるラット PCA の定量的評価に分光測色計を用いた。分光測色計によって得られた値 (ΔE\*ab) と血清希釈液との間には良い相関性が得られた。また、ΔE\*ab の値と従来法である比色によるエバンスブルーの定量値の間に良い相関性が示された。本法は迅速で客観的に測定可能であり、従来法の代替法として有用であると思われる。

**Keywords:** passive cutaneous anaphylaxis (PCA), spectrophotometer, immediate-type hypersensitivity

Akiyama, H., Toyoda, M., Kato, M.<sup>\*</sup>, Igimi, S.<sup>\*</sup> and Kumagai, S.<sup>\*</sup>: **The degradation of several mycotoxins by human intestinal microflora cultured by continuous flow culture system**

*Mycotoxins*, 44, 21~27 (1997)

オクラトキシン A, パツリン, ゼアラレノン, シトリニン, アフラトキシン B1, フモニシン B1 及びフモニシン B2 のヒト腸内フローラによる影響を調査した。健康人糞便から得たヒト腸内フローラは、連続流動培養装置によって培養された。培養された腸内フローラと各 7 種マイコトキシンを 8 時間培養した後、各マイコトキシンを分析し、その回収率から分解性を検討した。その結果、オクラトキシン A とフモニシン B1 及び B2 は培養腸内フローラにより部分的な分解性を示唆した。

**Keywords:** human intestinal microflora, continuous flow culture system, ochratoxin A

\* 国立予防衛生研究所 (現: 国立感染症研究所)

石綿 肇, 西島基弘<sup>\*1</sup>, 深澤喜延<sup>\*2</sup>, 伊藤誉志男<sup>\*3</sup>, 山田 隆: **日本における食品 (1994 年度) 中のソルビン酸濃度の実態及びそれに基づいた摂取量の推定**  
*食品衛生学雑誌*, 37, 378~384 (1996)

1994年度の全国92自治体による食品の行政検査の結果を基にソルビン酸の使用実態と推定摂取量を求めた。検査件数は38,133検体、ソルビン酸の使用が許可されている食品からの検出率は53.9%、平均濃度は使用基準値の16.2%であった。基準値に最も近い濃度を示した食品は酢漬けの漬物で、基準値(0.5g/kg)の39.0%であった。使用対象外の食品では、対象外の漬物等で検出されたが、缶・ビン詰め、各種調味料、麺類等では検出されなかった。食品中の濃度に食品の摂取量を乗じて推定摂取量を算出したところ、29.0mg/日/人であった。魚肉ねり製品からの摂取量が最も高かった。

**Keywords** : sorbic acid, concentration in food, daily intake

\*1 東京都立衛生研究所

\*2 山梨県衛生公害研究所

\*3 武庫川女子大学薬学部

鈴木 仁<sup>\*1</sup>, 奥本千代美<sup>\*1</sup>, 勝木康隆<sup>\*1</sup>, 友松俊夫<sup>\*1</sup>, 田村行弘<sup>\*1</sup>, 伊藤誉志男<sup>\*2</sup>, 石綿 肇, 山田 隆, 西島基弘<sup>\*1</sup>: **UV 検出イオンクロマトグラフィーによる野菜及び鶏卵に使用された亜塩素酸ナトリウムの分析と水浸漬効果**

食品衛生学雑誌, 38, 22~26 (1997)

野菜及び鶏卵に使用された亜塩素酸ナトリウムの分析法を検討した。試料を水浸漬し、得られた浸漬液を ODS カートリッジに通したものを試験溶液とした。試験溶液は、カラムに TSKgel IC-Anion-PW<sub>50</sub>PEEK, 溶離液に 1 mmol/l ホウ酸塩緩衝液を用いたイオンクロマトグラフィーにより分析した。水浸漬液に標準添加したときの回収率は90%以上であり、検出限界は試料濃度で 1 mg/kg であった。また、水浸漬による残留亜塩素酸ナトリウムの洗浄効果が大きいことが判明した。

**Keywords** : sodium chlorite, UV-ion chromatography, residue in food

\*1 東京都立衛生研究所

\*2 武庫川女子大学薬学部

Ishiwata, H., Sugita, T. and Takeda, M.: **Enzymatic and non-enzymatic degradation of melamine resin products used for food contact ware**

*Jpn. J. Food Chem.*, 3, 145~150 (1996)

メラミン樹脂製の食器を粉碎したもの及び食器用の未硬化メラミン樹脂コンパウンド(粉末)を0.1mol/l リン酸緩衝液(pH4.5)中40℃でセルラーゼを48時間作用させたところ、コンパウンドではグルコースとして603ppm、コップ粉末では88ppmの糖が遊離した。遊離糖のHPLC分析を行ったところ、主成分はグルコースで、セロビオースは見られなかった。このとき、ホルムアルデヒドとメラミンモノマーの増加が認められたが、セルラーゼによる促進は認められなかった。コップ粉末での48時間後におけるこれら3種類の遊離モノマーの合計は原料の約3%であった。これらの結果により、メラミン樹脂は、自然環境下で酵素的、非酵素的に徐々に分解されることが示された。

**Keywords** : melamine resin, biodegradation, cellulase

Maitani, T., Kubota, H. and Yamada, T.: **Distribution profiles of sulfur in caramel colours on a gel-filtration column studied by HPLC-ICP**

*Food Additives and Contaminants*, 13, 1001-1008 (1996)

天然着色料のカラメルにおいては、カラメルⅣのように、亜硫酸化合物を加えて熱処理されるものがある。加えられた亜硫酸化合物がカラメル色素本体中のどのような画

分に結合して存在しているかを調べる目的で、市販のカラメルⅠ, Ⅲ, Ⅳにおけるイオウの分子量分布を、ゲルろ過カラム装着のHPLC-真空型ICP直結法で調べた。カラメル製品中のイオウ濃度に相応して、カラメルⅢでは小さなイオウピークが検出されたが、カラメルⅠではイオウのピークは検出されなかった。一方、カラメルⅣにおいては、高分子として存在するカラメル色素本体の画分において、イオウが連続的に分布していた。その画分中の炭素/イオウのモル比が14~25であったことから、もとのヘキサース2~4分子に1分子のイオウが結合していると考えられた。他方、イオウは着色に関係のない低分子画分においても多量に存在し、その量は色素本体に結合した量の倍以上であった。

**Keywords** : caramel, sulfur, sulfite compounds

Maitani, T., Suzuki, T., Iwasaki, K., Kubota, H. and Yamada, T.: **Comparative hepatotoxicity of aluminum administered with maltol and kojic acid to mice**

*Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 42, 241~247 (1996)

マルトールは着色料として用いられる合成添加物であるが、アルミニウムをマルトールと共に投与すると、アルミニウムの脳神経細胞毒性が増強されることが知られている。一方、アルミニウムをマルトールと共に静脈内投与すると第一に肝に移行する。そこで、アルミニウム-マルトールの毒性を調べる目的で、アルミニウムをマルトール及びマルトールに構造が類似した天然添加物のコウジ酸と共にマウスに静脈内投与し、それらの肝毒性を比較した。アルミニウム:マルトール=1:4のモル比で、0.25mmol Al/kgの用量で投与した場合には、1:2のモル比やアルミニウム単独にくらべ肝中アルミニウム濃度が低いにもかかわらず、血漿中AST及びALT活性が有意に高く、また、肝中イオウ濃度の減少が認められた。HPLC-ICP法による分析の結果、肝中イオウの減少はタウリンの減少と対応していた。同時に、尿中タウリンレベルの上昇が認められた。アルミニウム単独、マルトール単独、アルミニウム:コウジ酸=1:4では、AST, ALT活性の上昇や、肝中必須元素レベルの変化は認められなかった。以上の結果から、tris(maltolato) aluminum(Ⅲ)は肝毒性も有すると考えられた。

**Keywords** : aluminum, maltol, kojic acid

米谷民雄, 久保田浩樹, 岩崎京子, 山田 隆: **天然添加物中の鉛を重金属試験法により評価する際の共存必須重金属の影響**

食品衛生学雑誌, 37, 210~214 (1996)

いわゆる日持向上剤として市販されている天然添加物中の重金属を分析したところ、Pbはすべての品目で3µg/g以下であったが、ペーパー抽出物ではCuが10µg/g以上、ペクチン分解物ではFeが200µg/g以上含まれていた。Cu又はFeが多量検出された品目について、重金属試験法への影響を調べたところ、PbとCuが最高値を示したペーパー抽出物では、規格値を20µg/gと仮定した比較液より濃くはなかったが、明らかに黒い呈色が認められた。Cu 100µgの呈色がPb 40µgに相当したことから、この呈色には、Cuの方が大きく寄与すると考えられた。HPLC-ICP法により、ペクチン分解物におけるFeの存在状態を調べた結果、主成分と結合して存在する可能性が考えられた。天然添加物中には、多種多量の金属が含まれる可能性があるため、有害金属の規格としては、Pb単独、重金属、ヒ素の各規格が必要と考えられた。

**Keywords** : lead, Heavy Metals Limit Test, natural food addi-

tives

清水孝重\*, 川原章弘\*, 中村幹雄\*, 加藤喜昭\*, 合田幸広, 米谷民雄: **食品中からのアントシアニン系色素の分析法**

日本食品化学学会誌, 3, 10~20 (1996)

天然着色料の市場でアントシアニン系色素は重量で約12%を占めている。しかし、簡略名又は類別名として「アントシアニン」や「アントシアニン色素」の名称が使用できるため、表示のみから色素を特定することは困難である。そこで、食品中からのアントシアニン系色素の分析を企図した。最初に、LC-ESI-MS及びフォトダイオードアレイ検出器を用いて、アントシアニン系色素の定性を行った。用いた試料はアカキャベツ色素、ムラサキイモ色素、ムラサキトウモロコシ色素、シソ色素、エルダーベリー色素、ボイセンベリー色素、ブドウ果皮色素、ブドウ果汁色素、ストロベリー色素である。ついで、モデル実験系(飲料、キャンディー、ゼリー)で添加回収実験を行ったところ、ブドウ果皮色素でかつLC-ESI-MSを用いた場合(40.9~45.0%)を除いては、良好な結果が得られた。更に、市販食品でアントシアニン系色素の品名が表示された食品やアントシアニン色素と表示された食品について、色素の定性/定量を行った。違反事例は認められなかった。

**Keywords**: anthocyanin color, food, LC-ESI-MS

\* 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

石川恵子<sup>1</sup>\*, 三柴啓一郎<sup>1</sup>\*, 藤田 毅<sup>2</sup>\*, 佐藤恭子, 三位正洋<sup>1</sup>: **異なる2種のビート毛状根における増殖とベタレイン含量の変化**

日本食品化学学会誌, 3, 43~46 (1996)

ビート (*Beta vulgaris* L.)の色素成分は赤紫色のベタニン系色素 (BC) と黄色のベタキサンチン系色素 (BX) からなり、これらの色素成分は総称してベタレインと呼ばれている。異なる2種のビート (デトロイトダークレッド (dd) 及び系統 C110) 毛状根を1/2Murashige-Skoog 液体培地にて培養し、増殖と BC 及び BX 含有率を調べた。培養1カ月で dd 毛状根は初期植え込み新鮮重の1800倍、C110 毛状根は1300倍に増加した。また、増殖に伴い、BC, BX 含量は増加し、定常期には最高値に達した。BC 含有率の最高値は2種で同様であったが、BX 含有率は C110 毛状根では dd 毛状根の半分であった。また、C110 毛状根では、BX の培養初期における含有率の急増はみられず、更に両色素の増加がより緩やかであった。この2種の毛状根では、ベタレイン合成の制御が異なることが示され、この合成系を研究する上で有用な材料であることが示された。

**Keywords**: *Beta vulgaris* L., betalain, hairy root cultures

<sup>1</sup> 千葉大学園芸学部

<sup>2</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

Sato, K., Kubota, H., Goda, Y., Yamada, T. and Maitani, T.: **Glutathione enhanced anthraquinone production in adventitious root cultures of *Rubia tinctorum* L.**

*Plant Biotechnology*, 14, 63~66 (1997)

セイヨウアカネ培養不定根におけるフィトケラチン (クラスⅢメタロチオネイン) 誘導とアントラキノン色素 (AQ) 産生に対する塩化銅とグルタチオン (GSH) の影響を調べた。銅イオン (100 $\mu$ mol/l) をインドール酢酸及びカイネチンを含む Murashige-Skoog 液体培地に添加した場合、GSH (2 mmol/l) の有無に関わりなく、フィトケラチンが誘導され、AQ 産生が増加した。GSH 単独添加では、フィトケラチンは誘導されなかったが、AQ 産生が顕著に増加

した。

**Keywords**: glutathione, anthraquinone, phytochelatin

Sato, K., Goda, Y., Sakamoto, S. S., Shibata, H., Maitani, T. and Yamada, T.: **Identification of major pigments containing D-amino acid units in commercial *Monascus* pigments**

*Chem. Pharm. Bull.*, 45, 227~229 (1997)

市販ベニコウジ色素より、8種類の主色素成分を単離し、NMR, MS 等により構造を決定した。これらの色素は、アザフィロン骨格をもつベニコウジ菌産生橙色色素である、モノスコルブリンとルプロパンクタチンの D-又は L-アラニンあるいは D-又は L-アスパラギン酸誘導体であった。

**Keywords**: *Monascus* pigments, D-amino acid, monascorubin

坂元史歩, 佐藤恭子, 米谷民雄: **天然添加物「レモン果皮抽出物」の HPLC 及び LC/MS による成分分析**

日本食品化学学会誌, 3, 136~139 (1996)

天然添加物「レモン果皮抽出物」の市販製品の成分分析を、HPLC 及び LC/MS を用いて行った。HPLC 分析の結果、主成分としてシトラール (シス体及びトランス体) が検出されたが、ゲラニオールは検出されなかった。検出されたシトラールの濃度は、文献値から、本製品を柑橘系果実に0.2%添加した場合に抗かび効果を、2.0%添加した場合には抗菌効果も発揮できる量であると考えられた。更に、HPLC 分析の結果、化学的合成防かび剤のオルトフェニルフェノール (OPP) が残留している可能性が示唆されたため、大気圧化学イオン化 (APCI) 法による LC/MS 分析を行った結果、ネガティブモードで OPP が確認された。しかし、本製品中の OPP 濃度では、保存性向上に寄与するとは考えられなかった。

**Keywords**: lemon peel extract, *o*-phenylphenol, LC/MS

武田由比子, 石綿 肇: **アゾ系食用色素中の非スルホン化芳香族第一アミンの分析**

日本食品化学学会誌, 3, 130~135 (1996)

わが国で使用許可されているアゾ系食用色素である赤色2号 (アマランス), 40号 (アルラレッド AC), 102号 (ニューコクシン) と黄色4号 (タートラジン), 5号 (サンセットイエロー) 中の原料不純物である非スルホン化芳香族第一アミン類 (Unsulfonylated Primary Aromatic Amines, USAA と略) の比色定量による簡易分析法と HPLC による微量分析法を開発した。抽出液を二分し、その一部を塩酸で再抽出し、ジアゾカップリング反応終了後、比色による総 USAA を定量し、他方の抽出液は HPLC により各々の USAA の微量定量を行う同時分析が可能となった。各色素中の USAA である  $\alpha$ -ナフチルアミン (赤色2, 102号), *p*-クレシジン (赤色40号), アニリン (黄色4, 5号) の検出限界はいずれも 0.05 $\mu$ g/g であった。本法はアゾ系食用色素の純度規格試験に適用可能と考えられる。

**Keywords**: unsulfonylated primary aromatic amines, coal tar dyes

河村葉子, 三浦麻記子, 杉田たき子, 山田 隆, 武田明治\*: **HPLC によるポリエチレン中の酸化防止剤及び紫外線吸収剤の一斉分析法**

食品衛生学雑誌, 37, 272~280 (1996)

ポリエチレン製品中に残存する酸化防止剤18種類及び紫外線吸収剤10種類の、HPLC による一斉分析法を開発した。浸漬及び超音波による抽出法を検討し、シクロヘキサ



ン-2-プロパノール混液 (1:1) を用い、37°Cで一晩浸漬により抽出することとした。また、抽出液を濃縮後、温アセトニトリルに溶解し、フィルターろ過することにより、オリゴマーを除去した。HPLCは逆相カラムを用いてアセトニトリル-水混液でグラジエント溶出し、UV 225nmで検出した。回収率は、20 $\mu$ g/g添加で86.8~127.0%, 100 $\mu$ g/g添加で70.4~93.6%, 定量限界は2.0~10.0 $\mu$ g/gであった。本法は、抽出溶媒等に環境規制物質を使用しておらず、しかも簡便であり、極めて有用な分析法であると考えられる。

**Keywords:** polyethylene, antioxidant, ultraviolet stabilizer

\* 日本大学生物資源科学部

河村葉子, 三浦麻記子, 杉田たき子, 山田 隆: **食品用ポリエチレン製品中の酸化防止剤及び紫外線吸収剤の残存と溶出**

食品衛生学雑誌, 38, 27~33 (1997)

ポリ袋, ラップフィルム, バラン, 調味料入, まな板等の市販ポリエチレン製品36検体, 及び市販食品の袋, ケース, ネット等の包装材16検体について, HPLC一斉分析法により, 酸化防止剤18種類及び紫外線吸収剤10種類の残存量を測定した。大部分の試料には1~3種類の添加剤が残存しており, 最も検出頻度が高かったのはIrganox1076, 次いでIrgafos 168, BHT, Irganox 1010で, 残存量は主に50~1,000 $\mu$ g/gの範囲であった。残存量の高い8検体について溶出試験を行ったところ, 水, 20%エタノール及び4%酢酸を溶出溶媒とし, 60°C30分間の溶出条件では, 溶出は認められなかったが, 脂肪性食品の疑似溶媒である*n*-ヘプタンを用い, 25°C1時間溶出試験を行ったところ, 一部の試料に溶出が認められた。

**Keywords:** polyethylene, antioxidant, ultraviolet stabilizer

河村葉子, 杉田たき子, 山田 隆, 森 悦男<sup>\*1</sup>, 渡辺悠二<sup>\*2</sup>, 平山クニ<sup>\*3</sup>, 西村正美<sup>\*4</sup>, 下村康夫<sup>\*5</sup>: **保冷剤含有プラスチック製品について**

食品衛生研究, 46, 37~45 (1996)

保冷剤含有マグカップによる事故が発生したことから, 保冷剤含有製品について検討を行った。流通製品は, 国産品と輸入品がほぼ半ずつで, 輸入品は台湾からが最も多く, 主たる製品はジョッキ, マグカップであった。原料樹脂は, 国産品ではすべてポリカーボネートであった。輸入品では, アクリル樹脂表示が多かったが, 鑑別の結果, メタクリル樹脂及びメタクリルスチレンであった。保冷剤成分は, 国産品では, 水のみ又はプロピレングリコールが多く, 輸入品ではエチレングリコール, ポリビニルアルコール, メチルセルロース等の多種類の増粘剤が使用されていた。数種類の製品について強度試験を行ったところ, ポリカーボネート製ジョッキで接合不十分な製品があったが, 事故品と同一製品も含めて耐衝撃強度等に問題はみられなかった。更に, 使用が想定される保冷剤成分について, 赤外吸収スペクトルを用いる系統的鑑別法を確立した。

**Keywords:** plasticware, coolant, ethylene glycol

<sup>\*1</sup> 川崎市衛生研究所

<sup>\*2</sup> 東京都立衛生研究所

<sup>\*3</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>\*4</sup> (財)日本食品分析センター

<sup>\*5</sup> (社)日本プラスチック日用品工業組合

Kawamura, Y., Sugita, T., Yamada, T. and Saito, Y.: **Half-embryo test for identification of irradiated citrus fruit: collaborative study**

*Radiation Physics and Chemistry*, 48, 665~668 (1996)

照射柑橘類の検知法として開発した half-embryo test について, 英国, ドイツ, フランス, オーストラリア及び日本の12機関による collaborative study を実施した。参加した12機関から48検体すべての結果が報告された。培養4日後では1検体が誤判定, 2検体が未判定であったが, 45検体(94%)が正しく判定された。また7日後では1検体が誤判定であったが残りの47検体(98%)は正しく判定された。非照射試料では, 2日後から発芽が観察され, 4日後までに92%が, 7日後には全検体が非照射と正しく判定された。また, 0.5kGy 照射試料では, 1検体で30%の発芽がみられたが, その他の検体では全く発芽がみられず, 4日後で全検体が照射と正しく判定された。一方, 0.2kGy 照射では, 4日後に8検体が発芽率0%, 3検体が50%以下で照射と判定されたが, 1検体のみ発芽率が60%となり, 非照射と誤判定された。以上, half-embryo test は再現性がよく, また判別の精度も高く, 検知法として十分実用可能であることが確認された。

**Keywords:** half-embryo test, irradiated citrus fruit, collaborative study

河村葉子, 三浦 綾, 井村弘美, 山田 隆, 斎藤行生: **パルスフィールドゲル電気泳動による穀類 DNA のガンマ線照射影響の検討**

食品照射, 31, 8-15 (1996)

トウモロコシ, 大豆及び小麦の核 DNA に対するガンマ線照射影響を, パルスフィールドゲル電気泳動により検討したところ, 6Mb 付近及び5 Mb 付近の画分は, 10kGy 以上の照射により減少した。一方, 50~数百 kb の画分は, 10kGy 以下の照射では, トウモロコシや大豆では増加がみられたが, 小麦では増加はみられなかった。また, それ以上の照射線量では大きく減少した。10kGy 以下の照射においては, 高分子量の DNA 画分が切断されて, 低分子量の DNA 画分が増加するが, 更に線量が高くなると, 低分子量の DNA 画分も切断を受け, 減少するものと推定された。

**Keywords:** gamma-irradiation, cereal DNA, pulsed-field gel electrophoresis

Tanno, M., Sueyoshi, S., Miyata, N. and Umehara, K.: **Characterization of the cytotoxic activity of nitric oxide generating *N*-nitroso compound**

*Chem. Pharm. Bull.*, 45, 595~598 (1997)

一酸化窒素 (NO) を室温で発生する芳香族 *N*-ニトロソ化合物 (*N*-ニトロソ尿素, *N*-ニトロソアミド, *N*-ニトロソアミン類) 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, それらの化合物の NO 発生能と腫瘍細胞 (L-5178Y cell) に対する殺細胞効果とが相関し, 直線関係を示すことを明らかにした。我々の条件下で脂肪族 *N*-ニトロソ尿素類や脂肪族 *N*-ニトロソアミン類からは NO 発生が認められず, 殺細胞効果も低かった。化合物中最大の NO 発生量を持つ, 3,3-ジベンジル-1-(4-トリル)-1-ニトロソ尿素は, この相関関係から大きく外れた。この理由として, この化合物の NO 発生速度が大きすぎるため, 細胞に取り込まれる前にガス体である NO が拡散し, 細胞に対して効率良く作用できないことが推定された。

**Keywords:** nitric oxide, nitrosourea, cytotoxic activity

\* 静岡県立大学

Tanno, M., Sueyoshi, S., Miyata, N. and Nakagawa, S.: **Nitric oxide generation from aromatic *N*-nitrosoureas at ambient temperature**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1849~1852 (1996)

有機溶媒中で室温に放置したとき、芳香族 *N*-ニトロソ尿素類が光分解ではなく熱分解により一酸化窒素 (NO) を放出することを見出した。NO の生成は、5, 10, 15, 20-テトラフェニルポルフィリナトコバルトでニトロシル錯体として NO を捕捉することにより証明した。更に、簡便な NO 定量装置を考案し、この装置を用いて有機溶媒中で各 *N*-ニトロソ尿素から発生する NO 量を測定した結果、3,3-ジベンジル-1-(4-トリル)-1-ニトロソ尿素が最大の値を示した。この化合物と数種類の市販 NO ドナーを Krebs Buffer に溶かし、2時間あたりの NO 発生量を比較したところ、ニトロソ尿素は、SNAP と同程度の NO 発生能を示し、NO ドナーとして有望であるという結論を得た。

**Keywords:** nitric oxide, nitrosoarea, tetraphenylporphyrin

\* 北陸大学

Yamakoshi, Y., Yagami, T., Sueyoshi, S. and Miyata, N.: **Acridine adduct of [60]fullerene with enhanced DNA-cleaving activity**

*J. Org. Chem.*, 61, 7236~7237 (1996)

[60]フラーレンを界面活性剤で可溶化し、pBR322を用いて照射下での DNA 切断活性を検討したところ、有意に切断がみられた。この活性を向上させるため、[60]フラーレンに DNA インターカレート能のあるアクリジン基を結合させた誘導体を設計し合成した。この誘導体の活性を検討した結果、照射下で [60]フラーレンそのものよりかなり活性が増強されていた。

**Keywords:** [60]fullerene, DNA-cleaving activity, acridine

Sera, N.\*<sup>1</sup>, Tokiwa, H.\*<sup>2</sup> and Miyata, N.: **Mutagenicity of the fullerene C<sub>60</sub>-generated singlet oxygen dependent formation of lipid peroxides**

*Carcinogenesis*, 17, 2163~2169 (1996)

ポリビニルピロリドンで水溶化したフラーレン C<sub>60</sub>が、照射条件ラット肝ミクロゾーム存在下で活性酸素に感受性の高いサルモネラ菌 (TA102株, TA104株, 及び, YG3003株) に対して変異原性を示すことを見いだした。活性酸素のスクヤベンジャーを用いた変異原性試験等により、フラーレン C<sub>60</sub>による変異原性発現には、光励起されたフラーレン C<sub>60</sub>によって生成する一重項酸素が関与していると推定した。

**Keywords:** fullerene, mutagenicity, singlet oxygen

\*<sup>1</sup> 福岡保健環境研究所

\*<sup>2</sup> 九州女子大

宮田直樹, 丹野雅幸, 末吉祥子: **NO の基礎: NO 発生化合物**

放医研シンポジウムシリーズ, 27, 192~200 (1996)

一酸化窒素 (NO) の生体に対する作用を、化学的あるいは生化学的実験によって解析するのに有用な NO 発生化合物を開発する目的で、一連の *N*-ニトロソ尿素類、及び、*N*-ニトロソウレア類を合成した。これらの化合物が、自己分解により NO を発生することは金属ニトロシル錯体の生成で確認した。これらの化合物の NO 発生能を Griess-Salzman 法により調べた結果、芳香族 *N*-ニトロソ化合物群が高い NO 発生能を示し、NO 発生化合物として有用であることを確認した。

**Keywords:** nitric oxide, *N*-nitrosoarea, NO-releasing compound

宮田直樹, 福原 潔: **電気化学的手法によるスーパーオ**

**キシド発生反応および消去反応の解析**

フリーラジカルの臨床, 11, 44~49 (1997)

電気化学的手法を用いてキノン及びニトロアレンと酸素との間の電子移動反応を調べ、スーパーオキシドの発生及び消去反応に及ぼす構造化学的特徴の解析を行った。その結果、電子移動反応が、酸化還元電位のギャップを乗り越えて触媒的に進行すること、スーパーオキシドの発生及び消去能は化合物に固有の一電子酸化電位 (Epa 1) 及び一電子還元電位 (Epc 1) にそれぞれ依存していること、ニトロアレンはキノンと同様に酸素への電子移動反応が進行してスーパーオキシドの発生及び消去反応を触媒すること等が明らかになった。

**Keywords:** superoxide, quinone, nitroarene

宮田直樹, 山越葉子, 末吉祥子, 世良暢之\*<sup>1</sup>, 常盤 寛\*<sup>2</sup>: **照射下における C<sub>60</sub>の生物作用—活性酸素種による生体分子損傷反応の解析—**

磁気共鳴と医学, 8, 189~192 (1997)

C<sub>60</sub>は、照射条件で弱い変異原性を有する。この作用は、C<sub>60</sub>の光増感作用によって生成する一重項酸素に起因すると考えられる。C<sub>60</sub>から発生した一重項酸素による生体分子損傷反応として、リノール酸の10, 12位の過酸化、及び、グアニンの8位の水酸化、グアニンラジカルの生成を確認した。C<sub>60</sub>は直径約7オングストロームの球状分子で非常に脂溶性が高いことから、C<sub>60</sub>は生体内で細胞膜に取り込まれやすく、膜に取り込まれたC<sub>60</sub>が効率良く一重項酸素を発生し脂質過酸化を引き起こすと推定した。C<sub>60</sub>によるグアニンの8位の水酸化も脂質存在下で効率良く進行することから、C<sub>60</sub>の変異原性発現に際しては、C<sub>60</sub>から発生した活性酸素種が直接 DNA を損傷する経路 (直接経路) に加え、脂質過酸化を経由する経路 (間接経路) が存在する可能性が示唆された。

**Keywords:** C<sub>60</sub>, lipid peroxidation, 8-hydroxy-dG

\*<sup>1</sup> 福岡保健環境研究所

\*<sup>2</sup> 九州女子大

Okabe, T.\*, Teshima, R., Furuno, T.\*, Torigoe, C.\*, Sawada, J. and Nakanishi, M.\*: **Confocal fluorescence microscopy for antibodies against a highly conserved sequence in SH 2 domain**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 223, 245~249 (1996)

チロシンリン酸化反応を介する情報伝達機構に重要な役割を果たしている SH 2 ドメインに対する単クローン抗体を作製し、抗原刺激に伴う好塩基球の SH 2 ドメインの細胞内動態を、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて、可視的に解析を行った。

**Keywords:** SH 2 domain, RBL-2 H3, confocal microscopy

\* 名古屋市立大学薬学部

Kitani, S.\*, Teshima, R., Nonomura, Y.\*, Morita, H.\* and Ito K.\*: **The effect of okadaic acid on histamine release, cell morphology and phosphorylation in rat basophilic leukemia (RBL-2 H3) cells, human basophils and rat peritoneal mast cells.**

*Int. Arch. Allergy Immunol.*, 110, 339~347 (1996)

プロテインセリン/スレオニンフォスファターゼ阻害剤であるオカダ酸のラット好塩基球 (RBL-2 H3) 細胞、ヒト好塩基球細胞、ラット肥満細胞からの脱顆粒 (ヒスタミン遊離)、蛋白質リン酸化反応、細胞内カルシウム動態への影響について検討し、即時型アレルギー反応への蛋白質セリン/スレオニンリン酸化の意義について検討した。オ

カダ酸は、RBL-2 H3 細胞及びヒト好塩基球細胞からのヒスタミン遊離を0.1-10 $\mu$ M で抑制したが、ラット肥満細胞からのヒスタミン遊離に関しては1 $\mu$ M でむしろ促進させる効果を有していた。オカダ酸は、細胞内カルシウム濃度変化には無影響であったので、カルシウム流入以降、ヒスタミン遊離に至る後期の過程にセリン/スレオニンリン酸化反応の関与している可能性が示唆された。

**Keywords:** basophil, mast cells, okadaic acid

\* 東京大学医学部

Akasaka, R., Teshima, R., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: **Effects of three different Ca<sup>2+</sup>-ATPase inhibitors on Ca<sup>2+</sup> response and leukotriene release in RBL-2 H3 cells.**

*Inflamm. Res.*, 45, 583~589 (1996)

3種の小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase阻害剤(ジブチルヒドロキノン(DTBHQ), タブシガルギン(TG), サイクロピアゾニック酸(CPA))のRBL-2 H3細胞からの脱顆粒, 細胞内カルシウム濃度上昇並びにロイコトリエン(LTC<sub>4</sub>)産生の影響を調べた。これらの3種の化合物はどれも, 細胞内カルシウム濃度上昇を引き起こし, そのED<sub>50</sub>は, DTBHQ; 2.9 $\mu$ M, TG; 1.6nM, CPA; 1.4 $\mu$ Mであった。また, これら3種の化合物は, TPA共存下での脱顆粒反応を, カルシウム濃度上昇を引き起こす濃度とはほぼ同じ濃度で引き起こした。一方, ロイコトリエン産生に関しては, TG, CPAのみが, LTC<sub>4</sub>産生を, TPA非存在下で促進したが, DTBHQには, LTC<sub>4</sub>遊離促進効果はなく, むしろ抗原刺激に伴うLTC<sub>4</sub>産生をも抑制する作用を有していた。この効果は, DTBHQの抗酸化剤としての作用によるものと思われた。これら3種の化合物を用いた結果から, RBL-2 H3細胞において, 細胞内カルシウム濃度上昇から, 脱顆粒に至る経路と, ロイコトリエン産生に至る経路は, 独立した経路でおきていることが示唆された。

**Keywords:** Ca<sup>2+</sup>-ATPase inhibitor, calcium signal, LTC<sub>4</sub>

Nishimaki-Mogami, T., Suzuki, K., Okochi, E. and Takahashi, A.: **Bezafibrate and clofibrate acid are novel inhibitors of phosphatidylcholine synthesis via the methylation of phosphatidylethanolamine**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1304, 11~20 (1996)

