

鹿庭なほ子, 青柳伸男, 小嶋茂雄: 試験室共同実験による溶出試験結果の変動性の研究

医薬品研究, 28(7), 505-511(1997)

7品目の医薬品の溶出試験結果の併行精度及び室間再現精度を, 試験室間共同実験により検討した。併行精度は, 医薬品により異なった。室間再現精度が悪かった医薬品5品目のうち, 2品目はその原因が分析法の室間再現精度が悪かったことにあった。残りの品目については, 原因が不明であり, このような医薬品の溶出試験においては, 溶出試験の条件を厳密にコントロールする目的で, カリプレータの導入の必要性が示唆された。

Keywords: dissolution test, inter-laboratory variation, intra-laboratory variation

城道 修*, 脇野克彦*, 吉岡武男*, 鹿庭なほ子: ステロイドの高速度液体クロマトグラフィー(HPLC)分析系における検出限界及び定量限界に関する研究

医薬品研究, 28(9), 654-663(1997)

ステロイド系医薬品の合成原料であるデヒドロエピアンドステロンをモデル化合物に取り, 検出限界及び定量限界の評価実験を行い, 検出限界以下の領域で, レスポンスと濃度との関係が不連続関数となる系における, 検出限界及び定量限界の考え方を示した。

Keywords: detection limit, quantitation limit, validation

* メルシャン株式会社

Katori, N., Aoyagi, N. and Kojima, S.: Effects of codeine on the agitating force and gastrointestinal transit time in dogs, for use in drug absorption studies

Biol. Pharm. Bull., 21, 418-420(1998)

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リン酸コデインの前投与を試みた。その結果コデイン投与後はイヌ消化管の運動が抑制され, ヒトに近似した経口薬物の放出挙動が示された。このことから, コデインによる前投与により, イヌの経口吸収モデル動物としての欠点を改善出来る可能性が示唆された。

Keywords: codeine phosphate, drug absorption study, GI motility

香取典子, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 小嶋茂雄: 溶出試験の判定基準の問題点および改善

日本薬局方フォーラム, 4, 17-24(1998)

日本薬局方溶出試験の判定基準について統計学的な背景を考察し, より良い試験法とはなにかについて述べると共に, 新たな判定基準を提案した。この新判定基準は溶出率の平均値を規定でき, かつ消費者危険をロットのばらつきにかかわらず一定のレベルに保てるという利点を有する。

Keywords: dissolution test, confidence limit, Japanese Pharmacopoeia

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: Softening temperature of lyophilized bovine serum albumin and γ -globulin as measured by spin-spin relaxation time of protein protons

J. Pharm. Sci., 86, 470-474(1997)

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_2)が大きく変化する温度(T_2 の限界温度)は, タンパク質の運動性が大きく変化する温度であり, タンパク質凍結乾燥品の安定性を反映する重要なパラメータである

ことを明らかにした。牛血清アルブミンおよび γ グロブリンの凍結乾燥品について T_2 の限界温度を測定した結果, 凍結乾燥品中のタンパク質の変性凝集は, T_2 の限界温度以上の温度で著しく増大し, 保存時の安定性が低下することが分かった。分子運動性の限界温度として一般に用いられている熱分析によるガラス転移温度(T_g)はタンパク質の凍結乾燥品のように非晶質の状態が不均一な系ではしばしば測定が困難であることから, NMRで測定される T_2 の限界温度は凍結乾燥品の分子運動性の評価の指標として有用であると考えられた。

Keywords: NMR relaxation, protein stability, molecular mobility

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: Dependence of the molecular mobility and protein stability of freeze-dried γ -globulin formulations on the molecular weight of dextran

Pharm. Res., 14, 736-741(1997)

デキストランを添加剤として用いた牛血清 γ グロブリン凍結乾燥剤の安定性がデキストランの分子量に大きく依存し, その影響は分子運動性の差に起因することを明らかにした。製剤中のデキストランプロトンは, ある温度以上で固体プロトンによるガウス型緩和に加えて液体プロトンによるロレンツ型緩和を示すことが分かった。製剤の分子運動性が急激に変化するこの温度を, NMR緩和に基づく分子運動性の限界温度(T_{mc})と定義した。デキストランの分子量が高くなるにしたがって T_{mc} は上昇し, 製剤の運動性が低下することが示された。さらに, 分子量の増大による分子運動性の低下によって, 製剤中のタンパク質の保存安定性が高くなった。高分子量のデキストランを添加剤として用いることによって製剤を安定化できることが明らかになった。

Keywords: NMR relaxation, protein stability, molecular mobility

Yoshioka, S., Aso, Y., Nakai, Y. and Kojima, S.: Effect of high molecular mobility of poly(vinyl alcohol) on protein stability of lyophilized γ -globulin formulations

J. Pharm. Sci., 87, 147-151(1997)

タンパク質凍結乾燥剤は, 分子運動性の高い高分子を添加するとその保存安定性が低下することが明らかになった。ポリビニルアルコールを添加剤として用いた牛血清 γ グロブリン凍結乾燥剤は, デキストランを用いた製剤と比較して, NMR緩和に基づく分子運動性の限界温度(T_{mc})が低く, 分子運動性が高いために, タンパク質の安定性が低いことが分かった。さらに, タンパク質は製剤がミクロに液体化する T_{mc} 以上の温度では, ガラス転移温度(T_g)以下であっても凝集変化を示し, その温度依存性は, ガラス転移温度(T_g)の項に T_{mc} を代入したWLF式によって表すことができた。 T_{mc} は T_g より密接に安定性を反映するパラメータであることが明らかになった。

Keywords: NMR relaxation, molecular mobility, protein stability

Aso, Y., Tang, S., Yoshioka, S. and Kojima, S.: Amount of mobile water estimated from ^2H spin-lattice relaxation time, and its effects on the stability of cephalothin in mixtures with pharmaceutical excipients

Drug Stability, 1, 237-242(1997)

結晶セルロースとセファロチンの混合粉体中に吸着した水分子のスピン-格子緩和時間から動きの良い水の量を算

出した。セファロチンの分解速度が混合粉体中の全水分量ではなく、動きの良い水の量に比例することを明らかにした。

Keywords: spin-lattice relaxation time, stability, water

Izutsu, K., Heller, M.* and Randolph, T. W.* and Carpenter, J. F.*: **Effect of salts and sugars on phase separation of polyvinylpyrrolidone-dextran solutions induced by freeze-concentration.**

J. Chem. Soc., Faraday Trans., **94**, 411-418(1998)

ポリビニルピロリドン(PVP)とデキストランを含む水溶液の凍結状態での相分離と低分子添加剤の影響を検討した。両者を含む凍結溶液の熱分析では各高分子由来の二つのアモルファス相軟化温度(T_g)が観察された。凍結相分離は水性2相分離と同様に高分子間の反発力が原因と考えられるが、必要な濃度から凍結濃縮による高分子濃度上昇の寄与が強く示唆された。塩類や二糖類の添加で混合ポリマー凍結溶液の T_g は接近・融合した。塩の作用はHofmeisterの離液順列に従いsalting-in作用の大きい塩ほど低濃度で相分離を抑制することから、凍結溶液中の高分子間反発力変化を介すると考えられた。

Keywords: phase separation, freeze-concentration, thermal analysis

* University of Colorado, USA

Kikura, R. and Nakahara, Y.: **Hair analysis for drug abuse XVI. Disposition of Fenethylline into rat hair and human hair.**

J. Anal. Toxicol., **21**, 291-296(1997)

覚せい剤類似医薬品であるフェネチリンは体内で代謝を受けて、一部覚せい剤となり、尿に排泄されるため、覚せい剤検査の混乱の原因となっている。フェネチリン使用と覚醒剤アンフェタミン使用の識別法を確立するため、ラットにフェネチリンを5 mg/kg投与し、毛髪及び血液を採取し、GC-MSで分析した。フェネチリン及びアンフェタミンの毛髪濃度は、それぞれ52及び4.9 ng/mgで、血漿AUCはそれぞれ55.9及び22.3 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ であった。このデータはフェネチリンがアンフェタミンより毛髪移行性向が明らかに高いことを示している。次いで、ヒトに50 mg経口で、1日及び3日間投与し、25日後に頭髪を採取した。根元側1 cmを分析した結果、フェネチリン及びアンフェタミンの毛髪濃度は、3回投与でそれぞれ0.51及び0.35 ng/mgで、単回投与でそれぞれ0.25及び0.11 ng/mgであった。フェネチリンは代謝が速く、フェネチリン使用者の尿からフェネチリン検出することが困難であることから、毛髪を用いることにより、両者の識別が可能になることが明らかとなった。

Keywords: hair analysis, fenethylline, amphetamine

Nakahara, Y., Takahashi, K., Sakamoto, T., Tanaka, A.*¹, Hill, V. A.*² and Baumgartner, W. A.*²: **Hair analysis for drug abuse XVII. A Proof of PCP active use by Hair Analysis.**

J. Anal. Toxicol., **21**, 356-362(1997)

PCPの使用を確認するため、ヒト毛髪からPCP及び代謝物PCHPとPCPdiolを同時に検出・定量する試験法を確立した。毛髪からのPCP及び代謝物の抽出を検討した結果、メタノール-5N塩酸(20:1)を用いる方法が最も良好な抽出効率を示した。本法を8人のPCP使用者の頭髪試料の分析に応用した結果、PCPは0.33~14.0 ng/mg, PCHPは0.02~0.12 ng/mg, PCPdiolは0.09~0.45

ng/mgの濃度レベルであった。先に報告した動物実験と異なり、PCPdiolの毛髪濃度は常にPCHPのそれを上まっております。PCPdiolはヒトでのPCP使用の重要な代謝物であることが明らかになった。PCPとともに代謝物を同時に検出する本法を用いれば、しばしば喫煙乱用されるPCPの場合、常に懸念される外部からの汚染と識別することが可能であることを示した。

Keywords: hair analysis, PCP, GC-MS

*¹ 昭和薬大

*² Psychmedics Corporation, USA.

Nakahara, Y. and Kikura, R.: **Hair analysis for drug abuse: XVIII. Hair root analysis for acute MDMA poisonings**

Biol. Pharm. Bull., **20**, 969-972(1997)

急性MDMA中毒の検査に毛根を利用する方法を動物モデルにより検討した。有色毛を有するDAラット(各群6匹)に急性中毒量(20, 40, 60, 80 and 100 mg/kg)のMDMAを投与し、5分, 30分, 1時間, 2時間, 6時間, 24時間に毛根から採取し、メタノール-5N塩酸(20:1)で4時間超音波下に薬物を抽出した。抽出残渣を誘導体化処理を行い、GC-MSで分析した。全ての試料からMDMA及び代謝物のMDAを検出した。高投与量ではより多くのラットが死亡したが、死亡したラットの毛髪中薬物濃度はその後はほぼ不変となり、生き残ったラットでは6時間まで濃度は上昇し、その後、24時間まで暫時減少した。また、時間と共に、薬物は徐々に毛幹に取り込まれていく経緯が観測され、死亡したら、その取込が停止することも観測された。更に、時間と共に代謝物の増加が観測され、死亡したら代謝物の生成が停止することも確認された。生命活動である代謝や毛髪への物質取込が毛根中でははっきりと観測することができ、急性薬物中毒の研究に毛根が有用な試料となることを確認した。

Keywords: hair roots, methylenedioxymethamphetamine, GC/MS

Sekine, H.*¹, Nagao, S., Kuribara, K.*², and Nakahara, Y.: **Behavioral Effects and Principal Role of N-Cyanomethylmethamphetamine, a Product from Smoking Methamphetamine with Tobacco, in Mice and Rats**

Pharmacol. Biochem. Behav., **57**, 167-172(1997)

タバコに混ぜた覚醒剤メタンフェタミン(MA)の喫煙により生成するN-cyanomethylmethamphetamine(CMMA)の興奮薬理活性をマウスとラットの常同行動と自発運動量の測定により検討した。1~10 mg/kg腹腔内投与では、覚醒剤MAとはほぼ同等の強い興奮作用と常同行動誘発作用を示した。180分間の血中薬物モニタリングとマウスとラットの行動活性の比較により、CMMAの興奮作用の本体は代謝により生じるMA及びアンフェタミン(AP)であると推定された。CMMAの代謝にはマウスとラットでは明確な種差が見られた。マウス血漿中では、主代謝物はMAとAPであったが、ラット血漿中では主代謝物は薬理活性のないと推定されるN-formylmethamphetamine(FMA)であり、この代謝の種差がCMMAの興奮活性がマウスのほうがラットのそれより大きく上回ることを示していた。

Keywords: methamphetamine, pharmacology, smoking

*¹ 埼玉県科捜研

*² 群馬大学医学部

Scarcella, D.¹, Tagliaro, F.¹, Turrina, S.¹, Manetto, G.¹, Nakahara, Y., Smith, F. P.² and Marigo, M.¹: **Optimization of a simple method for the chiral separation of phenethylamines of forensic interest based on cyclodextrin complexation capillary electrophoresis and its preliminary application to the analysis of human urine and hair.**

Forensic Sci. Inter., **89**, 33-46(1997)

フェネチルアミン類の合成や代謝研究において、光学活性の純度や識別は重要な要素であるため、 β -シクロデキストリンを用いて、フェネチルアミン類の光学異性体分離のキャピラリー電気泳動法を検討した。最適条件の検討の結果、40 cm, 50 μ m I.D.の fused silica カラムを用い、15 mM beta-cyclodextrin を含む150 mMリン酸緩衝液 (pH=2.5)を移動相にして、電圧: 10 kV, 温度: 17.5°Cで、200 nmの紫外部吸収検出により行った。この条件下で、amphetamine, methamphetamine 及びephedrineは光学異性体のベースライン分離が可能となった。検出限界は300 ng/mlで、migration timesの再現性(RSD)は、日内、日間がそれぞれ0.45%及び0.58%であった。ヒト尿及び毛髪中のamphetamineの光学異性体分離分析にこの方法を応用した。

Keywords: chiral separation, phenethylamines, capillary electrophoresis

¹ Institute of Forensic Medicine, University of Verona

² Department of Justice Sciences, The University of Alabama

Nakahara, Y. and Kikura, R.: **Hair analysis for drug abuse XIX. detection of ephedrine and its homologs in rat hair and human hair.**

J. Chromatogr. B., **700**, 83-91(1997)

動物及びヒト毛髪中のエフェドリン(EP), フェニルプロパノールアミン(PPA)及びメチルエフェドリン(ME)の高感度分析法を開発した。毛髪検体(10 mg)は洗浄後、重水素標識の内標を加え、5N塩酸-メタノール(1:20)で抽出処理し、誘導体化後、GC-MSで分析した。エフェドリン(EP)とメタンフェタミン(MA)の識別のための誘導体化法の検討に、TFA化とPFP化を比較したところ、TFA誘導体はクロマトグラフ上で分離しなかったが、PFP誘導体が明確な分離を示した。検量線は、0.5から50 ng/mgまで直線性($r=0.998$)を示し、いずれもオンカラムで50 pgまで検出可能であった。5 mg/kg/day腹腔内投与(10回)のラット毛髪中の薬物の定量に本法を用い、3種の薬物の毛髪濃度を測定すると共に、毛髪移行性の指標を求めたところ、EP(0.10)>PPA(0.07)>ME(0.03)の順であった。エフェドリン(EP)を50 mg/kg経口で3日間、ヒトに投与し、28日後に頭髪を採取して、分析した結果、平均2.25 ng/mg検出され、ヒト毛髪中には1~19 ng/mgの濃度範囲で、初回投与後14日まで検出された。更に、妊娠中MEを含むブロン液を乱用していた母親から生まれた新生児の頭髪を分析し、MEとEPの検出に成功した。

Keywords: ephedrine, methylephedrine, hair

Sakamoto, T., Tanaka, A.* and Nakahara, Y.: **Disposition of PCP and its hydroxylated metabolites in rat hair.**

Life Sci., **62**, 561-570(1998)

幻覚剤PCP及び3種の主代謝物(PCHP, PCHP, PCPdiol)のラット毛髪への分布について、血中の分布と比較検討した。DA雄性ラットに薬物を0.5 mg/kg/dayで、10日間腹腔内投与し、28日後に毛髪を採取した。前報の方法に従い、毛髪中の薬物を抽出し、GC-MSにて分析した。4種の薬

物の血中AUCを求めたところ、PCP(2.03 μ g \cdot min/ml)>PCPdiol(0.60 μ g \cdot min/ml)>PCHP(0.11 μ g \cdot min/ml)>PCHP(0.065 μ g \cdot min/ml)の順であったが、それらの毛髪濃度は、PCP(7.51 ng/mg)>PCHP(1.22 ng/mg)>PCHP(0.10 ng/mg)>PCPdiol(0.05 ng/mg)の順であった。血中AUCに対する毛髪取込率を求めると、PCP(2.29)>PCHP(0.79)>PCHP(0.36)>PCPdiol(0.32)の順となり、PCPは代謝物に比べ、毛髪への分布性向が高く、一方、dihydroxy代謝物のPCPdiolのそれは最も低いことが認められた。水溶性代謝物は血中に多く、脂溶性のPCPは毛髪に多く分布するこの現象から脂溶性が毛髪への分布と密接な関係があると結論した。

Keywords: phencyclidine, phencyclidine metabolites, rat hair

* 昭和薬大

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: **Assessment of shelf-life equivalence of pharmaceutical products**

Chem. Pharm. Bull., **45**, 1482-1484(1997)

製剤のロット間、包装間、処方間における安定性の変動を有効期間の推定値のレンジから評価する方法について、通常の分散分析法と比較検討した。レンジに基づく同等性評価法の検出力は分散分析法の検出力とは異なり、定量誤差の影響を受けにくいことが明らかになった。

Keywords: shelf-life, equivalence, ANOVA

Kawakami, N.*, Takemasa, H.*, Yamaguchi, T., Hayakawa, T., Shimohama, S.* and Fujimoto, S.*: **Indication of a protein kinase C-independent pathway for NADPH oxidase activation in human neutrophils**

Arch. Biochem. Biophys., **349**, 89-94(1998)

チロシンホスファターゼの阻害剤であるpervanadateを用いてヒト好中球活性酸素生成酵素の活性化機構の解析を行った。ヒト好中球にpervanadateを添加すると、活性酸素生成の誘導と細胞質因子p47phox及びp67phoxの細胞膜への移行が引き起こされる。一方、Cキナーゼの阻害剤であるH-7はこの細胞質因子の膜移行を顕著に阻害するものの活性酸素生成には影響を与えなかった。以上の結果は、活性酸素生成酵素の活性化にはCキナーゼ依存的な経路と非依存的な経路が存在することを示唆している。このCキナーゼ非依存的な経路にはチロシンリン酸化が関与していることが推察された。

Keywords: pervanadate, NADPH oxidase, neutrophil

* 京都薬科大学

Mizuguchi, H.¹, Nakagawa, T.¹, Morioka, Y.¹, Imazu, S.¹, Nakanishi, M.², Kondo, T.³, Hayakawa, T. and Mayumi, T.¹: **Cytoplasmic gene expression system enhances the efficiency of cationic liposome-mediated in vivo gene transfer into mouse brain**

Biochem. Biophys. Res. Commun., **234**, 15-18(1997)

非ウイルスベクター(リポソーム)を用いた遺伝子導入法の開発を目的として、T7RNAポリメラーゼとT7プロモーターを持つプラスミドとの組み合わせにより細胞質内で遺伝子を持続的に発現させる系を構築し、マウス脳での遺伝子発現を検討した。その結果、遺伝子発現に核移行を必要とする従来のプラスミドでは導入遺伝子の発現がほとんどみられなかったのに対して、T7ポリメラーゼを用いた系では効率の良い遺伝子発現が可能であることが明らかとなり、この方法が中枢神経系への遺伝子導入法として有用であることが示された。

Keywords: cytoplasmic gene expression, cationic liposome, central nervous system

*1 大阪大学薬学部

*2 大阪大学微生物病研究所

*3 大阪バイオサイエンス研究所

Hayakawa, T.: "Global Perspective on Specifications for Biotechnology Products-Perspective from Japan-:Development of Specifications for Biotechnology Products"

Dev. Biol. Stand., **91**, 15-23 (1997)

バイオテクノロジー応用医薬品の評価とその品質確保を図るための国際標準の確立に向けての方策について最新の科学的成果を基に検討した。とくに、1) 医薬品製造工程の妥当性の検証とその恒常性の確保に必要な要素、2) 目的産物の構造・組成や特性解析を行う上の留意事項と必要な技術、3) 糖タンパク質における糖鎖の意義と構造解析技術、4) 迷入物質や有害因子、不純物の除去方法の評価と試験方法、5) 製品における規格及び試験方法の設定に必要な要件などについて着目し、その研究成果を示した。

Keywords: biotechnology products, specifications, quality control

Kunisawa, J.*, Nakanishi, T.*, Hayashi, A.*, Tsutsumi, Y.*, Hayakawa, T. and Mayumi, T.*: **Fusogenic liposome functions as an efficient immunoadjuvant in inducing humoral immune-responses to soluble antigen**

Drug Delivery System, **13**, 21-26 (1998)

膜融合リポソームのワクチンアジュバントとしての有効性を追求する目的で、抗原タンパクを封入した膜融合リポソームをマウスに免疫し、膜融合リポソームの抗体産生促進能を検討した。その結果、抗原を膜融合リポソームに封入することにより抗体産生が高まることが明らかとなり、膜融合リポソームがワクチンアジュバントとして有効であることが示された。

Keywords: fusogenic liposome, vaccine, humoral immunity

* 大阪大学薬学部

Nakanishi, T.*, Kunisawa, J.*, Hayashi, A.*, Tsutsumi, Y.*, Hayakawa, T. and Mayumi, T.*: **Fusogenic liposome directs an exogenous antigen into class I major histocompatibility complex antigen-presenting pathway**

Drug Delivery System, **13**, 27-33 (1998)

膜融合リポソームを cytotoxic T lymphocyte の誘導が可能なワクチンベクター/アジュバントとして開発することを念頭に、膜融合リポソームによって細胞質内に導入された封入抗原が major histocompatibility complex (MHC) class I 抗原提示経路に送達されうるかについて検討した。その結果、膜融合リポソームにより抗原を導入した細胞では、抗原が MHC class I 提示されることが明らかとなり、膜融合リポソームが新たなワクチンベクター/アジュバントとして有望であることが示された。

Keywords: fusogenic liposome, class I major histocompatibility complex, cytotoxic T lymphocyte

* 大阪大学薬学部

Suzuki, R.*¹, Nakagawa, T.*¹, Mizuguchi, H.*¹, Imazu, S.*¹, Nakanishi, T.*¹, Nakagawa, S.*¹, Nakanishi, M.*², Hayakawa, T. and Mayumi T.*¹: **The optimization of cytoplasmic gene expression system with T7 RNA polymerase**

Drug Delivery System, **13**, 87-93 (1998)

非ウイルスベクター(リポソーム)による高効率な遺伝子導入法の開発を目的に、細胞質での遺伝子発現系の構築を行った。その結果、T7 ポリメラーゼ、T7 プロモーターの下流に T7RNA ポリメラーゼを組み込んだプラスミド、T7 プロモーターの下流に目的遺伝子を組み込んだプラスミドの三者を共に細胞に導入することにより、効率よく導入遺伝子が発現されることが明らかとなった。

Keywords: cytoplasmic gene expression, T7 RNA polymerase, T7 promoter

*1 大阪大学薬学部

*2 大阪大学微生物病研究所

Kawasaki, N., Morimoto, K. and Hayakawa, T.: **Control of hemoglobin synthesis in erythroid differentiating K562 cells. 2. Studies of iron mobilization in erythroid cells by high-performance liquid chromatography-electrochemical detection**

J. Chromatogr. B, **705**, 193-201 (1998)

先に我々は、K562 細胞の赤芽球分化過程において、鉄がヘモグロビン(Hb)合成の律速酵素である δ -アミノレブリン酸シンターゼ(ALAS)を調節することによってHb合成を調節していることを見出した。そこで、電気化学検出HPLCを用いて細胞内鉄を測定し、赤芽球分化過程における鉄動態およびその役割について検討した。その結果、K562 細胞を酪酸で刺激すると、まず、トランスフェリン受容体(TfR)発現量が増加し、続いて total 鉄、Hb 含量および ALAS 活性がほぼ同時に増大することが確認された。しかし、この際、非ヘム鉄および低分子量鉄錯体量に変動は認められなかった。また、酪酸処理細胞および未処理細胞にトランスフェリン鉄を添加すると、 δ -アミノレブリン酸(ALA)含量とHb含量は増加するが、ヘミンを添加した場合、すべての鉄分子種およびHb含量が増加している一方で、TfR 発現量およびALA含量は低下していることが明らかになった。以上のことから、Hb合成はTfR発現によって調節されており、ヘム合成は、ヘムまたはHbが分解されることによって遊離した鉄がTfR発現量を低下させることによって抑制されることが示唆された。

Keywords: K562 cell, HPLC-EC, iron

Kawasaki, N. and Lee, Y. C.*: **Europium labeling of natural and synthetic glycopeptides**

Anal. Biochem., **250**, 260-262 (1997)

放射性標識法に代わる標識法として、ユーロピウム等のランタノイド錯体を用いた蛍光標識法が注目されている。そこで、無水二エチレン三アミン五酢酸を用いて糖ペプチド $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{Asn}$ および合成糖ペプチド YEE (ahGalNAc)₃ をユーロピウム標識する方法を確立した。

Keywords: Europium, DTPA anhydride, glycopeptide

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Suzuki, N.*¹, Tsai, I. I.*¹, Kawasaki, N. Chou, C. L.*¹ and Lee, Y. C.*¹: **Colorimetric determination of subnanomol carbohydrate using periodate and 2,4,6-tri-2-pyridyl-S-triazine(TPTZ)**

Carbohydrate Lett., **2**, 335-342 (1997)

2,4,6-tri-2-pyridyl-S-triazine(TPTZ)の暗紫色は、過ヨード酸化によってすみやかに消失する。そこで、糖を過剰の過ヨード酸で酸化し、残存している過ヨード酸量をTPTZを用いて測定することによって、微量の糖を定量する方法を確立した。また、マイクロタイタープレートを用いることによって、本分析法の簡便化及び高感度化を図る

ことができた。

Keywords: TPTZ, carbohydrate

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Kasugai, I., Morimoto, K. and Hayakawa, T.: **A variant of the HL-60 cell line expressing a high level of PTP1C exhibits increased susceptibility to differentiation by phorbol 12-myristate 13-acetate**

Cancer Lett., **120**, 223-227 (1997)