フィブレート系血清脂質低下薬である bezafibrate や clofibrate が, ホスファチジルエタノールアミンメチル化経路でのホスファチジルコリン合成の強力な阻害剤であることを見だし, その阻害機構を解析した。またこの作用はペルオキシゾーム増殖に関わる一連の作用とは区別されるものであることを示した。

**Keywords:** phosphatidylethanolamine methylation, bezafibrate, clofibrate acid

Nishimaki-Mogami, T., Suzuki, K. and Takahashi, A.: **The role of phosphatidylethanolamine methylation in the secretion of very low density lipoproteins by cultured rat hepatocytes: Rapid inhibition of phosphatidylethanolamine methylation by bezafibrate increases the density of apolipoprotein B 48-containing lipoproteins**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1304, 21~31 (1996)

肝特異的なホスファチジルコリン(PC)合成経路としてホスファチジルエタノールアミン(PE)のメチル化経路が存在する。この経路の活性はラット肝細胞の培養にとりも低下するが, PE前駆体のエタノールアミンを培地

に補うことで維持が可能であった。PEメチル化阻害剤のVLDL分泌への影響を調べたところ, フィブレート類及び3-deazaadenosineは共に, エタノールアミンを補いPEメチル化がactiveな条件下でのみVLDL分泌を阻害した。またapoB48含有粒子自体の分泌は影響されず脂質含量が低下していることから, apoB48と脂質の会合過程の阻害が推定された。この結果はVLDL分泌調節にPEメチル化経路でのPC合成が重要な役割を持つことを示すと共に, フィブレート系血清脂質低下薬の作用機構を明らかとするものである。

**Keywords:** phosphatidylethanolamine methylation, VLDL, secretion

Tanamoto, K., Azumi, S., Haishima, Y., Kumada, H. and Umemoto, T.: **Endotoxic properties of free lipid A from *Porphyromonas gingivalis***

*Microbiology*, 143, 63~71 (1997)

我々が初めて単離に成功し, 構造決定を行った *P. gingivalis* 由来のリピドAの生物学的性状を調べた。このリピドAはその特徴的な構造にもかかわらず, リムルス活性, 致死毒性, マイトジェン活性, 各種マクロファージ細胞からのTNF及びNO産生活性の調べたいずれの内毒素活性も発現した。しかしながらその活性はサルモネラ由来LPSに比較して約1/100の低毒性リピドAであることがわかった。低毒性の原因は4'位のリン酸の欠如と特異な脂肪酸組成によるものと思われる。しかしこのリピドAは人細胞に対してはサルモネラLPSよりも強い活性を示した。このことは人とマウスの細胞の, レセプターを含む内毒素分子の認識機構が異なることを示唆している。

**Keywords:** *Porphyromonas gingivalis*, endotoxin, lipid A

\* 神奈川歯科大学

Tanamoto, K., Azumi, S., Haishima, Y., Kumada, H. and Umemoto, T.: **The lipid A moiety of *Porphyromonas gingivalis* LPS specifically mediates the activation of C3H/HeJ mice.**

*J. Immunol.*, 158, 4430~4436 (1997)

*P. gingivalis* 由来のリピドAはLPS不応答性マウスを活性化して, 脾臓細胞のマイトジェン活性, 腹腔マクロファージからのTNF産生を誘導した。この活性が微量の残存タンパクではなくリピドA構造自体によるものであることを証明するために, 化学処理によるリピドA構造の部分分解を行いその活性変化を調べたところ, 脱リン酸では部分的, 完全脱Oアシル化では完全に活性が喪失した。同様の活性現象はエンドトキシンに特異的なリムルス反応においても認められたほか, 対照のサルモネラ由来のリピドAの同化学処理化合物においてもまったく同様の活性減少が観察された。脱Oアシル化処理による残存アミノ酸の変化はなかった。更にこのLPS不応答性マウスの活性化は, 我々の開発したLPSの特異的なアンタゴニストであるサクシニル化リピドA前駆体によって, LPS応答性マウスと同じパターンで抑制されることがわかった。以上の結果, *P. gingivalis* リピドAによるLPS不応答性マウスの活性化は, リピドA構造体自身によることが証明された。

**Keywords:** *Porphyromonas gingivalis*, C3H/HeJ mice, endotoxin antagonist

\* 神奈川歯科大学

Tanamoto, K.: **Novel strategies to attenuate the effect of lipopolysaccharide on the immune response.**

*Curr. Opin. Infect Dis.*, 10, 177~182 (1997)

感染症に伴い重篤で致死的な疾患を引き起こすエンドトキシン疾患の治療法対策として, 1) LPS分子の直接の抑制(モノクロナール抗体, 血清成分, LPS結合分子), 2) メディエータ産生の調節(産生抑制, サイトカインの中和), 3) 情報伝達系の阻害, 4) エンドトキシンアンタゴニスト, の四つのカテゴリーにまとめて, 難治のエンドトキシン疾患に対する今後の新戦略について論じた。

**Keywords:** gram-negative bacterial infection, LPS, endotoxin diseases

Azumi, S., Tanimura, A.\* and Tanamoto, K.: **A novel inhibitor of bacterial endotoxin derived from cinnamon bark**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 234, 506~510 (1997)

植物由来としては初めて桂皮中にエンドトキシン活性を抑制する物質が存在することを見いだした。リムルス法を指標として精製と作用の検討を行った。エンドトキシンの抑制作用は, この物質がLPS分子と接触する事により起こるもので, 活性は両者の混合時の濃度と接触時間に比例した。また由来する菌種に関係なく, 調べたすべてのLPSの活性を抑制した。更にこの物質を結合させたLPSはウサギの発熱活性もまったく示さなかった。

**Keywords:** cinnamon bark, endotoxin inhibitor, LPS

\* 昭和女子大学

佐藤昭子<sup>\*1</sup>, 寺尾通徳<sup>\*2</sup>, 昆美也子<sup>\*2</sup>, 小島満子: **ニンニク抽出液の酵母に及ぼす抗菌作用**

日本食品微生物学会雑誌, 13, 121~125 (1996)

香辛料として食品に添加するニンニク抽出液の腐敗酵母に対する抗菌作用を調べた。ニンニクをホモジナイズし, 濾過滅菌したものを検疫とした。最小発育阻止濃度(MIC)は日本化学療法学会によって定められた方法により測定した。MICは2.50~0.31%の範囲であり, 多種類の腐敗酵母に対して広く抗菌作用を有することが認められた。また, ニンニク抽出液の腐敗酵母に対する殺菌試験を行った結果, *Trichosporon cutaneum* E-5では, 5~20%の濃度範囲で3~24時間後には死滅することが確認された。ニンニク抽出液の抗菌活性は, pH4~7付近で安定していることがわかった。抽出液とNaClの併用効果は認められなかった。

**Keywords:** garlic extract, spoilage yeasts, MIC

\*1 県立新潟女子短期大学

\*2 新潟県衛生公害研究所

Miyahara, M., Kimizuka, F.\*<sup>1</sup>, Kita, A.\*<sup>1</sup>, Matsushita, S.\*<sup>2</sup>, Kudo, Y.\*<sup>2</sup>, Shimada, T.\*<sup>3</sup> and Mise, K.: **isolation and Characterization of Restriction Endonuclease in *Plesiomonas shigelloides* and *Aeromonas* Species**

*Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1506~1507 (1996)

制限酵素産生菌の検索を行った。検討した菌株はビブリオ科の菌株で, *Plesiomonas shigelloides* が196株で, エロモナス属は147株であった。そのなかで, 制限酵素の産生の検出されたものは, それぞれ, 5株と1株だけであり, 検出率は低かった。ただし, *Plesiomonas shigelloides* のTPS970より検出された制限酵素は, AT/TAATの塩基配列を認識・切断する酵素であり, すでに*VspI*酵素として登録されているものではあったが, 日本で産生菌株は入手できない酵素の一つであった。そこでこの菌株は貴重な遺伝子用試薬産生菌株として役立つことになった。この酵素は*PshBI*と名付けられ, 前に当研究室で発見された*PshAI*

(GACNNNGTC)酵素と共に試薬として現在使われている。

**Keywords:** *Vibrionaceae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas*

\*<sup>1</sup> 宝酒造(株)

\*<sup>2</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>3</sup> 国立予防衛生研究所

Miyahara, M., Ishiwata, N.\*<sup>1</sup> and Yoshida, Y.\*<sup>2</sup>: **StyD4I restriction-modification system of *Salmonella* Typhi D4: Cloning and sequence analysis**

*Biol. Pharm. Bull.*, 20, 201~203 (1997)

*Salmonella* Typhi D4は制限酵素を産生しており, その産生遺伝子は5.4Kbpのプラスミド上にあることが知られている。そのプラスミドはすでに大腸菌WA803株に導入され, この株は制限酵素の産生が確認された。そこでそのプラスミドの解析を行って, 制限酵素産生遺伝子, 並びに, 修飾酵素として制限酵素と共に産生されなければならないメチレーズ産生遺伝子の配列を検索することにした。この酵素は/CCNGGのDNA塩基配列を認識・切断する酵素であり, 同様の配列を認識する酵素には*ScrFI*, *DsaV*, *SsoII*と*BssKI*などの産生遺伝子配列がすでに報告されていることから, *StyD4I*産生遺伝子配列を決定して, これらの酵素産生遺伝子とのホモロジー解析を行うこととした。プラスミドの解析にはdeletion mutantとinsertion mutantを使つての活性の変動を検索して, どの位置に遺伝子がのっているかを推定した。その結果, 5.4Kbpのプラスミドのうちで, 2537bpの配列を決定すれば, 両酵素の産生遺伝子をとらえることができることがわかり, この部分を含むmutantにより, 遺伝子配列を決定した。この産生遺伝子配列と先に挙げた酵素の遺伝子配列とのホモロジー解析を行ったところ, *SsoII*と98.6%の高いパーセンテージで類似していることがわかった。*SsoII*は, ソンネ赤痢菌47株のプラスミドP4が産生する制限酵素で, プラスミドの大きさも4.25Kbpと小型であり, 本体の細菌DNAのホモロジーは11~25%であることがわかっている。プラスミドでの遺伝子の伝播が考えられる。また, それ以外の酵素でも, *ScrFI*と*DsaV*とのメチレーズ産生遺伝子のホモロジーは, 68.4%と62.0%であった。これらの修飾酵素は, サイトシンの5位をメチル化する酵素であり, アミノ酸配列において, 一定の類似した配列を持つことが知られている。*StyD4I*もそのアミノ酸の一定配列を持っていることがわかった。

**Keywords:** restriction endonuclease, DNA (cytosine-5) methyltransferase, *StyD4I*

\*<sup>1</sup> 昭和女子大学

\*<sup>2</sup> 国立公衆衛生院

栗原健志<sup>\*1</sup>, 今井忠平<sup>\*1</sup>, 後藤公吉<sup>\*2</sup>, 小沼博隆, 品川邦汎<sup>\*3</sup>: **殻付卵表面の細菌汚染源に関する研究**

日食微誌, 13, 111~116 (1996)

卵殻表面の細菌汚染状況とその汚染源を追求するため, 食鳥処理場及び養鶏場から種々の鶏卵を採取し, 細菌数, 大腸菌群, 黄色ブドウ球菌, 及びサルモネラを調べ, 以下の結果を得た。

1. 産卵前卵管内の鶏卵の10%から細菌が検出された。
2. 産卵直後に無菌的に採取した鶏卵では10<sup>0</sup>cfu/卵の細菌が検出された。
3. GPセンターに搬入された鶏卵では10<sup>0</sup>cfu/卵の細菌が検出された。
4. サルモネラは, 検出されなかった。

**Keywords** : bacteria contamination, egg shell, transporting equipment,

\*1 キューピー (株)

\*2 新潟県衛生公害研究所

\*3 岩手大学

後藤公吉<sup>\*1</sup>, 増田高志今<sup>\*2</sup>, 村山尚子<sup>\*3</sup>, 今井忠平<sup>\*4</sup>, 小沼博隆, 品川邦汎<sup>\*5</sup>: *Salmonella Enteritidis* のオンエッグ汚染に対する殺菌剤及びスプレー洗浄の効果

食衛誌, 37, 165~172 (1996)

殻付卵のサルモネラオンエッグ汚染に対する有効な洗浄, 殺菌方法を検討し, 以下の結果を得た.

1. SE 汚染殻付卵に対し, 最も殺菌効果のあった薬剤は, 5~15%第3リン酸ナトリウムであったが, 卵黄と一緒に付着した SE 汚染に対してはほとんど効果はなかった.

2. 150ppm 次亜塩素酸ナトリウムの SE 殺菌効果は有効であったが, 糞便など有機物存在下ではほとんど効果はなかった.

3. SE 汚染殻付卵に対し, 最も洗浄効果のあった方法は, スプレー洗浄であった.

**Keywords** : bacteria contamination, egg shell, trisodium phosphate

\*1 新潟県衛生公害研究所

\*2 静岡県衛生環境センター

\*3 山形県衛生研究所

\*4 キューピー(株)

\*5 岩手大学

Sakai, A., Miyata, N. and Takahashi, A.: **Promoting activity of 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) in BALB/3 T 3 cell transformation**

*Cancer Letters*, 115, 213~220 (1997)

抗酸化剤, BHA は, BALB/3 T 3 細胞を用いる 2 段階トランスフォーメーション試験でイニシエーターとして作用し, TPA によるプロモーション処理を加えることにより, トランスフォーメーションを誘発する. この研究では, BHA のプロモーション作用について調べた. BHA は, 閾値濃度の 3-メチルコラントレンによって誘発されるトランスフォーメーションを濃度依存的に促進し, 10と20 $\mu$ g/ml では統計学的に有意差が認められた. しかしながら, イニシエーションとプロモーションの両方の段階における処理を BHA で行った場合には, トランスフォーメーションの誘発は認められず, この試験系で BHA のトランスフォーメーション活性を検出するには, 強力なイニシエーター又はプロモーターとの組み合わせが必要であると考えられた. 接触による増殖阻止に至った細胞を BHA で処理しても細胞密度の増加や [<sup>3</sup>H]チミジンの DNA への取り込みの増加を示さず, BHA による BALB/3T3細胞トランスフォーメーションの促進においては, 細胞増殖作用は, 関与していないと考えられた.

**Keywords** : 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole, cell transformation, promotion

Matsutani, S.: **Genetic analyses of the interactions of the IS1-encoded proteins with the left end of IS1 and its insertion hotspot**

*J. Mol. Biol.*, 267, 548~560 (1997)

転移因子 IS1 は, 共通の DNA 結合モチーフをもつ三種類の蛋白質 InsA,  $\Delta$ InsAB, InsAB を産生する. InsA は IS1 の両端に結合し, IS1 の遺伝子発現や転移を制御する.  $\Delta$ Ins

AB や InsAB は, 転移酵素活性を持つと考えられてきた. ここでは, これらの蛋白質の, IS1 左端にあるプロモーター (*pinsL*) に対する *in vivo* の作用を調べた. InsA は *pinsL* による遺伝子発現をシスでもトランスでも抑制した.  $\Delta$ InsAB は, 自身を産生する構造物のそばに *pinsL* があつた時にのみ, 効果的に阻害した.  $\Delta$ InsAB は *pinsL* の -10 領域に働き, InsA が特異的に結合する -35 領域には作用しなかった. InsAB は *pinsL* に作用しないようだった.  $\Delta$ InsAB のシスの作用は, IS1 の転移酵素がシス優先的に働くという以前の観察と一致する. 興味深いことに,  $\Delta$ InsAB は, 転移のホットスポットにある P3 プロモーターや, ホットスポットの外の別のプロモーターにも働いた.  $\Delta$ InsAB は一般的に, DNA ヘリックスの不安定なプロモーター領域と相互作用するのかもしれない. IS1 は AT に富む領域に転移しやすく, また, 転写の際, DNA はプロモーターの -10 領域から解かれることに注目すべきである.  $\Delta$ InsAB がシスに作用する結果, 細胞内での IS1 の転移は全体的に減少し, 宿主との安定な共存をもたらすのだろう.

**Keywords** : IS1, recombination hotspot, transposition

Kuwano, A.\*, Oikawa, M.\* and Takatori, K.: **Pathomorphological findings in a case of onychomycosis of a racehorse**

*J. Vet. Med. Sci.*, 58, 1117~1120 (1996)

白線病, 蹄疾患を発症した競走馬の蹄組織について病理組織学的, 真菌学的観点からに検討した. 疾患部の培養により純培養的に *Scedosporium apiospermum* が分離された. また組織の観察で PAS 陽性の真菌固有の褐色細胞を終末角質に多量に認め蹄真菌症と判定した.

**Keywords** : equine, onychomycosis, *Scedosporium*

\* 日本中央競馬会総合研究所栃木支所

Jong-Chul-Park, Takatori, K., H. J. Lee<sup>\*1</sup>, Matsuoka, H. <sup>\*2</sup> and Kurata, H.<sup>\*3</sup>: **Influence of antifungal pre-treatment in preparing test mycelium on MIC values of several antifungal agents against *Aspergillus niger***

*Mycoscience*, 37, 117~120 (1996)

*Aspergillus niger* 胞子に対する抗真菌剤の効果をバイオセルトレーサーを利用して測定した. 抗真菌剤としてイミダゾール系薬剤 2 種とポリエン系薬剤 1 種を用い, *A. niger* 胞子をあらかじめ培養し, 菌糸伸張をさせながら経時的に薬剤を処理した. この菌形態差により MIC 値を測定したところ, ほぼ同値がえられた. しかし薬剤処理した菌要素は次第と適応性を示し, より高濃度でも活性が亢進した.

**Keywords** : *Aspergillus niger*, antifungal agents, MIC values

\*1 衛生微生物試験研究センター

\*2 東京農工大学

\*3 東京顕微鏡院

太田利子\*, 高鳥浩介: **ユリ科植物揮発性成分の抗真菌活性に関する研究**

防菌防黴, 24, 587~591 (1996)

植物で香味野菜の成分による抗真菌活性を定量的に測定した. ユリ科植物としてニンニク, ネギ, タマネギ, ニラを用い, その一定量をすりおろし, 定形密閉容器に揮発性成分を蒸散させた. 供試真菌は植物病原真菌, 食品由来真菌の糸状菌, 酵母とし, その活性を測定した. ユリ科植物でもニンニクの成分は硫化化合物, 硫化アリルが主に含まれており, これらの成分により抗菌活性がすでに知られていたが, 真菌に関しても強い殺菌作用を有していた. これらの成分について真菌に対する作用機序を考察しながらま

とめた。

**Keywords:** Liliaceae, volatile components, antifungal activity

\* 相模女子大学

Jong-Chul-Park, Matsuoka, H.\*<sup>1</sup>, Takatori, K. and Kurata, H.\*<sup>2</sup>: **Adaptation of *Aspergillus niger* to acidic conditions and its relationship to salt stress and miconazole**

*Mycol. Res.*, 100, 869~874 (1996)

*A. niger* 菌糸を伸張させ、pH 2~4 下で動的活性度をバイオセルトレーサーを用いて測定した。胞子から菌糸増殖したあと pH を酸性にし、菌糸伸張を画像で追跡しながら、塩ストレスをかけたまま抗真菌剤を処理した。ストレスをかけはじめた頃は *A. niger* の反応は強かったが次第と馴化する傾向をみた。また抗真菌剤を酸性下で処理したが、菌糸伸張活性に強く影響をおよぼすことがなく、酸性下でのストレスは生じないものと結論された。

**Keywords:** adaptation, acidic conditions, salt stress

\*<sup>1</sup> 東京農工大学

\*<sup>2</sup> 東京顕微鏡院

Brindley, D. N.\*, Abousalham, A.\*, Kikuchi, Y., Wang, C. - N.\* and Waggoner, D. W.\*: **"Cross talk" between the bioactive glycerolipids and sphingolipids in signal transduction**

*Biochemistry and Cell Biology*, 74, 469~476 (1996)

phosphatidylcholine (PC) は受容体を介した phospholipase D (PLD) の刺激によって水解され lysophosphatidate (LPA) と diacylglycerol (DAG) に変換される。DAG はチロシンキナーゼと Ras-Raf-MAP キナーゼが phosphatidate (PA) と LPA によって刺激される経路においてプロテインキナーゼ C を活性化する。これらの3種類の脂質は細胞分化を誘導する。

TNF- $\alpha$  等によりスフィンゴミエリナーゼを活性化して生ずるセラミドは、逆に細胞分化を阻害してアポトーシスを誘導する。セラミドはスフィンゴシンやスフィンゴシン-1-リン酸に代謝され、PLD を刺激して細胞増殖能を示す。セラミドは PLD の活性化に必要な G-プロテイン (ARF と Rho) が PLD との相互作用を低下させ、PLD の活性化を阻害する。またセラミドは Mg<sup>2+</sup> 非特異的な PA 分解酵素を介して細胞内の PA, LPA, セラミド-1-リン酸, スフィンゴシン-1-リン酸の分解を促進する。TNF- $\alpha$  はインシュリン抵抗性を誘導するが、セラミドはこの作用機作の一部に関与している。細胞透過性セラミドはインシュリンが誘導する 3T3-L1 脂肪細胞のグルコース取り込みを 2-24 時間後に減少させ、その結果として全体的なグルコースの取り込みを亢進する。これらの作用は GLUT 1 と GLUT 4 を含有する小胞体の細胞内移動に関与するセラミドの作用によるもので、インシュリン受容体のチロシン残基リン酸化の減少、IRS-1, Pi 3 キナーゼと IRS-1 の相互作用に起因するものではない。以上の結果から、小胞体の細胞内移動、細胞分化、細胞死を司る情報伝達系において、スフィンゴ脂質とグリセロ脂質の相互作用がその制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

**Keywords:** ceramides, insulin resistance, phosphatidate, phospholipases

\* Department of Biochemistry, University of Alberta

Lee, H. J.\*<sup>1</sup>, Kasama, K.\*<sup>2</sup>, Takatori, K., Park, J. C. and Akiyama, K.\*<sup>3</sup>: **A plate method for detection of ex-**

**tracellular protease of *Alternaria***

*J. Antibact. Antifung. Agents*, 24, 457~460 (1996)

住環境にみる真菌の中で主要な *Alternaria* の生理活性を菌体外酵素プロテアーゼで検討した。*Alternaria* は中温性、好湿性であり、集落形成性は速やかであるが、微視的発育パターンは詳しく知られていない。そこで、胞子発芽から菌糸形成を経時的に追跡しかつ、時々刻々と形態変化させながら菌体外酵素プロテアーゼの活性を評価した。プロテアーゼは発芽により、菌糸形成する早い時期に産生することが解明され、この現象をアレルギーと関連させて考察した。

**Keywords:** extracellular protease, *Alternaria*, plate method

\*<sup>1</sup> 衛生微生物試験研究センター

\*<sup>2</sup> (財)食品薬品安全センター

\*<sup>3</sup> 国立相模原病院

関沢 純: **リスクコミュニケーションに関する最近の動向**

日本リスク研究学会誌, 8, 89~95 (1997)

環境庁委託研究の一環として、血液製剤エイズ感染に対する安全性確認と意思決定過程の透明性の問題、高速増殖炉原型炉「もんじゅ」事故における公表のあり方など最近のリスクコミュニケーションの動向を踏まえ、リスクコミュニケーションの新しい考え方、情報の整備と開示、伝達と表示の具体的手法について、今後の課題と提案をまとめた。

**Keywords:** risk communication, transparency, preparedness

Takagi, A., Kaneko, T. and Inoue, T.: **Biotechnology products: specific issues and ICH S 6**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 539~541 (1996)

ICH におけるバイオテクノロジープロダクトの前臨床安全性試験に関するワーキンググループ (S6) の考え方について解説すると共に、現時点での最新情報についても紹介した。

**Keywords:** biotechnology products, ICH S6, preclinical safety test

Kitajima, S., Kurokawa, Y. and Inoue, T.: **Single-dose toxicities of 2, 5-di (tert-butyl) -1, 4-hydroquinone in the rat: Toxicants as of hydroquinone derivative or a microsomal Ca<sup>2+</sup>ATPase inhibitor?**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 201~204 (1996)

酸化防止剤 2, 5-ジ(tert)ブチル-1, 4-ヒドロキノンのラットにおける急性毒性を構造活性相関を踏まえて検討し、その毒性が小胞体 Ca<sup>2+</sup>ATPase 阻害に起因する可能性、並びに神経・循環器系が毒性標的である可能性を示唆した。

**Keywords:** acute toxicity, 2, 5-(di(tert)-butyl)-1, 4-hydroquinone, Ca<sup>2+</sup>ATPase

Yoshida, K.\*, Inoue, T., Nojima, K.\*, Hirabayashi, Y. and Sado, T.\*: **Calorie restriction reduces the incidence of myeloid leukemia induced by a single whole-body radiation in C 3 H/He mice**

*Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 2615~2619 (1997)

食餌制限、特にカロリー制限によって固形がんの発がん頻度が減少することは現象論としては100年以上前から記載がみられる。しかしながらこの論文は、放射線誘発骨髄性白血病についてもこれを適用し、発症の遅延のみならず、発症頻度の大幅な低下を証明した最初の論文である。更に、カロリー制限をする時期を誘発照射前からにする

か、照射後から開始するかによって、造血幹細胞数と発がん頻度との間の相関関係を明らかにするなど、機構の検討を行った。

**Keywords** : colorie restriction, radiation leukemogenesis, extent of lifespan

\* 放射線医学総合研究所

Nishimura, Y.<sup>\*1</sup>, Hirabayashi, Y., Matuszaki, Y.<sup>\*2</sup>, Musette, P.<sup>\*2</sup>, Ishii, A.<sup>\*3</sup>, Nakauchi, H.<sup>\*2</sup>, Inoue, T. and Yonehara, S.<sup>\*4</sup> : ***in vivo* analysis of Fas antigen-mediated apoptosis: Effects of agonistic anti-mouse Fas monoclonal antibody on thymus, spleen, and liver**

*Int Immunol*, 19, 307~316 (1997)

Fas 抗原は細胞表面の受容体蛋白でアポトーシス誘導シグナルを伝達する。このものの *in vivo* での機能を解析することを目的として、作用性の Fas 抗体を作成したところ、作用の異なる 2 種類の抗体 RK-8 と Jo2 とを得た。このうち RK-8 は *in vivo* (胸腺, 脾臓, 肝臓) でも *in vitro* (CD4 陽性細胞) でもアポトーシスを誘導するのに成体マウスを殺さない。他方 Jo2 では、*in vivo* 投与によってマウスが直ちに死に至る。ただし、RK-8 でも 1 週齢のマウスに投与すると死亡する。以上より、*in vivo* で死のシグナルを伝える機能的な Fas は、胸腺細胞, CD4 陽性脾細胞, 肝細胞 (成体では、僅かに、新生仔では大量に) に発現していることを明かにした。

**Keywords** : apoptosis, anti-Fas antigen, *in vivo* analysis

\*1 日本タバコ産業 (株) 基礎医薬研究所

\*2 筑波大学免疫学講座

\*3 東京都臨床研

\*4 京都大学ウイルス研究所

Sasaki, H.<sup>\*1</sup>, Matsuda, M.<sup>\*1</sup>, Lu, Y.<sup>\*1</sup>, Ikuta, K.<sup>\*1</sup>, Matuyama, S.<sup>\*1</sup>, Hirabayashi, Y., Mitsui, H.<sup>\*1</sup>, Matsumura, T.<sup>\*1</sup>, Muramatsu, M.<sup>\*2</sup>, Tsukada, T.<sup>\*3</sup>, Aizawa, S.<sup>\*3</sup> and Inoue, T. : **A fraction unresponsive to growth inhibition by TGF- $\beta$  among the high-proliferative potential progenitor cells in bone marrow of p53-deficient mice**

*Leukemia*, 11, 239~244 (1997)

血液前駆細胞レベルにおいて TGF- $\beta$  の抑制が認められることを初めて示した。更に、p53 と TGF- $\beta$  のそれぞれのシグナル伝達経路が重なり合うことを p53 欠失マウスを用いた、高増殖性造血前駆細胞の解析により示した。

**Keywords** : p53-deficient mice, TGF- $\beta$ , high-proliferative potential progenitor cells

\*1 横浜市立大学医学部

\*2 東京大学医科学研究所

\*3 熊本大学附属遺伝発生医学研究施設

Kabaya, K.<sup>\*1</sup>, Obuchi, M.<sup>\*1</sup>, Kuwaki, T.<sup>\*1</sup>, Shibuya, K.<sup>\*1</sup>, Watanabe, M.<sup>\*2</sup>, Nemoto, K.<sup>\*2</sup>, Yoshida, K.<sup>\*2</sup>, Kusaka, M.<sup>\*1</sup>, Inoue, T. and Seki, M.<sup>\*2</sup> : **Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on the growth potential of two murine myeloid leukemias**

*Leuk Res*, 20, 27~35 (1996)

ヒト顆粒球コロニー刺激因子のマウス骨髄性白血病細胞株の増殖に対する効果を系統的かつ詳細に検討した。受容体結合アッセイと比較したところ、これらの増殖能の差との相関が明確に把握された。

**Keywords** : rhG-CSF, G-CSF receptor, murine megakaryoblastic leukemia cell line

\*1 麒麟麦酒 (株) 医薬研究室

\*2 放射線医学総合研究所

Nomura, M.<sup>\*1</sup>, Nakata, Y.<sup>\*1</sup>, Inoue, T., Uzawa, A.<sup>\*1</sup>, Itamura, S.<sup>\*2</sup>, Nerome, K.<sup>\*2</sup>, Akashi, M.<sup>\*1</sup> and Suzuki, G.<sup>\*1</sup> : ***in vivo* induction of cytotoxic T lymphocytes specific for a single epitope introduced into an unrelated molecule**

*J. Immunol Methods*, 193, 41~49 (1996)

DNA ワクチン作成のモデルとして、抗原決定基に基づくプラスミッドベクターを構築しこのものを導入した細胞で抗原プロセッシングを引き起こすことを示した。構築した遺伝子は、ラック Z 遺伝子に抗原決定基遺伝子を挿入したもので、インフルエンザ A ウイルスの核蛋白遺伝子をモデルとして使用した。このプラスミッドを導入した細胞で免疫したマウスは、抗原特異的細胞傷害性 T 細胞を *in vivo* で誘導することができた。更には、プラスミッドが遺伝子ワクチンとして機能した。即ち、電気穿孔法によってマウスの真皮にプラスミッドを導入すると、抗原特異的細胞傷害性 T 細胞を *in vivo* で誘導できた。即ち、本法は抗原決定基に基づく抗原特異的細胞傷害性 T 細胞の *in vivo* における誘導に対するモデルとして新規手段であり、ユニークな位置にある。

**Keywords** : cytotoxic T lymphocyte, antigen presentation, antigen determinant

\*1 放射線医学総合研究所

\*2 国立予防衛生研究所

Matuzawa, T.\* , Morita N.\* , Hayashi, Y.\* , Nomura, M.\* , Unno, T.\* , Igarashi, T.\* , Furuya, T., Sekita, K., Ono, A., Kurokawa, Y. and Hayashi, Y. : **A survey of the results of hematological parameters, using a common rat blood sample in Japanese laboratories**

*Comp. Haematol. Int.*, 6, 125~133 (1996)

医薬品の開発研究における非臨床試験の過程で血液学的検査に使用されている自動分析器の精度について、同一のラット血液試料とヒト用標準血液を用いて、全国の98施設を対象にサンプルサーベオランスを行い、各施設間の変動を調査した。標準血液とラット血液共に高値や低値を示す施設が存在したが、一方だけが高値や低値を示すような施設は存在しなかったこのことから、一部に機種特有の値付けの問題が存在することが推察された。一部の施設では今回の結果を参考に機器の設定を再検討する必要があると推察された。

**Keywords** : control survey, hematology, rat

\* 日本製薬工業会医薬品評価研究委員会

Matuzawa, T.\* , Hayashi, Y.\* , Nomura, M.\* , Unno, T.\* , Igarashi, T.\* , Furuya, T., Sekita, K., Ono, A., Kurokawa, Y. and Hayashi, Y. : **A survey of the values of clinical chemistry parameters obtained for a common rat blood sample in ninety-eight Japanese laboratories**

*J. Toxicol. Sci.*, 22, 25~45 (1996)

医薬品の開発研究における非臨床試験の過程で血液生化学的検査に使用されている自動分析器の精度管理について、同一のラット血清試料とヒト正常及び異常血清を用いて、全国の98施設を対象にサンプルサーベオランスを行い、各施設間の変動を調査した。その結果、1) ヒト及びラットとも変動が小さい電解質、2) ヒト及びラットとも大きな変動を示す酵素系測定項目、3) ラットだけが大きな変動を示す項目に大別された。なお、酵素系の変動原因

としては測定原理の違いが要因として上げられた。また3)に該当する項目としてはアルブミン、クレアチニンなどが上げられたが、測定原理と試薬メーカーによる差を反映していることが明らかとなった。