HL-60 細胞株のバリエーションの一つ、HL-60/MCSFR4D2 が親株細胞の二倍の PTP1C を発現していることが immunoblotting および immunoprecipitation により明らかになった。phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 処理後、HL-60/MCSFR4D2 細胞のマクロファージ様分化を接着性の出現により検討した。HL-60/MCSFR4D2 細胞は、1% FCS 存在下、0.5 ng/ml の PMA で 48 時間処理すると細胞の 20% が、1.0 ng/ml で 60%、5.0 ng/ml で 80% が接着性を示した。それに対して同様の処理で親株 HL-60 細胞はほとんど接着性を示さなかった。さらに、アンチセンス PTP1C オリゴヌクレオチドは、PMA が誘導する HL-60/MCSFR4D2 細胞の接着性の発現を減少させた。これらの結果は、HL-60 細胞における PTP1C の高発現が、マクロファージ様分化の感受性の増大に関与している可能性を示唆している。

Keywords: HL-60 cell, PTP1C, PMA

Kasugai, I., Morimoto, K., Kawanishi, T. and Hayakawa, T.: **Establishment of a human leukemia HL-60 cell line that expresses high levels of M-CSF receptors**

In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal, **34**, 93-96 (1998)

M-CSF レセプター遺伝子、c-fms を発現するプラスミド pSMc-fms をヒト白血病 HL-60 細胞に導入することにより、M-CSF レセプターの高発現株 HL-60/MCSFR4D2 を得た。HL-60/MCSFR4D2 細胞は、FCS 非存在下で 50 ng/ml の M-CSF で処理すると、未処理細胞に比べて培養初期において 10% ほど細胞数の増加を示した。これは、M-CSF による一時的な増殖刺激や血清欠乏による細胞死の抑制によるものと推定される。一方、M-CSF は抗 Fas 抗体及び Calphostin C の引き起こすアポトーシスに影響を及ぼさなかった。さらに、HL-60/MCSFR4D2 細胞は、PMA によるマクロファージへの分化に対して著しく感受性が增大していることが判明した。以上から、HL-60/MCSFR4D2 は PMA による分化のシグナル伝達や M-CSF の作用機構を解析する上で有効な細胞株であると考えられる。

Keywords: HL-60 cell, M-CSF, c-fms

Yamaguchi, T., Yamaguchi, T., Kogi, M., Yamamoto, Y. and Hayakawa, T.: **Bioassay of human granulocyte colony-stimulating factor using human promyelocytic HL-60 cells**

Biol. Pharm. Bull., **20**, 943-947 (1997)

ヒト白血病 HL-60 細胞を DMSO 処理した細胞を用いることにより、G-CSF の生物活性を測定することが可能なことを示した。また、このアッセイを用いることにより、糖鎖の存否は G-CSF の活性に影響を与えないことも確認された。

Keywords: G-CSF, HL-60 cell, bioassay

* 都臨床研

Yamaguchi, T., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T.:

Granulocyte colony-stimulating factor promotes functional maturation of O²-generating system during differentiation of HL-60 cells to neutrophil-like cells

Arch. Biochem. Biophys., **353**, 93-100 (1998)

ヒト白血病 HL-60 細胞は DMSO や レチノイン酸刺激により好中球様細胞へと分化するが、G-CSF は活性酸素生成能やレセプター発現を指標としたこの HL-60 細胞の好中球への分化を顕著に亢進することを見いだした。さらに、G-CSF による活性酸素生成能の亢進は活性酸素生成酵素の活性化に共役したジアシルグリセロール生成系の up-regulation によることを示唆する結果が得られた。

Keywords: G-CSF, HL-60 cell, differentiation,

Watabe, A., Ohta, M., Matsuyama, N.*, Mizuno, K.*, El Borai, N., Tanimoto, T., Kawanishi, T. and Hayakawa, T.: **Characterization of plasmin-induced platelet aggregation**

Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol., **96**, 341-352 (1997)

Tissue-plasminogen activator などの血栓溶解剤の副作用として問題となっている血栓溶解後の再開塞に関連して、その原因と考えられているプラスミンによる血小板凝集について検討した。プラスミンによる血小板凝集は、セリンプロテアーゼ阻害剤、及び、リジン結合部位の阻害剤によって阻害された。また、細胞外からの Ca²⁺ 流入、RGDS 配列に依存した接着が凝集に関与していた。プラスミンの作用は高分子量のトロンビンアンタゴニストによって阻害されたが、低分子量のトロンビンアンタゴニストによって阻害されず、プラスミン固有の作用部位がトロンビンレセプターの近傍に存在すると考えられた。プラスミンの血小板への結合にはプロテアーゼ部位とリジン結合部位が関与していることが示唆された。

Keywords: plasmin, platelet, aggregation

* 日本商事(株)

Tanaka, H.*¹, Nishimaru, K.*¹, Sekine, T.*¹, Kawanishi, T., Nakamura, R.*², Yamagaki, K.*² and Shigenobu, K.*¹: **Two dimensional millisecond analysis of intracellular Ca²⁺ sparks in cardiac myocytes by rapid scanning confocal microscopy: Increase in amplitude by isoproterenol**

Biochem. Biophys. Res. Commun., **233**, 413-418 (1997)

ラット心室筋細胞におけるカルシウムスパークを高速走査型共焦点レーザー顕微鏡を用いて約 4 msec の時間分解能で画像に捉えた。カルシウムスパークは細胞質領域でランダムに生じ、約 10 msec で最大まで上昇し、30-40 msec で静止レベルまでもどった。ライアノジン (1 μM) ではスパーク発生は完全に抑制されたが、3 μM のニカルジピンではまったく影響をうけなかった。1 μM のイソプロテレノールでは、発生頻度および発生部位は変化しなかったが、細胞内カルシウムイオン上昇幅が増強された。以上の結果は、カルシウムスパークは筋小胞体からのカルシウムイオン放出を反映しており、この放出に関わるライアノジン受容体チャネルの機能は β-アドレナリン刺激によって調節されることを示唆している。

Keywords: calcium spark, cardiac myocyte, confocal microscopy

*¹ 東邦大学薬学部

*² ニコン(株)

Tanaka, H.*¹, Sekine, T.*¹, Kawanishi, T., Nakamura, R.*² and Shigenobu, K.*¹: **Intrasarcomere [Ca²⁺] gradients and**

Shigenobu, K.^{*1}: Intracellular [Ca²⁺] gradients and their spatio-temporal relation to Ca²⁺ sparks in rat cardiomyocytes

J. Physiol., **508**, 145-152(1998)

ラット単離心室筋細胞において、電気刺激による細胞内カルシウムイオン濃度([Ca²⁺]_i)上昇およびカルシウムスパークを、高速走査型共焦点レーザー走査顕微鏡のライン走査で画像に捉えた。電気刺激による[Ca²⁺]_i上昇を画像化してみると、細胞の長軸方向に約2 μm間隔の周期で[Ca²⁺]_iの速い上昇開始部位があることが確認された。この部位はDi-2ANEPEQで染色される部位、即ちT-管領域と一致した。次にカルシウムスパークの発生部位と、電気刺激によるカルシウム上昇において速く[Ca²⁺]_i上昇が生じる部位との空間的関係を同一細胞で解析した。その結果、カルシウムスパークが生じる部位は、電気刺激で速く[Ca²⁺]_i上昇が観察される部位と一致し、またスパーク発生部位では、発生直後には電気刺激による[Ca²⁺]_i上昇が欠落していた。T-管の電位依存性カルシウムチャネルはカルシウム貯蔵部位であるRy-Rに近接して存在することが知られており、以上の結果から、カルシウムスパークはその開口を反映していることが示唆された。さらに[Ca²⁺]_i上昇の不应期が発見されたことから、カルシウムスパークは正常な興奮収縮連関において[Ca²⁺]_i上昇の一単位であることが強く示唆された。

Keywords: calcium spark, cardiac myocyte, confocal microscopy

^{*1} 東邦大学薬学部

^{*2} ニコン(株)

Uchida, E., Morimoto, K., Kawasaki, N., Izaki, Y., Said, A. A. and Hayakawa, T.: Effect of active oxygen radicals on protein and carbohydrate moieties of recombinant human erythropoietin

Free Rad. Res., **27**, 311-323(1997)

生理活性糖蛋白質に対する活性酸素の影響を遺伝子組換えヒトエリスロポエチンをモデルに解析した。Fenton反応により生成した活性酸素はエリスロポエチンの*in vivo*及び*in vitro*の生物活性を消失させるが、これは活性酸素が糖鎖部分よりも蛋白質部分と主に反応するためであること、特にトリプトファン損傷が活性消失を反映することを明らかにした。また、エリスロポエチンの糖鎖を除去すると活性酸素感受性が高まることから、糖鎖はこのような活性酸素傷害に対してある程度の保護効果を示すことが示唆された。

Keywords: erythropoietin, oxygen radicals, glycoprotein

Chung, J.^{*}, Uchida, E., Grammer, T. C.^{*} and Blenis, J.^{*}: STAT3 serine phosphorylation by ERK-dependent and independent pathways negatively modulates its tyrosine phosphorylation

Mol. Cell. Biol., **17**, 6508-6516(1997)

EGFなどの増殖因子やIL-6などのサイトカインの情報伝達系では、転写因子であるSTAT(signal transducers and activators of transcription)のチロシンリン酸化が重要な役割を果たしているが、セリンリン酸化も活性制御に関与することから、STATのセリンリン酸化に関与するキナーゼについて検討した。その結果、増殖因子刺激ではERKファミリーのMAP kinaseがSTAT3の727番目のセリンを直接リン酸化する責任酵素であること、STAT1はMAP kinaseではリン酸化されないことを*in vitro*, *in vivo*において証明した。一方、IL-6刺激ではMAP

kinaseとは異なるキナーゼがSTATをセリンリン酸化することを明らかにした。さらに、STAT3の727番目のセリンのリン酸化は、STAT3の2量体化、核移行、DNA結合活性に重要であるチロシンリン酸化に対して負の制御を行っている可能性を示した。

Keywords: signal transducers and activators of transcription, phosphorylation, MAP kinase

^{*} Department of Cell Biology, Harvard Medical School

Niimi, S., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T.: Regulation of glucocorticoid receptor by the tyrosine kinase inhibitor herbimycin A in the cytosolic fraction of primary cultured rat hepatocytes.

J. Steroid Biochem. Mol. Biol., **61**, 65-71(1997)

チロシンキナーゼが初代培養ラット肝細胞におけるグルココルチコイド受容体(GR)に及ぼす作用についてチロシンキナーゼの阻害剤であるハービマイシンA(HA)を用いて調べた。HAは細胞質におけるグルココルチコイドの高親和性結合部位数を低下させ、その低下はGRタンパクの減少によることが示された。一方、タンパク合成の阻害剤はGRタンパクレベルに影響を与えなかった。また、核においてHAはGRタンパクを若干上昇させたが、その増加は細胞質における減少よりはるかに少なかった。これらの結果からHAによる細胞質GRタンパクの減少がGRタンパク合成あるいは細胞質から核への移行の阻害によるものではないことを示された。以上チロシンキナーゼの阻害剤を用いた実験結果からチロシンキナーゼが細胞質におけるGRタンパクレベルの維持に必要であることを示され、その機構としてGRタンパク安定性の増加によりGRタンパクレベルを維持している可能性が示唆された。

Keywords: glucocorticoid receptor, tyrosine kinase, primary cultured rat hepatocytes

Ozaki, Y., Rui, J., Tang, Y. and Satake, M.: Anti-inflammatory effect of *Forsythia suspensa* Vahl and its active fraction

Biol. Pharm. Bull., **20**, 861-864(1997)

中国で種々の炎症の治療に用いられている処方構成生薬のレンギョウ(*Forsythia suspensa* Vahl)の抗炎症作用を検討した。レンギョウの70%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writting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メタノールエキスを水とヘキサンで分配して水およびヘキサン可溶画分エキスを得た。両エキスのうちヘキサン可溶画分のみが経口投与によりマウスでの酢酸誘発色素透過性亢進の抑制作用を示し、ヘキサン可溶画分のみが抗炎症作用が認められた。これらのことから、レンギョウは炎症過程での比較的早い過程および遅い過程で作用し、この抗炎症作用の活性成分は脂溶性成分であることが示唆された。

Keywords: *Forsythia suspensa* Vahl, antiinflammatory effect, hexane fraction

Sakamoto, A.^{*1,2}, Ono, K., Abe, M.^{*1}, Jasmin, G.^{*3}, Eki, T.^{*1}, Murakami, Y.^{*1}, Masaki, T.^{*4}, Toyo-oka, T.^{*2} and Hanaoka, F.^{*1}: Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, δ -sarcoglycan, in hamster: An animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **94**, 13873-13878(1997)

心筋症 (cardiomyopathy, CM) は心筋が一次の変成を起こす疾患であり、その外観に基づき伝統的に肥大型 (HCM) と拡張型 (DCM) とに分けられる。ヒトの遺伝性心筋症の代表的モデルである心筋症ハムスターには共通の祖先から派生した HCM と DCM の系統があるが、本論文では両者に共通の遺伝子欠損が、未だその機能的役割のわかっていないデルタ-サルコグリカン (δ -SG) の遺伝子中に存在することを突き止めた。欠損の原因となるブレイクポイントは δ -SG 遺伝子の第二エクソンの 5' 上流 6.1 kb にあり、そこから 5' 上流側の、authentic な第 1 エクソンを含む 27.4 kb 以上の領域が欠損していた。この領域は主たる転写開始領域を含んでいるため、全ての CM ハムスターで第 2 エクソンから始まる δ -SG 蛋白のコード領域が保存されていたにも関わらず、 δ -SG のメッセンジャーは欠損し、その結果 δ -SG 蛋白質が失われることがわかった。更に、 δ -SG を含むジストロフィン関連糖蛋白質群の相互の結合様式を調べた結果、 δ -SG に細胞膜を安定化させる役割があることがわかった。本研究により、CM ハムスターの原因遺伝子が判明したのみならず、ヒトの心筋症の遺伝子診断及び治療のための新たな標的が明らかとなった。

Keywords: δ -sarcoglycan, mutation, cardiomyopathy, hamster

*¹ 理化学研究所細胞生理

*² 東京大学医学部

*³ モントリオール大学医学部

*⁴ 京都大学医学部

Kawahara, N., Nozawa, M., Flores, D., Bonilla, P.^{*1}, Sekita, S., Satake, S. and Kawai, K.^{*2}: **Nitidasin, a novel sesterterpenoid, from the peruvian folk medicine "Hercampuri"** (*Gentiana nitida*)

Chem. Pharm. Bull., **45** (10), 1717-1719 (1997)

ペルーにおいて民間薬として肝炎等の治療の目的で用いられている薬用植物 *Hercampuri* (*Gentiana nitida*) の成分検索を行った。本植物の全草ジクロロメタン抽出エキスより nitidasin と命名した新規セスタテルペノイド誘導体を単離し、X 線結晶構造解析を含めた各種スペクトルデータ解析よりその立体構造を決定した。

Keywords: *Gentiana nitida*, *Hercampuri*, nitidasin

*¹ サンマルコス大学

*² 星薬科大学

Morita, H.^{*}, Yun, S.-Y.^{*}, Takeya, K.^{*}, Itokawa, H.^{*} and Shirota, O.: **A Cyclic Heptapeptide from *Vaccaria segetalis***.

Phytochemistry, **42**, 439-441 (1996)

Vaccaria segetalis の種子より新規ヘプタペプチドである, segetalin E (cyclo[-Gly-Tyr-Val-Pro-Leu-Trp-Pro-]) を単離し、その構造を二次元 NMR の広汎な手法や化学分解によって解析した。

Keywords: cyclic heptapeptide, segetalin E, *Vaccaria segetalis*

* 東京薬科大学薬学部

Morita, H.^{*}, Gonda, A.^{*}, Takeya, K.^{*}, Itokawa, H.^{*} and Shirota, O.: **Conformational preference of cycloleonoripeptides A, B, and C. Three proline-rich cyclic nonapeptides from *Leonurus heterophyllus***

Chem. Pharm. Bull., **45**, 161-164 (1997)

Leonurus heterophyllus の果実から単離された 3 種のプロリンリッチ・ノナペプチド, cycloleonoripeptides A (cyclo

[-Gly-Pro-Pro-Pro-Tyr-Pro-Pro-Met-Ile-]), B (cyclo[-Gly-Pro-Pro-Pro-Tyr-Pro-Pro-Met(O)-Ile-]), C (cyclo[-Gly-Pro-Pro-Pro-Tyr-Pro-Pro-Met(O)-Ile-]) の重水素化ジメチルスルフォオキシド (DMSO) 中の三次元構造を、NMR データからのディスタンスジオメトリ計算と拘束エネルギー極小化により決定した。272 個の異なった初期構造を用いた計算により、一つの比類ないバックボーン・コンフォメーションを平方根平均二乗偏差が 0.57 Å の値で得た。cycloleonoripeptides A, B および C のバックボーン構造は、Pro³-Pro⁴ の間で一つの β IV-ターン、Pro⁷-Met⁸ の間で一つの β I ターンの、二つの β ターンを形成する。また、Tyr⁵-NH と Pro²-CO との間の対角 4 \rightarrow 1 バックボーン水素結合に加えて、 β -バルジ・コンフォメーションの形成に関与する Gly¹-NH と Pro⁶-CO との間と、Ile⁹-NH と Pro⁶-CO との間に二つの分子間水素結合の存在が観測された。

Keywords: cyclic nonapeptide, cycloleonoripeptide, *Leonurus heterophyllus*

* 東京薬科大学薬学部

Shirota, O., Sekita, S. and Satake, M.: **Two Phenylpropanoid Glycosides from *Sparganium stoloniferum***.

Phytochemistry, **44**, 695-698 (1997)

中国の生薬である山稜 (*Sân Léng*), *Sparganium stoloniferum* より二つのフェニルプロパノイド・グリコサイトを単離し、それぞれ、 β -D-(1-O-acetyl-3,6-O-diferuloyl)fructofuranosyl α -D-2',6'-O-diacetylglucopyranoside と β -D-(1-O-acetyl-6-O-feruloyl)fructofuranosyl α -D-2',4',6'-O-triacetylglucopyranoside であると決定した。

Keywords: *Sparganium stoloniferum*, Sparganiaceae, phenylpropanoid glycosides

Yagami, T., Sato, M., Nakamura, A., Komiyama, T.^{*1}, Kitagawa, K.^{*1}, Akasawa, A.^{*2} and Ikezawa, Z.^{*3}: **Plant defense-related enzymes as latex antigens**

J. Allergy Clin. Immunol., **101**, 379-385 (1998)

天然ゴムラテックスから植物の生体防御に関与すると考えられる三種の加水分解酵素 (β -1,3-グルカナーゼ, キチナーゼ/リゾチーム, カルボキシエステラーゼ) を分離した。プロモシアン分解で得られた β -1,3-グルカナーゼの断片化ペプチドは、ラテックスアレルゲン Hev b 2 に一致するアミノ酸配列を有していた。また、キチナーゼ/リゾチームの N-末端アミノ酸配列は、hevamine の配列に一致した。一方、カルボキシエステラーゼは、複数のサブユニットからなる高次構造体として存在した。各酵素の抗原性をイムノブロット法と ELISA 法で調べたところ、いずれもラテックスアレルギー患者や食物アレルギー患者の IgE 抗体によって特異的に認識される蛋白質であることがわかった。この結果は、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ゲンとなる可能性を示すものである。

Keywords: latex allergy, cross reactivity, defense-related protein

*¹ 新潟薬科大学

*² 国立小児病院小児医療研究センター

*³ 横浜市立大学医学部

矢上 健, 配島由二, 中村晃忠, 小宮山忠純*, 北川幸己*: β -1,3-グルカナーゼ活性を有するラテックス抗原 (Hev b 2) の糖鎖部分の役割

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, **1-2**, 67-71 (1997)
天然ゴムラテックスに含まれる塩基性 β -1,3-グルカナ

ーゼをコンカンナバリン A のアフィニティークロマトグラフィーに適用し、糖鎖に関する構造が異なる三種のイソ酵素(GI, GII, GIII)として分離した。各イソ酵素をイムノブロット法で調べた結果、糖鎖を有する蛋白質(GI, GII)のみがラテックスアレルギー患者の IgE 抗体によって特異的に認識されることがわかった。さらに、過ヨウ素酸ナトリウムで糖鎖構造を酸化分解した GI 及び GII には患者の IgE 抗体がほとんど結合しないことを、ELISA 法を用いて確認した。以上の結果は、IgE 抗体による β -1,3-グルカナーゼの特異的な認識に、その糖鎖部分が重要な役割を果たすこと示すものである。

Keywords: latex allergy, β -1,3-glucanase, sugar chain

* 新潟薬科大学

大砂博之^{*1}, 山本美穂^{*1}, 高橋さなみ^{*1}, 武川るみ^{*1}, 宮沢めぐみ^{*1}, 大沼すみ^{*1}, 大沢純子^{*1}, 北村和子^{*1}, 池澤善郎^{*1}, 椿 和文^{*2}, 矢上 健: 多種の食物にも感作された, ラテックスアレルギーの 1 例—第 2 報 ラテックス成分による検査結果を中心に

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 1-2, 72-77(1997)
植物の生体防御に関与すると考えられる三種の加水分解酵素(β -1,3-グルカナーゼ, キチナーゼ/リゾチーム, カルボキシエステラーゼ)を天然ゴムラテックスから分離し、そのアレルギー性をヒスタミン遊離テストとプリックテストで調べた。その結果、ヒスタミン遊離テストではいずれの酵素も、またプリックテストでは β -1,3-グルカナーゼとカルボキシエステラーゼが陽性反応を示した。この実験結果から、少なくとも β -1,3-グルカナーゼとカルボキシエステラーゼの二種は、実際にアレルギー反応を引き起こす蛋白質であることが示された。

Keywords: latex allergy, defense-related protein, prick test

^{*1} 横浜市立大学医学部

^{*2} AFT 研究所

Futaki, S.^{*1}, Ishikawa, T.^{*2}, Niwa, M.^{*2}, Kitagawa, K.^{*3} and Yagami, T.: **Embodying a stable α -helical protein structure through efficient chemical ligation via thioether formation**

Bioorganic & Medicinal Chemistry, 5, 1883-1891(1997)
ハロアセチル化したヘリックスペプチドを、ケミカルリグーションによりシステイン含有ヘリックス構造体に次々と導入するという、人工蛋白質の新しい構築法を開発した。この手法では合成中間体となるペプチドに多くの保護基を導入する必要がなく、HPLC を用いて簡単に精製することができる。また、導入したセグメント間にジスルフィド架橋を形成させることも可能であった。新規構築法で化学合成した four-helix-bundle protein は、カオトロピックイオンによる変性や熱変性に対して安定であり、また酵素活性に対しても抵抗性を示した。

Keywords: α -helical protein, chemical ligation, artificial protein

^{*1} 京都大学化学研究所

^{*2} 徳島大学薬学部

^{*3} 新潟薬科大学

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠: ゴム製品中の 2-Mercaptobenzimidazole 系老化防止剤の分析
衛生化学, 44, 99-106(1998)

MBI 系老化防止剤である MBI, 4MMBI, 5MMBI の HPLC による同時分析法について検討した。メタノール及びテトラヒドロフランを移動相に用いた場合は 4MMBI

と 5MMBI が分離しなかったが、アセトニトリルを移動相に用いた場合はこれらが分離した。さらに 0.1 M リン酸塩緩衝液を移動相に用いたところ、4MMBI と 5MMBI の分離が大きく改善された。最大の分離が達成されたのは、移動相に 0.1 M リン酸塩緩衝液(pH 6.5)/アセトニトリル(87/13)を用いた場合であり、この時の 4MMBI と 5MMBI の分離度は 1.1 であった。また、ゴム製品中から MBI 系老化防止剤を抽出する溶媒としてはメタノールが最も適していた。市販のゴム長靴 12 製品について分析したところ、MBI は 4 製品に含まれており、その含有量は 11.5~67.7 μ g/g であった。しかし、4MMBI 及び 5MMBI はいずれの製品にも含まれていなかった。

Keywords: 2-mercaptobenzimidazole, rubber, antioxidant

中島晴信^{*1}, 大森裕子^{*2}, 伊佐間和郎, 浅野陽子^{*2}, 寺地吉弘^{*2}, 松永一朗^{*1}, 宮野直子^{*1}, 鹿庭正昭: 抗菌防臭加工剤の安全性評価に関する研究—大阪府下における抗菌加工製品の市場実態調査—

大阪府立公衆衛生研究所研究報告, 35, 109-117(1997)
抗菌防臭加工剤の安全性評価の研究の一環として、平成 3 年度から 6 年間に亘って大阪府下の販売店で抗菌加工製品の市場実態調査を行ってきた。調査した店舗は 47 店舗で、調査件数は 1,113 件になった。その結果、加工薬剤の表示のある製品は 20.3% しかなく、ブランド名などから推測しても 39.2% の製品の薬剤しか判明しなかった。つまり市販製品に使用されている薬剤は殆ど表示されていないため、消費者が抗菌薬剤の情報を知らされていない実態が明らかとなった。

Keywords: antimicrobial and deodorant agents, marketing research, data base system

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*2} 大阪府環境保健部

中島晴信^{*1}, 大森裕子^{*2}, 伊佐間和郎, 松永一朗^{*1}, 宮野直子^{*1}, 浅野陽子^{*2}, 寺地吉弘^{*2}, 鹿庭正昭: 抗菌防臭加工製品の市場調査手法の確立と調査結果
衛生化学, 44, 138-149(1998)

抗菌防臭加工剤の安全性評価の研究の一環として、研究機関と行政機関が協力して平成 3 年度から 6 年間に亘って大阪府下の販売店で抗菌加工製品の市場実態調査を行ってきた。この調査結果は研究用に作成した「抗菌防臭データベースシステム」に含まれる「市場調査データベース」に入力し、他の調査結果のデータベース(薬剤データベースなど)とリンクさせ、評価解析を行った。その結果、加工薬剤の表示のある製品は 20.3% しかなく、ブランド名などから推測しても 39.2% の製品の薬剤しか判明しなかった。この調査結果は他の調査(分析調査等)を行う際に活用し、家庭用品の安全性確保に役立ててきた。

Keywords: antimicrobial and deodorant agents, marketing research, data base system

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*2} 大阪府環境保健部

Nakaoka, R., Tsuchiya, T., Kato, K.^{*}, Ikada, Y.^{*} and Nakamura, A.: **Studies on tumor-promoting activity of polyethylene: inhibitory activity of metabolic cooperation on polyethylene surfaces is markedly decreased by surface modification with collagen but not with RGDS peptide**
J. Biomed. Mater. Res., 35, 391-397(1997)

種々のタンパク質で表面修飾を行ったポリエチレンフィルムが発癌プロモーション活性を、細胞間連絡機能阻害活

性を指標として評価した。その結果、未修飾のフィルムでは細胞間連絡機能の阻害が認められたが、コラーゲンを修飾することによりその阻害は大きく抑制されることが認められた。しかしながら、細胞接着に関連するRGDSペプチドを表面修飾したフィルムでは、その阻害活性の低下は認められなかった。これらのことより、コラーゲン修飾による細胞間連絡機能阻害活性の抑制は、修飾によってポリエチレンフィルムの細胞接着性が改善されたためではなく、細胞間の認識がコラーゲン分子によって何らかの影響を受けたためであることが示唆された。