**Keywords** : control survey, clinical chemistry, rat

\* 日本製薬工業会医薬品評価研究委員会

Ono, A., Sekita, K., Ogawa, Y., Hirose, A., Suzuki, S., Saito, M., Naito, K., Kaneko, T., Furuya, T., Kawashima, K., Yasuhara, K., Matsumoto, K., Tanaka, S., Inoue, T. and Kurokawa, Y.: **Reproductive and developmental toxicity studies of toluene; II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats**

*J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 15, 9~20 (1996)

我が国では、青少年を中心とした有機溶剤乱用が大きな社会問題となっており、次世代に及ぼす影響が危惧されている。本研究では有機溶剤の中でも特に乱用者の多いトルエンをラットへ吸入暴露して生殖発生に及ぼす影響を検討した。トルエン (0, 600及び2000ppm, 6h/d) を雌では排卵から着床にいたる期間 (交配前14日~妊娠7日)、雄では精子形成に要する期間を考慮して交配前60日から交配期間を含む90日間暴露して交配や胎児への影響及び雄生殖系への影響について検討を行った。雌では、2000ppm群で暴露に伴う流産が暴露開始20日頃より観察された。交配成績にはトルエン暴露の影響は認められなかったが、2000ppm群では死産率及び死亡胚を有する母動物数の増加傾向が認められトルエン暴露による胚・胎児毒性が示唆された。一方、雄では2000ppm群で精巣上体重量の低下と精子数の減少を認めトルエンの雄生殖系への影響が示唆された。更に同群では腎臓重量の増加と尿細管の壊死が認められ、高濃度トルエンの長期暴露による腎毒性が示唆された。

**Keywords** : toluene, reproduction, inhalation

\* 信州大学医学部

Umemura, T., Hasegawa, R., Sai, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Toyokuni, S.\*<sup>1</sup>, Uchida, K.\*<sup>2</sup>, Inoue, T. and Kurokawa, Y.: **Prevention by 2-mercaptoethane sulfonate and N-acetylcysteine of renal oxidative damage in rats treated with ferric nitrilotriacetate**

*Jpn. J. Cancer Res.*, 87, 882~886 (1996)

雄5週令のWistarラットにFe-NTA12mgFe/kgを腹腔内投与し、Fe-NTA投与前後1時間にMESNA100mg/kgあるいはNAC200mg/kgを強制経口投与した。Fe-NTA投与後3時間目に動物を解剖し、血清中のBUN及びクレアチニン量、腎臓のTBARSレベル、腎核内DNA中の8-OHdGレベルを測定し、またHNE蛋白複合体に対する抗体をもちいた免疫染色を実施した。Fe-NTA単独投与群では上記検索項目全てが対照群に比べて有意の高い値を示し、尿細管に抗HNE抗体陽性顆粒が検出された。一方、MESNA及びNACを併用投与した群では検索項目全てが対照群レベルとなり、抗HNE抗体陽性顆粒も認められなかった。以上の結果、MESNA及びNACはFe-NTAが引き起こす酸化ストレスの抑制に有効であることが示唆された。

**Keywords** : ferric nitrilotriacetate, 2-mercaptoethane sulfonate, N-acetylcysteine

\*<sup>1</sup> 京都大学医学部

\*<sup>2</sup> 名古屋大学農学部

Jiang, H.\*<sup>1</sup>, Yamamoto, S.\*<sup>1</sup>, Ozawa, S., Shimada, M.\*<sup>2</sup>, Yamazoe, Y.\*<sup>2</sup> and Kato R.\*<sup>1</sup>: **Inhibitory effect of TMK688 on skin tumor initiation caused by 7,12-dimethylbenz[a]**

**anthracene in relation to inhibition of aryl hydrocarbon hydroxylase activity and Cyp1a1 mRNA induction**

*Pharmacology*, 53, 123~132 (1996)

7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)によるマウス皮膚腫瘍プロモーションがTMK688により抑制された。TMK688はDMBAの活性化酵素であるaryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)の活性を抑制した。TMK688はAHHの実体であるCYP1a1をコードするmRNAのDMBAによる誘導を阻害した。以上の機構により、TMK688による腫瘍プロモーションが抑制されることを明かにした。

**Keywords** : DMBA, mouse skin, tumor promotion

\*<sup>1</sup> 慶応大学医学部

\*<sup>2</sup> 東北大学医学部

小泉修一, 井上和秀: **海馬初代培養神経細胞のCa<sup>2+</sup>-oscillationに対するATPの抑制作用**

*神経化学*, 35, 556~557 (1996)

海馬初代培養神経細胞における、自発的なカルシウム振動 (Ca<sup>2+</sup>-oscillation) に対するATPの作用を検討した。このCa<sup>2+</sup>-oscillationはグルタミン酸による神経伝達により誘発されているが、ATP刺激により神経前シナプスの抑制性ATP受容体を介し抑制していることが示唆された。

**Keywords** : ATP, Ca<sup>2+</sup>-oscillation, synapse

Nakazawa, K. and Ohno, Y.: **Dopamine and 5-hydroxytryptamine selectively potentiate neuronal type ATP receptor channels**

*Eur. J. Pharmacol.*, 96, 119~122 (1996)

細胞外ATPにより活性化されるチャネル形成型受容体であるP2X受容体に対する薬物の作用を、cDNAを用いてアフリカツメガエルの卵母細胞に受容体を発現させ検討した。ドパミン、セロトニン、亜鉛、カドミウムは神経型のサブクラスであるP2X2受容体を介するイオン電流を増強したが、平滑筋由来であるP2X1受容体を介する電流には影響しなかった。一方、アデノシンによる電流増強はP2X1, P2X2の両者で観察された。以上のことから、サブクラス間で薬物感受性が異なること、神経細胞でのドパミン等の作用が受容体そのものへの作用に帰することが明らかとなった。

**Keywords** : ATP, recombinant channels, pharmacology

Matsuki, N.\*<sup>1</sup>, Saito, H.\*<sup>1</sup> and Nakazawa, K.: **Region-dependent ATP-sensitive neurotransmission not related to smooth muscle cells excitability in rat vas deferens**

*Pharmacol. Toxicol.*, 78, 435~438 (1996)

ラット精管の収縮の部位による差を検討した。神経の電気刺激により収縮を惹起した場合、細胞外ATPは精囊側よりも精囊側の収縮を強く抑制した。これに対し、カルシウム・チャネル阻害薬であるニフェジピンは両部位で同等の抑制効果を示した。収縮を惹起する刺激の電流-時間関係より標本の興奮性を検討した場合、無処置では精囊側の方が低い興奮性を示したが、テトロドトキシンで神経を抑制した条件では両部位で差が認められなかった。以上のことからATPに対する感受性の差は平滑筋の興奮性の違いによるものではないことが示された。

**Keywords** : rat vas deferens smooth muscle, ATP, neurogenic contraction

\* 東京大学薬学部



Matsuki, N.\*, Saito, H.\*, and Nakazawa, K.: **Regional difference in sympathetic neurotransmitter- and Ca channel-mediated responses in rat vas deferens**

*Gen. Pharmacol.*, 27, 689~693 (1996)

ラット精管における薬物感受性の部位差を検討した。その結果以下のような知見が得られた。1) ノルアドレナリンによる収縮は精巣側の方が著明である。2) プリン受容体を介する収縮は部位差は顕著でない。3) カルシウム・チャネルのアゴニストである Bay k8644 に対する感受性は精巣側の方が高いが、カルシウム・チャネルを介する応答はチャネルの活性化が完全な状態では部位差は認められない。

**Keywords**: rat vas deference, regional difference, pharmacology

\* 東京大学薬学部

Nakazawa, K., Inoue, K., Watano, T., Koizumi, S., Fujimori, K. and Inoue, K.: **Suppression by zinc of cationic conductance that may underlie facilitation of neurotransmission in rat hippocampal neurons**

*Int. Acad. Biomed. Drug. Res.*, 11, 102~105 (1996)

ラットの培養海馬神経細胞を用いて微量生体内成分である亜鉛の作用を電気生理学的に検討した。亜鉛は静止膜電位付近で流れる内向き電流を抑制した。電流は非選択的なカチオン・コンダクタンスを介すると考えられた。また、亜鉛により non-NMDG 型グルタミン受容体チャネル依存性の GABA による神経伝達が増強された。内向き電流の抑制は過分極及び膜抵抗の増大を誘起し、神経伝達の増強に寄与する可能性が考えられる。

**Keywords**: rat hippocampal neuron, zinc, neurotransmission

Inoue, K., Nakazawa, K., Inoue, K., Fujimori, K., Ohno, Y., Takanaka, A., Itagaki, H.\*<sup>1</sup>, Kato, S.\*<sup>1</sup>, Kobayashi, T.\*<sup>1</sup> and Kuroiwa, Y.\*<sup>2</sup>: **Evaluation of stinging-inducing chemicals using cultured neuronal cells: an electrophysiological approach**

*Toxicol. in Vitro*, 10, 455~462 (1996)

保存剤、紫外線吸収剤などの化粧品材料の細胞膜の電気的性質に対する影響をラット副腎髄質由来 PC12 細胞及びラット知覚神経細胞を用いて検討した。試みた 9 種類のうちのすべての化合物が PC12 細胞においてカリウム電流を抑制した。この中から 5 種類の化合物を知覚神経細胞に適用したところ、カリウム電流の抑制と非選択的なカチオン・チャネルを介する電流の活性化という 2 種類の応答が観察された。PC12 細胞のカリウム電流抑制における効力順位は細胞毒性試験である MTT 試験での結果とよく一致していた。このような電気生理学的手法は皮膚刺激試験の予備試験、あるいは皮膚刺激の機序の検討として役立つと考えられる。

**Keywords**: cosmetic ingredients, minor pain, electrophysiology

\*<sup>1</sup> (株)資生堂安全・分析センター

\*<sup>2</sup> 昭和大学薬学部

Ito, K., Nakazawa, K., Koizumi, S., Liu, M., Takeuchi, K.\*, Hashimoto, T.\*, Ohno, Y. and Inoue, K.: **Inhibition by antipsychotic drugs of L-type Ca channel current in PC12 cells**

*Eur. J. Pharmacol.*, 314, 143~150 (1996)

向精神薬の L 型カルシウム・チャネルに対する作用をラット副腎髄質由来 PC12 細胞を用いて検討した。定型向精神薬であるハロペリロール、クロルプロマジンは  $\mu\text{M}$  以

上の濃度でカルシウム・チャネルを抑制した。一方、非定型向精神薬であるフルスピライレン、ピモジドは nM あるいはそれ以下の濃度よりチャネル抑制を示した。向精神薬と薬理学的に関連するドパミン受容体遮断薬やカルモデュリン阻害薬でもチャネル抑制は観察されたが、いずれも  $\mu\text{M}$  以上の濃度が必要であり、GTP 結合タンパク質阻害薬の感受性も同じではなかった。以上のことから低濃度における L 型カルシウム・チャネルの抑制は非定型向精神薬に特異的であることが示唆された。この作用はこれらの薬物が選択的効果を示す精神分裂病の陰性症状の改善に寄与する可能性が考えられる。

**Keywords**: antipsychotic drugs, L-type Ca channels, schizophrenic negative symptoms

\* 明治薬大

Sunouchi, M., Miyajima, A., Zhang, B., Kurebayashi, H. and Ohno, Y.: **Comparison of effects of urea pesticides and the metabolites in rat freshly isolated and cultured hepatocytes**

*J. Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 36, 341 (1997)

尿素系農薬である linuron, hexaflumuron, cinosulfuron 及び thifensulfuron methyl とその分解・代謝物の肝毒性と薬物代謝酵素誘導能について遊離肝細胞及び初代培養肝細胞を用いて検討した。hexaflumuron の細胞毒性は肝に特異的で、hexaflumuron の分解・代謝物の細胞毒性は母化合物より強かったが、cinosulfuron 及び thifensulfuron methyl では細胞毒性が認められなかった。また、linuron は薬物代謝酵素機能に影響をおよぼすことが示された。

**Keywords**: cytochrome P450, ethoxyresorfin O-deethylation, viability

Tada, S.\*, Yanagisawa, J.\*, Sonoyama, T.\*, Miyajima, A., Seki, M.\*, Ui, M.\* and Enomoto, T.\*: **Characterization of the properties of a human homologue of the Escherichia coli RecQ from Xeroderma Pigmentosum group C and from HeLa cells**

*Cell Structure and Function*, 21, 123~132 (1996)

我々は FPLC Mono Q カラムを用いて DNA helicase Q 1 (Q1) を精製する際に、色素性乾皮症 C 群 (XP-C) においては他のヒト由来の細胞に比べて Q1 が高塩濃度で溶出されることを示した。今回我々は Q1 を XP-C 及び HeLa 細胞から精製し、その性質について比較検討を行なった。それぞれの細胞より精製した 73KDa の蛋白は、塩要求性及び温度感受性は同じであった。また Q1 抗体を用いて、両細胞における細胞内分布について検討したところ Q1 は共に核に局在していた、またリン酸化や ADP-リボシル化等の修飾は受けていなかった。更に免疫沈降を行い他の蛋白との相互作用について検討を行なったが差は認められなかった。

**Keywords**: ATPase, DNA helicase, Xeroderma Pigmentosum

\* 東京大学薬学部

Miyajima, A., Kawanishi, T., Guo, X., Sunouchi, M., Takanaka, A. and Ohno, Y.: **Metabolism of N-alkyl and cyclic nitrosamines in freshly isolated rat hepatocytes**

*IN VITRO TOXICOLOGY*, 9, 149~155 (1996)

無処置雄及び雌ラット遊離肝細胞におけるニトロソアミンの代謝を測定した。直鎖型の代謝速度は雄の方が雌に比べて 1.5~2 倍高く、環状型では雄雌共に同程度であった。ことから直鎖型と環状型では、雄雌で主として代謝に関与する酵素が異なる可能性が示唆された。P-450 誘導剤の影

響について調べたところ、直鎖型の代謝については、ニトロソジメチルアミンの代謝は Iso 処置によってのみ増大し、PB, MC 処置では無処置の場合と差がみられなかった。またニトロソメチルブチルアミン、ニトロソメチルベンジルアミンの代謝は PB 処置により増大した。これらの結果は MS 分画や P-450 標本の結果とよく対応していた。環状型の代謝は、ニトロソピペリジンの代謝は Iso, PB, MC 処置によって同程度増大した。またニトロソピロリジン、ニトロソモルフォリンの代謝は、Iso 処置によってのみ増大し、P-450IIE 1 が代謝に関与している可能性が示唆された。

**Keywords:** *N*-nitrosamine, hepatocyte, cytochrome P-450

Usami, M. and Ohno, Y.: **Teratogenic effects of selenium compounds on cultured postimplantation rat embryos**

*Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, 16, 27~36 (1996)

セレン化合物の発生毒性をラット全胚培養法で調べた。セレン化合物は、亜セレン酸ナトリウム、>セレン酸ナトリウム、>セレノメチオニン=セレノシスチンの順に強い毒性、並びに胚の発育抑制及び形態異常が認められた。形態異常としては、脳及び眼の異常が認められた。これらの結果から、セレンは哺乳類においても催奇形性を有すること、及び哺乳類と鳥類ではセレン化合物に対する胚の感受性が異なることが考えられた。

**Keywords:** embryo culture, sodium selenite, selenomethionine

Usami, M. and Ohno, Y.: **Partial purification and characterization of serum embryotrophic factor required for early postimplantation growth of rat embryos in culture**

*J. Exp. Zool.*, 276, 403~414 (1996)

培養ラット胚の発育に必要な血清胚栄養因子を部分精製し、性状解析した。その結果、この因子はジスルフィド結合を有する分子量約18万の酸性糖タンパク質であることが明らかになった。

**Keywords:** embryo culture, embryotrophic factor

Suvachittanont, W.\*<sup>1</sup>, Kurashima, Y.\*<sup>2</sup>, Esumi, H.\*<sup>2</sup> and Tsuda, M.: **Formation of thiazolidine-4-carboxylic acid (thioprolin), an effective nitrite-trapping agent in human body, in *Parkia speciosa* seeds and other edible leguminous seeds in Thailand**

*Food Chem.*, 55, 359~363 (1996)

タイ国産食用豆類5種について、ヒト体内亜硝酸捕捉作用を有するチオプロリン (TPRO) 含量を測定した。タイ南部で広く食される *Parkia speciosa* では、未調理時には TPRO は検出されず加熱調理後に0.14mmol/100gへと著増した。未調理の *P. speciosa* からは相当量の HCHO 及びチオール化合物が検出され、これらは加熱により減少した。他の未調理食用豆、*P. javanica* 及び *Archidendron clypearia* の TPRO 含量は各々0.006及び0.31mmol/100gであった。これらは加熱により各々0.54及び2.95mmol/100gと顕著に増加した。*A. jirringa* 及び *Leucaena leucocephala* は未調理時、加熱調理時、共に TPRO の生成はみられなかった。

**Keywords:** edible beans, Thailand, thioprolin formation

\*<sup>1</sup>Biochemistry Dept., Faculty of Science, Prince of Songkla University, Thailand

\*<sup>2</sup>国立がんセンター東・研究所

Satarug, S.\*<sup>1</sup>, Haswell-Elkins, M. R.\*<sup>1</sup>, Tsuda, M., Mairiang, P.\*<sup>1</sup>, Sithitha worn, P.\*<sup>1</sup>, Mairiang, E.\*<sup>1</sup>, Esumi, H.\*<sup>2</sup>, Sukprasert, S.\*<sup>1</sup>, Yongvanit, P.\*<sup>1</sup> and Elkins, D. B.\*<sup>3</sup>: **Thiocyanate-independent nitrosation in humans with carcinogenic parasite infection**

*Carcinogenesis*, 17, 1075~1081 (1996)

肝吸虫、*Opisthorchis viverrini*、寄生は胆管癌発生要因とされている。本発がんにおける寄与因子の一つは炎症細胞からの慢性的・局所的一酸化窒素 (NO) の産生による体内ニトロソ化合物の生成にあると考えられている。本報は、その分子疫学的証拠をもたらした。即ち、肝吸虫感染者群と非感染者群間でプロリントテストを実施した。血漿、尿及び唾液中のニトロソアミノ酸、硝酸/亜硝酸含量の解析結果は、感染者群において有意の高レベルを示した。更に、胃の酸性条件下でのニトロソ化反応促進因子である thiocyanate に非依存性の体内ニトロソ化が示されたことから、胃以外の部位でのニトロソ化反応の可能性が支持された。V.C 添加や駆虫剤服用により、この有意差は消失した。

**Keywords:** cholangiocarcinoma, liver fluke infection, endogenous nitrosation

\*<sup>1</sup> Faculty of Medicine, Khon Kaen University

\*<sup>2</sup> 国立がんセンター東・研究所

\*<sup>3</sup> Trop. Health Program, Queensland Inst. Med. Res.

Mizojiri, K.\*<sup>1</sup>, Shindo, H.\*<sup>2</sup> and Ohno, Y.: **The possibility of predicting tissue accumulation after repeated dosing using a single-dose tissue distribution study**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 523~527 (1996)

単回投与組織分布試験結果から反復投与時の蓄積性の予測がどの程度可能か検討した。その結果、組織中半減期が投与間隔の約3倍を越えると予測と実際との間の差が大きくなることが判明した。

**Keywords:** tissue accumulation, repeated-dose administration, tissue distribution

\*<sup>1</sup> 塩野義研究所

\*<sup>2</sup> 三共研究所

Fujii, H., Makinose, T., Ogasawara, H., Murata, A., Takagi, H., Furukawa, F., Onodera, H. and Hoshiya, T.: **Development of a toxicologic pathology system using personal computer network**

*J. Toxicol. Pathol.*, 9, 13~21 (1996)

毒性病理所見集計システムである MacMic を開発した。本システムはパソコンを使用し、安いコストと使い勝手の良さの両立を実現し、癌原性試験を含むすべての毒性試験をカバーしている。MacMic は検鏡者の使い勝手を第一に作られ、当該個体の体重、臓器重量、尿、血液学、血液生化学のデータが参照でき、またこれらを対照群のデータと比較する事ができる。診断名及び所見用語は、辞書から選択する。また所見を、当該試験における他の群、他の個体のデータから選択して入力することも可能である。すべての操作はファンクションキーに振り分けられており、これらのキーを押すだけで、目的の操作が実行できる。組織所見検査の進捗状況を容易に知る事も可能である。データ入力時における排他制御機能を備える事により、複数の病理研究者による同時入力も可能である。MacMic は、多くの研究機関でも適用でき、病理システムとしての汎用性が証明されている。

**Keywords:** toxicologic pathology system, MacMic, personal computer

Takahashi, M. and Maita, K.: **Problems in interpretation of carcinogenicity studies**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 493 (1996)

発がん性試験は現在までラットとマウスの2種を用いて実施されてきたが、マウスのデータは偽陽性結果が多いことから、2種を義務づけることに疑義が出された。ICHでは、マウスの発がん性試験の有用性につきデータベースによる検討を行った結果、その意義に否定的な考え方が示された。しかしながら、20年以上にわたってラット及びマウスの発がん性試験を義務づけてきたのはそれなりの理由もあるわけであり、医薬品のデータベースのみから不要であるとすぐに廃止に踏み切るほど完全にデータの収集ができたわけではない。ICHでは、まず2年間の発がん性試験を、マウスが感受性が高いことが示されている場合を除き、ラットを用いて実施しマウスの試験は必ずしもなくてもよいとされた。その代わりに、現在、開発中である2段階発がん試験法、トランスジェニックマウスを用いる方法、新生児動物を用いる方法など適切な試験を選び実施することを求めている。これらの方法はいずれも完成したものでないことから、将来、これらの方法が注目され改良が加えられることによって、信頼性の高い試験法が開発される可能性が期待されている。

**Keywords** : carcinogenicity study, ICH, transgenic mice

Kim, H.-C., Cha, S.-W., Ha, C.-S., Roh, J.-K., Lee, Y.-S., Furukawa, F., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Reappraisal of eight representative carcinogenic and non-carcinogenic compounds in a new medium-term rat liver bioassay using D-galactosamine.**

*Cancer Lett.*, 104, 85~90 (1996)

我々が開発したD-ガラクトサミンによる、GST-Pを指標とした新しい中期肝発癌性検索モデルでアフラトキシンB<sub>1</sub>、ベンツピレン、ジェチルステイルベストロール、ウレタン、サッカリンナトリウム、ブセチン、D-マニトール、塩化ナトリウムの8種類の化合物の肝発癌性について検索した。肝発癌物質であるアフラトキシンB<sub>1</sub>、ジェチルステイルベストロール、ウレタンと非肝発癌物質であるベンツピレンは陽性を示し、サッカリンナトリウム、塩化ナトリウム、ブセチン、D-マニトールは陰性を示した。今までの肝部分切除処置を行う中期肝発癌検索モデルとの結果の一致が示された。以上の結果から、このモデルは有用であり、また鋭敏であることが示された。

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

Furukawa, F., Nishikawa, A., Imazawa, T., Lee, I.-S., Kasahara, K. and Takahashi, M.: **inhibitory effects of nicotinamide on BOP-initiated pancreatic carcinogenesis in hamsters**

Recent Advances in Gastroenterological Carcinogenesis I. eds. by E. Tahara, K. Sugimachi and T. Oohara, Monduzzi Editore, Bologna, pp. 585~588 (1996)

Nicotinamide (NA)は広く食品に含まれ、ビタミンの強化剤としても使用されている。NAはpoly(ADP-ribose) polymeraseの活性化を抑制し、その構造類似化合物は膵及び肺の腫瘍発生を抑制する。ハムスターのN-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)膵発癌モデルを用いてNAの影響を検討した。5週齢の雌シリアンゴールデンハムスターに10mg/kgのBOPを1週間に1回、計3回投与した。その1週間後から1群及び2群には0.5%及び0.2%の割合でNAを飲水中に混じて与え、3群はBOP単独群とした。実験

は52週後に終了した。異形成の発生率は3群に比し、1群と2群で有意に減少した。また、異形成の多発性は3群に比し、1群、2群で有意に減少した。また、膵腺癌の発生率には有意な差はなかった。腫瘍性病変(腺癌と異形成の合計)では3群に比し、1群で有意に減少した。NAはポストイニシエーション期に投与すると膵発癌に対し、抑制的に作用する可能性が示された。

**Keywords** : BOP, nicotinamide, pancreatic carcinogenesis

Mitsumori, K., Onodera, H., Takahashi, M.\*, Shimo, T., Yasuhara, K., Takegawa, K., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Promoting effect of large amounts of vitamin A on cell proliferation of thyroid proliferative lesions induced by simultaneous treatment with thiourea**

*Cancer Lett.*, 103, 19~31 (1996)

ラット甲状腺腫瘍発生に対する過剰ビタミンA(VA)及びthiourea(TU)同時投与の影響を検討するため、雄F344ラットにN-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine 2800mg/kgを単回皮下投与し、1週間後より19週間にわたり0.1%VA添加飼料(VA群)、0.2%TU添加飲料水(TU群)、0.1%VA+0.2%TU(TU+VA群)、水道水及び基礎飼料(対照群)を与えた。TU及びTU+VA群の血清T3及びT4は対照群に比べて有意に減少し、血清TSH値は顕著に増加した。T3、T4の減少及びTSHの増加の程度は、TU群よりもTU+VA群で顕著に強かった。甲状腺の腫瘍性病変はTU及びTU+VA群のみに発生した。被膜内濾胞上皮細胞増殖巣の多発性はTU群に比べてTU+VA群で有意に増加した。被膜下の肥大濾胞上皮細胞、過形成及び腺腫様腫瘍の細胞増殖活性は、TU単独よりもVAとの併用群で有意に高かった。肝臓においては、TU及びTU+VA群で肝細胞の小葉中心性肥大が認められ、それは特に後者で顕著であった。併用群のそれらの肥大肝細胞はGST-P抗体に対して強い陽性を示した。今回の結果から、TU及び過剰のVAの同時投与によりTSHが放出され、その刺激によって、ラット甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性病変における細胞増殖活性が増強されることが示唆された。

**Keywords** : thyroid carcinogenesis, vitamin A, thiourea

\* 佐々木研究所

Mitsumori, K., Takegawa, K., Shimo, T., Onodera, H., Yasuhara, K. and Takahashi, M.: **Morphometric and immunohistochemical studies on atrophic changes in lympho-hematopoietic organs of rats treated with piperonyl butoxide or subjected to dietary restriction**

*Arch. Toxicol.*, 70, 809~814 (1996)

piperonyl butoxideを投与したラットにはリンパ・造血器系に萎縮性変化が認められるが、それが直接的な毒性影響によるものかあるいは低栄養によるものかは不明である。そこで雄のF344ラットに2週間にわたり2.5%のpiperonyl butoxideを添加した飼料を与える群、及び飼料摂取を64%制限する群(低栄養群)を設けた。低栄養群及び2.5% piperonyl butoxide群共に、体重増加の顕著な抑制、白血球数の減少、リンパ組織におけるT/Bリンパ球の減少、骨髄の低形成、これらの組織におけるPCNA陽性率の減少が認められた。PCNA陽性率及び脾臓のT細胞領域に関する画像解析の結果、胸腺及び脾臓におけるT細胞の減少は2.5% piperonyl butoxide群でより強かったが、piperonyl butoxide投与群にみられたこれらの変化は、制限食群の動物にみられたものと本質的に同等であった。これらの結果より、2.5% piperonyl butoxideを与えたラット

にみられたリンパ・造血器系の所見は、おそらく摂餌量減少による低栄養に起因するものであることが示唆された。

**Keywords:** piperonyl butoxide, diet restriction, atrophy of lympho-hematopoietic tissues

Yamamoto, K.\*<sup>1,2</sup>, Mitsumori, K., Kodama, Y., Matsunuma, N.\*<sup>3</sup>, Manabe, S.\*<sup>3</sup>, Okamiya, H.\*<sup>4</sup>, Suzuki, H.\*<sup>4</sup>, Fukuda, T.\*<sup>5</sup>, Sakamaki, Y.\*<sup>5</sup>, Sunaga, M.\*<sup>5</sup>, Nomura, G.\*<sup>6</sup>, Hioki, K.\*<sup>2</sup>, Wakana, S.\*<sup>2</sup>, Nomura, T.\*<sup>2</sup> and Hayashi, Y.: **Rapid induction of more malignant tumors by various genotoxic carcinogens in transgenic mice harboring a human prototype c-Ha-ras gene than in control non-transgenic mice**

*Carcinogenesis*, 17, 2455~2461 (1996)

ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB 6 F 1 トランスジェニックマウス (rasH<sub>2</sub>) の短期発癌性試験系モデルの有用性評価の第一段階として、種々の遺伝毒性発癌物質に対する発癌感受性を検討し、対照の CB 6 F 1 マウス (non-Tg) と比較した。4-nitroquinoline-1-oxide, cyclophosphamide, N,N-dimethyl-nitrosamine, N-methyl-N-nitrosourea, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine 及び methylazoxymethanol について行った 6 ヶ月の短期発癌性試験の結果、rasH<sub>2</sub> は non-Tg に比べてこれらの遺伝毒性発癌物質に対して感受性が高いことが示された。すなわち、rasH<sub>2</sub> は non-Tg に比べて早く腫瘍を発現し、悪性腫瘍は発癌物質を投与した rasH<sub>2</sub> のみにみられた。各発癌物質は rasH<sub>2</sub> においてその標的臓器に腫瘍を誘発した。自然発生腫瘍としては肺の腺腫がわずかに発現したのみであった。以上のように、rasH<sub>2</sub> に種々の遺伝毒性発癌物質を投与した場合、non-Tg に比べてより早期に、高頻度かつより悪性度の高い腫瘍の発生が発現することが示された。rasH<sub>2</sub> は短期発癌性試験系を開発するにおいて有望な動物モデルの候補と考えられる。

**Keywords:** transgenic mouse, rasH<sub>2</sub>, carcinogenicity

\*<sup>1</sup> 慶応大学医学部

\*<sup>2</sup> 実験動物中央研究所

\*<sup>3</sup> 三共・安全性研究所

\*<sup>4</sup> 山之内製薬・安全性研究所

\*<sup>5</sup> 中外製薬・富士研究所

\*<sup>6</sup> 前臨床医学研究所

Mitsumori, K., and Nishikawa, A.: **Assessment of carcinogenicity using transgenic animals**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 479~482 (1996)

ICH の EWG により、*in vivo* における発癌性評価のための短期試験系として、トランスジェニック (Tg) 動物の使用が提案され、米国や日本でヒト型 c-Ha-ras 導入 Tg マウス (rasH<sub>2</sub>)、v-Ha-ras 導入 Tg マウス (TG.AC) 及び p53 ノックアウトマウス (p53KO) の検証試験が進行中である。rasH<sub>2</sub> に遺伝毒性発癌物質及び非遺伝毒性発癌物質を 26 週間投与して検討した結果、rasH<sub>2</sub> は遺伝毒性発癌物質の発癌性検出に有用であるとの成績が得られている。TG.AC に種々の化合物を投与して短期実験を行った結果、TG.AC は非遺伝毒性発癌物質の検出に有用であり、一部の遺伝毒性発癌物質にも有効であるとの報告がなされている。p53KO について遺伝毒性発癌物質、遺伝毒性非発癌物質及び非遺伝毒性発癌物質を用いた約 6 ヶ月の実験を行ったところ、遺伝毒性発癌物質について有用との結果が得られている。以上の結果より rasH<sub>2</sub> 及び p53KO マウスは遺伝毒性発癌物質の発癌性検出に適しており、TG.AC マウスは非遺伝毒性発癌物質の腫瘍プロモーション作用の検出に適していることが示唆されたが、Tg マウスを安全性評価に使

用するためには、さらなる実験と効果的なストラテジーの考案が必要である。

**Keywords:** ICH, transgenic, carcinogenicity

Okuno, Y.\*<sup>1</sup>, Kunimatsu, T.\*<sup>1</sup>, Tanahashi, K.\*<sup>1</sup>, Watanabe, T.\*<sup>1</sup>, Takahashi, M.\*<sup>2</sup>, Takegawa, K., Onodera, H. and Mitsumori, K.: **Effect of simultaneous treatment of large amounts of vitamin A and thiourea on thyroidal iodine uptake and organification in rats**

*J. Toxicol. Pathol.*, 9, 385~390 (1996)

Thiourea (TU) 誘発ラット甲状腺増殖性病変における細胞増殖活性に対する過剰のビタミン A (VA) の増強効果のメカニズムを検討するために以下の実験を行った。F 344 ラットに 4 週間にわたり 0.1% TU 添加飲料水 (TU 群)、0.1% VA 添加飼料 (VA 群)、0.1% TU+0.1% VA (TU+VA 群) 及び基礎飼料 (対照群) を与えた。対照群に比べて TU 及び TU+VA 群において、甲状腺、肝臓及び下垂体の重量が増加し、血清 T4 値が減少し、甲状腺へのヨウ素の取り込み及び有機化が減少した。ヨウ素の取り込みは VA 群においても減少した。しかし、TU 及び TU+VA 群との間にこれらのパラメーターに明らかな差は認められなかった。T3 及び TSH 値には投与の影響はみられなかった。組織学的に TU 及び TU+VA 群の甲状腺においてびまん性の濾胞上皮細胞の過形成が発現したが、甲状腺、肝臓及び下垂体の組織学的所見については両群間に顕著な差は認められなかった。今回の結果から、甲状腺の増殖性病変に対する VA の増強効果は甲状腺へのヨウ素の取り込みへの影響によるものではないことが示唆された。