Keywords: tumor promotion, gap-junctional intercellular communication, collagen immobilization

* 京都大学生体医療工学研究センター

Nakaoka, R., Tabata, Y.*, Yamaoka, T.* and Ikada, Y.*:
Prolongation of the serum half-life period of superoxide dismutase by poly(ethylene glycol)modification

J. Controlled Release, **46**, 253-261(1997)

種々の分子量をもつポリエチレングリコール(PEG)を用いて、種々の修飾率のPEG-スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)結合体を調製した。これらの結合体の静脈投与後の体内動態をマウスを用いて検討したところ、PEG修飾により腎臓への分布が低下し血中半減期が増大することが認められた。また、血中半減期に関しては、用いたPEGの分子量および結合体のPEG修飾率にかかわらず、結合体分子の見かけの大きさに最も影響を受け、その半減期は同程度の大きさをもつPEG分子から予想できることが明らかとなった。

Keywords: poly(ethylene glycol), chemical modification, serum half-life period

* 京都大学生体医療工学研究センター

土屋利江：**高分子材料のin vitro発癌プロモーション活性**
高分子論文集，**55**，314-322(1998)

高分子材料の発癌性評価方法を確立するために、in vitro試験系を導入し、材料に接着した細胞の癌化過程を明らかにした。ポリウレタンをモデル材料として検討し、弱い発癌イニシエーション作用と比較的強い発癌プロモーション作用が存在することを明らかにした。さらに、この発癌プロモーション作用には、細胞間連絡に重要なコネクシンの機能阻害が密接に関わっていること、また、この機能を阻害する強度が、材料の腫瘍原性強度と高い相関性があることを示した。

Keywords: connexin, tumor-promoting activities, bio-materials

Tsuchiya, T., Nakamura, A., Ohshima, Y., Kobayashi, E.*, Doi, H.*, Yoneyama, T.* and Hamanaka, H.*:
Chondrogenic cellular responses to titanium and zirconium alloys in vitro

Tissue Engineering, **4**, 197-204(1998)

塩化チタンと塩化ジルコニウムをラット肢芽細胞培養系で試験した結果、塩化チタンの方が塩化ジルコニウムに比べて、軟骨分化を阻害した。純チタン、純ジルコニウム、チタン-ジルコニウム合金(1/1)のディスク上で肢芽細胞を培養した結果、純チタン金属上の細胞の軟骨分化が最も阻害された。一方、チタン金属上に被膜として存在する酸化チタンでは、そのような阻害作用は、我々の実験条件下ではほとんど認められなかった。従って、チタン金属では、細胞の腐食作用により、チタンイオンが溶出し、その結果軟骨分化が阻害されたものと考えられる。一方、チタン

-ジルコニウム合金、純ジルコニウムでは耐食性が高いためにイオンの溶出が少なくその結果、分化阻害が生じにくい事が明らかになった。

Keywords: chondrogenesis, titanium, zirconium

* 東京医科歯科大学・医用器材研究所

浜中人士*, 土屋利江：**生体材料としてのステンレス鋼とチタン合金**

ふえらむ，**2**，508-514(1997)

ステンレス鋼とチタン合金の生体適合性について、問題点を明らかにした。ヒトに使用したステンレス鋼の腐食例を示した。ステンレス鋼の基本的組成であるFe-Cr系について、クロム含有量を段階的に変化させたCr-Fe合金の板を、動物に埋植した。4ヶ月後の血液、腎臓および肝臓中のCrイオン濃度を調べた結果、10-20%Crを含む合金で溶出しやすい傾向があることを示した。ステンレス鋼に比べて、チタン合金は耐食性が良く、生体適合性の優れた金属材料として期待できる。

Keywords: stainless steel, titanium alloy, biomaterials.

* 東京医科歯科大学・医用器材研究所

鹿庭正昭：**ゴムによる遅延型アレルギーの原因究明：現状と今後の課題**

日本ラテックスアレルギー研究会誌，**1(2)**，10-18(1997)

1980年初めから、ゴムによる遅延型(IV型)アレルギーであるアレルギー性接触皮膚炎事例の原因究明に取り組んできた。すなわち、臨床皮膚科医が患者でのパッチテストを、毒性学者が実験動物での皮膚テストを実施するのと並行して、原因製品の化学分析を行うというシステムで、アレルギー性接触皮膚炎の原因究明の研究を進めてきた。その成果について、最近のゴムによる即時型(I型)アレルギーの話題等とともに、概説した。

Keywords: delayed type allergy, rubber, causative chemical investigation

入江和夫*, 前田典子*, 吉田啓子*, 鹿庭正昭：**学校、公園遊具から収集した塗膜中の鉛分析**

日本家政学会誌，**48(12)**，1103-1109(1997)

中学校、小学校、幼稚園、保育園及び公園において塗膜を採取し、原子吸光度法により鉛濃度を定量した。その結果、試料44点中42点が米国消費者製品安全委員会(CPSC)による基準である0.06%を越えていた。また、44点中34点が、1992年に鉛による健康被害防止のための目安値とされた0.5%を越えていた。以上のように、日本においても、子供たちの周辺に存在する鉛濃度は、いまなお健康影響が懸念されるレベルにあることを明らかにした。

Keywords: lead, paint, school

* 山口大学教育学部

Shintani, H.: **The use of two or more microorganisms versus one microorganism in the carrier materials for biological indicators**

Biomedical Instrumentation Technology, **31**, 387-390(1997)

製品上に存在する生育微生物数を国際規格(ISO)ではバイオバーデンと称している。一般の製品に対する滅菌保証はバイオバーデン菌の死滅で確認する。バイオバーデン菌の存在は多菌種/同一担体の生物指標に相当する。しかしながらISO規格では同一担体に種々の菌体が混在すると菌の干渉で抵抗性が変化するという理由で1菌種/1担体

のみの生物指標が認められた。もし菌の間で干渉の可能性が考えられるとすれば1菌種/1担体のみの生物指標の抵抗性は多菌種/同一担体と同一であるバイオバーデンの滅菌保証の指標にはならないことになる。それゆえ干渉の有無を種々の菌株並びに滅菌方法も変え、培地も変化させて影響を調べた。その結果推察されたような菌体間の干渉に拠る菌の抵抗性の差は認められなかった。

Keywords: Biological indicator, Bioburden, Resistance interference

Shintani, H: **Pretreatment and analysis of toxic compounds in body fluids**

Polish J. Environm. Studies, **6**, 59-61(1997)

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な前処理法の開発が必要である。尿素は親水性の成分であるため、血中親水性成分との分離が必要である。そのために固相抽出、液-液抽出、限外ろ過などでの前処理の効果を比較した。同時に尿素分析のため逆相高速液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー並びにミセル電気泳動での分離能を比較した。その結果、イオン交換樹脂による固相抽出と従来型のイオン交換クロマトグラフィーとの組合せが一番分離能がよかった。

Keywords: Urea, Ion exchange chromatography, Solid phase extraction

中村晃忠: **医療用具・機器のスタンダードと ISO**

未来医学, **14**, 28-32(1998)

医療用具・機器の性能、安全性、品質の保証体系における各種スタンダードの意義と国際規格(ISO)との関連性について以下のように論述した: (1)医療用具スタンダードの必要性; (2)医療用具の多様性、国際化と ISO; (3)国内事情と矛盾しない良質な ISO の条件; (4)階層的な医療用具スタンダード作り; (5) ISO は国際戦略の場でもある; (6)国内体制整備の提言; (7)インターネット利用の提案。

Keywords: Standards of medical devices, ISO

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Measurement of uncertainty and discrimination limit in purity tests of drug quality**

J. Pharm. Biomed. Anal., **15**, 697-708(1997)

濃度の異なる2つのサンプルを測定でどの程度精度よく区別できるかという問題を扱った。用いた分析機器の精度の濃度依存性が分かれば、2つの濃度を区別できる確率を計算できることを理論的に示した。

Keywords: discrimination limit, precision, 1/f noise

Poe, R.B., Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Precision-optimization of wavelengths in diode-array detection in separation science**

Anal. Sci., **13**, 951-962(1997)

キャピラリー電気泳動における多波長検出では、ある波長(単独)または波長の組み合わせによって測定値の精度が変化する。この精度をそれぞれ波長のシグナル強度とベースラインノイズから予測する理論を導き、実測値と比較した。結果は良好であった。

Keywords: capillary electrophoresis, precision, 1/f noise

徳永裕司, 内野 正, 安藤正典: **エチルパラベンを透過指標物質とする界面活性剤のモルモットの剥離皮膚への影響**

化粧品科学会誌, **21**, 114-120(1997)

界面活性剤の皮膚に対する安全性あるいは経皮的な透過増強活性を研究するため、8種類のアニオン性、9種類のカチオン性及び12種類の非イオン性界面活性剤のモルモットの剥離皮膚に対する影響を Franz 型拡散セル及び透過指標物質としてエチルパラベン(EP)を用いて検討した。Sodium dodecanesulfonate, cetyltrimethyl ammonium chloride, polyoxyethylene(20) sorbitan monolaurate 及び polyoxyethylene(10) oleyl ether は positive control の sodium dodecyl sulfate より大きな EP の皮膚透過速度を与えた。アニオン性界面活性剤の皮膚に対する影響は脂肪族炭化水素鎖の炭素数に依存し、炭素数12のものが最も大きな影響を与えた。この結果は、既に報告したメチルパラベンあるいはサリチル酸を透過指標物質に用いて検討した結果と一致していた。非イオン性界面活性剤の親水性親油性バランスと EP の透過速度の間には相関関係は観察されなかった。

Keywords: ethylparaben, skin, surfactants

Natori, Y.^{*1}, Natori, Y.^{*1}, Nishimura, T., Yamabe, H.^{*2}, Iyonaga, K.^{*3}, Takeya, M.^{*3} and Kawakami, M.^{*4}: **Production of monocyte chemoattractant protein-1 by cultured glomerular epithelial cells: Inhibition by dexamethasone**

Exp. Nephrol., **5**, 318-322(1997)

糸球体腎炎の原因の一つは、糸球体上皮細胞が障害を受けた結果、サイトカインの働きにより単球親和性タンパク質(MCP-1)の合成が促進され、単球もしくはマクロファージの糸球体での通過不良が引き起こされるためであろうと考えられている。この推定を証明するために、単球親和性タンパク質の合成変化を培養糸球体上皮細胞を用いて調べた。糸球体上皮細胞をサイトカイン処理することにより mRNA の発現が見られ、デキサメサゾン処理により発現抑制がかかった。タンパク合成の変動も mRNA の変化と同様の結果となった。グルコルチコイドによる治療効果は、このタンパク質の生合成抑制の作用によるものと示唆される。

Keywords: chemokine, glomerular epithelial cell, monocyte

*1 国立国際医療センター研究所

*2 弘前大学医学部

*3 熊本大学医学部

*4 自治医科大学大宮医療センター

Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T., Ando, M.: **Changes in cytochrome P450 enzymes by 1,1-dichloroethylene in rat liver and kidney**

Arch. Toxicol., **72**, 9-16(1997)

1,1-ジ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1,1-ジクロロエチレン(200, 400及び800 mg/kg)を1日1回4日間腹腔内投与し、シトクロム P450 (肝臓及び腎臓)の変動について検討した。肝臓のテストステロン2a-ヒドロキシラーゼ活性及び CYP2C11 レベルは、1,1-ジクロロエチレン(800 mg/kg)で有意に減少した。一方、腎臓のクロルゾキサゾン6-ヒドロキシラーゼ活性及び CYP2E1 レベルは1,1-ジクロロエチレン(800 mg/kg)で有意に増加した。以上の結果より、1,1-ジクロロエチレンの毒性発現には、肝 CYP2C11 及び腎 CYP2E1 が関与している可能性が示唆された。

Keywords: 1,1-dichloroethylene, cytochrome P450

Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T., Ando, M.: **Changes in hepatic cytochrome P450 enzymes by cis- and trans-1,2-**

dichloroethylene rat*Xenobiotica*, **28**, 41-51(1998)

1,2-ジ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、雌雄ラットに7.5 mmol/kgの cis-及び trans-1,2-ジクロロエチレンを1日1回4日間腹腔内投与し、肝シトクロム P450 の変動について検討した。雄ラットのテストステロン2 α -ヒドロキシラーゼ活性は、いずれの異性体でも有意に減少し、その活性は、対照群の53及び63%であった。抗ラット CYP2C11/6 を用いたウエスタンブロットティングからもこれら化合物投与による CYP2C11 レベルの有意な減少が認められた。雄ラットのテストステロン6 β -ヒドロキシラーゼ活性及び CYP3A2 レベルは、cis-1,2-ジクロロエチレン投与でのみ有意に減少した。一方、1,2-ジクロロエチレンは、CYP1A2 及び CYP2B2 の酵素活性及びアポブロテンレベルを誘導し、雄ラットにおいて1,2-ジクロロエチレンによる肝シトクロム P450 分子種の変動パターンは異性体により異なることが示唆された。しかし、雌ラットの肝シトクロム P450 はいずれの異性体でも影響を受けなかった。以上の結果より、1,2-ジクロロエチレン毒性発現には、雄特異的 P450 分子種の変動が何らかの形で関与していることが示唆された。