**Keywords:** thyroid iodine uptake, vitamin A, thiourea

\*<sup>1</sup> 住友化学・環境生物科学研究所

\*<sup>2</sup> 佐々木研究所

三森国敏：**神経・免疫毒性試験ガイドラインの国際的動向と精巢毒性病理評価上の問題点**

静岡実験動物研究会会報, 23, 7~16 (1996)

神経毒性試験のガイドラインとしては、わが国では農水省及び化審法において遅発性神経毒性試験法のガイドラインが制定されているのみであるが、米国 EPA 及び OECD ではその他の哺乳動物を用いた神経毒性試験ガイドラインが公表されている。これらの他の試験法は莫大な設備や労力を要する上、必ずしも全ての神経毒性を検出できるとは限らないが、現行の試験では神経毒性を見逃す危険性が高いことから、わが国においても導入すべきであると考えられる。免疫毒性試験については、わが国では医薬品の免疫原性を検出するための試験が従来から実施されているが、化学物質によって免疫組織が障害を受け、免疫修飾作用が誘発される狭義の免疫毒性についての検査項目は追加されていない。一方、米国や欧州では近年これらの免疫修飾作用を検出する試験法が提案されている。わが国においても欧米諸国の免疫毒性試験法を考慮したガイドラインの作成が早急に望まれる。精巢毒性発現機序の解明のためには精子形成サイクルを考慮した解析が必要であることが明確になってきているが、その解析を実施する上でいくつかの問題点が存在する。今後この分野における鏡検担当者の知識の向上と種々の精巢毒性研究の蓄積が強く望まれる。

**Keywords:** neurotoxicity, immunotoxicity, testis

三森国敏, 安原加壽雄：**化学物質による精巢毒性とアポトーシス**

日本獣医病理学会会報特集号, 25~27 (1996)

化学物質による精巢毒性において Nitrobenzene (NB) は

セルトリ細胞, ethane-1-dimethanesulfonate (EDS) はライディッヒ細胞を障害すること, また, これらの細胞障害に続いて NB では投与後 1 日に, EDS では 3~5 日からパキテン期精母細胞が選択的に変性に陥ることが知られている。この原因としてナース細胞であるセルトリ細胞からの栄養障害やホルモンの不均衡などによる二次的な障害の可能性が推察され, アポトーシスの発現も推察されることから, その病理発生について検討を行った。NB あるいは EDS をラットに単回投与後定期的に精巣を摘出し, アポトーシス証明のため TUNEL 法による酵素組織化学, また, DNA の断片化を確認のためアガロースゲルで電気泳動を行った。NB では投与後 1 日に変性したパキテン期精母細胞は TUNEL 法で陽性を示し, DNA の断片化も認められた。また, EDS では投与後 1 日に変性したライディッヒ細胞及び 3~5 日に変性したパキテン期精母細胞ともに TUNEL 法で陽性を示した。これらの成績より, セルトリ細胞あるいはライディッヒ細胞障害物質においては, その誘発される毒性変化にアポトーシスの誘導が関与していることが示された。

**Keywords:** testicular toxicity, apoptosis

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Imazawa, T., Yoshimura, H., Onodera, H., Takegawa, K., Takahashi, M., Shirai, W.\* and Hayashi, Y.: **Ultrastructure and cell proliferative activities of karyomegalic alveolar epithelial cells in early pulmonary inflammatory lesions of Syrian golden hamsters induced by N-methyl-N-nitrosourethane**

*J. Vet. Med. Sci.*, 58, 825~831 (1996)

MNUR 誘発肺炎炎症性病変における巨核肺胞上皮細胞の生物学的特徴を明らかにし, 更にこの細胞が前腫瘍性病変と成りうるか否かを検討するため, ハムスターに動物当り 0.6mg の MNUR を隔週 1 回, 計 5 回皮下投与し, 定期的に肺を検索した。1 週では, 間質の水腫, 細胞浸潤のために肺胞壁は著しく肥厚し, 肺胞壁に沿って再生上皮細胞がみられ, その中に巨大核を有する細胞が認められた。この細胞は電顕的に肺胞 II 型細胞とされ, 炎症性病変の軽減に伴い 4 週以降減少した。PCNA 陽性指数は 1 週で約 15 個であったが, 4 週以降は有意に減少した。これらの細胞の核 DNA 含量は正常細胞の 2 倍体に比べ広い範囲に亘る分布がみられた。これらの成績より, 巨核肺胞上皮細胞は MNUR 処置により発現した突然変異細胞と考えられ, これらの細胞が前腫瘍性病変と成り得る可能性は非常に低いものと推察された。

**Keywords:** karyomegalic alveolar epithelial cell, MNUR-induced pulmonary inflammatory lesions, cell proliferative activity

\* 日本大学生物資源科学部

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Yoshimura, H., Imazawa, T., Onodera, H., Takegawa, K., Takahashi, M., Shirai, W.\*<sup>1</sup>, Fuziwara, K.\*<sup>1</sup> and Hayashi, Y.\*<sup>2</sup>: **Relationship between the pulmonary fibrosis and lung proliferative lesions induced by different doses of N-methyl-N-nitrosourethane in Syrian golden hamsters**

*J. Toxicol. Pathol.*, 9, 315~322 (1996)

びまん性間質性肺炎や肺線維症に肺癌が合併する事が疫学的に報告されているが, 肺線維症の発症から肺癌に至る過程には多くの要因が関与しているため, その機序は殆ど解明されていない。ハムスターに催炎性並びに肺発がん性が知られている MNUR 0.6mg を隔週 5 回皮下投与し, 誘

発された肺増殖性病変が炎症性病変に続発するか否かを検討した結果, 腫瘍は必ずしも随伴しなかったことから, より低い用量の MNUR を投与し, この関係の解明を行った。0.6mg を隔週 5 回投与群では全例に肺腫瘍が発現し, 35% に線維の増生が随伴したが, 0.2mg を毎週 5 回投与した群では肺腫瘍は 50% に発現するのみで, 線維の増生を伴うものは認められなかった。更に, 0.3mg 単回投与群では, 肺腫瘍は認められなかった。これらの成績より, MNUR 誘発肺腫瘍は線維化巣と関係して発生するものばかりでないことが示された。

**Keywords:** MNUR, pulmonary fibrosis, lung cancer

\*<sup>1</sup> 日本大学生物資源科学部

\*<sup>2</sup> 北里大学薬学部

Matsui, H., Toyoda, K., Kawanishi, T., Mitsumori, K., Takahashi, M., Fukuhara, K. and Miyata, N.: **Advantages of simplified quantitative morphometry using stage grouping analysis of spermatogenic cycle for evaluation of the testicular toxicity of ethylene-1,2-dimethanesulfonate in rats**

*J. Toxicol. Pathol.*, 9, 285~292 (1996)

精子形成サイクルのステージのグループ化による簡便的 精巣毒性評価法の有用性を検討するため, 10 週齢の雄ラットに 100mg/kg 体重量の ethylene-1,2-dimethanesulfonate (EDS) を単回強制経口投与し, 1, 3, 7, 14 及び 28 日後と経時的に屠殺する実験を行った。精子形成サイクルのステージを I~VI, VII~VIII, IX~XI, XII~XIV の 4 つのグループに分けて各グループにおける 5 精細管当たりの精上皮細胞数をカウントし, 従来からのより厳密なステージ解析による精上皮細胞数の検索結果と比較検討した。その結果, いずれの検索法においても同様に EDS 処置の 3 日後にはライディッヒ細胞の消失を認め, その後パキテン期精母細胞数と円形精子細胞数の減少を認めた。以上の結果から, 今回考案した簡便的ステージ解析法が従来からのより厳密なステージ解析法と同程度の精巣傷害検出感度を有することが明らかとなり, 我々の簡便的ステージ解析法が精巣毒性評価法として有用であることが証明された。

**Keywords:** ethylene-1,2-dimethanesulfonate, testicular toxicity, testicular histopathology

Nagaoka, T., Onodera, H., Hayashi, Y. and Maekawa, A.\*: **Influence of high-fat diets on the occurrence of spontaneous uterine endometrial adenocarcinomas in rats**

*Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 15, 167~177 (1996)

子宮内腺癌好発系 Donryu ラットに高脂肪食を与え, 子宮内腺癌の自然発生におよぼす高脂肪摂取の影響を検討した。8 週齢の雌 Donryu ラット 90 匹を 3 群に分け, 第 1 群には基礎飼料 (固形) のみを, 第 2 群及び第 3 群には各々 10% および 20% コーン油含有粉末飼料を 66 週齢まで与えた。各動物について性周期を経時的に調べ, 66 週齢で生殖器の組織学的検査を行った。別に, 20% コーン油含有食を与えた動物について, 性ホルモンの測定と生殖器の組織学的検査を経時的に行った。

第 3 群では体重が明らかな高値を示したが, 第 2 群と第 1 群との間に差を認めなかった。カロリー摂取量及び腹腔内脂肪重量は第 2 群, 第 3 群で増加していた。第 2, 3 群共に, 第 1 群に比し持続的発情出現頻度が 8 ヶ月齢まで高値の傾向があった。最終屠殺動物については各群間で卵巣や膈の形態変化に差はみられなかったが, 子宮の腺癌・腺腫

の出現率が第1群の0%,7%に対して第2及び第3群では各々18%,14%及び7%,10%と、用量相関性はなかったが脂肪食を与えた群でやや増加する傾向にあった。経時的検索で20%コーン油含有食投与により、エストロゲン/プロゲステロン比が早期より高値の傾向を示し、また子宮や卵巣の組織変化も早期から発現する傾向が見られた。

以上のことから、わずかであるがDonryuラット子宮内膜腺癌の自然発生に対する高脂肪食の促進効果が示唆され、その原因として高脂肪食投与による内分泌環境の imbalance、特にE/P比の高値が関与している可能性が考えられた。

**Keywords:** high-fat, endometrial adenocarcinoma, Donryu rat

\* 佐々木研究所病理部

Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikezaki, S., Tanakamaru, Z., Chung F.-L.\*, Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Chemopreventive effects of 3-phenylpropyl isothiocyanate on hamster lung tumorigenesis initiated with *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine.**

*Jpn. J. Cancer Res.*, 87, 122-126 (1996)

ハムスターにおける *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 誘発癌に対する 3-phenylpropyl isothiocyanate (PPITC) のイニシエーション期における化学予防効果を検討した。5週齢の雌シリアンゴールデンハムスターに20mg/kg の BOP を1週間に1回、計2回皮下投与した。BOP 投与2時間前に1群は100 $\mu$ mol、2群は10 $\mu$ mol の PPITC を、3群は溶媒対照でコーン油を投与した。その他に PPITC の陰性対照群を設け、実験は51週後に終了した。肺の腺腫及び腺癌は、発生率及び多発性で3群に比し、1群及び2群で有意に減少した。抑制率は1群で94%、2群で59%であり、PPITC の投与濃度に依存した抑制が認められた。その他の BOP の標的臓器である膵臓、肝臓及び腎臓については、肝臓を除いて抑制傾向を示した。今回の検索の結果、PPITC は発癌性及び明らかな毒性を示さず、ハムスター BOP 誘発の肺腫瘍において PPITC の化学予防効果が明らかとなった。

**Keywords:** isothiocyanate, chemoprevention, hamster

\* American Health Foundation

Nishikawa, A., Furukawa, F., Uneyama, C., Ikezaki, S., Tanakamaru, Z., Chung F.-L.\*, Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Chemopreventive effects of phenetyl isothiocyanate on lung and pancreatic tumorigenesis in *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters**

*Carcinogenesis*, 17, 1381-1384 (1996)

ハムスターにおける *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 誘発癌に対する phenetyl isothiocyanate (PEITC) のイニシエーション期における化学予防効果を検討した。5週齢の雌シリアンゴールデンハムスターに20mg/kg の BOP を1週間に1回、計2回皮下投与した。BOP 投与2時間前に1群は100 $\mu$ mol、2群は10 $\mu$ mol の PEITC を、3群は溶媒対照でコーン油を投与した。その他に PEITC の陰性対照群を設け、実験は52週後に終了した。肺の腺腫及び腺癌は、発生率及び多発性で3群に比し、1群及び2群で有意に減少した ( $P < 0.01$  及び  $P < 0.05$ )。抑制率は1群で100%、2群で82%であり、PEITC の投与濃度に依存した抑制が認められた。膵腫瘍は3群に比し、1群が有意に減少し ( $P < 0.05$ )、肝及び腎の腫瘍は、1群及び2群で有意差はないが減少傾向を示した。今回の検索の結果、PEITC は明らかな毒性を示さず、ハムスター BOP 誘発の肺及び膵

腫瘍に対する PEITC の化学予防効果が明らかとなった。

**Keywords:** PEITC, chemoprevention, hamster

\* American Health Foundation

Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I.-S., Uneyama, C., Imazawa, T., Tanakamaru, Z., Kasahara, K. and Takahashi, M.: **Chemopreventive effects of oltipraz on glandular stomach carcinogenesis in rats treated with *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine**

*Recent Advances in Gastroenterological Carcinogenesis I.* eds. E. Tahara, K. Sugimachi and T. Oohara, Monduzzi Editore, Bologna, pp. 1171-1174 (1996)

*N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) によるラットの腺胃発癌に対する駆虫剤 4-methyl-5-(2-pyrazinyl)-1,2-dithiole-3-thione (oltipraz) のイニシエーション期における修飾効果を検討した。雄 Wistar 系ラット120匹を6群に配し、1-3群(各30匹)には100ppm の MNNG をそれぞれ飲料水に混じり10週間にわたって与えた。1及び2群には0.04%及び0.02%の oltipraz を MNNG 投与の1週間より12週間混餌投与し、3群には基礎食のみを与えた。4及び5群はイニシエーション処置せずに1及び2群の対照とし、6群は無処置対照群とした。全群とも81週で剖検に供し、腺胃の増殖性病変について組織学的に検索した。腺胃における腺癌の発現頻度は、1群(16.7%)では3群(56.7%)に比して有意に低かった。1群の腺癌の個体あたりの平均個数(0.20)は、3群(0.63)に比して有意に減少した。以上の如く、oltipraz をイニシエーション時期に投与することにより、ラット腺胃の発癌に対して化学予防効果を示すことが明らかになった。

**Keywords:** oltipraz, chemoprevention, stomach cancer

Lee, I.-S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Uneyama, C., Kim, H.-C., Imazawa, T., Kasahara, K. and Takahashi, M.: **Effects of phenetyl isothiocyanate on xenobiotic metabolizing enzymes and cell kinetics in hamsters treated with *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine.**

*Recent Advances in Gastroenterological Carcinogenesis I.* eds. E. Tahara, K. Sugimachi and T. Oohara, Monduzzi Editore, Bologna, pp. 1187-1191 (1996)

アブラナ科植物に豊富に含まれている phenetyl isothiocyanate (PEITC) の発癌抑制メカニズムを追究する目的で、*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) を処置したハムスターに PEITC を前投与し、生体異物代謝酵素系及び細胞増殖活性に及ぼす影響について検索した。5週齢の雌性シリアンゴールデンハムスターに、BOP 皮下投与の2時間前に PEITC を強制経口投与し、BOP 投与の6及び22時間後に組織を採取した。PEITC の前処置は、BOP の投与によって増加した肝臓における CYP 2B1 を含む幾つかの CYP 酵素を有意に減少させたが、膵臓及び肺における CYP レベルには影響を及ぼさなかった。一方、PEITC 前処置は、BOP 投与に関係なく、肝臓内の glutathione 量及び glutathione *S*-transferase 活性をむしろ低下させた。興味あることに、PEITC 前処置は標的細胞である膵臓の腺房及び導管、細気管支、及び腎尿細管における細胞増殖活性を用量相関性に低下させた。以上の成績は、PEITC が肝における生体異物代謝第1相酵素への影響と標的細胞における細胞回転の制御により化学的予防効果を発揮する可能性を示唆する。

**Keywords:** PEITC, chemoprevention, mechanism

Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Enami, T.,

Tanakamaru, Z., Kim, H.-C., Fukushima, S.\* and Takahashi, M.: **Improvement of hamster-lung fibrosis model by repeated intratracheal administration of bleomycin** *J. Toxicol. Pathol.*, 9, 23~28 (1996)

肺の線維化を効率よく発現し、死亡率の低いブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症モデルの作出をハムスターで検討した。6週齢の雄シリアンゴールデンハムスター25匹を5群 (各群5匹) に配した。1-4群は2.5U/kgのBLMを実験0日に気管内投与し、更に1及び2群では14日にそれぞれ2.5又は1.0U/kgのBLM (気管内) を、3群では7及び14日にそれぞれ1.0U/kgのBLM (気管内) を、4群では10及び14日に20U/kgのBLM (腹腔内) を投与した。5群は溶媒対照とし、全群とも28日に剖検に供した。1及び3群の生存率は4/5 (80%)、他群は全例生存した。死亡例では組織学的には顕著な線維化がみられ、更にうっ血、水腫、炎症性細胞浸潤及び出血を随伴して認められた。1群では計画屠殺時の肺重量が有意に増加し、組織学的には肺線維化が他群に比して広範に認められた。以上の如く、低頻度な死亡率及び顕著な肺線維化が発現したことから、ハムスターのBLM誘発肺線維症モデルの作出には2.5U/kgを2週間間隔で2回気管内投与する (1群) のが適当と考えられた。

**Keywords**: hamster, lung fibrosis, bleomycin

\* 大阪市立大学医学部第一病理学教室

Ikezaki, S., Nishikawa, A., Enami, T., Furukawa, F., Imazawa, T., Uneyana, C., Fukushima, S.\* and Takahashi, M.: **Inhibitory effects of the dietary antioxidants butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on bronchioloalveolar cell proliferation during the bleomycin-induced pulmonary fibrosing process in hamsters**

*Fd. Chem. Toxic.*, 34, 327~335 (1996)

抗酸化剤 butylated hydroxyanisole (BHA) と butylated hydroxytoluene (BHT) の肺線維化に対する効果をブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症モデルを用い検討した。更に、線維化の進展過程で出現する細気管支肺胞上皮の過形成巣の細胞増殖活性に対する影響について、増殖細胞核抗原 (PCNA) 及び核小体形成部位関連蛋白 (AgNORs) を指標として検討した。6週齢の雄シリアンゴールデンハムスター90匹を6群に配し、1-3群 (各20匹) では2.5U/kgのBLMを2回 (0及び14日) 気管内投与し、更に1日からそれぞれ1% BHA食、1% BHT食及び基礎食を与えた。4-6群 (各10匹) はBLM処置なしに1% BHA食、1% BHT食及び基礎食を与え、全群とも42日に剖検に供した。1群 (BLM/BHA) の致死率 (5%) は2群 (BLM/BHT) 及び3群 (BLM) (それぞれ15及び20%) に比して低かった。BHA及びBHT処置はBLM誘発の肺重量の増加を抑制し、肺の線維化、マクロファージ集簇及び細気管支肺胞上皮の過形成を軽減した。肺胞上皮過形成巣のPCNA-labelling index及び核あたりの平均AgNORs数は、BHA及びBHT処置により有意に低下した。以上より、抗酸化剤BHA及びBHTはBLMによる肺線維化の進展と同時に、細気管支病変の増殖動態に対しても抑制的に作用することが明らかになった。

**Keywords**: pulmonary fibrosis, antioxidant, cell proliferative activity

\* 大阪市立大学医学部第一病理学教室

Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Tanakamaru, Z., Kim, H.-C., Mori, H.\* and Takahashi, M.: **Chemopreventive effects of 24R, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, a vita-**

**min D<sub>3</sub> derivative, on glandular stomach carcinogenesis induced in rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride**

*Cancer Res.*, 56, 2767~2770 (1996)

N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 及び塩化ナトリウムによる腺胃発癌過程におけるビタミンD<sub>3</sub>誘導体24R, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (24R, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) のプロモーション期における修飾効果を検討した。雄Wistar系ラット130匹を5群に配し、1-3群 (各30匹) には100ppmのMNNGと10%の塩化ナトリウムを、それぞれ飲料水及び基礎食に混じり8週間にわたって与えた。その後、1及び2群には5又は2.5ppmの24R, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>を57週間混餌投与し、3群には基礎食のみを与えた。4群はイニシエーション処置せずに1群の対照とし、5群は無処置対照群とした。全群とも65週で剖検に供し、腺胃の増殖性病変について組織学的に検索した。腺胃における増殖性病変 (異型の過形成巣と腺癌) の発現頻度は1群 (24%) では3群 (70%) に比して有意に低かった。1群 (0.31) 及び2群 (0.66) の異型の過形成巣又は腺癌の個体あたりの平均個数は、3群 (1.21) に比して有意に減少した。尿中へのカルシウム排泄はイニシエーション処置の有無に関わらず、10, 30, 62週の時期とも24R, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の用量に相関して増加した。以上の如く、24R, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>をプロモーション時期に投与することにより、ラット腺胃の発がんに対して化学予防効果を示すことが明らかになった。

**Keywords**: 24R, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, glandular stomach carcinogenesis, chemopreventive effect

\* 岐阜大学医学部第一病理学教室

Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Enami, T., Mitsui, M., Tanakamaru, Z., Kim, H.-C., Lee, I.-S., Imazawa, T. and Takahashi, M.: **Long-term toxicity/carcinogenicity study of L-histidine monohydrochloride in F344 rats** *Fd. Chem. Toxic.*, 34, 687~691 (1996)

ほとんどの動物種に必須のアミノ酸であるヒスチジンの長期毒性試験及び発がん性試験をFischer344 (F344) ラットで実施した。6週齢のF344ラット雌雄各150匹を3群に分け、0 (対照)、1.25及び2.5%のL-histidine monohydrochloride (HMHC) を104週間混餌投与した。用量は、5%の投与により体重増加抑制及び精巣上体の精子肉芽腫が発現し、最大耐量が2.5%であることを明らかにした亜慢性毒性試験の結果を基に設定した。すべての生存動物を107週で剖検に供した。2.5%群の雄で、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の上昇がみられた。対照群を含めた全群で腫瘍の発現がみられたが、すべての腫瘍性病変は本系統のラットで自然発生的にみられる腫瘍と組織学的に類似し、雌雄各群とも腫瘍の発現頻度は対照群に比して有意な増加は認められなかった。以上の如く、F344ラットに対するHMHCの発がん性は認められなかった。

**Keywords**: carcinogenicity study, L-histidine monohydrochloride, F344rats

Matsui, H., Toyoda, K., Kawanishi, T., Mitsumori, K., Takahashi, M., Fukuhara, K. and Miyata, N.: **Direct toxic effects of ethylene-1, 2-dimethanesulfonate (EDS) on the rat epididymis**

*J. Toxicol. Pathology*, 9, 65~72 (1996)

Ethylene-1, 2-dimethanesulfonate (EDS) によつて誘発された精巣及び精巣上体への毒性変化を病理形態学的に研究した。実験は10週齢の雄ラットにEDSを100mg/kg単回投与し、1, 3, 7, 14及び28日目に屠殺解剖し、精巣、精巣

上体, 前立腺及び精囊腺を病理組織学的に検索した. 投与動物において EDS 投与 3 日目以内に Leydig cell が消失し, パキテン期精母細胞や円形精子細胞の減少が投与後 7 日目から認められた. 投与後 1 日目において精巣上体上皮の壊死が認められ, 3 日目まで増強した. 投与 7 日目において Leydig cell の消失は継続されたが, 精巣上体の上皮は回復が認められた. 以上の結果から, EDS によって誘発された精巣上体の毒性傷害は精巣障害により二次的に起こるのではなく, むしろ物質の直接的な作用であることが示唆された.

**Keywords:** ethylene-1,2-dimethanesulfonate, epididymis, testicular toxicity

Suzuki, T., Honma, M., Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Micronucleus induction by *cis*-diammine-dichloroplatinum (II) (cisplatin) assessed in mouse peripheral blood**

*MMS Commun.*, 4, 13~18 (1996)

制がん剤である *cis*-diammine-dichloroplatinum (II) (cisplatin) の *in vivo* における染色体異常誘発性について検討するため, マウス末梢血を用いる小核試験を行った. cisplatin 0.03-10mg/kg の腹腔内投与により用量依存的な小核の誘発が認められた. 小核を有する幼若赤血球の頻度は最大 5.2% (control は 0.1%) にまで達し, 他の制がん剤と同様に非常に強い染色体異常誘発性を有することが明らかとなった. この結果は cisplatin による二次発がんの危険性を考える上で重要な結果であると考えられる.

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

The collaborative Study Group for the Transgenic Mouse Mutation Assay/JEMS・MMS (Organizer in chief; Suzuki, T.): **Organ variation in the mutagenicity of ethylnitrosourea in Muta™ Mouse: Results of the collaborative study on the transgenic mutation assay by JEMS/MMS**

*Environ. Mol. Mutagen.*, 28, 363~375 (1996)

日本環境変異原学会/哺乳動物試験研究会 (JEMS/MMS) の活動の一環として, トランスジェニックマウス (Muta™ Mouse) を用いる変異原性試験に関する共同研究を 26 機関が参加して行った. 本試験法はその有用性にもかかわらず, まだ国内への普及は十分でなく, 共同研究を行って技術伝搬をはかることは本試験法の普及の上からも重要である. 代表的変異原物質であるエチルニトロソ尿素の変異原性の臓器特異性及びその経時変化について解析すると共に, 本試験法のバリデーションを行った. 変異の検出には新しく開発されたポジティブセレクション法を用いることにより, 初心者においても比較的簡便に信頼性のあるデータが得られ, 標準 DNA サンプルの変異頻度の各機関間でのばらつきは小さかった. 150mg/kg ENU 投与後, 3 日目と 14 日目に肝臓, 骨髄, 腎臓, 肺, 脾臓, 膀胱, 脳について導入 *lacZ* 遺伝子の変異頻度を解析した結果, 脳を除くすべての臓器について変異頻度の上昇が認められ, 特に骨髄と脾臓において高い値が得られた. また, 肝臓, 脾臓, 肺, 膀胱においては 3 日目に比べて 14 日目で変異頻度の上昇が認められ, 変異の固定に要する時間が各臓器ごとに重要となることが示唆された.

**Keywords:** organ variation, transgenic mouse, ethylnitrosourea

Suzuki, T., Itoh, M., Hayashi, M., Nishikawa, A., Ikezaki, S., Furukawa, F., Takahashi, M. and Sofuni, T.: **Organ vari-**

**ation in the mutagenicity of dimethylnitrosamine in Big Blue mice**

*Environ. Mol. Mutagenesis*, 28, 348~353 (1996)

ジメチルニトロソアミン (DMN) による突然変異誘発の臓器特異性について検討を行うため, *lacI* 遺伝子を標的として導入したトランスジェニックマウスである Big-Blue を用いた解析を行った. 同時に末梢血小核試験により染色体異常誘発性を, PCNA 免疫染色法により細胞増殖活性の誘導についても検討を行った. DMN 1 mg/kg を 5 日間連続腹腔内投与し 1 週間後に肝臓, 腎臓, 肺, 膀胱, 骨髄, 精巣について *lacI* 遺伝子の変異頻度を調べたところ, 肝臓, 腎臓, 肺においてコントロールに対し, それぞれ 6.2 倍, 2.4 倍, 2.1 倍の上昇が検出された. これら 3 臓器はいずれも DMN による発がんの標的臓器として報告されており, 変異誘発性との間に相関が得られた. 細胞増殖活性の誘導は気管支においてのみ顕著に認められ, 発がんとの関連に興味を持たれた. また, 投与開始後 48 時間, 72 時間後に末梢血中の小核誘発頻度について調べたが, 有意な上昇は認められなかった. DMN 5, 10mg/kg の単回腹腔内投与では弱い小核誘発性が観察された. DMN は弱い染色体異常誘発性を持つと結論できた. 単回投与 2 週後の肝臓における変異頻度の値は, 連続投与時に比べて低く, 連続投与の有効性が示唆された.

**Keywords:** organ variation, *lacI* transgenic mouse, dimethylnitrosamine

Suzuki, T., Hayashi, M., Ochiai, M.\*, Wakabayashi, K.\*, Ushijima, T.\*, Sugimura, T.\*, Nagao, M.\* and Sofuni, T.: **Organ variation in the mutagenicity of MeIQ in Big Blue *lacI* transgenic mice**

*Mutat. Res.*, 369, 45~49 (1996)

2-amino-3,4-dimethylimidazo [4,5-*f*] quinoline (MeIQ) は魚の焼け焦げに含まれるヘテロサイクリックアミンであり, バクテリアに対して非常に強い変異原性を示すと共に, マウス, ラットに対しても発がん性を示すことが報告されている. 今回この MeIQ の *in vivo* での突然変異誘発性に関して, その臓器特異性を含め *lacI* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス Big Blue を使って検討をした. マウスに MeIQ 0.03% を含む飼料を食べさせて, 1, 4, 12 週後に肝臓, 大腸, 骨髄, 前胃, 心臓における *lacI* 遺伝子の変異頻度を調べた結果, 心臓以外の臓器において, 投与期間の延長に伴う変異頻度の上昇が得られた. 特に大腸における上昇は顕著で, 投与 1 週間からすでに明らかな変化が認められ, 12 週後ではコントロール群の 38 倍にも達した. また 12 週後における肝臓, 骨髄, 前胃の変異頻度はそれぞれ 5.8 倍, 4.6 倍, 2.6 倍に上昇していた. 投与期間中同時に末梢血を用いて小核誘発異性を調べたところ, 8 週後にわずかに上昇が認められたが, 全体としては陰性であり, MeIQ の染色体異常誘発性は弱いことがわかった. MeIQ は肝臓, 大腸, 前胃にがんを誘発することより, 発がんの標的臓器では変異頻度の上昇が認められたことになる. ただし, 発がん強度との相関や, 非発がん臓器である骨髄においても変異の上昇が見られたことより, 変異頻度の上昇と発がん性の間の相関には更に他のファクターも考慮する必要があることが示唆された.

**Keywords:** organ variation, *lacI* transgenic mouse, MeIQ

\* 国立がんセンター研究所

Sofuni, T., Suzuki, T. and Hayashi, M.: **Initial consideration for use of transgenic mutation assays in a regulatory submission**



*Environ. Mol. Mutagenesis*, 28, 443~446 (1996)

トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験は *in vivo* において遺伝子突然変異を検出する系として有用であり、医薬品等の申請時における安全性評価試験としての応用が期待される。そのような際に問題となる(1)他の変異原性試験の結果を踏まえ、どういった場合に本試験法が必要となるか?(2)陰性の保証のためにはどのぐらいのデータ(動物数、解析臓器、投与方法、最高用量、投与回数、サンプリングタイム、用量設定、対照群など)が必要か?(3)どのぐらいの変異頻度の上昇により陽性と判断するか?などの事項について初期の見解を示した。

**Keywords:** transgenic mouse mutation assay, regulation, data evaluation

Oka, H.\*, Ohuchida, A.\*, Suzuki, T., Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Hydrazine monohydrochloride and 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride induce micronuclei in rats**

*MMS Commun.*, 4, 99~107 (1996)

ヒドラジン及び1,2ジメチルヒドラジンの染色体異常誘発性に関して、ラットを使った小核試験により検討した。ヒドラジンはSDラット骨髄を用いた検討で、75mg/kgの二回腹腔内投与により陽性を示したが、25mg/kg以下の4回投与実験では陰性であった。1,2ジメチルヒドラジンをF344ラットに50-200mg/kgで2回経口投与したところ、骨髄、末梢血中共に明らかな小核の誘発が認められた。これまで1,2ジメチルヒドラジンはマウスでは陽性なものの、ラットを用いた小核試験で陰性であり、種差のある化合物であるとされていたが、今回の結果により系統差を示すことが明らかとなった。

**Keywords:** micronucleus, hydrazine, 1,2-dimethylhydrazine

\* 大鵬薬品工業(株)

Suzuki, T., Itoh, S.\*<sup>1</sup>, Takemoto, N.\*<sup>2</sup>, Yajima, N.\*<sup>2</sup>, Miura, M.\*<sup>1</sup>, Hayashi, M., Shimada, H.\*<sup>1</sup> and Sofuni, T.: **Ethyl nitrosourea and methyl methanesulfonate mutagenicity in sperm and testicular germ cells of *lacZ* transgenic mice (Muta<sup>TM</sup>Mouse)**

*Mutat. Res.*, 388, 155~163 (1997)

生殖細胞に対する変異原物質として知られる、エチルニトロソ尿素(ENU)とメチルメタンサルホン酸(MMS)を用い、トランスジェニックマウス(Muta<sup>TM</sup>Mouse)を用いた変異原性試験が生殖細胞における変異原性の検出系として応用可能であるかについて検討を行った。生殖細胞としては精巣及び精子を用い、ENU 150mg/kg又は、MMS 40mg/kgを単回腹腔内投与後、3日目と14日目に *lacZ* 遺伝子の変異頻度を *galE* 欠損大腸菌を用いたポジティブセレクション法により調べた。その結果、まず溶媒対照群における自然突然変異頻度は、精巣で  $1 \times 10^{-5}$ 、精子で  $3 \times 10^{-5}$ と前者の方が低かった。これに対しENU投与群では、精巣において3日目14日目共に約5倍の変異頻度の上昇が観察された。しかし、精子においては変化が見られなかった。一方MMS投与群においては、精巣、精子共に変異頻度の上昇は認められなかった。なお、両化合物共に末梢血中の小核を有する幼若赤血球の顕著な増加が認められた。MMSの作用には染色体異常が強く関与すると思われる、このような化合物の検出にはトランスジェニックマウスの試験は向かないことが示唆された。ENUによる陽性結果より、本試験法は精巣における遺伝子突然変異の検出系としては有効であることが示された。なお本研究は国際共同研究の一環として行われた。

**Keywords:** germ cell, *lacZ* transgenic mouse

\*<sup>1</sup> 第一製薬(株)

\*<sup>2</sup> 雪印乳業(株)

Okonogi, H.\*<sup>1</sup>, Ushijima, T.\*<sup>1</sup>, Zhang, X. B.\*<sup>2</sup>, Heddle, J. A.\*<sup>2</sup>, Suzuki, T., Sofuni, T., Felton, J. S.\*<sup>3</sup>, Tucker, J. D.\*<sup>3</sup>, Sugimura, T.\*<sup>1</sup> and Nagao, M.\*<sup>1</sup>: **Agreement of mutational characteristics of heterocyclic amines in *lacI* of the Big Blue mouse with those in tumor related genes in rodents**

*Carcinogenesis*, 18, 745~748 (1997)

発がん性を有するヘテロサイクリックアミンであるMeIQ, PhIP, AαCについて、Big Blueマウスの大腸に誘発された突然変異のスペクトラムを比較した。MeIQ 300ppm, PhIP 400ppm, AαC 800ppm 混餌投与により得られたそれぞれ90, 115, 105個の変異体より92, 115, 105個の変異が同定でき、いずれの場合もG:CからA:Tへのトランスバージョン型塩基置換が主であることが明らかとなった。また、MeIQでは5'-GC-3'配列が、PhIPではGの並んだ配列が、そしてAαCでは5'-CGT-3'配列が変異のホットスポットとなるという特徴がみられた。MeIQにより得られた変異の特徴は、この化合物により誘発されたマウス前胃及びラットZymbal腺での腫瘍より得られたHa-ras遺伝子の変異の特徴と一致していた。またPhIPで見られた一塩基欠失はPhIPにより誘発されたラット大腸腫瘍のApc遺伝子の変異と一致していた。これらの結果は、トランスジェンを用いた突然変異の検出がマウスやラット本来の遺伝子上に起こる突然変異の予測に有用であることを示している。

**Keywords:** mutation spectrum, heterocyclic amine, *lacI* transgenic mouse

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

\*<sup>2</sup> York Univ., Canada

\*<sup>3</sup> Lawrence Livermore National Laboratory, U.S.A.

Piegorsch, W. W.\*<sup>1</sup>, Lockhart, A. C.\*<sup>2</sup>, Carr, G. J.\*<sup>3</sup>, Margolin, B. H.\*<sup>4</sup>, Brooks, T.\*<sup>5</sup>, Douglas, G. R.\*<sup>6</sup>, Liegibel, U. M.\*<sup>7</sup>, Suzuki, T., Thybaud, V.\*<sup>8</sup>, van Delft, J. H. M.\*<sup>9</sup> and Gorelick, N. J.\*<sup>3</sup>: **Sources of variability in data from a positive selection *lacZ* transgenic mouse mutation assay: An interlaboratory study**

*Mutat. Res.*, 388, 249~289 (1997)

*lacZ* 遺伝子導入マウスMuta<sup>TM</sup>Mouseを用いた試験系におけるポジティブセレクション法により得られたデータの統計学的評価上重要となるデータのばらつきの素因について検討した。生殖細胞に関する国際共同研究より得られた5機関のデータについて、プレート間、パッケージング間、動物間でのばらつきを調べたところ、動物間においてのみ過度のばらつきが認められた。このばらつきを考慮し、処理群とコントロール群の間の有意差の検定法を選択し、実際のデータの評価を行った。

**Keywords:** statistically evaluation, transgenic mouse mutation assay

\*<sup>1</sup> Univ. of South Carolina, U.S.A.

\*<sup>2</sup> A.S.I., U.S.A.

\*<sup>3</sup> Procter and Gamble Co., U.S.A.

\*<sup>4</sup> Univ. of North Carolina, U.S.A.

\*<sup>5</sup> Hazleton Europe, U.K.

\*<sup>6</sup> Health Canada, Canada

\*<sup>7</sup> German Cancer Research Center, Germany

\*<sup>8</sup> Rhone-Poulenc Rorer, France

\*<sup>9</sup> TNO Nutrition and Food Research Institute, The Neth

erlands

Matsuoka, A., Yamakage, K.\*<sup>1</sup>, Kusakabe, H.\*<sup>1</sup>, Wakuri, S.\*<sup>1</sup>, Asakura, M.\*<sup>2</sup>, Noguchi, T.\*<sup>2</sup>, Sugiyama, T.\*<sup>2</sup>, Shimada, H.\*<sup>3</sup>, Nakayama, S.\*<sup>3</sup>, Kasahara, Y.\*<sup>4</sup>, Takahashi, Y.\*<sup>4</sup>, Miura, K. F.\*<sup>5</sup>, Hatanaka, M.\*<sup>5</sup>, Ishidate, M., Jr.\*<sup>5</sup>, Morita, T.\*<sup>6</sup>, Watanabe, K.\*<sup>6</sup>, Hara, M.\*<sup>7</sup>, Odawara, K.\*<sup>7</sup>, Tanaka, N.\*<sup>1</sup>, Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Re-evaluation of chromosomal aberration induction on nine mouse lymphoma assay "unique positive" NTP carcinogens**

*Mutat. Res.*, 369, 243~252 (1996)

日本環境変異原学会、哺乳動物試験研究会で行った共同研究の結果である。これまで、米国 NTP 計画での遺伝毒性試験結果から、マウスリンフォーマ試験でのみ陽性と検出できる齧歯類発癌物質とされていた、9物質について、CHL 細胞を用いる染色体異常試験で再評価をおこなった。その結果、9物質中、6物質が染色体の構造異常あるいは数異常を誘発し、マウスリンフォーマ試験でのみ陽性の物質ではないことが判明した。上記 6物質の、NTP 染色体異常試験結果と今回の結果の違いは、使用細胞、実験プロトコルに加えて、数異常の解釈の違いによるものと考えられた。

**Keywords:** *in vitro* chromosomal aberration, NTP carcinogen, mouse lymphoma assay

\*<sup>1</sup> 食品薬品安全センター 秦野研究所

\*<sup>2</sup> 日本バイオアッセイ研究センター

\*<sup>3</sup> 第一製薬(株)

\*<sup>4</sup> 帝人

\*<sup>5</sup> オリパス光学工業(株)染色体研究センター

\*<sup>6</sup> 日本 Glaxo 筑波研究所

\*<sup>7</sup> 住友化学(株)

Kondo, K.\*<sup>1</sup>, Asano, N.\*<sup>2</sup>, Hitotsumachi, S.\*<sup>3</sup>, Kikuchi, Y.\*<sup>4</sup>, Kondo, Y.\*<sup>5</sup>, Miyamae, Y.\*<sup>6</sup>, Shimada, H.\*<sup>7</sup> and Hayashi, M.: **MMS Osaka Workshop, 1995-Case studies to evaluate genotoxicity test data based on the ICH consensus**

*MMS Commun.*, 4, 29~73 (1996)

日本環境変異原学会・哺乳動物試験研究会 (MMS) が 1995年11月に開催した同名のワークショップの記録である。実際の遺伝毒性のデータを、ICH の遺伝毒性グループのコンセンサスに基づいて評価することを目的とした。更に、同年12月に横浜で開催された ICH-3 に参加した海外からの S2 EWG メンバーを招き、小グループに分かれて英語で議論した。午前中のセッションでは 5種類のシナリオ化合物について各グループで議論の後評価を下し、午後全体会議で各グループの結論を発表し、更に議論を深めた。各シナリオは、微生物を用いる遺伝子突然変異試験、*in vitro* 染色体異常試験、*in vitro* 遺伝子突然変異試験、*in vitro* 小核試験等に関する実際のデータをまとめたものである。各グループでの各シナリオに対する結論は似かよっており、かなり客観的に評価できたようである。シナリオとは独立に、13の遺伝毒性試験結果に対する参加者のアンケート調査の結果も報告され、本論分に収録されている。

**Keywords:** MMS workshop, data evaluation, ICH

\*<sup>1</sup> Shionogi & Co., Ltd.

\*<sup>2</sup> Nitto Denko Corporation

\*<sup>3</sup> Takeda Chemical industries Ltd.

\*<sup>4</sup> Rabiton institute inc.

\*<sup>5</sup> Tanabe Seiyaku Co., Ltd.

\*<sup>6</sup> Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

\*<sup>7</sup> Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.

Matsuoka, A., Yamada, K.\*<sup>1</sup>, Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Chromosomal aberrations detected by chromosome painting in lymphocytes from cancer patients given high doses of therapeutic X-rays**

*J. Radiat. Res.*, 37, 257~265 (1996)

X線治療を受けた癌患者の末梢血リンパ球での染色体異常を、4番染色体 DNA ブローブを用いる FISH 法で解析した。その結果、患者での異常細胞出現頻度は 1.57% から 14.34% で、健康人での頻度、0.12% の 10倍から 100倍もの高頻度であった。FISH 法では、高頻度に観察される転座を簡便に検出でき、染色体異常検出の効率をあげることができる。治療のための X線被曝によるリスクのモニタリングの手段としての有用性が示唆された。

**Keywords:** radiotherapy, chromosome aberrations, chromosome painting

\* 国立国際医療センター研究所

Nonaka, M.\*<sup>1</sup>, Omura, H.\*<sup>1</sup>, Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Kojic acid did not induce micronuclei in mouse bone marrow hematopoietic cells**

*MMS Commun.*, 4, 109~112 (1996)

麴酸の小核誘発性に関する論文である。麴酸は *Aspergillus* や *Penicillium* が産生する抗菌性のある代謝産物で、食品、化粧品等に広く用いられている。ddY 系の雄マウスに 2回及び 5回腹腔内投与し、骨髄中の幼若赤血球に出現する小核の頻度を計測した。最高用量の 1000mg/kg 投与群では 6匹中 5匹のマウスが死亡した。従って、充分高用量まで試験したことになるが、小核を有する幼若赤血球の出現頻度の上昇は認められなかった。微生物を用いた遺伝子突然変異試験及び *in vitro* の培養細胞を用いて染色体異常試験で陽性の結果が報告されているが、共に非常に高濃度でのみの陽性であり、生体内での遺伝毒性は特に心配ないものと考えられた。

**Keywords:** kojic acid, mouse micronucleus test, genotoxicity

\* 九州大学農学部

Hauschke, D.\*<sup>1</sup>, Hayashi, M., Lin, K. K.\*<sup>2</sup>, Lovell, D. P.\*<sup>3</sup>, Robinson, W. D.\*<sup>4</sup> and Yoshimura, I.\*<sup>5</sup>: **Recommendations for biostatistics of mutagenicity studies**

*Drug information J.*, 31, 323~326 (1997)

1996年3月にベルギーで開催された「非臨床、毒性学における統計学的評価法」と題するワークショップの報告の一部である。変異原研究におけるデータに対する統計学的手法に関する考え方をまとめたものである。1) データ評価に当たって統計学は何かができるか、2) プロトコル、3) 実験計画、4) バイアスをさける方法、5) 何を単位としてデータを評価するか、6) 主な指標と補助的指標、7) データ解析、8) 結論と提案、の各項目についてアウトラインが述べられている。また、これらの提案は、ワークショップの期間中またドラフトに対する文書のやり取りによって得られたコンセンサスに基づいたものである。統計学的手法の詳細には言及していないので、提案されている考え方に従えば研究者の利用しやすい方法を用いてもよい自由度が与えられている。

**Keywords:** mutagenicity, biostatistics, recommendations

\*<sup>1</sup> Byk Gulden, Germany

\*<sup>2</sup> Food and Drug Administration, U.S.A.

\*<sup>3</sup> BiBRA International, U.K.

\*4 Glaxo Wellcome, U.K.

\*5 Science University of Tokyo

Morita, T.\*<sup>1</sup>, Asano, N.\*<sup>2</sup>, Awogi, T.\*<sup>3</sup>, Sasaki, Y. F.\*<sup>4</sup>, Sato, S.\*<sup>5</sup>, Shimada, H.\*<sup>6</sup>, Sutou, S.\*<sup>7</sup>, Suzuki, T., Wakata, A.\*<sup>8</sup>, Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (Groups 1, 2A, and 2B). The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS · MMS** *Mutat. Res.*, 389, 3 ~ 122 (1996)

日本環境変異原学会・哺乳動物試験研究会 (MMS) の小核試験検討グループによる第6回の共同研究の集大成である。51機関が参加し、IARCでグループ1, 2A, 及び2Bに分類された化学物質104種類について齧歯類を用いる小核試験を実施し、*in vivo* 小核試験の特性を明らかにした。信頼できる報告のデータも加味して総合的に見ると、グループ1の化学物質の約70%は小核試験陽性であり、2A及び2Bはそれぞれ約55%と46%であった。また、今回の共同研究により、小核試験で検出しやすい化合物グループと、検出が難しい化合物グループのあることが判明した。前者には aziridine, acyl 型 nitroso 化合物, hydrazines, amino-biphenyl, azo 化合物等が含まれ、後者には dialkyl 型 nitroso 化合物, シリカ, 金属, aromatic amines, ハロゲン化合物, ステロイドホルモン等が含まれる。これを基にした構造活性相関を考慮した場合、小核試験でのヒトがん原物質 (グループ<sup>1)</sup>に対する検出力は90%を超えることが判明した。

**Keywords**: rodent micronucleus test, IARC, collaborative study

\*1 Nippon Glaxo Ltd.

\*2 Nitto Denko co.

\*3 Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

\*4 Hachinohe National College of Technology

\*5 Japan Tobacco Inc.

\*6 Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.

\*7 itoham Foods Inc.

\*8 Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

Sofuni, T., Honma, M., Hayashi, M., Shimada, H.\*<sup>1</sup>, Tanaka, N.\*<sup>2</sup>, Wakuri, S.\*<sup>2</sup>, Awogi\*<sup>3</sup>, T., Yamamoto, K.I.\*<sup>4</sup>, Nishi, Y.\*<sup>5</sup> and Nakadate, M.: **Detection of *in vitro* clastogens and spindle poisons by the mouse lymphoma assay using the microwell method: interim report of an international collaborative study** *Mutagenesis*, 11, 349 ~ 355 (1996)

変異原性試験の最小必要な試験の組み合わせ論議の中で、マウスリンフォーマ試験 (MLA) が染色体異常誘発物質をいかに検出できるかが論点となっている。そのため、国内42機関、海外7機関が参加してエームス試験陰性、染色体異常試験陽性を示す20化合物について MLA 共同研究を行った。20化合物中15化合物は陽性と判定されたものの、他は陰性若しくは不確定とされた。MLA では大部分の染色体異常誘発物質を検出できるが、一部の化合物については検出できない可能性があり、今後更に検討をする必要がある。現在、2回目の共同研究が進行中である。

**Keywords**: mouse lymphoma assay (MLA), ICH, Standard battery

\*1 第一製薬(株)

\*2 食品薬品安全センター秦野研究所

\*3 大塚製薬(株)

\*4 武田薬品工業(株)

\*5 日本たばこ産業(株)

Honma, M., Hayashi, M., Ohno, T.\*<sup>1</sup>, Mizusawa, H., Saijo, K.\*<sup>2</sup> and Sofuni, T.: **Heterogeneity of the Y chromosome following long-term culture of the human lung cancer cell line A549**

*In Vitro Cell Dev. Biol. - Animal*, 32, 262 ~ 264 (1996)

ヒト肺ガン細胞株 A549 は世界中で汎用されている細胞株のひとつであり、国立衛試、理研、ATCC の細胞バンクでも保存、供給されている。しかしながら、3つの細胞バンクの A549 細胞株の染色体を解析したところ、Y 染色体に著しい heterogeneity が観察された。理研の A549 細胞の 82% には Y 染色体はなく、また ATCC の細胞の 53% は 2 本以上の Y 染色体を保持していた。本細胞株は男性由来であることから、各細胞バンクで継代、維持していく過程で Y 染色体の欠失や増幅がランダムに起こり、このような変化が生じたものと考えられる。このことは、細胞バンクにおける細胞株の形質の維持や、管理の困難さを示している。

**Keywords**: A549, Y chromosome heterogeneity, cell banking

\* 理化学研究所細胞バンク

Zhang, L.-S.\*<sup>1</sup>, Honma, M., Matsuoka, A., Suzuki, T., Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Chromosome painting analysis of spontaneous and methyl methanesulfonate-induced trifluorothymidine-resistant L5178Y cell colonies**

*Mutat. Res.*, 370, 181 ~ 190 (1996)

自然誘発及び MMS の誘発によって得られたマウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ (TK) 欠損変異体を TK 座位を有する 11 番染色体のペインティング法で解析した。小さいコロニーを形成する変異体の 77%、大きいコロニーを形成する変異体の 29% に転座や他の複雑な染色体異常が観察された。このことはマウスリンフォーマ細胞で検出される突然変異のかなりの部分は染色体異常を伴う大きな遺伝子の変異であるという従来の説を支持するものである。

**Keywords**: chromosome painting, L5178Y mouse lymphoma cell, translocation

\* 中国華西医科大学公共衛生学院

Zhang, L.-S.\*<sup>1</sup>, Honma, M., Sofuni, T., Matsuoka, A., Suzuki, T. and Hayashi, M.: **The induction of micronuclei and gene mutations in L5178Y mouse lymphoma cells by hydroquinone and diethylstilbestrol: a comparison of short- and long-term treatments**

*MMS Commun.*, 4, 113 ~ 120 (1996)

2つの染色体異数性誘発物質である hydroquinone (HQ) と diethylstilbestrol (DES) について、L5178Y 細胞を用いその小核誘発性と遺伝子突然変異誘発性を比較した。小核、遺伝子突然変異の誘発とも、3時間の短時間処理では不十分であったが24時間の連続処理では顕著な増加が観察された。このことは染色体異数性誘発物質のような細胞周期に依存した遺伝毒性物質の検出には長時間の連続処理が有効であることを示している。

**Keywords**: micronucleus, gene mutation, L5178Y mouse lymphoma cell

\* 中国華西医科大学公共衛生学院

Honma, M., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Cytotoxic and mutagenic responses to X-rays and chemical mutagens in normal and p53-mutated human lymphoblastoid cells**

*Mutat. Res.*, 374, 89~98 (1997)

ヒトリンパ芽球様細胞株 TK 6 と WTK-1 は WIL 2 細胞を親株とする同一細胞由来であるが、WTK-1 は p53 遺伝子に変異をもつ変異細胞である。両細胞の遺伝子突然変異頻度や環境変異原に対する感受性を比較し、細胞内の遺伝的安定化や、DNA 損傷に対する p53 の役割を明らかにした。WTK-1 細胞のチミジンキナーゼ (*tk*) 遺伝子座における自然突然変異頻度は TK 6 の 30 倍以上も高く、変異原の細胞毒性によるアポトーシスには抵抗性を示した。また、WTK-1 細胞で起こる *tk* 遺伝子での突然変異のほとんどは染色体間の組換えによる LOH 型の変異であった。これらのことから、p53 は細胞内の組換え反応、若しくは組換え修復機構を制御することにより遺伝子の安定化に寄与していることが示唆された。

**Keywords:** p53, thymidine kinase (*tk*), genomic stability

Honma, M., Hayashi, M., Hackman, P.\* and Sofuni, T.: **Chlorambucil - induced structural changes in the *gpt* gene of AS 52 cells**

*Mutat. Res.*, 389, 199~205 (1997)

クロラムブシル (CBC) はガン化学療法剤のひとつであり、生殖細胞においては高い頻度で欠失型の突然変異を引き起こすことが知られている。体細胞においてもこのような変異が起こるかどうかを検討するためチャイニーズハムスター由来の CHO 細胞に大腸菌の *gpt* 遺伝子を組み込んだトランスジェニック細胞 AS52 を用いてその変異原性を検討した。CBC は AS52 細胞での *gpt* 遺伝子突然変異を顕著に誘発し、その程度はマイトマイシンに匹敵するものであった。変異体の *gpt* 遺伝子を PCR 法によって解析したところ 81% に *gpt* 遺伝子の消失が認められた。このことから CBC はほ乳類培養細胞においても高率に欠失等の染色体レベルの異常を引き起こすことが明らかとなった。

**Keywords:** Chlorambucil (CBC), AS52/*gpt* assay, deletion

\* スウェーデンカロリンスカ研究所

Gruz, P., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Construction of a new system for separate expression of mutagenesis proteins: the abilities to promote UV mutagenesis and interchangeability of MucA', MucB, SamA' and SamB proteins in *Salmonella typhimurium***

*Mutat. Res.*, 354, 157~170 (1996)

SamA', SamB, MucA', MucB は mutagenesis protein の一種であり、SamA' は SamB と、MucA' は MucB と共存した時のみ突然変異誘発を促進するものと考えられてきた。しかし、それぞれの蛋白質を個別に発現するプラスミドを構築し、*S. typhimurium* で起こる紫外線突然変異を促進する能力を測定すると、SamA' は MucB と、また MucA' は SamB と共存した場合にも部分的に突然変異誘発を促進することが明らかになった。また A'B 複合体の機能は、主に B 蛋白質の性質によって決定された。

**Keywords:** mutagenesis proteins, SamA'B, MucA'B

Ceccotti, S.\*<sup>1</sup>, Aquilina, G.\*<sup>1</sup>, Macpherson, P.\*<sup>2</sup>, Yamada, M., Karran, P.\*<sup>2</sup> and Bignami, M.\*<sup>1</sup>: **Processing of O<sup>6</sup>-methylguanine by mismatch correction in human cell extracts**

*Current Biology*, 6, 1528~1531 (1996)

ヒトの細胞抽出液は、O<sup>6</sup>-メチルグアニン (O<sup>6</sup>-meG) を修復するために異常な DNA 合成を行う。ミスマッチ修復系を欠損した細胞 (hMSH 2 欠損株: Lovo) ではこの異常な DNA 合成は起こらないが、精製した hMutSα を加える

と回復する。ミスマッチ修復系による O<sup>6</sup>-meG の修復合成には、PCNA が必要であった。メチル化剤耐性の HeLaMR 株は、*in vitro* でミスマッチ修復が出来ず高い自然突然変異を示すが、この株では O<sup>6</sup>-meG に依存する DNA 合成が起こらなかった。またメチル化剤に耐性を示す大腸菌由来の複数の細胞は、いずれも hMLH 1 の突然変異体であった。メチル化剤耐性細胞では O<sup>6</sup>-meG に依存した DNA 合成が起こらないという今回の結果は、O<sup>6</sup>-meG による細胞死の原因がミスマッチ修復系にあることを示す初めての生化学的証拠である。

**Keywords:** O<sup>6</sup>-methylguanine, mismatch repair, PCNA

\*<sup>1</sup> Section of Chemical Carcinogenesis, Istituto Superiore di Sanita', Italy

\*<sup>2</sup> Clare Hall Laboratories, Imperial Cancer Research Fund, U.K.

Matsui, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Regionally-targeted mutagenesis by metabolically-activated steviol: DNA sequence analysis of steviol-induced mutants of guanine phosphoribosyltransferase (*gpt*) gene of *Salmonella typhimurium* TM677**

*Mutagenesis*, 11, 565~572 (1996)

天然甘味料ステビオシドのアグリコンであるステビオールは、代謝活性化されると *Salmonella typhimurium* TM677 株の *gpt* 遺伝子に突然変異を誘発する。しかし、ステビオールは代謝活性化されても *Styphimurium* を用いるエームス試験では陽性結果を示さない。ステビオールによって誘発される変異の特徴を明らかにするため、自然突然変異体 (16個) とステビオール誘発突然変異体 (26個) について *gpt* 遺伝子突然変異を同定した。ステビオール誘発突然変異の約 40% は、*gpt* 遺伝子内の約 50 塩基対の領域に集中していた。ステビオール処理により、特定の領域に変異が集中して起こる原因について考察した。

**Keywords:** steviol, stevioside, *gpt*

Matsui, M., Matsui, K., Kawasaki, Y., Oda, Y.\*<sup>1</sup>, Noguchi, T.\*<sup>2</sup>, Kitagawa, Y.\*<sup>3</sup>, Sawada, M.\*<sup>4</sup>, Hayashi, M., Nohmi, T., Yoshihira, K.\*<sup>5</sup>, Ishidate, M., Jr.\*<sup>6</sup> and Sofuni, T.: **Evaluation of the genotoxicity of stevioside and steviol using six *in vitro* and one *in vivo* mutagenicity assays**

*Mutagenesis*, 11, 573~579 (1996)

ステビオシドは日本で用いられている天然甘味料であり、ステビオールはそのアグリコンである。6種類の *in vitro* 変異原性試験と *in vivo* 小核試験により、これらの化合物の変異原性を検索した。ステビオシドに変異原性は検出されなかったが、ステビオールは微生物及び培養細胞を用いる試験で陽性の結果を示した。ステビオールのヒト遺伝子に対するリスクについて考察した。

**Keywords:** steviol, stevioside, genotoxicity

\*<sup>1</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

\*<sup>2</sup> 日本バイオアッセイ研究センター

\*<sup>3</sup> サントリー応用微生物研究所

\*<sup>4</sup> 北海道薬科大学

\*<sup>5</sup> 東亜大学

\*<sup>6</sup> オリパス光学工業 (株) 染色体研究センター

Nohmi, T., Katoh, M.\*<sup>1</sup>, Suzuki, H.\*<sup>2</sup>, Matsui, M., Yamada, M., Watanabe, M.\*<sup>3</sup>, Suzuki, M., Horiya, N.\*<sup>4</sup>, Ueda, O.\*<sup>2</sup>, Shibuya, T.\*<sup>4</sup>, Ikeda, H.\*<sup>5</sup> and Sofuni, T.: **A new transgenic mouse mutagenicity test system using Spi-and6-thioguanin e selections**

*Environ. Mol. Mutagenesis*, 28, 465~470 (1996)

ラムダーファージベクター EG10をマウス受精卵へ導入することにより、変異原性試験用の新しいトランスジェニックマウス *gpt Δ* を作出した。このマウスの特徴は、2種類の異なる選択法 (Spi-選択法と6-チオグアニン選択法) を用いて、異なるタイプの変異 (欠失突然変異と点突然変異) を効率良く検出できる点にある。エチルニトロソ尿素処理により骨髄の *gpt* 遺伝子突然変異が増大し、ガンマー線処理により脾臓の Spi-突然変異頻度が増大することを明らかにした。

**Keywords:** transgenic mouse, point mutation, deletion mutation

\*<sup>1</sup> University of Chile

\*<sup>2</sup> 中外製薬探索研究所

\*<sup>3</sup> 国立がんセンター生化学部

\*<sup>4</sup> 食品薬品安全センター秦野研究所

\*<sup>5</sup> 東京大学医科学研究所

Moggs, J. G. \*<sup>1</sup>, Szymkowski, D. E. \*<sup>2</sup>, Yamada, M., Karran, P. \*<sup>1</sup> and Wood, R. D. \*<sup>1</sup>: **Differential human nucleotide excision repair of paired and mispaired cisplatin-DNA adducts**

*Nuc. Acids Res.*, 25, 480~490 (1997)

抗がん剤シスプラチン (CP) の作用機構を理解するために、シスプラチン-DNA 付加体がヌクレオチド除去修復系によって修復される効率を調べた。①隣り合ったグアニンの1位と2位の間にCPが結合した付加体 (1,2-GG) ②隣り合ったアデニンとグアニンの1位と2位の間にCPが結合した付加体 (1,2-AG) ③隣り合ったグアニンの1位と3位の間にCPが結合した付加体 (1,3-GG) ④2-アセチルアミノフルオレン付加体 (AAF) の4種類を基質に、ヌクレオチド除去修復を *in vitro* で行った。後者二つの付加体は、前者二つよりも15-20倍高い効率で修復された。ミスマッチ修復を欠損した細胞の粗抽出液を用いても、同様の結果が示されたことから、ミスマッチ修復蛋白のヌクレオチド除去修復蛋白に対する拮抗阻害の可能性は否定された。CPにより生じるDNA付加体の65%を占める1,2-GGは、対合するDNA鎖にチミンがあると、シトシンがある場合よりも効率良く修復された。この修復にはhMutSαは関与しなかった。

**Keywords:** nucleotide excision repair, mismatch repair, cisplatin-DNA adduct

\*<sup>1</sup> Clare Hall Laboratories, Imperial Cancer Research Fund, U.K.

\*<sup>2</sup> Roche Research Centre, U.K.

Yamada, M., O'Regan, E. \*<sup>1</sup>, Brown, R. \*<sup>2</sup> and Karran, P. \*<sup>1</sup>: **Selective recognition of cisplatin-DNA adduct by human mismatch repair proteins**

*Nuc. Acids Res.*, 25, 491~495 (1997)

抗がん剤であるシスプラチンは隣り合ったプリン塩基間にクロスリンクを作る。シスプラチンでクロスリンクされた2つのグアニンに、シトシンとチミンが対合しているDNA (5'-GCPG-3'/3'-CT-5') に対し、ヒト・ミスマッチ修復蛋白は効率良く結合した。結合効率は、クロスリンクのないグアニンとチミンのミスマッチ (5'-GG-3'/3'-CT-5') に対するものより数倍高かった。この結合は、細胞粗抽出液を用いた場合だけでなく、精製したhMutSα複合体を用いた場合にも確認された。hMutSα複合体を形成するhMSH2及びhMSH6の変異体では、この結合は観察されなかった。シスプラチンでクロスリンクされたグアニ

ンが、シトシンと対合したDNA (5'-GCPG-3'/3'-CC-5') には、ヒト・ミスマッチ蛋白はほとんど結合しなかった。グアニンがシスプラチンでクロスリンクされた時に起こる、DNA複製のバイパスについて考察した。

**Keywords:** mismatch repair, cisplatin-DNA adduct, cross-link

\*<sup>1</sup> Clare Hall Laboratories, Imperial Cancer Research Fund, U.K.

\*<sup>2</sup> CRC Department of Medical Oncology, Beaston Laboratories, U.K.