Keywords: 1,2-dichloroethylenes, cytochrome P450

Jinno, H., Hanioka, N., Onodera, S.^{*}, Nishimura, T. and Ando, M.: **Irgasan^R DP 300 (5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol) induces cytochrome P450s and inhibits heme biosynthesis in rat hepatocytes cultured on Matrigel** *Xenobiotica*, **27**, 681-692(1997)

典型的な2-クロロフェノキシフェノール(プレダイオキシシン)化合物であるイルガサン DP300 のラット肝細胞に対する影響を検討した。イルガサン DP300 は肝細胞の7-ペンチルオキシレゾルフィン O-デベンチラーゼ活性及び7-ペンチルオキシレゾルフィン O-デベンチラーゼ活性を顕著に誘導した。また、抗ラット CYP 抗体を用いたウエスタンブロットティングでも CYP2B1/2 タンパク質の増加が確認されたことから、イルガサン DP300 はフェノバルビタール型の P450 誘導物質であることが明らかになった。一方、イルガサン DP300 は5-アミノレブリン酸存在下で肝細胞のウロポルフィリン I 蓄積を引き起こした。ラット肝細胞質画分を用いた *in vitro* での実験から、イルガサン DP300 はウロポルフィリンノーゲン III シンターゼの阻害によってウロポルフィリン I を蓄積させることが明らかになった。

Keywords: rat hepatocytes, cytochrome P450, heme biosynthesis

^{*} 東京理科大学薬学部

Jinno, H., Hanioka, N., Nishikawa, S.¹, Yoda, R.¹, Toyooka, T.², Nishimura, T. and Ando, M.: **Hepatotoxicity of diisopropyl ester of malonic acid and chloromalonic acids, disinfection by-products of the fungicide isoprothiolane**

Arch. Toxicol., **71**, 550-555(1997)

殺菌剤イソプロチオランの塩素処理生成物であるマロン酸ジイソプロピル(DM)、クロロマロン酸ジイソプロピル(DCM)及びジクロロマロン酸ジイソプロピル(DDCM)の細胞毒性を、マトリゲル上で培養した肝細胞を用いて検討した。その結果、DCM と DDCM はエステラーゼによる加水分解で解毒されること、エステル型の DCM と DDCM は脂質過酸化によって肝細胞死を引き起こすことが明らかになった。また、各種誘導剤で処理したラット肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 脂質過酸化の実験から、

DCM の代謝活性化にはデキサメサゾンで誘導される P450 分子種、恐らく CYP3A が関与していることが示唆された。

Keywords: rat hepatocytes, cytochrome P450, lipid peroxidation

¹ 共立薬科大学

² 静岡県立大学薬学部

Jinno, H., Hanioka, N., Takahashi, A.¹, Nishimura, T., Toyooka, T.² and Ando, M.: **Comparative cytotoxicity of the aqueous chlorination products of thiobencarb, a thio-carbamate herbicide, incultured rat hepatocytes** *Toxicol. in Vitro*, **11**, 731-739(1997)

除草剤チオベンカーブ(TBC)の塩素処理生成物である4-クロロトルエン(CT)、4-クロロベンジルクロライド(CBC)、4-クロロベンジルアルコール(CBAL)、4-クロロベンズアルデヒド(CBAE)及び4-クロロ安息香酸(CBAD)の肝細胞毒性をチオベンカーブと比較した。その結果、24時間暴露の LC50 は CBC < TBC < CT < CBAL, CBAE < CBAD の順であり、CBC, BYC 及び CBAE の肝細胞毒性には膜脂質の過酸化が関与している可能性が示唆された。また、これらの化合物の肝薬物代謝酵素に対する影響について検討した結果、CBAD は CYP1A1 依存性の7-エトキシレゾルフィン O-デエチラーゼ活性、CBAE は CYP2B1/2 依存性の7-ペンチルオキシレゾルフィン O-デベンチラーゼ活性を誘導することが明らかになった。

Keywords: rat hepatocytes, lipid peroxidation, cytochrome P450

¹ (財)食品薬品安全センター秦野研究所

² 静岡県立大学薬学部

Matsuda, R., Hayashi, Y., Sasaki, K., Saito, Y., Iwaki, K.¹, Harakawa, H.¹, Satoh, M.¹, Ishizuki, Y.² and Kato, T.²: **Deductive Prediction of Precision in Measurement, Calibration and Standard Addition Method in Atomic Absorption Spectrometry for Cadmium**

Anal. Chem., **70**, 319-327(1997)

原子吸光法によるカドミウム分析値の標準偏差(SD)を、シグナルの揺らぎから FUMI 理論を用いて予測した。予測した SD はくり返し分析により求めた SD の値とよく一致した。原子吸光分析値の SD は濃度の増加と共に直線的に増加することが明らかとなった。各濃度での SD から、標準添加法における、添加デザインと得られた濃度の関係が計算できる。これを用いて、最も精度の高い添加方法を推定した。

Keywords: atomic absorption spectrometry, precision of measurement, standard addition method

¹ Center of Technology Department, Ebara Research Co. Ltd.

² Analytical Instruments Calibration Cooperative Society

石川雅章^{*}, 松田りえ子, 林 譲, 佐々木久美子, 豊田 正武: **高速液体クロマトグラフィーにおける検出下限の推定法の比較**

分析化学, **47**, 267-271(1998)

高速液体クロマトグラフィーにおける検出下限を求めるための以下の5種類の方法を比較した; (1) ベースライン揺らぎに基づく方法, (2) 測定値の標準偏差に基づく方法, (3) 測定値の相対標準偏差と濃度の関係に基づく方法, (4) 検量線の残差分散に基づく方法, (5) ベースラインノイズの強度に基づく方法。5方法は同等の検出下限を与え

た。(2)-(4)の方法はくり返し分析により空試験の標準偏差を推定する方法で、精密な推定のためには測定回数を多くする必要があり、全測定に長時間を要した。(5)の方法は空試験の標準偏差との理論的關係がない。(1)は理論的に空試験の標準偏差を予測する方法で、測定時間が短く、機器の日常管理に應用可能であった。

Keywords: limit of detection, FUM1 theory

* Numadzu Health Center

Nemoto, S., Sasaki, K., Toyada, M. and Saito, Y.: **Effect of Extraction Conditions and Modifiers on the Supercritical Fluid Extraction of 88 Pesticides**

J. Chromatogr. Sci., **35**, 467-477(1997)

残留農薬の多成分分析に対する超臨界流体抽出(SFE: Supercritical Fluid Extraction)条件の影響について、珪藻土(セライト)を用いて、88農薬(有機系農薬16, ピレスロイド系農薬8, 有機リン系農薬33種, カーバメート系農薬12, その他19)について検討した。モディファイヤーを用いない場合には極性の高い農薬はセライトから十分に回収されなかった。農薬の回収率を上げるには、検討したモディファイヤーのうち水の添加が最も効果的であった。また、メタノールも効果が見られたがこの場合には、添加によりカプタホール, キャプタン, ホスメット及びキノメチオネートの回収率の減少が見られた。検討により求めたセライト2gを用いた場合の最適なSFE条件は次の通り: モディファイヤーとして水4ml添加, CO₂密度0.70g/ml, CO₂流速2.0ml/分, 抽出温度50°C, 平衡化時間2分, 抽出時間20分, トラップ温度30°C。今回求めたSFE条件におけるセライトからの農薬の回収率は79農薬で90%以上であり, 残りの9農薬のうちアセフェート, メタミドフォス, プロパモカルブを除いた6農薬では70%以上であった。

Keywords: supercritical fluid extraction(SFE), pesticides, modifier

根本 了, 高附 巧, 松田りえ子, 佐々木久美子, 豊田正武: **GC/MS(SIM)による魚介類中の重油関連汚染物の分析**

食品衛生学雑誌, **39**, 31-38(1998)

魚介類中の重油関連汚染物の分析を実施した。重油汚染の指標として, 7種のn-アルカンベンゾ(a)ピレン(B(a)P)等7種の多環芳香族炭化水素(PAH)及びジベンゾチオフェン(DBT)を選び, GC/MS(SIM)による系統分析法を確立した。検出限界は, n-アルカンは2~3ppb, PAHは0.1~0.2ppb, DBTは0.2ppbであった。

本分析法を用いて, 流出重油による汚染を受けていない魚介類のバックグラウンド調査を実施し, 可食部から合計量でnd~531ppbのn-アルカン及びnd~15.5ppbのPAH(DBTを含む)を検出した。また, イカ及びホタテの内臓は可食部よりn-アルカン及びPAH濃度が高かった。

Keywords: fish, n-alkane, polycyclic aromatic hydrocarbon

Suzuki, T., Yamamoto, I.*¹, Yamada H.*², Kaniwa, N., Kondo, K. and Murayama, M.: **Accumulation, Metabolism, and Depuration of Organotin Compounds in the Marine Mussels *Mytilus graynus* and *Mytilus edulis* under Natural Conditions**

J. Agric. Food Chem., **46**, 304-313(1998)

自然条件下, 汚染の生物指標として用いられるイガイ *Mytilus graynus*, *Mytilus edulis* について約60-70日間にわたりトリ-n-ブチルスズ(TBT)の蓄積, 代謝, 排泄につい

て調べた。低濃度汚染海域で採取した *M. graynus* を高濃度に汚染した海域に移植し, 逆に高濃度汚染海域で採取した *M. edulis* を低濃度汚染海域に移植した。この結果, *M. graynus* は蓄積過程において10,500の濃縮係数を示した。*M. edulis* の主代謝物である Di-n-butyl(3-oxobutyl)tin は減衰過程で親化合物の TBT(4.82日)よりも長い半減期(8.13日)を示した。一方, もう一つの代謝物 di-n-butyl(3-hydroxybutyl)tin は短い半減期(3.98日)を示した。TBTとその代謝物の半減期の相違がサンプリング時のイガイの代謝パターンの相違として現れることが判明した。

Keywords: TBT, organotin, blue mussels

*¹ 北海道立衛生研究所

*² 水産庁中央水産研究所

Ueno, S.*¹, Suzuki, T., Susa N.*¹, Furukawa, Y.*¹ and Sugiyama, M.*²: **Effect of SKF-525A on liver metabolism and hepatotoxicity of tri- and dibutyltin compounds in mice**

Arch. Toxicol., **71**, 513-518(1997)

SKF-525A で前処理したマウスに tri-n-butyltin chloride (TBTC) 及び di-n-butyltin dichloride (DBTC) を投与し, 肝毒性を代謝との関連において検討した。SKF-525A で前処理したマウスに TBTC を投与した時, 肝の TBTC のレベルは4~10倍に増加し, 脱ブチル化体, 特に DBTC の量は3及び6時間後にコントロールの60及び37%となり, 同時に24時間後の肝毒性を完全に阻止した。TBTC 処理後, 24時間後には DBTC およびその誘導体の量は SKF-525A の処理の有無と無関係となり, 48時間後に肝毒性を生じた。また DBTC 処理群では, 肝において95%以上が DBTC のまま存在しており肝毒性は SKF-525A の前処理とは無関係に現れた。このことから肝毒性には DBTC が関与していると考えられた。

Keywords: butyltin compounds, hepatotoxicity, Cytochrome P450

*¹ 北里大学獣医畜産学部

*² あすなろ薬品

近藤一成, 穂山 浩, 合田幸広, 豊田正武: **HPLCによるモロヘイヤ及びその加工品中の強心作用成分の分析**

食品衛生学雑誌, **38**, 412-417(1997)

健康食品として注目されているモロヘイヤとその加工品について, それらの安全性を確保する目的でストロファンチジンをアグリコンとする強心配糖体のHPLC分析法を検討した。モロヘイヤ及び数種加工品の強心配糖体含有量を調査した結果, 種子には多量に含まれていた。莢には微量含まれるものの, 茎や野菜モロヘイヤ, 加工品である健康茶及び健康食品からは検出されなかった。

Keywords: *C. olerarius*, cardiac glycoside, HPLC

Yamada, M.*, Kato, Y.*, Nakamura, M.*, Yamada, T., Maitani, T. and Goda, Y.: **Structural determination of unknown subsidiary colors in Commercial Food Reds Nos. 2 and 102**

Chem. Pharm. Bull., **46**, 494-499(1998)

市販食用赤色102号及び2号中の主付随色素として, それぞれ色素A, B及び色素C, Dの単離を行った。各種機器分析の結果から, 色素A, B, Cの構造を trisodium salt of 7-hydroxy-8-(6-sulfonaphthyl-2-azo)-1,3-naphthalenedisulfonic acid, disodium salt of 4-amino-3-(4-sulfonaphthyl-1-azo)-1-naphthalenesulfonic acid, trisodium salt of 3-hydroxy-4-(6-sulfonaphthyl-2-azo)-2,7-naphthalene-

disulfonic acid acid と決定した。色素 D は色素 B と同一化合物であった。

Keywords : Food Red No.102, Food Red No.2, subsidiary color

* 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

合田幸広, 鈴木淳子, 米谷民雄: **ベニバナ黄色色素の主色素成分の構造決定及び市販製品中の主色素成分含量**
日食化誌, **4**, 54-58(1997)

天然着色料ベニバナ黄色色素の主色素成分である safflorin A の構造は, 従来報告されていた構造ではなく, hydroxy safflor yellow A と同じであることを, 主に NMR と HPLC-フォトダイオードアレイの分析結果より明らかにした。また, HPLC による定量結果より, 市販製品中の主色素成分は, safflorin A, B であり, 両色素ともほぼ等モルずつ含まれていることを示した。

Keywords : safflower yellow, Carthamus tinctorius, hydroxysafflor yellow A

山田真記子*, 加藤喜昭*, 中村幹雄*, 山田 隆, 米谷民雄, 合田幸広: **HPLC による市販食用赤色 2 号及び 102 号中の副成色素, 原料物質の実態調査**