Yamada, M., Espinosa-Aguirre, J. J. \*<sup>1</sup>, Watanabe, M. \*<sup>2</sup>, Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Targeted disruption of the gene encoding the classical nitroreductase enzyme in *Salmonella typhimurium* Ames test strains TA1535 and TA1538**

*Mutat. Res.*, 375, 9~17 (1997)

エームテストに使われる *S. typhimurium* TA1535株、TA1538株の染色体上のニトロ還元酵素遺伝子 (*cnr*) を特異的に破壊した。TA1538株のニトロ還元酵素活性はほぼ完全に消失したが、TA1535株では約25%酵素活性が残存した。TA1535株のニトロ還元酵素活性はTA1538株よりも約4倍高かった。これらの結果は、*S. typhimurium* には少なくとも2種類のニトロ還元酵素が存在し、TA1538株ではその一方があらかじめ欠損していることを示唆している。第2のニトロ還元酵素がニトロ化合物を代謝活性化する役割について考察した。

**Keywords:** nitroreductase, mutagenicity, nitroarenes

\*<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Biomedicas, U.N.A.M., Mexico

\*<sup>2</sup> 国立がんセンター生化学部

Tanabe, H., Ishida, T. \*, Ueda, S. \*, Sofuni, T. and Mizusawa, H.: **Molecular anatomy of human chromosome 9: comparative mapping of the immunoglobulin processed pseudogene C-epsilon 3 (IGHEP 2) in primates**

*Cytogenet. Cell Genet.*, 73, 92~96 (1996)

加工型偽遺伝子 IGHEP 2 はヒト9番染色体 (HSA 9) 上 HSA 9p24.2→p24.1 に存在する。IGHEP 2 及びコスミド DNA, cCi9-37 (9q22.1→q22.2), cCi9-135 (9q22.32→q22.33), cCi9-208 (9p13.3→p13.2) をプローブとした霊長類7種 (チンパンジー (PTR), ビグミーチンパンジー (PPA), ゴリラ (GGO), オランウータン (PPY), シロテテナガザル (HLA), アジルテナガザル (HAG), ニホンザル (MFU)) の比較マッピングを行ない、霊長類の HSA 9 homologous 染色体の由来を考察した。その結果、これらの染色体は2回の腕間逆位を伴う内部構造の再編成により形成されてきたことが示唆された。すなわち、ヒト及び大型類人猿の共通祖先型染色体は GGO13/PPY13型で、PPY13q16/13p13を切断点とした1回目の腕間逆位の結果、HSA・PTR/PPA 共通祖先型染色体が生じ、更にその内部で2回目の腕間逆位が生じた後、現在の PTR11/PPA11 が形成されたものと考えられた。

**Keywords:** karyotypic evolution, human chromosome 9, fluorescence in situ hybridization

\* 東京大学理学部

Kobayashi, M. \*<sup>1</sup>, Masui, T., Kusuda, J. \*<sup>2</sup>, Kameoka, Y. \*<sup>2</sup>, Hashimoto, K. \*<sup>2</sup> and Iwashita, S. \*<sup>1</sup>: **Human ras GTPase-activating protein (human counterpart of GAP1<sup>m</sup>): sequence of the cDNA, primary structure of the**

**protein, production and chromosomal localization**  
*Gene*, 175, 173~177 (1996)

ラットの GTP 加水分解酵素活性化因子の cDNA をプロンプとして、ヒト子宮頸部上皮細胞の増殖停止 cDNA ライブラリーより、2つのヒト部分 cDNA クローンを単離した。このクローンを元にヒト上皮腫瘍細胞 A431 の総 RNA よりヒト GAP 1<sup>m</sup> をクローニングした。ヒトの GAP 1<sup>m</sup> はラットのそれに対して核酸レベルで 87.7%、アミノ酸レベルで 89.2% の相同性を有する。ヒトタンパク質は A431 の細胞ライゼートのウエスタンブロットで予想される 100Kd に検出される。染色体上では 3q24-q26 にマップされる。

**Keywords**: human GAP homologue, cDNA cloning, chromosome mapping

\*<sup>1</sup> 三菱化学生命科学研究所

\*<sup>2</sup> 国立予防衛生研究所

東條知子\*, 四方田千佳子, 岡田敏史, 川村次良\*: **ヒト成長ホルモンの逆相クロマトグラフ法による不純物の分析**

*医薬品研究*, 27, 815~820 (1996)

ヒト成長ホルモンの RP-HPLC による純度試験において C4 及び C18 の数種のカラムの性能を比較検討した。デスマイド体との分離度はアルカリ性溶媒 (pH 8.5) を用いた場合に最も良く、耐アルカリ性 C18 カラムが有用であることが示唆された。

**Keywords**: human growth hormone, RP-HPLC, purity test

\* 日本公定書協会

Nakanishi, K.\*<sup>1</sup>, Masukawa, T.\*<sup>1</sup>, Nadai, T.\*<sup>1</sup>, Yoshii, K., Okada, S. and Miyajima, K.\*<sup>2</sup>: **Sustained release of flufenamic acid from a drug-triacetyl-β-cyclodextrin complex**

*Biol. Pharm. Bull.*, 20, 66~70 (1997)

フルフェナム酸 (FA) とトリアセチル-β シクロデキストリン (TA-β-CyD) の包摂化合物を調製した。溶出試験を行った際、コントロールと比較して溶出時間の延長が見られた。またラットの十二指腸管腔内に投与したときに徐放性を示し、平均血中滞留時間の増加が観察された。この結果より、作用時間を延長し副作用を減少した経口投与剤としての、薬物-TA-β-CyD 包摂化合物の可能性が明らかとなった。

**Keywords**: triacetyl-β-cyclodextrin, flufenamic acid, complex

\*<sup>1</sup> 摂南大学薬学部

\*<sup>2</sup> 京都大学薬学部

Urakami, T.\*<sup>1,2</sup>, Tanaka, A.\*<sup>1</sup>, Tanimoto, T. and Niki, E.\*<sup>2</sup>: **Synthesis and aldose reductase-inhibitory activity of imidazopyrroloquinoline esters**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1493-1497 (1996)

補酵素ピロキノリンキノン (PQQ) から誘導されるイミダゾピロキノリン (IPQ) 及びそのエステル類を合成し、これらのアルドース還元酵素 (AR) に対する阻害効果を測定した。標的酵素である AR はウサギ水晶体、イヌ腎臓から単離したもの及び組換えヒト型酵素を用いた。ヒト型酵素に対しては親化合物である PQQ の阻害活性は弱かったが、IPQ は PQQ の約 300 倍の阻害活性を示した。IPQ は C1 位, C3 位, C9 位に 3 個のカルボキシル基を有するが、C3 位のカルボキシル基をエステル化することによって阻害活性が低下し、阻害活性発現には C3 位のカルボキシル基は遊離型である必要性が示唆された。C3 位が遊

離型の IPQ エステル類は赤血球へのソルビトールの蓄積も阻害した。

**Keywords**: aldose reductase inhibitor, imidazopyrroloquinoline

\*<sup>1</sup> 三菱ガス化学

\*<sup>2</sup> 東京大学

大西晃生\*<sup>1</sup>, 谷本 剛, 永木譲治\*<sup>2</sup>, 陣内富男\*<sup>2</sup>, 石津 汪\*<sup>3</sup>: **糖尿病患者における赤血球アルドース還元酵素量と糖尿病合併症との関連**

*糖尿病*, 39, 783~788 (1996)

NIDDM 患者 96 名の赤血球中アルドース還元酵素 (AR) 量を酵素免疫測定法で測定し、AR 量と一般臨床症状、末梢神経障害、網膜症、腎症及び白内障との相関関係を検討した。AR 量と年齢、糖尿病罹病期間、空腹時血糖、HbA<sub>1c</sub> との間に相関関係は認められなかった。糖尿病の罹病期間が 10 年以内の 44 名においては、AR 量は末梢神経障害のある患者群 (24 名) がない患者群 (20 名) より高値 (p<0.05) であった。同様に、AR 量は網膜症のある患者群 (23 名) で非網膜症患者群 (21 名) より高値 (p<0.05) であった。AR 量と白内障及び腎症との間には相関関係は認められなかった。AR 量は少なくとも糖尿病の比較的早期においては合併症発症に関連を有すると判断された。

**Keywords**: aldose reductase, diabetic complication, NIDDM

\*<sup>1</sup> 産業医科大学

\*<sup>2</sup> 陣内内科病院

\*<sup>3</sup> 北九州市立医療センター

Komatsu, H. and Okada, S.: **Ethanol-enhanced permeation of phosphatidylcholine/phosphatidylethanolamine mixed liposomal membranes due to ethanol-induced lateral phase separation**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1283, 73~79 (1996)

アルコールなどの存在において、ホスファチジルコリン (PC) からなるリポソーム膜が、指組み膜 (向い合った脂質のアシル鎖が互いに噛み合った構造を有する膜) を形成することが知られているが、その膜透過性に及ぼす指組み膜形成の影響について、内封した蛍光色素の PC/ホスファチジルエタノールアミン (PE) 混合リポソームからの漏れを指標として検討した。その結果、エタノール非共存下においては、安定な混合脂質膜を形成するため、低い膜透過性が観測された。一方、エタノール共存下では、指組み膜相と通常の二分子膜相との相分離状態が生じ、相境界付近での膜構造の歪みのために膜の透過性が亢進した。このことは、通常、相分離を起こさない膜に対し、エタノールが共存した場合、膜の相分離が誘起され、その膜透過性制御機能を乱される可能性を示唆すると共に、アルコールの生体に対する生理作用機構と指組み膜形成との関連性が強く示唆された。また、大腸菌等の菌体膜の主要脂質が PE であることから、アルコール殺菌機構と指組み膜形成との関連性も示唆された。

**Keywords**: liposome, ethanol, interdigitation

Komatsu, H., Kitajima, A., Nakata, Y.\* and Okada, S.: **Estimations of average particle sizes and size distribution of commercially available human-insulin aqueous suspensions using laser-light diffraction spectroscopy**

*Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1966~1969 (1996)

光回折法による粒子径解析法を分散性製剤であるヒトインスリン水性懸濁注射液に適用し、それらの粒子径評価法

としての可能性を検討した。その結果、針状結晶であるイソフェンインスリンの場合、通常前処理として行われる攪拌及び超音波処理により粒子径分布の形状がわずかに変化し、見かけの粒子径が小さくなった。特に超音波照射の場合、見かけの粒子径の減少が顕著であった。これは、針状結晶の凝集体が超音波により再分散すると共に、一部の結晶が崩壊したためであることが顕微鏡観察から確認された。注射針を詰まらせないように品質管理を行なう本来の目的を考えれば、超音波処理の前処理が必要かどうか問題である。また、評価される粒子径は、あくまでも見かけの粒子径であり、イソフェンインスリンのような針状結晶の場合、評価された数値をどのように解釈するべきなのか、など今後解決しなければならない多くの問題点のあることを指摘した。

**Keywords** : insulin, average size, light diffraction

\* 堀場製作所

**Komatsu, H. and Okada, S.: Effects of ethanol on permeability of phosphatidylcholine/cholesterol mixed liposomal membranes**

*Chem. Phys. Lipids*, 85, 67~74 (1997)

低級アルコール、局所麻酔剤やグリセリンなどの共存下において、ホスファチジルコリン (PC) リポソーム膜が、指組み膜 (向い合った脂質のアシル鎖が互いに噛み合った構造) を形成し、膜透過性を亢進させることが知られているが、指組み膜形成に対して抑制効果を有するコレステロール (CH) と PC から成る混合リポソーム膜の透過性について、内封した蛍光色素の漏出速度を指標として検討した。その結果、エタノールが共存しない場合、CH を添加すると膜が安定化し、漏れが減少した。一方、PC 単独膜で指組み膜を形成するエタノール濃度においては、CH の増加と共に漏れは減少したが、25モル%以上では、漏れが激増した。これらのことは、通常、安定な膜であっても、エタノール共存下において膜の透過性が亢進する可能性を示唆した。生体膜の主成分が PC であり、また CH が25モル%以上含まれていることを考慮すると、これらの結果は、エタノールが生体膜の透過性制御機構を乱す可能性を示唆している。また、アルコールの生体に対する生理作用機構と指組み膜形成との関連性も強く示唆された。

**Keywords** : ethanol, cholesterol, liposomal membranes

**Komatsu, H., Okada, S. and Handa, T.\*: Suppressive effects of salts on droplet coalescence in a commercially available fat emulsion during freezing for storage**

*J. Pharm. Sci.*, 86, 497~502 (1997)

静脈注射用脂肪乳剤の凍結による凝集・合一に対する添加塩の効果について、市販の脂肪乳剤 (大豆油、卵黄レシチン、濃グリセリン) を用い、その長期保存法としての可能性を検討した。その結果、塩無添加では、凍結-融解サイクル数の増加と共に見かけの粒子径が増加した。しかしながら、脂肪乳剤の濃度低下と共に粒子径の増加が抑制されたことから、凍結による凝集・合一は、濃縮効果 (氷晶の形成により分散媒が減少し、見かけの脂肪乳剤の濃度が上昇すること) によることが明らかとなった。また、0.5M のナトリウムやカリウム塩の添加は、見かけの粒子径増加を完全に抑制した。示差走査熱量分析により、塩無添加系では、氷晶が凍結過程において形成されるが、塩添加系では、凍結過程における氷晶形成が抑制され、融解過程 (氷点下) で形成されることが示された。このことから、塩の添加は、凍結過程における粒子の濃縮効果を抑制し、エマ

ルジョン粒子の融合が抑制されることが明らかとなり、塩の添加により脂肪乳剤の凍結保存が可能であった。

**Keywords** : fat emulsion, fusion, frozen-storage

\* 京都大学薬学部

**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 (3) 日局一般試験法への採用に向けて**  
医薬品研究, 27, 632~638 (1996)

USP, BP 及び EP における一般試験法としての熱分析法の概要と医薬品各条への適用事例について考察すると共に、熱重量測定法 (TG) 及び示差走査熱量測定法 (DSC) の医薬品試験への応用に関する著者らの試験成績を紹介した。また、DSC 法を不純物解析法として用いる場合の問題点及び応用の可能性などにつき考察した。

**Keywords** : thermal analysis, Japanese pharmacopoeia, general tests

**Saito, H., Minamida, T.\*, Arimoto, I.\*, Handa, T.\* and Miyajima, K.\*: Physical states of surface and core lipids in lipid emulsions and apolipoprotein binding to the emulsion surface**

*J. Biol. Chem.*, 271, 15515~15520 (1996)

エマルションの脂質組成変化、特に、表面コレステロールとコアのコレステリルエステル増加による表面膜とコアの構造変化について、蛍光プローブの定常光あるいは時間分解蛍光異方性の測定により評価した。コアがトリグリセライドからコレステリルエステルに置き換わることによりコア自身の流動性は大きく低下したが、この時、表面膜の流動性はコレステロールが存在する場合にのみ大きく変化した。更に、コレステロールの蛍光アナログを用いた蛍光消光の実験から、コアの組成変化は膜中のコレステロールの再配置を通して表面膜の構造を変化させていることが示された。また、エマルション表面に対する可溶性アポリポ蛋白質の結合性は、アポリポ蛋白質 C-II が表面コレステロールによって大きく低下するのに対し、アポリポ蛋白質 E はむしろコアの組成変化によって大きく減少した。これらアポリポ蛋白質の結合性の変化をエマルションの表面膜やコアの構造変化の点から議論し、血漿リポ蛋白質の代謝過程におけるコアの組成変化がもつ生理的役割について重要な示唆を与えた。

**Keywords** : emulsions, cholesterol, apolipoproteins

\* 京都大学薬学部

**Arimoto, I.\*, Fujita, M.\*, Saito, H., Handa, T.\* and Miyajima, K.\*: Activation and inhibition of lipoprotein lipase in mixed monolayers of medium or long chain-triglycerides and phospholipids**

*Colloid & Polym. Sci.*, 275, 60~66 (1997)

気/水界面に展開したリン脂質-トリグリセライド (TG) 混合単分子膜でのリポ蛋白質リパーゼ (LPL) による TG の加水分解について測定した。フォスファチジルコリン-TG 混合単分子膜中での TG 分子の配向性は TG のアシル鎖長によって異なり、中鎖 TG に比べてより配向した構造を持つ長鎖 TG の方が LPL の反応性が高かった。リン脂質としてスフィンゴミエリンを加えると、配向性の高い長鎖 TG で崩壊圧の上昇がみられ、混合膜がより安定化されていることが示された。このような安定混合単分子膜中では LPL による TG の加水分解は抑制された。これらの結果から、リン脂質-TG 混合単分子膜での TG 分子の配向性と、リン脂質と TG 分子間の相互作用が LPL の反応を調節していることが明らかとなり、スフィンゴミエリンによ

る反応の阻害はスフィンゴミエリンと TG 分子間の強い疎水性相互作用によることが示唆された。

**Keywords:** lipoprotein lipase, triglyceride, sphingomyelin

\* 京都大学薬学部

Saito, H., Miyako, Y.\*, Handa, T.\* and Miyajima, K.\*: **Effect of cholesterol on apolipoprotein A-I binding to lipid bilayers and emulsions**

*J. Lipid Res.*, 38, 287~294 (1997)

アポリポ蛋白質 A-I (apoA-I) は生体内でコレステロール逆転送系を担うアポリポ蛋白質であり、細胞からのコレステロールの引き抜きに関与していることが知られている。ブタ血漿から単離した apoA-I を用いて、細胞膜モデルとしての脂質二分子膜 (リポソーム) との相互作用を検討したところ、apoA-I のエマルションに対する結合性はコレステロールによって減少するのに対し、二分子膜では逆に増加することを見出した。これは、コレステロールによる二分子膜の表面付近の構造変化が apoA-I の結合に有利なためであることが、膜蛍光プローブによる表面構造の測定や内封した水溶性蛍光マーカーの漏出性から示された。これらの結果は、コレステロール逆転送に際し、コレステロールに富む細胞膜表面と apoA-I とのダイレクトな相互作用の可能性を示唆した。

**Keywords:** apolipoprotein A-I, cholesterol, bilayers

\* 京都大学薬学部

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田 正: **サラダ油, 玄米及び大豆中のピレスロイド系農薬分析時における脱脂法の検討**

食品衛生学雑誌, 37, 151~157 (1996)

日本で汎用される農薬のうち親油性が高く分析時に脱脂が困難と考えられるピレスロイド系農薬の脱脂法について、GPC 法、*n*-ヘキサン/アセトニトリル分配法、エクストレルート/Sep-Pak <sup>18</sup>C<sub>18</sub>法の3法を比較検討した。サラダ油、玄米、大豆での脱脂効率はエクストレルート/Sep-Pak <sup>18</sup>C<sub>18</sub>法で73.8-98.4%、*n*-ヘキサン/アセトニトリル分配法で61.6-96.4%、酢酸エチル/シクロヘキサン混液を溶離液とする GPC 法で51.0-77.4%であった。また10種ピレスロイド系農薬0.2-0.4ppm 添加時の玄米での添加回収率はエクストレルート/Sep-Pak <sup>18</sup>C<sub>18</sub>法で61.5-96.3%、*n*-ヘキサン/アセトニトリル分配法で62.5-100%、GPC 法で72.2-130%であった。以上のことよりピレスロイド系農薬分析における脱脂方法としては脱脂効率及び簡便性の面からエクストレルート/Sep-Pak <sup>18</sup>C<sub>18</sub>法が最も適していると考えられた。

**Keywords:** gel permeation chromatography (GPC), *n*-hexane/ acetonitrile partition, solid phase extraction (SPE)

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田 正: **2種のカラムを用いたゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) における農薬及び油, クロロフィル, カロチンの溶出挙動について**

食品衛生学雑誌, 37, 329~336 (1996)

2種の GPC カラム即ち Optima™ GPC カラムと Envirosep™-ABC カラムを用い、97種農薬及び食品由来成分である脂質、クロロフィル、β-カロチンの GPC での溶出パターンを比較検討した。全農薬は Optima™ GPC カラムでは37.5-87.5ml (7.5-17.5分) の画分に、Envirosep™-ABC カラムでは65.0-140ml (13.0-28.0分) の画分に溶出した。最も溶出の早いのはフルバリネート、最も遅いのはキノメチオネートであった。上記の画分を分取すると仮定す

ると、Optima™ GPC カラムでは玄米脂質の65.1%、ほうれんそう中クロロフィルの40.5%、Envirosep™-ABC カラムでは玄米脂質の62.0%、大豆脂質の77.4%、ほうれんそう中クロロフィルの30.5%、にんじん中 β-カロチンの10.7%が除去可能であった。

**Keywords:** gel permeation chromatography (GPC), pesticides, lipids

Nakamura, Y., Tonogai, Y., Tsumura, Y., Shibata, T. and Uchiyama, M.: **Effect of dietary squalene on the fecal steroid excretion and the lipid levels of serum and the liver in the rat**

*Nutrition Research*, 17, 243~257 (1997)

スクアレンをラットに連続 (8.622-86.2mg/日) あるいは1回経口投与 (86.2mg/日) し、血清及び肝臓脂質、糞中ステロイド排泄に及ぼす影響を調べた。連続経口投与実験では、血清総コレステロール、HDL コレステロール、トリグリセライド及びスクアレン濃度、肝臓総コレステロール及びスクアレン含量はスクアレン投与により変化しなかった。スクアレン86.2mg/日連続投与時には、血清リン脂質濃度が減少し、糞中への中性ステロイド及び胆汁酸排泄量が増加した。一方、スクアレン1回投与実験では、血清スクアレン及び総コレステロール濃度は投与6時間後に、肝臓スクアレン及び総コレステロール濃度はそれぞれ投与4時間後及び8時間後に最大となった。投与したスクアレンは糞中に0~1日目で35.1%、1~2日目で6.8%、2~4日目で0.42%が未変化で排泄された。糞中への中性ステロイド排泄量は、コプロスタノール排泄量が投与後0~2日目に有意に減少した以外に顕著な変動はなかった。糞中への胆汁酸排泄量は1~2日目に有意に増加したが、コール酸/ケノデオキシコール酸比は変化しなかった。

**Keywords:** squalene, neutral steroids, bile acids

石光 進, 梅本美佳, 三島郁子, 辻 澄子, 柴田 正: **食用色素アルミニウムレーキ中のバリウム試験法への ICP 発光分析法の適用**

食品衛生学雑誌, 37, 325~328 (1996)

食用色素アルミニウム (Al) レーキ中のバリウム (Ba) 試験法への ICP 発光分析法の適用について検討した。市販の5種の色素 Al レーキについて種々の試料溶液調製法を用いて検討した結果、操作性の点から硝酸を用いる方法が最適であった。5種の色素 Al レーキ中の Ba 含量は Al レーキ 1g 中18.5~21.6μg であった。Ba は色素 Al レーキ中で不溶性の化合物として存在していたが、色素 Al レーキを硝酸で溶解させることにより、定量性のある結果が得られた。ICP 発光分析法は色素 Al レーキ中の Ba 含量を測定するための分析法として優れていることが示された。

**Keywords:** food color aluminum lakes, ICP atomic emission spectrometry, barium

辻 澄子, 柴田 正, 西島基弘<sup>\*1</sup>, 深澤喜延<sup>\*2</sup>, 黒田弘之<sup>\*3</sup>, 後藤宗彦<sup>\*4</sup>, 坂部美雄<sup>\*5</sup>, 三島靖子<sup>\*6</sup>, 大城善昇<sup>\*7</sup>, 佐藤 稔<sup>\*8</sup>, 中村和夫<sup>\*9</sup>, 森田 茂<sup>\*10</sup>, 衛藤修一<sup>\*11</sup>, 佐々木弥生<sup>\*12</sup>, 内山壽紀<sup>\*12</sup>, 城 照雄<sup>\*13</sup>, 伊藤誉志男<sup>\*14</sup>: **食品加工の際に添加された天然にも存在する化学的合成添加物の日本人の1人1日摂取量の推定**

食衛誌, 37, 308~318 (1996)

化学的合成添加物のうち食品成分としても存在する49種について、マーケットバスケット方式により市販加工食品原料中の含有量を測定した。アミノ酸及び有機酸等の各加



工食品原料群中の含有量は100 $\mu$ g/g以上を示すものがあり、バラツキも大きかった。加工食品中の含有量から原料中の含有量を差し引くことにより、食品加工の際に添加して加工食品中に残存している添加物量を推察し、1日摂取量を推定した。食品加工の際に添加された化学的合成添加物の日本人1人当たりの1日摂取量の総量は推定で約3gとなった。

**Keywords** : processed foods, chemically synthesized food additive, daily intake

- \*1 東京都立衛生研究所
- \*2 山梨県衛生公害研究所
- \*3 香川県衛生研究所
- \*4 島根県衛生公害研究所
- \*5 名古屋市衛生研究所
- \*6 仙台市衛生研究所
- \*7 沖縄県衛生環境研究所
- \*8 札幌市衛生研究所
- \*9 長野県衛生公害研究所
- \*10 大阪市立環境科学研究所
- \*11 北九州市環境科学研究所
- \*12 厚生省生活衛生局食品化学課
- \*13 日本食品添加物協会
- \*14 武庫川女子大学薬学部

辻 澄子, 石光 進, 柴田 正: 電気化学検出器を用いた逆相 HPLC による食用油中のトコトリエノールの分析

ビタミン, 71, 192 (1997)

ビタミン E 同族体であるトコトリエノール (Toc-3) は酸化防止剤としてのみ認められている天然添加物であり、 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  の4種類の Toc-3 同族体及び  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  の4種類のトコフェロール (Toc) 同族体を含む混合物である。これまで、逆相 HPLC 法では、Toc-3 及び Toc 同族体の  $\beta$  及び  $\gamma$  が分離しなかったが、今回、SPELCO-SIL™-ABZ-PLUS の逆相カラムにより、電気化学検出器付き逆相 HPLC 法で、各同族体の  $\beta$  及び  $\gamma$  が分離定量出来た。食用油からの抽出にはイソプロパノールを用い、エタノールで希釈・冷凍法により、油分を除去し、HPLC カラムの汚染を最少にすることが出来た。

**Keywords** : tocotrienol, reversed-phase HPLC, edible oils

Tsumura, Y., Nakamura, Y., Tonogai, Y. and Shibata, T.: Potential interference by free fatty acids in determination of tricyclazole in brown rice by gas chromatography with flame thermionic detection

*J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 79, 1471~1476 (1996)

玄米中トリシクラゾールの簡便な分析法を開発した。アルカリ熱イオン化分析における遊離脂肪酸による妨害について初めて報告した。玄米はアセトンで抽出し、ろ過後減圧濃縮した。残さに10% (w/v) 塩化ナトリウム溶液を加え、酢酸エチルで再抽出した。抽出液を Sep-Pak Plus Silica に負荷し、玄米由来の遊離脂肪酸をジエチルエーテルで溶出した後、トリシクラゾールを50% (v/v) アセトン/ $n$ -ヘキサン混液で溶出した。トリシクラゾールは FTD-GC で DB-1 カラムを用いて測定した。リノール酸とオレイン酸は FTD で検出されないが、トリシクラゾールとほぼ同じ保持時間を持ち、Sep-Pak Plus Silica によるクリーンアップをしない場合にはトリシクラゾールのクロマトグラム中のピーク高さが、混在するリノール酸の濃度に応じて減少した。本法による玄米中のトリシクラゾールの回収率は、90.5 $\pm$ 9.4% (2 ppm 添加, n=5) 及び81.3 $\pm$ 10.6%

(0.1ppm 添加, n=5) であった。定量限界は0.05ppm であった。

**Keywords** : free fatty acids, tricyclazole, flame thermionic detection

平原嘉親\*1, 宮田昌弘\*1, 鎌倉和政\*1, 渡辺芳則\*1, 武田寿\*2, 前田憲二\*2, 外海泰秀: 農作物中9種フェノキシ酢酸系除草剤分析のためのメチル化及びペンタフルオロベンジル化の比較

衛生化学, 43, 129~139 (1997)

農作物中の遊離酸型及びエステル型フェノキシ酸系9種除草剤の同時抽出並びに GC 又は GC/MS による一斉分析法を作成した。遊離酸型のエステル化法として PFB 化とメチル化について比較した結果、操作性においてはメチル化が、GC 及び GC/MS の感度においては PFB 化が優れていた。PFB 試薬によるエステル化条件を検討した結果、PFB 試液濃度は登録保留基準の分析法にある1%では本法の場合不十分で回収率が低く、5-10%が必要であった。エステル型は試料液をクリーンアップ後 ECD-GC と GC/MS (SIM) で測定し、遊離酸型はエステル化後クリーンアップせずに GC/MS (SIM) で測定した。4種農作物に各農薬を1.25ppm 添加したときの本法による回収率は、エステル型は50.8-76.9%, 遊離酸型は53.7-98.5%であった。

**Keywords** : phenoxy acid herbicide, GC, GC/MS

\*1 神戸検疫所輸入食品検査・検査センター

\*2 横浜検疫所輸入食品検査・検査センター

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: GC による農作物中トリアジン系除草剤の迅速分析法

食品衛生学雑誌, 37, 363~371 (1996)

農作物中の5種トリアジン系農薬及び3種メトリブジン代謝物の FTD-GC による一斉分析法を検討した。野菜・果実はメタノール抽出し、20%酢酸エチル含有  $n$ -ヘキサンに転溶後、Sep-pak シリカでクリーンアップする方法を作成した。穀類・豆類はアセトニトリル抽出し、 $n$ -ヘキサンで洗浄・脱脂した後、Sep-pak シリカでクリーンアップする方法を作成した。各農薬及び代謝物 2 $\mu$ g を試料に添加し本法による回収率を測定した結果、メトリブジン代謝物及びシアナジンを除く他の農薬では、野菜・果実で50.3-92.9%, 穀類・豆類で62.6-78.6%であった。

**Keywords** : pesticide, GC, Sep-pak silica

Yoshii, K.: Application of differential scanning calorimetry to the estimation of drug purity: Various problems and their solutions in purity analysis

*Chem. Pharm. Bull.*, 45, 338~343 (1997)

示差走査熱量測定による純度試験の問題点を明らかにし、更にその解決策を示した。適当な条件の下では、約2%までの不純物量を評価できることを明らかにした。

**Keywords** : DSC (differential scanning calorimetry), purity determination, pharmaceutical

宮田昌弘\*1, 平原嘉親\*1, 成田美加子\*1, 木村実加\*1, 渡辺芳則\*1, 伊藤澄夫\*2, 武田 寿\*2, 小林昭彦\*2, 外海泰秀, 中村優美子, 津村ゆかり, 柴田 正: 食品中残留農薬の多成分分析法における GC 及び GC/MS の比較検討

食品衛生学雑誌, 37, 158~164 (1996)

食品中残留農薬の多成分分析法における測定法として GC/GC/MS-EI 及びイオントラップ GC/MS-CI を比較し GC/MS の農薬一斉スクリーニング法への適用性について調べた。有機リン系農薬41種及び有機含窒素系農薬23種の添加

回収については、GCと両GC/MSはほぼ一致した値を示した。GC/MSではGCよりも妨害成分の影響を受けにくく、農薬の確認法としても有用なことから、GC/MSの農薬多成分分析法への適用性が認められた。

**Keywords:** pesticide, GC, GC/MS

\*1 神戸検疫所輸入食品検疫・検査センター

\*2 横浜検疫所輸入食品検疫・検査センター

Hirahara, Y., Tsumura, Y., Nakamura, Y., Tonogai, Y. and Shibata, T.: **Analysis of phenothrin and its metabolite 3-phenoxybenzoic acid (PBA) in agricultural products by GC and ion-trap GC/MS**

*J. Food Protect.*, 60, 1~5 (1997)

ペスト菌を媒介するネズミノミの駆除を目的に使用されるピレスロイド系殺虫剤フェノトリン及びその代謝物3-Phenoxybenzoic acid (PBA)のGC及びGC/MSによる定量法を検討した。PBAはヘキサフルオロイソプロピルアルコール及びジイソプロピルカルボジイミドで誘導体化した後ECD-GCで測定し、その検出下限値は0.01 $\mu$ g/mlであった。フェノトリンはECD-GC及びイソブタンガスで化学イオン化しイオントラップGC/MSで測定し、その検出下限値はいずれも0.1 $\mu$ g/mlであった。試料にフェノトリン及びPBAを0.5 $\mu$ g添加し、本報で作成した方法により測定した回収率は、前者で61.7-86.9%、後方で36.0-90.2%であった。本法により平成6年10月から12月に輸入された各農産物について実態調査を行った結果、すべての作物からフェノトリン及びPBAは検出されなかった。

**Keywords:** phenothrin, PBA, ECD-GC

\* 神戸検疫所輸入食品検疫・検査センター

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Developmental toxicity of mono-*n*-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer *n*-butyl benzyl phthalate, in rats**

*Toxicol. Lett.*, 86, 19~25 (1996)

可塑剤 butyl benzyl phthalate のラットにおける主要な代謝物の一つである mono-*n*-benzyl phthalate (MBeP) 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, 313, 375, 438又は500 mg/kgのMBeP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、妊娠20日にラットを帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べた。313 mg/kg以上の投与量における妊娠ラット体重増加の有意の抑制及び250 mg/kg以上の投与量における飼料摂取量の有意の低下がみられた。438 mg/kg以上の投与量で有意に高い着床後の胚-胎児死亡率及び375mg/kg以上の投与量で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313 mg/kg以上の投与量で有意に高く、頸及び胸椎弓の癒合、肋骨癒合及び腎盂拡張などの異常が多く観察された。

**Keywords:** monobenzyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Kurosaka, R., Harazono, A., Amano, H. and Ogawa, Y.: **Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-*n*-butyl phthalate in rats**

*Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 170-176 (1996)

ラットの妊娠7~9日, 10~12日又は13~15日(精子発見日=妊娠0日)に500, 625又は750 mg/kgのmono-*n*-butyl phthalate (MBuP)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。妊娠7~9日及び

10~12日の625 mg/kg以上の投与量, 妊娠13~15日の500 mg/kg以上の投与量で有意に高い胚死亡率が認められた。奇形胎児の発現頻度は妊娠10~12日の投与後には上昇しなかったが、妊娠7~9日の500 mg/kg以上の投与量及び妊娠13~15日の625 mg/kg以上の投与量で有意に上昇した。妊娠7~9日の投与後には頸椎弓の癒合又は欠損, 妊娠13~15日の投与後には口蓋裂及び胸骨分節癒合が多く観察された。MBuPの発生毒性は親物質の dibutyl phthalate (DBP)及び butyl benzyl phthalate (BBP)の発生毒性とよく類似していることから、DBP及びBBPの発生毒性はその代謝物のMBuPを介して発現することが示唆された。

**Keywords:** monobutyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Characterization of developmental toxicity of mono-*n*-benzyl phthalate in rats**

*Reprod. Toxicol.*, 10, 365~372 (1996)

ラットの妊娠7~9日, 10~12日又は13~15日(精子発見日=妊娠0日)に250, 375, 500又は625 mg/kgのmono-*n*-benzyl phthalate (MBeP)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。妊娠7~9日, 10~12日及び13~15日に500 mg/kg以上のMBePを投与したときに有意に高い胚死亡率が認められた。奇形胎児の発現頻度は妊娠10~12日の投与後には認められなかったが、妊娠7~9日及び妊娠13~15日の375 mg/kg以上の投与量で有意に上昇した。妊娠7~9日の投与後には頸、胸及び腰椎弓及び椎体の癒合又は欠損、肋骨の癒合又は欠損、腎盂拡張、妊娠13~15日の投与後には口蓋裂、胸骨分節癒合が多く観察された。MBePの発生毒性は親物質の butyl benzyl phthalate (BBP)の発生毒性とよく類似していることから、BBPの発生毒性はその代謝物のMBePを介して発現することが示唆された。

**Keywords:** monobenzyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Iwase\*, T., Iwase\*, Y., Ohyama\*, N. and Ogawa, Y.: **Change of embryotoxic susceptibility to di-*n*-butyltin dichloride in cultured rat embryos**

*Arch. Toxicol.*, 70, 742-748 (1996)

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8.5日, 9.5日及び11.5日のラット胚をそれぞれ68, 46及び48時間培養した。妊娠8.5日胚では培養の最初の24時間, 妊娠9.5日胚では46時間, 妊娠11.5日胚では培養の最後の46時間にDBTClを暴露した。8.5日胚においては10 ng/ml以上で胎盤径, 30 ng/mlで体節数及び形態指数の低下がみられた。9.5日胚においては100 ng/mlで卵黄嚢径及び頭腎長の低下, 50 ng/ml以上で体節数の低下, 30 ng/ml以上で形態指数の低下が観察された。11.5日胚においては300 ng/ml暴露群においてもこれらの指標に変化は認められなかった。形態異常は8.5日胚, 9.5日胚及び11.5日胚においてそれぞれ10 ng/ml以上, 50 ng/ml以上及び300 ng/mlの暴露濃度において観察された。8.5日胚及び9.5日胚では顔頭部の異常, 11.5日胚では前肢及び尾の異常が多く観察された。これらの結果から、DBTClの*in vitro*における着床後ラット胚に対する胚毒性は胚の発生段階によって変化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.