日食化誌, **4**, 107-113(1997)

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おこなった。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, とくに 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)

合田幸広, 中村裕道, 坂元(佐々木)史歩, 石川恵子*, 米谷民雄, 山田 隆: **トウガラシ色素成分の光安定性について**

食衛誌, **38**, 240-247(1997)

トウガラシ色素の主色素成分の lauroylmyristoyl-capsanthin(LM-CP)と capsanthin(CP)の光安定性について, パプリカ粉末中, 市販色素溶液中, 単体溶液中で比較した。25℃の条件下, 4,000 Lux の照射後, HPLC を用い経時的に, 両色素量を分析した結果, 両色素ほぼ同様の安定性をもつことが明らかとなった。また, パプリカ粉末, 市販色素溶液で観察された照射初期の全トランス LM-CP の増加傾向は, シス異性体の構造変化の結果生じた可能性が高いことが判明した。溶媒を変えて実験を行った結果, 溶液中の LM-CP 及び CP の安定性は, 使用溶媒により大きく影響をうけることが判明した。

Keywords : esterified capsanthin, paprika color, photostability

* 千葉大園芸学部

Matufuji, H.^{*1}, Kusaka, T.^{*1}, Tukuda, M.^{*1}, Chino, M.^{*1}, Kato, Y.^{*2}, Nakamura, M.^{*2}, Goda, Y., Toyoda, M. and Takeda, M.^{*1}: **Structural determination of subsidiary colors in commercial Food Blue No.1(Brilliant Blue FCF) product**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **39**, 7-12(1998)

市販食用青色 1 号(B1)に含まれる付随色素について, フォトダイオードアレイ検出 HPLC を用い分析したところ, 5 つの付随色素の存在が確認された。それらの中で, 比較的存在量の多い色素 C, D, E を分取し, 単離した。

NMR 及び MS の分析結果より, C は, B1 のメタ位のスルホナト基がパラ位に置換した異性体, D は, スルホナト基がオルト位に置換した異性体, E は, スルホナトベンジル基が脱離した構造であることが判明した。

Keywords : Food Blue No.1, subsidiary color, Brilliant Blue FCF

*¹ 日本大学生物資源科学部

*² 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

Akiyama, H., Chen D., Miyahara, M., Goda, Y. and Toyoda, M. : **A rapid analysis of ochratoxin A in coffee beans and cereals**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 406-411(1997)

コーヒー豆, 米, 大麦, 小麦, とうもろこし中のオクラトキシン A の迅速でクロロホルムを使用しない分析法を開発した。食品試料からアセトニトリル-1%リン酸(9:1)でオクラトキシン A を抽出し, 陰イオン交換前処理カラム(Bond Elut DEA カラム)でクリーンアップした。調整された試料溶液は蛍光検出高速液体クロマトグラフで測定した。HPLC 分析はカラムに Capcell Pak C8, 移動相にアセトニトリル-水-酢酸(40:58:2)を用いて, 蛍光検出により行った。食品試料における 10 ng/g と 50 ng/g における平均添加回収率は各々 93.9% ± 3.9%, 96.1% ± 3.5% であった。検出限界はコーヒー豆, 米, 大麦, 小麦, とうもろこし試料で 0.05 ng/g であった。

Keywords : ochratoxin A, high-performance liquid chromatography (HPLC), solid-phase extraction

星野香織*, 穂山 浩, 合田幸広, 谷村顕雄*, 豊田正武: **3 種 in vitro 試験法による 10 種野菜抽出液の抗アレルギー活性評価について**

食衛誌, **39**, 72-77(1998)

ジュースに用いられる 10 種野菜のメタノール抽出物の HP-20 の 70% エタノール溶出画分について, 3 種 in vitro 試験法(ラット腹腔肥満細胞及び RBL-2H3 細胞を用いたヒスタミン遊離抑制試験, ヒアルロニダーゼ阻害活性試験)による抗アレルギー活性評価を行った。その結果, キャベツ抽出液は 3 種の試験法で, トマト, アカキャベツ及びクレスン抽出液は 2 種の試験法で 40% 以上の抑制活性を示すことが判明した。したがって, これら 4 種の野菜は, 一連の I 型アレルギー反応において複数の作用点で抑制的に働くことが推定され, 抗アレルギー機能を有する可能性が示唆された。

Keywords : antiallergic effect, rat basophilic leukemiocell, vegetable extract

* 昭和女子大学生生活機構研究科

佐藤恭子, 永山暢子, 坂元(佐々木)史歩, 米谷民雄: **ビートレッドの成分分析及び加熱実験**

日本食品化学学会誌, **4**, 120-125(1997)

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて市販ビートレッド 9 製品及びビート(Beta vulgaris LINNE)根水抽出液について, 色素成分の分析を行った。市販色素及びビート根水抽出液の主色素成分はベタニンとイソベタニンであり, ベタニンとイソベタニンは検出されなかった。ビート根水抽出液のベタニンとイソベタニンの含量比は 4 : 1 であったが, 市販色素では, すべてほぼ 1 : 1 であった。ベタニンとイソベタニンの含量和を JECFA 規格の赤色素含量値と比べたところ, 含量和(0.12~0.65%)は赤色素含量(0.14~0.70%)の 67~95% に相当した。ベタニン溶液の加熱実験により, ベタニン脱炭酸体と考えられる

化合物及びいくつかの黄色分解物が生成した。ベタニン脱炭酸体と考えられる化合物は加熱処理したビートレッド試薬溶液においても検出された。また、市販色素製品の中には、ベタニン脱炭酸体を含むものがあつた。

Keywords: beet red, betanin, degradation product

Kubota, H., Sato, K., Yamada, T., Maitani, T.: **Separation of respective species of phytochelatin and their desglycyl peptides(class III metallothioneins) and the precursors glutathione and γ -glutamylcysteine with capillary zone electrophoresis**

J. Chromatogr. A., **803**, 315-320(1998)

セイヨウアカネ培養根の培地中に金属を添加したときに誘導されるフィチケラチン(PC)類について、キャピラリー電気泳動による分離を試みた。従来のHPLCを用いた方法では、分析に約20分の時間を要し、グルタチオン(GSH)と γ -グルタミルシステイン(γ EC)を分離できないなどの問題点があつたが、本分析法では、EDTAを添加することにより、各PC類を6分以下と短時間に分離、検出できた。さらに、GSHと γ ECについても良好な分離を示した。

Keywords: phytochelatin, capillary zone electrophoresis, *Rubia tinctorum*

Sugimoto, N., Goda, Y., Suzuki, J., Kuroyanagi, M., Yamada, T., Yoshihira, K. and Maitani, T.: **Structures of Minor Pigments in Cochineal Dye**

Nat. Med., **52**, 135-139(1998)

コチニール色素原料のコチニールカイガラムシ中の主色素成分カルミン酸の含量を求めた。また、微量色素成分の構造を傾斜磁場各種二次元NMR測定法により、desoxyerythrolaccin (1,3,6-trihydroxy-8-methylanthraquinone)、と新規化合物 1,3-dihydroxy-8-methylanthraquinone と確定した。

Keywords: *Coccus cacti* L., carminic acid, 1,3-dihydroxy-8-methylanthraquinone

* 静岡県立大学

河村葉子, 辻 郁子, 杉田たき子, 山田 隆: **ステンレス製器具及び食器からの金属の溶出**

食品衛生学雑誌, **38**, 170-177(1997)

ステンレス製器具及び食器からの鉄, クロム, ニッケル, 鉛及びカドミウムの溶出について検討を行った。鉄, クロム, ニッケルにおいては, 溶出溶媒では水<4%酢酸<0.5%クエン酸, 溶出条件では室温24時間<60℃30分間<95℃30分間<沸騰2時間の順に, 溶出量が多くなった。市販及び使用中の器具及び食器について, 4%酢酸で60℃または95℃30分間の溶出試験を行ったところ, 新品では鉄50~1,110 ppb, クロム5~28 ppbの溶出が認められたが, 使用中の製品では検出頻度, 検出値ともに低く, 繰り返しの使用により溶出量が低下するものと考えられた。また, 鉛は使用中の製品1検体から検出されたが, 25 ppbと微量であった。一方, カドミウム及びニッケルはいずれの製品からも検出されなかった。

Keywords: iron, chromium, nickel

河村葉子, 渡辺一成, 左山佳代, 武田由比子, 山田 隆: **GC/MSによるポリエチレン中のポリマー用添加剤の一斉分析法**

食品衛生学雑誌, **38**, 307-318(1997)

ポリエチレン製品中の酸化防止剤21種類, 紫外線吸収剤

9種類, 滑剤20種類及び可塑剤3種類の合計53種類の添加剤について, GC/MSによる一斉分析法を検討した。無極性のヒューズドシリカまたはステンレスキャピラリーカラム長さ5mを用い, 50℃から300℃までの昇温分析を行った。また, できるだけ特異性の高いフラグメントイオンを用いることにより, ほほすべての添加剤の分別定量が可能となった。回収率はDSTDP及びhexacosaneを除き, 200 μ g/g添加で70.0~123.3%, 1,000 μ g/g添加で72.4~127.0%と良好であった。また定量限界は50~500 μ g/gであった。さらに, 市販のポリエチレン製品中の添加剤の残存について調査を行った。

Keywords: antioxidants, ultraviolet stabilizers, lubricants

河村葉子, 杉本直樹, 武田由比子, 山田 隆: **食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定**

食品衛生学雑誌, **39**, 110-119(1998)

食品用ポリスチレン製品に類出する未知物質群について, GC/MS及びNMRにより同定を行った。これらのうち13化合物は, 1,3-diphenylpropane, スチレンダイマーである1,2-diphenylcyclobutaneのシス及びトランス体, 2,4-diphenyl-1-butene, スチレントリマーである2,4,6-triphenyl-1-hexene, 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralinの異性体, triphenylcyclohexane, スチレンテトラマーである2,4,6,8-tetraphenyl-1-octeneの異性体, スチレンペンタマーである2,4,6,8,10-pentaphenyl-1-deceneと確定または推定された。これらの化合物は, ポリスチレン製造工程における副生成物であり, その後の工程においても除去されることなく, 最終製品中に残存したのと考えられる。

Keywords: polystyrene, styrene dimers, styrene trimers

Ishiwata, H., Nishijima, M.^{*1}, Fukasawa, Y.^{*2}, Ito, Y.^{*3}, Yamada, T.: **Evaluation of the contents of antifungal agents allowed as food additives in foods and the daily intake deduced from the results of the official inspection in Japan in fiscal year 1994**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 296-306(1997)

1994年度の全国の行政検査の結果を基に, 食品添加物として指定されている防かび剤(ジフェニル, イマザリル, オルトフェニルフェノール, チアベンダゾール)の使用実態と推定摂取量を求めた。全検査件数は6,633検体であった。かんきつ類中の濃度は, 使用基準の各々0.3%, 12.2%, 3.9%, 9.5%であったバナナ(全果)中のイマザリルは0.2%, チアベンダゾールは0.2%, 果肉中0.5%であった。1日摂取量は, 全てのかんきつ類が皮ごと喫食されたとして, 上記の順に, 2.64, 8.77, 14.1, 34.5 μ g/人で, ADIの0.7%以下であった。摂取量に対する加工食品(マーマレード, ジャム)の寄与率はジフェニルの24.6%以外は2.1%以下であった。不検出試料中の濃度を検出限界値と仮定したときの摂取量はADIの0.8%であった。

Keywords: antifungal agent, content, 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

Ishiwata, H., Kato C.^{*}, Suigita, T., Kawasaki, Y., Yamada, T.: **Substitutive solvents for chloroform in the identification test for ergocalciferol and cholecalciferol in the Japanese Standards for Food Additives**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 190-192(1997)

食品添加物公定書中のエルゴカルシフェロールとコレカルシフェロールの確認試験におけるクロロホルムの代替え

溶媒の検討を行った。ジエチルエーテル、酢酸エチル、n-ヘキサン、トルエン、キシレンのうち、トルエンを用いた場合に、発色時における色調の変化と発色強度はクロロホルムを使用したときに最も近い結果が得られた。また、無水酢酸の量を増加することにより、操作及び観察上の容易さが認められた。

Keywords: Japanese Standards for Food Additives, identification test for vitamin D, chloroform

* 麻布大学環境保健学部

Ishiwata, H., Nishijima, M.^{*1}, Fukasawa, Y.^{*2}, Ito, Y.^{*3}, Yamada, T.: **Evaluation of preservative contents in foods and the daily intake deduced from the results of the official inspection in Japan in F.Y. 1994**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **38**, 145-154 (1997)

1994年度の全国の行政検査の結果を基に、保存料である安息香酸、デヒドロ酢酸、p-ヒドロキシ安息香酸エステル、プロピオン酸及びソルビン酸の使用実態と推定摂取量を求めた。検査検体数は72,606検体であった。使用が許可されている食品中の保存料の濃度は、使用基準の各々8.8%, 0.7%, 8.8%, 2.8%, 16.2%であった。1日摂取量は上記の順に、11.0, 0.0769, 1.37, 3.88, 32.9 mgで、ADIの5%以下であった。摂取量に対して最大の寄与率を占めた食品は、上記の保存料の順に清涼飲料水86.8%, 菓子55.7%, 醤油51.8%, パン87.0%, 魚肉練り製品28.3%であった。

Keywords: preservative, concentration, 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