Emma, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Embryolethality following maternal exposure to dibutyl phthalate during early pregnancy in rats**

*Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58, 636~643 (1997)

ラットの妊娠0~11日(精子発見日=妊娠0日)に2.0%のdibutyl phthalate (DBP)を含む飼料を与え、妊娠20日にラットを帝王切開して胚-胎児に対する影響を調べたところ、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率には対照群及びPair-fed (PF) 群との間に差はみられなかったが、着床後胚死亡率は99%に上昇した。これらの結果について詳しく調べるために、2.0%のDBPを含む飼料を妊娠0日から妊娠7日、9日又は11日まで与え、これらの日にラットを開腹して胚に対する影響を検討した。妊娠11日における着床後胚死亡率は対照群及びPF群に比べて著しく高かった。DBP群における妊娠11日の子宮重量、妊娠9日及び11日の卵巣重量は対照群及びPF群に比べて低かった。また、DBP群における妊娠7日の卵巣重量及び妊娠11日の母体血中のプロゲステロンは対照群に比べて有意に低かった。これらの結果は、DBPと同様にラットに投与したとき代謝物としてmonobutyl phthalateが産生されるbutyl benzyl phthalate (BBP)の胚致死作用と類似しているが、母体血中のプロゲステロンの低下はBBPを投与したときの方が著しく、DBPとBBPの胚致死作用の発現機作が異なることが示唆された。

**Keywords**: dibutyl phthalate, developmental toxicity, embryoletality

Emma, M., Miyawaki, E., Harazono, A. and Ogawa, Y.: **Effects of triphenyltin chloride on implantation and pregnancy in rats**

*Reprod. Toxicol.*, 11, 201~206 (1997)

ラットの妊娠0~3日(精子発見日=妊娠0日)に3.1, 4.7又は6.3 mg/kgのtriphenyltin chloride (TPTCI)又は妊娠4~6日に6.3, 12.5又は25.0 mg/kgのTPTCI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。妊娠0~3日の4.7及び6.3 mg/kg投与群、妊娠4~6日の12.5及び25.0 mg/kg投与群において妊娠率が有意に低下した。妊娠の成立したラットにおいては、妊娠0~3日及び妊娠4~6日のいずれのTPTCI投与群の着床数、生存胎児数、着床前及び後の胚死亡率とも対照群の値と同様であった。これらの結果から、TPTCIをラットの妊娠初期に投与したときにみられる着床阻害作用は妊娠のより早い時期にTPTCIを投与したときにより強く発現することが明らかになった。

**Keywords**: triphenyltin chloride, embryoletality, antiimplantaion

Harazono, A., Emma, M. and Ogawa, Y.: **Pre-implantation embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats**

*Toxicol. Lett.*, 89, 185~190 (1996)

ラットの妊娠0~7日にtributyltin chloride (TBTCI)を0, 25, 37.5, 50  $\mu$ mol/kg/dayの用量で経口投与し、妊娠20日に開腹して胚-胎児に対する影響を調べた。交配後妊娠の成立しなかったラット数は、対照群の10例中0例に対し、25, 37.5, 50  $\mu$ mol/kg投与群ではそれぞれ11例中2例, 14例中10例, 13例中10例となり、TBTCIの用量の増加と共に妊娠率の減少がみられた。しかし、妊娠の成立した母

体においては黄体数、着床数及び生存胎児数に対照群とTBTCI投与群との間の差はみられなかった。また、TBTCI投与群における生存胎児の外表奇形の発現頻度の上昇はみられなかった。以上のことから、TBTCIは妊娠初期に投与したとき不妊効果を示すことが明らかになった。

**Keywords**: tributyltin chloride, pregnancy failure, pre-implantation loss

Amano, H., Kurosaka, R., Emma, M. and Ogawa, Y.: **Trypsin promotes C 6 gliomacell proliferation in serum-and growth factor-free medium**

*Neurosci. Res.*, 25, 203-208 (1996)

通常、血清添加培地で行うC6グリオーマ細胞の連続継代培養を無血清、成長因子無添加培地を用いて行った。播種時、一定細胞数に対して培地容量を段階的に増やすと、これに対応して細胞増殖率が低下し、初期細胞密度に相関した拡散性増殖因子の介在が示唆された。この相関関係は、細胞接着後早期(播種3時間後)に培地交換を行うことにより消失し、増殖率が著しく低下したので、培地中の因子は細胞自身が分泌するのではなく、トリプシン-EDTA処理時の細胞懸濁液の上清(SCS)に由来すると予測され、事実SCSはC6細胞の増殖率を濃度依存的に増大した。SCS中に存在する既知物質として低濃度のトリプシンの作用を検討したところ、SCSと同様の効果が認められた。SCS, トリプシンいずれの効果もダイズトリプシンインヒビターにより完全に抑制された。また、アフィニティ精製されたトリプシンもトリプシンインヒビター感受性の細胞増殖効果を示した。以上の結果より、C6細胞の無血清継代培養系において、継代時に培地中に移行する低濃度のトリプシンにより細胞の増殖が誘発され、この作用はトリプシンのプロテアーゼ活性に依存していることが明らかとなった。

**Keywords**: C 6 glioma cell, serum-free medium, trypsin

Murai, T., Nakagawa, Y. and Ogawa, Y.: **Potentiation of lethal endotoxin shock by streptococcal pyrogenic exotoxin in rabbits: Possible relevance of hyperre-activity of macrophages to endotoxin**

*FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 13, 269~272 (1996)

著者らは既に、A群溶血性レンサ球菌発熱性外毒素(SPE)で刺激したリンパ球の培養上清には、エンドトキシンの毒性発現に中心的役割を演じるマクロファージのエンドトキシン反応性を増強する作用があることを報告した。本研究では、SPE刺激リンパ球培養上清でウサギを前処置することにより、SPEで前処置した場合と同様に、エンドトキシンの致死毒性が増強されることを見出した。これらの事実から、SPEによるエンドトキシン致死毒性増強現象の発現要因は、SPEが誘導するリンフォカインによる、エンドトキシンに対するマクロファージの反応性の増強にあると考えられた。

**Keywords**: streptococcal pyrogenic exotoxin, endotoxin, macrophage

姉帯正樹\*, 兼俊明夫\*, 林 隆章\*, 青柳光敏\*, 飯田修, 畠山好雄: **北海道産木香の調製法と化学的品質評価**

*Natural Medicines*, 50, 284~288 (1996)

油気に富み内部の充実した木香を得るためには、ゆっくりと時間をかけて自然乾燥する必要があり、その間にイヌリンが酵素により分解して単糖類が増加し、高いエキス含量を示すようになる。

**Keywords**: Saussureae Radix, preparation, chemical evalu

## ation

\* 北海道立衛生研究所

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原とする北海道産黄耆の化学的品質  
評価

*Natural Medicines*, 50, 163~169 (1996)

栽培年数と成分含量の間には明瞭な傾向が認められな  
かった。イソフラボノイドは部位による差が明瞭でなく、ア  
ストラガロサイドは主根より細い側根の含量が高かった。

**Keywords:** *Astragalus mongholicus*, isoflavonoid, astraga-  
loside

\* 道立衛生研究所

Satou, T.\*, Mimaki, Y.\*, Kuroda, M.\*, Sashida, Y.\* and  
Hatakeyama, Y.: **A pyrroline glucoside ester and ster-  
oidal saponins from *Lilium martagon***

*Phytochemistry*, 41, 1225~1230 (1996)

マルタゴンリリーの新鮮球茎から新規物質のフェニール  
プロパノイドエステル1種, ステロイドサポニン2種が得  
られ, 構造決定された。マルタゴンリリーの二次代謝産物  
はタケシマユリに酷似しており, 二次代謝産物と交雑親和  
性の間には相関があるという好適例である。

**Keywords:** *Lilium martagon*, phenylpropanoid ester, steroi-  
dal saponins

\* 東京薬科大学

芝野真喜雄\*, 松本吉広\*, 草野源次郎\*, 柴田敏郎: 国  
内薬用植物園で植栽されるカンゾウ属植物の調査と優良  
品種選抜のための基礎研究 I, 地上部の HPLC パター  
ンと成分による比較

*Natural Medicines*, 50, 273~283 (1996)

優良品種育成のための基礎研究として, 国内各地43施設  
の薬草園で植栽されているカンゾウ属植物を材料にして,  
地上部の形態及び HPLC パターンによる成分の比較を行  
い, 5種類の *Glycyrrhiza* 属植物が判別できることを確認  
し, 17成分の同定を行った。また, *G. glabra* は成分的に4  
タイプ存在することも明らかにした。

**Keywords:** *Glycyrrhiza* spp., aerial part, HPLC

\* 大阪薬科大学

柴田敏郎, 酒井英二, 西孝三郎, 姉帯正樹\*: 異なる土  
壌で栽培したキバナオウギの生育及び配糖体含量につ  
いて

*Natural Medicines*, 50, 296~299 (1996)

生薬黄耆の基原植物 *Astragalus membranaceus* 根の生育  
・形状・品質に及ぼす土壌の種類の影響を検討し, 土壌の  
3相組成(気相, 液相, 固相)の違いは, 分枝根の発生に  
対する直接的な影響は少ないこと, また, 赤土や黒ボク土  
区などリン酸肥料の欠乏のため主根生育が劣った区にお  
いて, astragaloside 含量が高まる傾向を明らかにした。

**Keywords:** *Astragali Radix*, soil group, phosphoric acid

\* 北海道立衛生研究所

柴田敏郎, 酒井英二, 西孝三郎, 青柳光敏\*, 姉帯正樹\*:  
キバナオウギの生育及び配糖体含量に及ぼす栽培圃場の  
耕起条件の影響

*Natural Medicines*, 50, 349~353 (1996)

生薬黄耆の基原植物 *Astragalus membranaceus* 根の生育  
・形状・品質に及ぼす土壌硬度の影響を検討し, 土壌硬度  
が黄耆根の生育・形状に密接に関係すること, 貫入抵抗値

6~14kg/cm<sup>2</sup>以下の膨軟な土壌で栽培すれば, 分枝根の発  
生が抑制され, 主根が良く発達した形状の生薬生産が可能  
であることを明らかにした。

**Keywords:** *Astragali Radix*, tap root elongation, penetration  
resistance

\* 北海道立衛生研究所

Ahn, J. C.\*<sup>1</sup>, Hwang, B.\*<sup>1</sup>, Tada, H.\*<sup>2</sup>, Ishimaru, K.\*<sup>2</sup>, Sasaki, K.  
and Shimomura, K.: **Polyacetylenes in hairy roots of  
Korean balloon flower (*Platycodon grandiflorum*)**

*Phytochemistry*, 42, 69~72 (1996)

韓国産キキョウより毛状根を誘導し, クローン選抜と培  
地を選択することにより, 毛状根の生育及び polyacetylene  
類生産が飛躍的に改善された。既報の日本産のものより約  
5倍の polyacetylene 類含量であった。

**Keywords:** *Platycodon grandiflorum*, hairy root, poly-  
acetylene

\*<sup>1</sup> 韓国全南大学\*<sup>2</sup> 佐賀大学農学部

Tada, H.\*<sup>1</sup>, Murakami, Y.\*<sup>1</sup>, Omoto, T.\*<sup>2</sup>, Shimomura, K.  
and Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>: **Rosmarinic acid and related phe-  
nolics in hairy root cultures of *Ocimum basilicum***

*Phytochemistry*, 42, 431~434 (1996)

抗酸化物質生産を目的に, *Ocimum basilicum* (スイー  
トバジル) の毛状根クローンを各種培地にて培養した結  
果, MS 培地で, 約14%の rosmarinic acid (乾燥重量) の  
含量であった。caffeic acid の3及び4量体は, それぞれ  
1.7%, 0.17%の含量であった。

**Keywords:** *Ocimum basilicum*, hairy root, rosmarinic acid

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部\*<sup>2</sup> (株)三栄源エフ・エフ・アイ

Tanaka, N.\*, Yamada, Y.\*, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*:  
**Polyacetylene in tissue cultures of *Campanula glom-  
erata***

*Plant Tissue Culture letters*, 13, 215~217 (1996)

*Campanula glomerata* の種々の培養系を確立し, これま  
で我々が単離同定してきた polyacetylene の生産を調べ  
た。その結果, 日本産菌 *Agrobacterium rhizogenes* で誘導  
した毛状根が, glucose 配糖体である lobetyolin を最も大  
量に生産することを明らかにした。

**Keywords:** *Campanula glomerata*, tissue culture, polyacety-  
lene

\* 佐賀大学農学部

Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>, Yamanaka, M.\*<sup>1</sup>, Terahara, N.\*<sup>2</sup>, Shimomura,  
K., Okamoto, D.\*<sup>3</sup> and Yoshihira, K.\*<sup>4</sup>: **Biotransforma-  
tion of phenolics by hairy root cultures of five  
herbal plants**

*Jnp. J. Food Chem.*, 3, 38~42 (1996)

5種類のハーブ (*Lobelia sessilifolia*, *L. cardinalis*, *Campa-  
nula medium*, *Ocimum basilicum*, *Fragaria x ananassa*) の  
毛状根による5種のフェノール類の生物変換反応を行っ  
た。ほとんどは, 配糖化反応が主であったが, 位置選択的  
な水酸化が, 用いた毛状根及びフェノール類で認められ  
た。

**Keywords:** biotransformation, phenolics, hairy root

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部\*<sup>2</sup> 南九州大学園芸学部\*<sup>3</sup> タキイ種苗長沼試験農場

\*<sup>4</sup> 東亜大学大学院

Tanaka, N.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*: **In vitro shoot regeneration and polyacetylene production in callus cultures of *Lobelia erinus* L.**

*J. Plant Physiol.*, 149, 153~156 (1996)

南アフリカ原産の *Lobelia erinus* のカルス培養系を確立し、形態学的に異なる2種の再生 shoot を得た。キキョウ科の生産する polyacetylene 類を HPLC にて定量した結果、親植物よりカルス、細胞培養系は、2~4倍、再生 shoot も6~30倍の値であったが、正常形態を示す shoot の含量は、継代培養と共に、含量の低下が認められた。カルスから再生系が得られることより、トランスジェニック植物獲得の可能性を示唆した。

**Keywords**: *Lobelia erinus*, polyacetylene, shoot culture

\* 佐賀大学農学部

Tanaka, N.\*<sup>1</sup>, Yoshimatsu, K., Shimomura, K. and Ishimaru, K.\*: **Rutin and other polyphenols in *Fagopyrum esculentum* hairy roots**

*Natural Medicines*, 50, 269~272 (1996)

日本産菌 *Agrobacterium rhizogenes* の感染により誘導した毛状根が、Murashige-Skoog 培地で、最も良好な生育を示し、rutin が親植物の根の10倍の含量であることを明らかにした。また、rutin の他、5種類の polyphenol 類の含量を HPLC で分離定量した。

**Keywords**: *Fagopyrum esculentum*, hairy roots, rutin

\* 佐賀大学農学部

Aoki, T.\*<sup>1</sup>, Matsumoto, H.\*<sup>2</sup>, Asako, Y.\*<sup>3</sup>, Matsunaga, Y.\*<sup>4</sup> and Shimomura, K.: **Variation of alkaloid productivity among several clones of hairy roots and regenerated plants of *Atropa belladonna* transformed with *Agrobacterium rhizogenes* 15834**

*Plant Cell Reports*, 16, 282~286 (1997)

*Agrobacterium rhizogenes* 15834株の感染により確立した毛状根より5クローンを選抜し、トロパンアルカロイドの生産を検討した。また、これらクローンから再生した形態的に特徴を持つトランスジェニック植物体を水耕栽培し、試験管内培養個体とアルカロイド生産を比較した。

**Keywords**: *Atropa belladonna*, hairy root, tropane alkaloid

\*<sup>1</sup> 日本大学資源科学部

\*<sup>2</sup> (株)ツムラ分子生物学研究所

\*<sup>3</sup> 新日本製鐵海洋生物工学研究所

\*<sup>4</sup> (株)鐘紡生化学研究所

東 昭夫\*, 野口 衛, 細田勝子\*他: **キキョウの調製法の品質に及ぼす影響について**

*Natural Medicines*, 51, 56~62 (1997)

キキョウ根の Platycodin D (PD) 含量を HPLC を用いて測定した。皮剥きにより PD 含量は低下し、皮中の含量は皮剥き品に比べて3~10倍となった。また、皮及び皮剥き品の PD を合計しても皮付き品より著しく低い値を示した。皮付き品は、皮剥き品に比べ乾燥に著しく時間が必要となる。このことから、皮付きでは、乾燥時に他の物質から PD が生成する可能性が考えられる。また、白花のものは、青花のものに比べて PD 含量は高い値を示した。

**Keywords**: *Platycodon grandiflorum*, Platycodin D, HPLC

\* 生薬品質集談会

青柳伸男: **坐剤の放出試験**

医薬品研究, 28, 241~249 (1997)

放出試験は坐剤の開発、品質管理に重要な役割を果たすが、公的試験法は確立されていない。汎用されている3種の放出試験法(村西, 透析チューブ, 回転透析セル法)を取り上げ、データの再現性, *in vitro*/*in vivo* 相関性について検討を行った。そして、*in vitro* 放出速度、再現性に影響を及ぼす重要な要因は坐剤周囲の水分量であることを示すと共に、坐剤のバイオアベイラビリティは直腸温度の影響を受けること、薬物、基剤によってもたらされる直腸粘膜の損傷はバイオアベイラビリティに影響しないことを明らかとした。結論として現段階では、水分の少ない条件で行う回転透析セル法、改良透析チューブ法が有用な試験法であることを述べた。

**Keywords**: suppository, dissolution test, bioavailability

鹿庭なほ子: **第十三改正日本薬局方における分析法バリデーションをめぐって**

ぶんせき, 11, 919~921 (1996)

第十三改正日本薬局方の参考情報に「分析法バリデーション」が導入された。それに関連して、分析結果の偏りとばらつきに関連する最近の考え方及び用語を紹介し、また、用語の日本語訳を決定するときの経緯を紹介した。一方、近年検出限界について、第一種の過誤のみを考慮して決定する方法と、第一種及び第二種の過誤の両者を考慮して決定する方法をめぐって論争が行われているが、限度値以上の不純物を見逃してはならないという純度試験の目的から、JP では後者の立場を採っていることを明らかにした。

**Keywords**: trueness, precision, limit of detection

石橋無味雄: **医薬品に残留する有機溶媒のクラス分け及び限度値について**

食衛誌, 38, J-177~J-178 (1997)

日米欧医薬品規制ハーモナイゼーション会議 (ICH) の場において、医薬品中に残留する溶媒の悪影響から患者を保護するため、医薬品の製造に用いる溶媒の毒性データを収集評価して残留溶媒基準 (医薬品由来の残留溶媒許容一日摂取量; PDE) を定める作業が行われている。この内容について解説した。

**Keywords**: solvents in pharmaceutical products, pharmacopoeia, residual solvents

石橋無味雄: **分析に用いる溶媒の選択について—日本薬局方での考え方—**

食衛誌, 38, J-194~J-195 (1997)

日本薬局方 (JP) では、「人及び環境に有害な試薬を用いた試験法の廃止」が JP 改正に際しての基本方針の一つとされている。これを実行するために JP では「有害な試薬」を、どのように考え、どのように定義したかについて解説し、JP の模索する医薬品の開発、試験、検査などの場における使用試薬に関する今後の考え方について解説した。

**Keywords**: reagents in pharmacopoeia, harmful reagents, japanese pharmacopoeia

石橋無味雄: **試薬・試液の名称改正について**

薬局, 47, 55~64 (1996)

日本薬局方 (JP) における試薬及び試液の名称について IUPAC に基づく名称と JP における名称との相違点などの調査を行い、その研究結果に基づき JP における試薬命名法の原則を定め、この原則により JP の改正を行い試薬

の名称を試行的に改めた。この改正内容について、試薬名命名法の原則、改正点、新旧名称の比較などを基にして解説した。

**Keywords** : reagents in pharmacopoeia, japanese pharmacopoeia, general tests

中原雄二：髪の毛による薬物歴の診断—毛髪分析—  
武田薬報, 406, 14 (1996)

髪の毛による薬物歴の診断について、毛髪の発生や成長サイクルなどの基礎的内容から、薬物の毛髪中の挙動やその応用に至るまでを解説した。

**Keywords** : hair analysis, drug monitoring, drug disposition in hair

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  
バイオイメージング, 5, 23~25 (1996)

高速走査型共焦点レーザー顕微鏡の開発の経緯、及びそれを用いた細胞内カルシウムイオン濃度画像化の例を述べると共に、細胞内生化学現象の高分解能リアルタイム画像化の将来について記した。

**Keywords** : confocal microscopy, calcium, imaging

早川堯夫：ヒトとクスリの新たな関係—バイオ医薬品の品質確保について

薬局, 48, 105~112 (1997)

バイオ医薬品の品質確保をめぐる話題として、1) 医薬品の品質確保とは、2) バイオ医薬品の品質確保に関連する事項、3) バイオ医薬品の開発、承認、流通、臨床使用段階と品質確保のあり方、4) バイオ医薬品の製法、物性面での特徴、5) バイオ医薬品における構造・組成、諸性質の解析の重要性、6) 製造過程の検証とその恒常性維持の重要性、7) 規格及び試験法の位置づけと一般的な留意事項、8) 市場での流通段階、臨床現場での保存や使用段階での品質確保、9) バイオ医薬品の品質確保に関する国際調和などの項目を取り上げ詳細に述べた。

**Keywords** : biotechnology drugs, quality control

佐竹元吉：第一三改正日本薬局方の改正点 生薬・生薬製剤及び油脂関連の改正点

薬局, 47, 737~840 (1996)

主な改正点は新規収載生薬6品目で、いずれも薬局方外生薬規格集に記載され、その内、粉末4品目はもとの生薬が既に収載品目となっている。生薬製剤1品目のトコンシロップは第6改正以来の再収載である。生薬の各条は(1) 定量法の改正・統一及び成分含量測定法の新設、(2) 基原植物の追加または削除等、(3) 性状記載の統一と一部変更(成分含有量に関する記載の削除)、(4) 確認試験の変更と有害試薬の削除、(5) 乾燥減量の新設と乾燥時間の規定、(6) 純度試験の削除、(7) 別名の漢字の変更である。

**Keywords** : herbal medicines, crude drug, Japanese pharmacopoeia

佐竹元吉：第一三改正日本薬局方の改正について 医薬品各条(生薬)

医薬品研究, 27, 522~526 (1996)

新規収載の7品目(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)及び既収載品目の一部の改正である。生薬の各条は定量法の改正・統一及び成分含量測定法の新設、基原植物の追加または削除等、確認試験の変更である。油脂関

連の各条は性状の有害試薬の削除、確認試験及びヨウ素価の有害試薬の変更である。

**Keywords** : herbal medicines, crude drug, Japanese pharmacopoeia

佐竹元吉：薬用資源植物の導入と作用の解明

ファルマシア, 32, 641~643 (1996)

国立衛生試験所生薬部の研究内容を紹介した。

1) 南米アマゾン産の避妊用の薬用植物、Piri-Piriには花芽は真菌が感染して、球状に萎縮する。この菌から麦角アルカロイド及び低分子のアルカロイドが発見された。C. araticularisの根茎からは新規のグアイアン型セスキテルペンが見出された。Piri-Piriの類似生薬の三稜から5種のフェニルプロパノイドの配糖体を発見した。2) 抗HIVウイルスアッセイ等の活性化合物の探索からマメ科植物に強い活性が認められた。3) 紫根の光学異性体成分の肉芽組織形成促進作用を明らかにした。4) エンドセリンの新しい心臓調節作用を明らかにした。

**Keywords** : herbal medicines, crude drug, Cyperus

佐竹元吉：Medicinal plants in the world

Farming Japan, 30, 10~13 (1996)

世界の薬用植物の数は膨大なものであり、世界の植物の約1割、3万種がそれと推測されている。これらを体系化された医療で用いる薬物と体系化された医療の無い地域で用いられる植物の二つのグループに分けて特徴を述べた。体系化された医療と古代文明の関係から、現在各地で用いられている薬用植物の歴史的な面も明らかにした。今後の医薬品開発の資源としての重要性についても述べた。

**Keywords** : medicinal plant, crude drug, traditional medicines

佐竹元吉：Medicinal plants in the Amazon and Andes regions

Farming Japan, 30, 29~35 (1996)

世界の植物は約27万種で、その16%がアマゾン・アンデスに分布している。この中の薬用植物数についての正確な記載はないが、約8,000種あっても不思議ではない。この広いアマゾン地域で利用されている薬用植物をペルーアンデスからアマゾン川河口ペレンに至るまでの各地域の薬用植物について述べてみる。代表的植物はRatania (*Krameria triandra*)、Pinco-pinco (Ephedra 属)、Erythroxylon coca、キナノキ (*Chincona officinalis*)、ピリピリ (*Cyperus spp.*)、Banisteriopsis caapi、ガラナ (*Paullinia cupana*)、トコン (*Cephaelis ipecacuanha*) 等である。

**Keywords** : medicinal plant, Amazone, Andes

佐竹元吉：人の営みに欠かせない薬用植物(アマゾン川流域の薬草を中心に)

海外農業開発: 9, 13~21 (1996)

海外の農業開発に携わる人へ、薬用植物資源の重要性とその保護・保存・開発の調和の重要性を、世界の薬用植物のルーツ、化学医薬品と薬用植物、アマゾン・アンデスの薬用植物を例にして述べた。

**Keywords** : medicinal plant, Amazone, conservation

Kawahara, N.: Medicinal plants and crude drugs in Japan and guidelines for cultivation and quality evaluation of medicinal plants

Farming Japan, 30, 14~18 (1996)

日本における生薬・漢方製剤の消費状況と薬用植物の生

産状況について年次推移を示しながら解説した。さらに厚生省薬務局研究開発振興課が監修する“薬用植物栽培・品質評価指針”に関してその経緯、目的及び現状を述べると共に、本指針に記載されている3種の薬用植物を例に挙げ、生産・消費状況ならびに栽培法について解説した。

**Keywords** : medicinal plants, crude drugs, guidelines for cultivation and quality evaluation of medicinal plants

中村晃忠：医療用具に用いるプラスチックの生物学的安全性評価について

塩ビ食品衛生協議会会報, 116, 1~9 (1996)

プラスチックを医療用具材料として用いる場合の生物学的安全性評価の考え方を解説した。すなわち、ISOや厚生省のガイドライン、添加剤などの低分子量物質によるリスク、全身毒性作用と局所作用のどちらを重視するか、中・高分子量物質によるリスク、リスク分析の実例、細胞毒性試験および感作性試験の予見性、などについてである。

**Keywords** : biological safety evaluation, medical plastics, ISO and MHW guidelines

鹿庭正昭：特集「生活の中の化学物質」、化学物質とのつきあい方—化学物質の使用実態と健康被害の関連性—厚生, 12~13 (1997)

日常生活の中で係わる化学物質によってどのような健康被害を受けるかを考えるとき、どのような経路で曝露されるか、どのような症状を呈するかを明らかにすることが重要である。更に、健康被害の原因化学物質を究明していくうえで、原因化学物質の毒性だけでなく、使用実態に沿った曝露の量と頻度(用途, 含有量, 使用頻度)を把握することもまた重要である。そうした製品及び化学物質に関する情報をもとに、実際に発生した健康被害事例について原因究明を進め、製品の安全確保、事故発生の未然防止に資することが重要である。

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

新谷英晴：ISO/TC198東京会議並びにオランダ、デルフト会議報告

医科器械, 66, 341~343 (1996)

1995年10月東京、並びに1996年2月オランダ、デルフトで開催されたISO/TC198, WG4, 生物指標、会議の報告を記載した。日本から提案した議案の多数は承諾された。

**Keywords** : biological indicator, ISO/TC198, WG 4

新谷英晴：第6回AAMI/FDA会議報告

医科器械, 66, 450 (1996)

1996年3月26日~27日米国ワシントンで開催された第6回AAMI/FDA会議での議事の内容を報告した。ISO/TC198のドキュメントは米国ではほぼそのまま国内規格にされようとしている。

**Keywords** : AAMI, FDA, ISO

新谷英晴：滅菌保証ならびに滅菌バリデーション

ファーマテックジャパン, 12, 1209~1221 (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：生物指標あるいはバイオバーデン菌を用いる滅菌保証並びに滅菌バリデーション

防菌防黴, 24, 669~674 (1996)

生物指標あるいはバイオバーデン菌を用いて滅菌保証並びにバリデーションする方法をISO/TC198ドキュメントを基に解説した。

**Keywords** : biological indicator, bioburden, sterilization validation

新谷英晴：生物指標あるいはバイオバーデン菌を用いる滅菌保証

防菌防黴, 24, 770 (1996)

生物指標あるいはバイオバーデン菌を用いて滅菌保証する方法をISOドキュメントを基に解説した。

**Keywords** : biological indicator, bioburden, sterilization validation

安藤正典, 眞柄泰基\*：ヒ素の健康影響と西ベンガル州における地下水汚染

資源環境対策, 33, 113~122 (1997)

インド国西ベンガル州では近年地下水のヒ素汚染を招き、大きな問題となっている。この州では、ヒ素汚染面積8,300km<sup>2</sup>、汚染地域人口三千万人、汚染水飲用人口100万人、ヒ素中毒の発症者数二十万人に及ぶ世界で未曾有のヒ素中毒の深刻な事態に至っている。ヒ素による健康影響は古くから知られているが、その健康影響メカニズムはほとんど明らかにされていない。このためインド西ベンガル州におけるヒ素中毒の実状を明らかにした。また、動物や培養細胞を用いたヒ素の毒性の発現機構についての最近の知見を紹介した。

**Keywords** : arsen, carcinogenesis, west Bengal in India

\*国立公衆衛生院

松村年郎：化学物質による室内汚染について、—VOCとホルムアルデヒドについて—

大気環境学会誌, 31, A154~A164 (1996)

近年、sick building syndromeやsick house syndrome等に関連して、化学物質、特に、VOCとHCHOによる室内空気汚染が世界的に注目されている。本論文においてはVOCとHCHOについて、その発生源、建材等からの放散量、室内汚染の実態と挙動、ヒトに対する健康影響、ガイドライン等について内外の文献を参考に解説を行った。

**Keywords** : indoor air pollution, VOC, HCHO

豊田正武, 穂山 浩：アフラトキシンの分析法の改良

マイコトキシン, 43, 33~35 (1996)

我が国及び米国等における食品中アフラトキシンの分析法を比較し、有害有機溶剤を使用しない分析法を紹介した。

**Keywords** : aflatoxins

豊田正武：バイオテクノロジー応用食品の現状と安全性評価：主に組換え作物について

食衛誌, 37, 247~259 (1996)

既に食品としても販売されているバイオ食品、海外で開発されている組換え作物の現状、近年の諸外国及び国際機関における組換え作物の安全性評価、我が国における組換え作物の安全性評価等について解説した。

**Keywords** : genetically modified foods, biotechnology, substantial equivalence

豊田正武：食品中における農薬の実態調査と一日摂取量について

食品衛生研究, 47, 67~77 (1997)

平成8年度食品化学講習会で講演した内容、即ち食品化学課及び食品保健課で実施している残留農薬の実態調査結果、並びに残留農薬摂取量調査結果について概要を示した。

**Keywords:** pesticide residues, monitoring, daily intake

佐々木久美子, 松田りえ子: 英国農水産食糧省の「残留農薬分析のための品質管理一第2版」の紹介(翻訳) 食衛誌, 38, J-18~J-27 (1997)

我が国で残留農薬分析の品質管理を確立する際の参考とするために、英国農水産食糧省が1996年に作成した残留農薬分析の品質管理ガイドラインを翻訳して紹介した。

**Keywords:** pesticide residues analysis, quality control

佐々木久美子, 豊田正武(残留農薬迅速分析法開発検討委員会): 残留農薬迅速分析法の解説(その1) 食品衛生研究, 47, 27~41 (1997)

平成9年4月に厚生省生活衛生局が通知した残留農薬迅速分析法について、分析法作成にあたった開発検討委員会の検討内容を紹介すると共に、分析法及びその留意点を解説した。

**Keywords:** multiresidue pesticide analysis, gel permeation chromatography, solid phase extraction

山田 隆: 食品中の食品添加物分析法

ぶんせき, 1997, 296~301 (1997)

「進歩総説」という項に、1993年1月から1996年前半までの論文の内から、主として保存料、漂白剤、酸化防止剤、甘味料、着色料についての文献を簡単に紹介し、既存の方法との比較などについて記載した。

漂白剤としては、主として二酸化イオウに関する文献を取り上げ、着色料については、天然着色料についても触れている。上記の他、臭素酸カリウムや硝酸塩の分析法についても延べている。はじめに、前回この総説が書かれた時から現在までの食品添加物を巡る動きについて簡単に述べた。最後には、ある添加物の分析法が研究されるのは、新たな手法を試みる場合の他は、新たに添加物の使用が許可されたり、毒性が明らかになった場合などであるので、前回から今までに、このような問題があったものに研究が集中することを述べた。

**Keywords:** food additives, analysis

米谷民雄: 衛生化学に係る検査機関の精度管理

ファルマシア, 32, 1518~1521 (1996)

食品衛生法等の改正により、食品衛生法に基づく指定検査機関や地方衛生研究所では、GLPの導入が必要となった。そのGLPの内容については、たとえば指定検査機関に対しては、厚生省は「指定検査機関における製品検査の業務管理要領」を通知して示している。基本的には、①内部点検、②内部精度管理、③外部精度管理により、検査の信頼性を確保することになる。このうち、外部精度管理については、「国その他の適当と認められる者が行う精度管理に関する調査」と規定され、それを定期的に受けることが記されているが、現在のところ、厚生省は直接には食品検査機関を対象にした全国規模での精度管理調査を実施していない。そこで、環境庁が昭和50年から実施している環境測定分析統一精度管理調査について、1)実施体制と規模(参加申込機関は、地方公害研究所等の公的機関約100、薬剤師会や指定検査機関を含む民間機関約500)、2)分析対象試料(最近では重金属分析用と有機塩素化合物分析用の2つが用いられている)及び結果の解析、3)結果説明会(公

的機関には、全国公害研協議会の5つのブロック会議で、民間機関には東京と大阪での結果説明会で、結果説明と質疑応答が行われる)と研修、の項目につき解説。

**Keywords:** GLP, quality control, quality assurance system

中西 守\*, 手島玲子: 細胞の機能を見る

蛋白質核酸酵素, 42, 1047~1052 (1997)

共焦点レーザー顕微鏡を中心とした顕微光学技術の進展並びに適切な蛍光プローブの開発に伴い、細胞機能の可視化が可能になってきた。この総説では、レセプター動態、情報伝達、細胞内小器官、遺伝情報の発現、免疫・神経系の細胞の5項目に焦点をあて、蛍光プローブの活用により細胞機能の可視化解析がどのようにして可能になっているかについて解説した。

**Keywords:** signal transduction, Ca<sup>2+</sup> signal, exocytosis

\* 名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 中西 守\*: 機能性分子プローブ

蛋白質核酸酵素, 42, 1134~1140 (1997)

この総説では、蛋白質の構造変化、酵素の活性化、細胞内情報伝達、蛋白質・DNA相互作用などにおいて利用できる機能性分子プローブを概観し、細胞内のセカンドメッセンジャーの動態や蛋白質リン酸化反応、遺伝情報の発現などの可視化解析における現状、並びにどのような展開が今後期待できるかを考察した。

**Keywords:** second messenger, protein phosphorylation, gene expression

\* 名古屋市立大学薬学部

鈴木和博: 白血球の活性化におけるコフィリン(アクチン・PIP<sub>2</sub>結合タンパク質)の脱リン酸化と細胞膜への移行

生化学, 69, 254~259 (1997)

標記に関する最近の研究成果を紹介、解説した。

**Keywords:** cofilin, dephosphorylation, translocation

高鳥浩介, 朴 鍾喆, 太田利子\*: 食品製造環境と有害カビ

クリーンテクノロジー, 6, 48~52 (1996)

ミネラルウォーターのカビによる事故を教訓として食品製造環境のカビについて衛生管理の観点からまとめた。特に食品製造工程での有害カビの汚染は、マイコトキシン並びに環境被害と重要な関連があり、有害カビをコントロールする基本的対策の具体例を挙げ解説した。

**Keywords:** harmful moulds, foods, food manufacturing process

\* 相模女子大学

三瀬勝利: 病原性大腸菌 O-157の災禍

日本薬剤師会雑誌, 48, 11~15 (1996)

平成8年に日本で大流行を起こした病原性大腸菌 O-157の性状、感染症の特徴、予防と治療、多発した原因などについて解説した。

**Keywords:** enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O-157, food-poisoning, HUS

三瀬勝利: 日本薬局方第十三改正の概要: 一般試験法(生物学的試験法)について

月刊薬事, 38, 49~51 (1996)

第十三改正日本薬局方・生物試験法全体の解説と第十四改正に向けての活動を紹介した。



**Keywords :** Microbial tests, Japanese pharmacopoeia

三瀬勝利, 佐々木次雄\* : 局方微生物試験法の国際調和に関する会議報告

医薬品研究, 27, 319~321 (1996)

1996年2月5~6日, バルセロナにおいて, 欧州薬局方委員会の主催で行われた日米欧薬局方の無菌試験法及び保存効力試験法に関する国際調和会議の内容を紹介した。

**Keywords :** Sterility tests, Efficacy of antimicrobial preservation, PDG

\* 国立予防衛生研究所 (現国立感染症研究所)

三瀬勝利 : 一般試験法 (生物学的試験法) について

医薬品研究, 27, 504~512 (1996)

第十三改正日本薬局方・微生物試験法について一般的な解説を行った。また, 微生物試験法の手技について寄せられた質問に回答した。

**Keywords :** Microbial limit tests, Japanese pharmacopoeia

Mise, K.: **International harmonization of Sterility tests and Efficacy of antimicrobial preservation: Efficacy of antimicrobial preservation: Viewpoint of the Japanese pharmacopoeia**

*Pharmaceuticals, Special issue*, 79~82 (1996)

国際調和の中にあつて, 保存効力試験法に限定して日本薬局方の立場を, 米国薬局方や欧州連合薬局方との差異を示しながら解説した。

**Keywords :** Sterility tests, Efficacy of antimicrobial preservation, international harmonization on pharmacopoeia

Mise, K., Halperin, J.\*1, and Schnaedelbach, D.\*2.: **International harmonization of Sterility tests and Efficacy of antimicrobial preservation: Conclusion remarks.**

*Pharmaceuticals, Special Issue*, 100~102 (1996)

薬局方・微生物試験法の国際調和の重要性を日本, 米国, 及び欧州連合薬局方の立場から論じ, 早急に無菌試験法及び保存効力試験法の調和を図る努力をすることが確認された。

**Keywords :** International harmonization on microbial tests, Sterility tests, Efficacy of antimicrobial preservation

\*1 米国薬局方委員会

\*2 欧州連合薬局方委員会

三瀬勝利 : 第十三改正日本薬局方の生物学的試験法について

*Medical corner.*, 100, 13~15 (1997)

薬局方微生物試験法のうち, 近年新設されたエンドトキシン試験法, 保存効力試験法及び微生物限度試験法について, 臨床医のための解説を加えた。

**Keywords :** Endotoxin test, Efficacy of microbial preservation, Microbial limit tests

三瀬勝利, 芦田勝朗\*1, 山本茂貴\*2, 寺門誠致\*3, 田中健治\*4, 高島浩介, 熊谷進\*5, 中村優子\*6 : **UJNR 有毒微生物専門部会第30回日米合同部会**

食品衛生研究, 46, 15~43 (1996)

天然資源開発利用に関する日米会議 (UJNR) 有毒微生物専門部会が平成7年11月に東京, 横浜, 及び仙台で行われた。その概要について報告した。

**Keywords :** UJNR, toxic microorganisms, food poisoning

\*1 水産庁中央水産研究所

\*2 国立公衆衛生院

\*3 農林水産省家畜衛生試験場

\*4 農林水産省食品総合研究所

\*5 国立予防衛生研究所 (現国立感染症研究所)

\*6 厚生省生活衛生局乳肉衛生課

三瀬勝利, 熊谷進\*1, 山本茂貴\*2, 寺門誠致\*3 : **UJNR 有毒微生物専門部会第31回日米合同部会**

食品衛生研究, 47, 9~28 (1997)

UJNR 有毒微生物専門部会はタンパク質部会と合同で, 1997年7月にアラスカ州アンカレッジ市で合同会議を持った。その概要について報告した。

**Keywords :** UJNR, toxic microorganisms, *Escherichia coli* O157

\*1 国立予防衛生研究所 (現国立感染症研究所)

\*2 国立公衆衛生院

\*3 農林水産省家畜衛生試験場

小沼博隆 : **食中毒菌の迅速検出法—腸管出血性大腸菌 O157の簡易・迅速性を中心に**

モダンメディア, 43, 42~53 (1997)

腸管出血性大腸菌 O157の検査法, 特に簡易・迅速検出法を中心に紹介し, 解説した。主な項目は, ①腸管出血性大腸菌 O157の厚生省通知による検査法 (基本法, 酵素免疫法, ビーズ法) ②増菌培地, ③分離培地, ④鑑別培地, ⑤寒天培地に発育した集落を釣菌して大腸菌 O157を検出する簡易・迅速キット, ⑥EIA法を用いた腸菌 O157を検出する簡易・迅速キット及び⑦免疫磁気ビーズ法などである。

**Keywords :** *Escherichia coli* O157, rapid method, EIA,

小沼博隆 : **HACCP 方式による飲料の衛生管理**

食品と科学, 39, 102~115 (1997)

HACCP 方式による衛生管理の概要とミネラルウォーターを中心とした衛生管理の実体を解説した。主な項目は, ①ミネラルウォーターの現状, ②HACCP システムの特徴, ③各国における HACCP の導入状況, ④わが国の HACCP に関する現状と対応, ④HACCP システム適用のための12の手順, ⑤ミネラルウォーター製造施設の実態調査と考察などである。

**Keywords :** HACCP system, mineral water, hazard analysis,

関沢 純 : **リスク評価を万人に生かすことを目指して—リスク評価の国際的推進への IPCS の活動**

*J. Toxicol. Sci.*, 22, App. 35~43 (1997)

筆者が国際協力を担当している IPCS のリスク評価活動の概要, とりわけ環境保健クライテリアシリーズ中の評価法に関するモノグラフについて解説した。更にアジェンダ21決議により始められた新しい計画として各国の安全性評価の成果を国際的に活用する国際簡潔評価文書 (CICAD) について詳細に解説した。IPCS の活動が, 標準法確立というより, 科学の進歩と各国の自主性を尊重しつつ, 相互理解と協調を推進するところにあると特徴づけた。

**Keywords :** IPCS, risk assessment, methodology development

関沢 純 : **リスクコミュニケーション—家庭用品の安全性**

日本病院薬剤師会雑誌, 32, 1335~1337 (1996)

日本短波放送の「病院薬剤師の時間」に放送した内容に

加筆し、薬剤師向けにリスクコミュニケーションとは何かを概説した。更に家庭用品の安全のためのリスクコミュニケーションのあり方について、筆者の行った市民、女子大生を対象としたアンケート調査研究の成果をあげて具体的に解説した。

**Keywords:** risk communication, household products

田中 悟, 黒川雄二: **Topics on regulatory toxicology (3) ICH 三極調整・医薬品生殖毒性試験法ガイドラインについて**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, Appendix197~204 (1996)

ICHにおけるS5A, S5Bとしての生殖毒性試験法について、その設定経過、内容について概説を述べた。

**Keywords:** regulatory toxicology, reproductive toxicity, ICH

井上 達, 小野 敦, 平林容子: **シンポジウムII-1 老化機構と造血幹細胞の老化**

日本網内系学会誌, 36, 217~225 (1996)

老化機構に関する最近の知見と、造血幹細胞並びに造血微小環境における老化の具体的所見について概括した。

**Keywords:** telomere, apoptosis, Gompeltz

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)

病理検査室での特殊感染症への取り組みの基本方針について概説した。

**Keywords:** autopsy, HIV infection, biohazard

\* 横浜市立大学医学部

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)

病理解剖室での特殊感染症症例剖検への対応を、前任地横浜市大での解剖台を含む解剖室の改修の経験を交えて、概説した。

**Keywords:** autopsy, HIV infection, biohazard

\* 横浜市立大学医学部

Inoue, K., Koizumi, S. and Ueno, S.: **Implication of ATP receptors in brain functions**

*Progress in Neurobiology*, 50, 483~492 (1996)

脳内ATP受容体と脳機能並びに臨床とのかかわりについて述べた。特に、記憶・学習、分裂病、痛み、自律神経系の上位中枢制御などについてATP受容体サブクラスとの関係について現在までの報告を集めて紹介した。

**Keywords:** ATP, receptor, brain

桂木 猛\*, 井上和秀: **ATP受容体と細胞内シグナリング**

日薬理誌, 108, 166~168 (1996)

生体内のATP受容体と細胞内シグナリングについて述べた。ATP受容体にはイオンチャンネル型受容体とG-蛋白結合型受容体があり、脳、脊髄、自律神経系、末梢臓器などほとんどの部位にさまざまなサブクラスが発現していて、多様な生理機能を司っている。国内の研究者の仕事を紹介しながら、その生理的意義についても触れた。

**Keywords:** ATP, receptor, signalling

\* 福岡大学医学部

井上和秀: **ATP受容体**

蛋白質・核酸・酵素, 別冊「脳における情報伝達」, 42, 308~315 (1997)

神経機能素子と素過程という面から見た脳における情報伝達の中で、ATP受容体の神経機能素子としての働きを紹介した。ATP受容体がイオンチャンネル型(P2Xn)とG蛋白結合型(P2Yn)の2つに大別され、P2Xnは膜2回貫通型で、非選択性的カチオンチャンネルを形成し、早いシナプス伝達を担う。P2YnはG-蛋白結合膜7回貫通型ファミリーに属し、PLCβ活性化、細胞内Ca濃度上昇を引き起こし、シナプス伝達を長期的に変調させる。

**Keywords:** ATP, receptor, transmission

Sugiyama, Y.\*1, Ito, K.\*1, Tsuda, M. and Horii, I.\*2: **Future prospects for toxicokinetics: Its ability to predict drug adverse events in humans**

*J. Toxicol. Sciences*, 21, 511~516 (1996)

毒性試験を実施する上で、Toxicokinetics(TK)は必要不可欠なものとの認識が高まっている。ICHにおいて医薬品の「毒性試験における全身の暴露の評価に関するガイダンス」が示され、柔軟で段階的な取り組みとcase by caseな対応がTKを実施する上でとりわけ重要なことが強調されている。TK試験の最終目的が医薬品のヒトにおける副作用の回避にあるとの考えに基づいて、ヒト副作用発現の予測に有効なTK試験のデザインの在り方とTKパラメータの収集及び解析法、更にデータバンク構築の必要性について論じた。

**Keywords:** toxicokinetics, animal scale-up, extrapolate

\*1 東京大学薬学部

\*2 日本ロッシュ研究所

Tsuda, M. and Horii, I.\*: **Toxicokinetics, introductory remarks**

*J. Toxicol. Sciences*, 21, 495~496 (1996)

ICHの医薬品の毒性試験に組み込まれて実施されることになったトキシコキネティクス「毒性試験における全身の暴露の評価に関するガイダンス」の基調原則を概説し、ワークショップのポイントを紹介した。

**Keywords:** ICH, toxicokinetics, systemic exposure

\* 日本ロッシュ研究所

大野泰雄: **トキシコキネティクスとGLP, 一その意義と問題点**

トキシコキネティクス特別講演会講演集, 日本QA研究会編集, 33~48 (1996)

トキシコキネティクス試験結果は毒性評価に必須なものであることからGLPが適用される。本稿ではトキシコキネティクス試験におけるGLP適用の範囲について解説した。

**Keywords:** GLP, toxicokinetics

大野泰雄: **ICH トキシコキネティクスガイダンスについて**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 161~167 (1996)

化学物質等の毒性発現には大きな種差、系統差があり、動物実験で得られた結果をそのまま、ヒトに外挿することには問題がある。それらの差の原因としては薬物動態学的な差と薬力学的な差に大別される。トキシコキネティクスの導入は前者による差を克服するために、毒性試験において被験物質の血中濃度を測定し、現れた種々毒性徴候と厳密に比較するものである。本稿ではこれらのトキシコキネティクスを導入することとなった背景、意義、具体的な試

験方法について解説した。

**Keywords** : toxicokinetics, ICH, guidance

Ohno, Y. and Shindo, H.\*: **Repeated dose tissue distribution studies**

*J. Toxicol. Sci.*, 21, 517~518 (1966)

ICHで合意された反復投与組織分布試験の必要な状況及びその背景について簡単に解説した。

**Keywords** : tissue distribution, ICH, repeated-dose administration

\* 三共研究所

大野泰雄: **細胞毒性試験法のバリデーション, 特集よせて**

細胞培養, 22, 205~206 (1996)

毒性試験代替法の開発が検討されているが, それらが現在の試験法と比較し, 同等以上のものでなくては, 受け入れることはできない。それを保証するためには, バリデーションを行う必要がある。本稿では代替試験法開発の目的と意義及び代替法を受け入れるための基準について述べた。

**Keywords** : cytotoxicity, alternative study, validation

大野泰雄: **眼刺激性試験代替法のバリデーション**

細胞培養, 22, 211~217 (1996)

ウサギの眼を用いた局所刺激性試験と *in vitro* の代替法とを得られる情報及び作用機序の両面で比較した。また, 通常の評価に用いられるドレイズスコアとの対比では代替法がかなり良い対応を示すことを, 衛試と化粧品工業連合会, その他との協力により行われたバリデーション結果を引用し, 説明した。また, 種々眼刺激性試験代替法の特徴を整理した。

**Keywords** : eye irritation, alternative study, validation

Hayashi, M.: **Evaluation by the micronucleus assay (in Japanese)**

水環境学会誌, 19, 775~779 (1996)

水質汚染のモニタリングは化学分析が主流を占めているが, 近年, 海, 河川より採取, 濃縮した汚染物質の変異原性が微生物を用いて検討されるようになってきた。しかし, その他の遺伝毒性の指標に関してはあまり検討されておらず, 特にその場に生息する生物を用いて直接試験する *in situ* 評価系は開発されていない。ここでは環境庁の国立機関公害防止等試験研究費による共同研究の成果を中心に現状を紹介した。水質汚染は多くの化学物質が複合的に作用するもので, 水生生物を用いて試験することにより総合的に評価することが可能となる。生物の遺伝物質に傷が付くか否かは, がん原性, 後世代への遺伝的影響を考えると, 水質汚染の指標として重要な位置を占めるものと考えられる。遺伝毒性の指標としては染色体異常, 遺伝子突然変異, 及びDNA損傷性が主なものである。ここでは主に染色体異常, 特に染色体異常に由来する小核を観察する方法を中心に紹介した。

**Keywords** : micronucleus assay, water pollution, combination effect

祖父尼俊雄: **放射線誘発染色体異常及び突然変異の解析の高精度化: 染色体ペインティング法と遺伝子導入系の利用**

原子力工業, 42, 9~13 (1996)

原子力基盤クロスオーバー研究の現状と今後の展開とい

う企画に同研究の担当分を紹介したものである。終了した, 第1期分「放射線による染色体異常の高速自動解析システムに関する研究」についてはリンパ球の分裂中期細胞集積法の検討及び染色体ペインティング法を用いる染色体異常解析について紹介した。これから始まる第2期分「変異細胞の選択技術の確立と突然変異の塩基配列の解析に関する研究」については, 放射線によって誘発される突然変異体の迅速な選択と, そのDNA塩基配列上の変化を効率良く解析することを目的として, 今後の計画と展望について紹介した。

**Keywords** : chromosome aberrations induced by radiation, chromosome painting, gene mutation

Honma, M., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Deletional and recombinational mutations at heterozygous thymidine kinase (*tk*) locus in human lymphoblastoid cells (in Japanese)**

*Environ. Mutagen Res.*, 18, 107~111 (1996)

常染色体遺伝子であるチミジンキナーゼ (*tk*) を利用した遺伝子突然変異試験は点突然変異から染色体レベルに及ぶ大きな欠失や組換え等の変異をも検出することができる。そのため, 従来のエームス試験で検出される Mutagen と染色体異常試験で検出される Clastogen の両者をカバーしうる試験法として注目されている。また, ここで検出される変異はヒトのガン組織で観察される遺伝子の変異とも対応しており, 細胞のガン化過程における遺伝子変化のモデルとしても有用性が高い。本研究ではヒトリンパ芽球様細胞 TK6 での *tk* 遺伝子突然変異検出系を利用し, 遺伝子突然変異に影響を与える外的因子 (環境変異原) 及び内的因子 (修復系) を検討した。

**Keywords** : thymidine kinase (*tk*), gene mutation, deletion and recombination

山田雅巳, Karran, P.\*: **特集 DNA 修復研究の最前線: ヒト細胞におけるミスマッチ修復の分子機構**

実験医学, 14, 1541~1547 (1996)

DNA ポリメラーゼは, 自らが間違っ取り込んだ塩基を修正する機能を持つ。DNA ミスマッチ修復は, その校正機能が見落としたエラーを複製後に正し, それがDNA複製の忠実度を上げている。また, 近縁種間の非相同的組換えを防ぐバリアの役目も果たしている。細胞がミスマッチ修復を効率よく行えなくなることは, 細胞分裂を調節している遺伝子を不活化するような突然変異が蓄積してしまう危険性ははらむ。ミスマッチ修復系の異常が, 明らかに HNPCC (遺伝性非線種症性大腸癌) の原因である事がこの考えを支持する。今までに分かっているヒトのミスマッチ修復に関与する蛋白が, バクテリアのホモログである事から, 全体的なミスマッチ修復のシステムがバクテリアからヒトまで保存されているであろうと予想される。本総説は, ミスマッチ修復の機構をヒトを中心に概説したものである。

**Keywords** : mismatch repair, methylation tolerance, HNPCC

\* Clare Hall Laboratories, Imperial Cancer Research Fund, U.K.

能美健彦: **発癌物質と変異原性試験**

モダンメディア, 42, 357~364 (1996)

環境化学物質の中から発癌物質を選別する際に果たす変異原性試験の役割について解説した。

**Keywords** : chemical carcinogens, mutagenicity tests

能美健彦：はじめに：環境変異原と生体によって誘発される突然変異

*Environ. Mutagen Res.*, 18, 169~171 (1996)

平成8年5月31日に東京ヤクルトホールで開かれた日本環境変異原学会主催の公開シンポジウム「突然変異誘発の調節機構」の世話人として、シンポジウムの趣旨と講演内容をまとめた。

**Keywords:** environmental mutagens, DNA repair, DNA replication

能美健彦：微生物を用いる変異原性試験：環境モニタリングへの応用と改良

水環境学会誌, 19, 764~769 (1996)

水中に存在する変異原を検出するのに有用な微生物株の開発の現状を解説した。

**Keywords:** bacterial tester strains, environmental mutagens, mutagenicity tests

Josephy, P.D. \*, Gruz, P. and Nohmi, T.: Recent advances in the construction of bacterial genotoxicity assays

*Mutat. Res.*, 386, 1~23 (1997)

微生物を用いる変異原性試験は、化学物質のリスク評価、変異原の環境モニタリングなどさまざまな領域で用いられている。近年、薬物代謝酵素遺伝子を導入したり、DNA修復遺伝子を破壊することにより、有用性を高めた変異原性試験用の菌株が開発されている。また、微生物の遺伝子をマウス受精卵に導入し、*in vivo*における突然変異のレポーターとするトランスジェニックマウス変異原性試験も開発されるようになった。微生物を用いる変異原性試験の近年における発展に関する総説である。

**Keywords:** mutagenicity test, cytochrome P-450, N-acetyltransferase

\* Department of Chemistry and Biochemistry, University of Guelph, Canada

増井 徹：上皮細胞特有の増殖と増殖停止との切替え機構

蛋白質核酸酵素, 41, 1913~1919 (1996)

ほ乳類細胞の増殖調節については細胞周期調節にかかわる外部支配要因として増殖因子、増殖抑制因子等の液性因子以外の調節要因と細胞の反応に的を絞る。局所的液性環境、ジユクスタクライン機構は重要であるが、生体内で細胞の液性環境を急速に変化させることは困難であり、更に同じ液性環境の下でも同じ遺伝背景を持った細胞が様々に反応することは周知の事実である。我々は液性因子以外の側面から増殖と増殖停止の切り替え機構を研究することが重要であると信じる。そこで、まずはじめに、古典的ではあるがそのエレガントさで群を抜いている Dulbecco の仕事をこの機会を借りて少し詳しく紹介する。細胞周期の研究が進み細胞群特有の増殖特性の研究の出来る環境が調ってきた、このような時にこそ、ここで紹介する Dulbecco の研究は重要である。後半は我々の開発した outgrowth 培養システムの増殖動態について論じる。outgrowth 培養との関連で張力・斥力刺激と増殖調節についての研究を紹介する。最後に現在我々の取り組んでいる上皮細胞の増殖と増殖停止の切り替えメカニズムの解析について述べる。

**Keywords:** outgrowth culture, character of epithelium, growth regulation

岡田敏史：日局一般試験法「浸透圧測定法」の改正に向

けて

医薬品研究, 27, 639~643 (1996)

現行の日局一般試験法「浸透圧測定法」には重大な欠陥のあることが指摘されており〔嶋林：医薬品研究, 26, 674 (1995)〕, これに応じて早急な対応が必要であることを述べると共に、標準液の設定濃度範囲などいくつかの問題点が内在していることを指摘し、全体としての本試験法の改正の方向性を示した。

**Keywords:** osmolarity, osmotic pressure, Japanese pharmacopoeia

Tanimoto, T.: Aldose reductase and its inhibitors for prevention and treatment of diabetic complications

*Recent Res. Develop. Chem. Pharm. Sci.*, 1, 49~61 (1996)

糖尿病合併症の発症に関与するアルドース還元酵素 (AR) 及び合併症治療薬としての AR 阻害剤の現在までに得られている知見について、著者らの成績を中心に下記の項目についてまとめ、今後の合併症治療薬の開発についての新しいアプローチの仕方について考察した。

1. AR のヒト組織での分布
2. AR の高次構造と機能
3. AR 阻害剤の種類と分類
4. AR 阻害剤の *in vitro* 及び *in vivo* 効力
5. AR 阻害剤の臨床評価
6. AR 阻害剤の標的選択性
7. AR 阻害剤の *in vitro* 評価系の標準化
8. AR 阻害剤の開発の新アプローチ

**Keywords:** aldose reductase, aldose reductase inhibitor, diabetic complication

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田 正：ギムネマ・シルベスタの健康影響について

食品衛生研究, 47, 49~60 (1997)

ギムネマ・シルベスタ葉を含む製品は、糖吸収抑制作用によりダイエット及び糖尿病に予防効果を発揮するといわれ、現在では健康食品として一般的に普及しており、その市場は年々拡大している。ギムネマ・シルベスタ *Gymnema sylvestre* R. Br. (Asclepiadaceae) はインド等に自生するガガイモ科の蔓性植物であり、インドの伝統医学アーユルヴェーダ生薬として、糖尿病、利尿、健胃、強壮等に効くとして使用されてきた。著者らは新開発食品の安全性を調べる一環として、ギムネマ・シルベスタ葉に含まれるギムネマ酸、グルマリリン及びコンズリトール A に関して文献調査を行った。これらの化合物の生理作用等について紹介した。

**Keywords:** gymnema sylvestre, health food, gymnemic acid

辻 澄子：ビタミン C を含むソフトドリンク中の過酸化水素の含有量について

ニューフードインダストリー, 38, 21~27 (1996)

新しい機能性飲料の開発に伴ってソフトドリンクの種類が多様化し、ソフトドリンクへのビタミン C (V.C.) の添加も多い。ところで、昭和61年に V.C. を含むソフトドリンク中に多量の過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) が検出されたという報告が大きな話題になり、著者らは、V.C. 含有ソフトドリンク中の多量の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は分析中に生成した可能性があると考へて、原因究明を行い、測定方法の改良を提案した。再度、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の生成の原因、分析法の問題点、測定方法の改良点などをわかりやすく解説した。

**Keywords:** vitamin C, soft drinks, hydrogen peroxide

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)

*Natural Medicines*, 50, 58~64 (1996)

青海省東南部に野生するダイオウは *Rheum tanguticum*, *R. palmatum* 若しくは両者の中間型が混在していた。冬虫夏草・川赤芍・甘草の自生も確認し, 併せてその基原植物や環境についても調査した。

**Keywords**: Qinghai province, *Rheum tanguticum*, *Rheum palmatum*

\* 三国株式会社

Sakai, E.: Conservation of species as international plant resources and exchange with other countries

*FARMING JAPAN*, 30, 25~28 (1996)

「生物の多様性に関する条約」に見られる生物資源に対する世界的な考え方を紹介した。これを踏まえて, 薬用植物を取り扱う上での今後の考え方や, 薬用植物栽培試験場で現在行われている取り組みについて紹介した。

**Keywords**: plant resources, medicinal plant, Index Seminum

吉松嘉代, 下村講一郎: 毛状根の超低温保存

組織培養, 22, 366~370 (1996)

“植物培養細胞・組織超低温保存の展開”の特集号において, オタネニンジン毛状根の例を中心に, 毛状根の超低温保存の手順, 操作及びその有用性について解説した。

**Keywords**: cryopreservation, hairy roots, vitrification

Shimomura, K.: Plant biotechnology and medicinal plants

*FARMING JAPAN*, 30, 19~24 (1996)

薬用植物の組織培養法の基礎及び試験管内増殖, 二次代謝物質生産, 超低温保存等への応用について, これまで報告された例をあげて紹介した。

**Keywords**: plant biotechnology, medicinal plants, cryo-preservation

Jaziri, M.\*<sup>1</sup>, Zhiri, A.\*<sup>1</sup>, Guo, Y.-W.\*<sup>1</sup>, Dupon, J.-P.\*<sup>1</sup>, Shimomura, K., Hamada, H.\*<sup>2</sup>, Vanhaelen, M.\*<sup>1</sup> and Homés, J.\*<sup>1</sup>: *Taxus* sp. cell, tissue and organ cultures as alternative sources for taxoids production: a literature survey

*Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 46, 59~75 (1996)

Taxoid 類生産のための資源としての *Taxus* 属植物の組織培養に関する論文を紹介した。このレビューの目的は, 種々の *Taxus* 属植物の培養系の確立のために行われた方法や進行状況等, また, 企業における Taxoid 類生産の可能性についても纏めたものである。

**Keywords**: *Taxus* sp., paclitaxel, tissue culture

\*<sup>1</sup> ブリュッセル自由大学

\*<sup>2</sup> 岡山理科大学

野口 衛: 日高薬膳の創作

*CaN\**, 23, 17 (1996)

当帰, キキョウ等当試験場で試験栽培し, 産地化を検討している薬用植物を利用した新しい薬膳を開発し, 日高薬膳と命名した。

**Keywords**: cooking, platycodon Root, Angelica Root

\* WAKAYAMA Culture and Nature Magazine (21世紀への紀ノ国通信)