大田光恵*, 成田美加子*, 三好智子*, 糸山智子*, 木村実加*, 小林美穂*, 越智礼子*, 関口幸弘*, 鯉口智*, 平原嘉親*, 長谷川眞住*, 宮田昌弘*, 鎌倉和政*, 前田憲二*, 乙益道隆*, 石綿 肇: **GC/MSによるチューインガム中のBHA, BHT及びTBHQの分析法**

食品衛生学雑誌, **38**, 78-84 (1997)

チューインガム中のブチルヒドロキシアニソール、ジブチルヒドロキシトルエン、ターシャリーブチルヒドロキノンについて、GC及びGC/MSによる一斉分析法を検討した。酸化防止剤をアセトニトリルで抽出し、溶媒留去後、酢酸エチルに溶解し試験溶液とした。抽出操作が簡易で、ガムベースの試験溶液への移行も抑制できた。試料中の濃度として100 ppmを添加したときの回収率はブチルヒドロキシアニソール及びジブチルヒドロキシトルエンで80%以上、ターシャリーブチルヒドロキノンで70%以上であった。検出限界はGCで1 ppm, GC/MSで0.1 ppmであった。

Keywords: antioxidant, chewing gum, GC/MS,

* 神戸検疫所輸入食品・検査検査センター

Kurihara, M., Ishii, K., Kasahara, Y., Kameda, M., Pathak, A. K. and Miyata, N.: **Stereoselective epoxidation of acyclic allylic ethers using ketone-Oxone system**

Chem. Lett., 1015-1016 (1997)

均一系溶媒中、ケトン-オキソン系を用いた鎖状アリルエーテル化合物の立体選択的エポキシ化反応を開発した。また、アリルエーテルの構造と選択性の関係を明らかにした。

Keywords: dioxirane, stereoselective epoxidation, allylic ether

Miyata, N. and Yamakoshi, Y.: **Biological Actions of [60]Fullerene under Photoirradiation Conditions**

Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials, **5**, 345-357 (1997)

[60]フラーレンは光増感作用があり、光照射下で効率良く活性酸素種を発生する。光励起した[60]フラーレンの生物作用を調べ、ポリビニルピロリドン水溶化した[60]フラーレンが、変異原性、脂質過酸化、8-OH-dGの生成やDNA鎖の切断などのDNA損傷作用を示すことを明らかにした。これらの生物作用の発現メカニズムについても解析を行った。

Keywords: fullerene, biological activity, photoexcitation

Yamakoshi, Y., Yamazaki, E., Sueyoshi, S. and Miyata, N.: **Hemolytic Effect of Photoexcited [60]Fullerene**

Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials, **5**, 238-243 (1997)

光照射下においてフラーレン類の生体膜への影響を調べる目的で、ウサギ赤血球を用いて溶血実験を行った。その結果、C₆₀、C₇₀ともに可視光の照射下でのみ濃度依存的に溶血が見られた。活性は還元剤の存在下で強められ、スーパーオキシドの関与したType Iのメカニズムによるものと考えられた。

Keywords: fullerene, hemolysis, superoxide

Iwata, N.^{*1}, Mukai, T.^{*1,2}, Yamakoshi, Y., Hara, S.^{*1}, Yanase, T.^{*1}, Shoji, M.^{*2}, Endo, T.^{*1,2} and Miyata, N.: **Effect of C₆₀, a fullerene, on the activities of glutathione S-transferase and glutathione-related enzymes**

Fullerene Sci. Technol., **5**, 213-226 (1998)

C₆₀がグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)活性やグルタチオン還元酵素活性等に及ぼす影響を解析し、C₆₀がエタクリン酸やフェニルブテノンを基質とするGST活性を阻害することを明らかにした。精製したGST-paiを用いた実験により、C₆₀によるGST阻害は基質であるエタクリン酸に対して非拮抗的であることが明らかになった。

Keywords: fullerene, glutathione S-transferase, enzyme inhibitor

^{*1} 東京医科大学法医学

^{*2} 東京都監察医務院

Nakajima, O., Hachisuka, A., Takagi, K., Yamazaki, T., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: **Expression of opioid-binding cell adhesion molecule(OBCAM) and neurotrimin(NTM) in E. coli and their reactivity with monoclonal anti-OBCAM antibody**

NeuroReport, **8**, 3005-3008 (1997)

OBCAM (オピオイド結合性細胞接着分子), neurotrimin, LAMP (辺縁系関連膜タンパク)は高い相同性を有することが報告された。我々が調製した抗OBCAMモノクローナル抗体OBC53のこれらのタンパクに対する反応特異性を調べて、OBC53がOBCAMを特異的に認識することを明らかにした。そして、OBC53はOBCAMの性質を検討する際に有用であることを示した。

Keywords: OBCAM, neurotrimin, monoclonal antibody

Teshima, R., Saito, Y., Ikebuchi, H., Silva, N. R. J.^{*1}, Morita, Y.^{*1}, Nakanishi, M.^{*2}, Sawada, J. and Kitani, S.^{*1}: **Effect of an ectokinase inhibitor, K252b, on degranulation and Ca²⁺ signals of RBL-2H3 cells and human basophils.**

J. Immunol., **159**, 964-969 (1997)

ラット好塩基球(RBL-2H3)細胞及び人好塩基球細胞からの脱顆粒反応におよぼすエクトキナーゼ阻害剤 K252b の影響を調べたところ、IgE-受容体の架橋形成に伴う脱顆粒反応に対して用量依存的な抑制がみられ、IC₅₀ は、それぞれ 0.5 µg/ml, 1.5 µg/ml であった。K252b は、RBL-2H3 細胞において、IgE-受容体架橋形成に伴う細胞内カルシウム濃度上昇抑制作用、及び130 kDa の細胞表面蛋白質リン酸化抑制作用を有していた。このことから、好塩基球細胞の IgE-受容体の架橋形成に伴う活性化過程においてエクトキナーゼの関与すること、また、エクトキナーゼによるリン酸化反応は、IgE-受容体の架橋形成に伴うカルシウム濃度上昇に関与している可能性が示された。

Keywords: ectokinase, degranulation, basophils

^{*1} 東京大学医学部

^{*2} 名古屋市立大学薬学部

Teshima, R., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M. and Sawada, J.: **Simple spectrophotometric analysis of passive and active ear cutaneous anaphylaxis in the mouse**

Toxicology Letters, **95**, 109-115(1998)

BALB/c マウス耳介を用いる同種 PCA (受動皮膚アナフィラキシー) 試験並びに ACA (能動皮膚アナフィラキシー) 試験の定量的解析法を検討したところ、ハンディタイプ比色計を用いる *in situ* 測定法が、定量法としてすぐれていることが判明した。

Keywords: PCA, ACA, spectrophotometric analysis

Matsuoka, M.^{*1}, Nomaguchi, H.^{*1}, Yukitake, H.^{*2}, Ohara, N.^{*2}, Matsumoto, S.^{*2}, Mise, K. and Yamada, T.^{*2}: **Inhibition of multiplication of *Mycobacterium leprae* in mouse food pads by immunization with ribosomal fraction and culture filtrate from *Mycobacterium bovis* BCG.**

Vaccine, **15**, 1214-1217(1997)

BCG から取ったリボゾム分画と培養ろ液は共に癩菌のマウスのパッド感染を阻止した。本報告は BCG 由来のリボゾムや培養ろ液が癩菌の増殖阻害を示すことを示した最初の報告である。阻害は培養ろ液のほうが顕著であった。

Keywords: *Mycobacterium leprae*, BCG, ribosomal fraction

^{*1} 国立感染症研究所

^{*2} 長崎大学歯学部

Tanamoto, K.: **Production of nontoxic lipid A by chemical modification and its antagonistic effect on LPS action**

Prog. Clin. Biol. Res., **397**, 269-280(1998)

エンドトキシンリピド A 構造の活性を支配する構造因子を化学合成リピド A 類縁体を用いて解析した結果、完全構造体(サルモネラ、大腸菌型)リピド A の水酸基をサクシニル基、アセチル基で置換しても活性が全く変化しないが、前駆体構造はいずれの置換でも完全に失活しアンタゴニストに変換することから、非還元末端の水酸基の置換が活性型・アンタゴニスト変換を支配していることを見出した。このことを直接証明するために大腸菌型リピド A の3'位の置換脂肪酸の水酸基のみをサクシニル基で置換した化合物を全合成し、この化合物が完全に無毒でアンタゴニスト活性を示した。

Keywords: endotoxin, antagonist, nontoxic lipid A

安住聡子, 棚元憲一: **桂皮由来の新規エンドトキシン活性抑制物質**

エンドトキシン研究基礎と臨床, **1**, 143-148(1998)

桂皮中に、植物としては初めてエンドトキシンを中和する物質を見出し、リムルス法を指標として精製を行いその性状を検討した。この物質によるエンドトキシンの抑制はエンドトキシン分子に直接作用することによりその作用を抑制するもので、活性強度は両者を混合する際の濃度と時間に依存した。抑制するエンドトキシンは由来する菌種に関係なくすべての LPS に作用した。また、抑制作用はエンドトキシンの *in vitro* の活性のみならず *in vivo* のウサギ発熱活性に対しても強く認められた。

Keywords: cinnamon bark, endotoxin inhibitor, LPS

Miyahara, M., Nakamura, A.* and Mise, K.: **Characterization of two Restriction Endonucleases, SenPT14bI and SenPT16I, in Standard Phage-Type Strains of *Salmonella* Enteritidis**

Biol. Pharm. Bull., **20**, 953-969(1997)

汚染された卵による食中毒で問題になる *Salmonella* Enteritidis ファージ標準株38株について制限酵素産生性を検討した。ファージタイプ14bと16の標準株より制限酵素産生を検出した。それぞれを精製して性質について検討した。ファージタイプ14bから SacII そして16から XmaIII のアイソシゾマーを産生していることがわかったが、どちらも新型の制限酵素ではなかった。アメリカでは鶏舎の *Salmonella* Enteritidis 汚染が問題となっており、ファージタイプ8, 13と14bの汚染が多くみられる。ファージタイプ標準株14bが制限酵素を産生していることから、汚染源特定の手段の一つとして、制限酵素産生性の検討が考えられる。

Keywords: *Salmonella* Enteritidis, phage-type, restriction endonuclease

* 国立感染症研究所

尾上洋一*, 古川一郎*, 寺西 大*, 長谷川幸江*, 森実*, 小沼博隆: **挽肉からの *Escherichia coli* O157:H7 の検出法の検討**

食衛誌, **38**, 185-189(1997)

食肉に汚染している *Escherichia coli* O157:H7 の検出を培養法および IMS 法(免疫磁気ビーズ)を組み合わせた有効な分離法の確立を目指して研究を行い以下の結果を得た。

1. 増菌培養の温度は37°Cより42°Cが有効であった。

2. *E. coli* O157:H7 分離平板培地は、SMAC および SIB 寒天培地比べ、CT-SMAC と Rainbow (ノボピオン添加)寒天培地が優れていた。

3. 培養液を分離平板培地に直接画線塗抹する方法より、IMS 法で集菌してから画線塗抹する方法が優れていた。

Keywords: mEC broth, CT-SMAC, Rainbow agar

* 神奈川県衛生研究所

Hara-Kudo, Y.*, Konuma, H., Iwaki, M.*, Kasuga, F.*, Ito, Y.*, Sugita-Konishi, Y.*, Kumagai, S.*: **Potential Hazard of Radish Sprouts as a Vehicle of *Escherichia coli* O157: H7**

J. Food Protect., **60**, 1125-1127(1997)

Escherichia coli O157: H7 に汚染させたカイワレ大根種子を発芽させ可食状態まで水耕栽培したところ、莖部、葉部など可食部全体が本菌により汚染された。また、根つきのカイワレ大根の根部を本菌に汚染させても可食部全体が汚染された。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprouts, hydroponic cultivation

* 国立感染症研究所

Ito, Y.*, Sugita-Konishi, Y.*, Kasuga, F.*, Iwaki, M.*, Hara-Kudo, Y.*, Saito, N.*, Noguchi, Y.*, Konuma, H., Kumagai, S.*: **Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Present in Radish Sprouts**

Appl. Environ. Microbiol., **64**, 1532-1535 (1998)

Escherichia coli O157:H7 に汚染させたカイワレ大根種子を発芽させ可食状態まで水耕栽培したカイワレ大根の葉部、茎部の表面および内部組織を蛍光顕微鏡および走査電子顕微鏡で調べたところ、カイワレ大根表面のみならず、内部組織まで本菌により汚染されていることをみいだした。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprouts, immunofluorescence microscopy

* 国立感染症研究所

Sakai, A.: **Orthovanadate, an inhibitor of protein tyrosine phosphatases, acts more potently as a promoter than as an initiator in the BALB/3T3 cell transformation**

Carcinogenesis, **18**, 1395-1399 (1997)

タンパク質の燐酸化と脱燐酸化は、細胞の情報伝達に重要である。ホルボールエステル類とオカダ酸は、それぞれプロテインキナーゼCの活性化とプロテインホスファターゼ1と2Aの阻害によってタンパク質燐酸化を亢進する。これらの物質は、マウス皮膚の強力な発癌プロモーターであり、*in vitro* では細胞形質転換を促進する。オルトバナジン酸塩(OV)は、プロテインチロシンホスファターゼを阻害して細胞のタンパク質燐酸化を亢進する。そこで、OVがBALB/3T3細胞2段階形質転換に及ぼす影響を調べた。OVは、3-メチルコラントレン(MCA)による形質転換を顕著に促進した。OVには、弱いイニシエーション活性も認められたが、MCAとOVによる処理の順序を逆にすると形質転換頻度が著しく減少したことから、OVの主要な作用は、プロモーション作用であると考えられる。MCAとOVによって一旦生じた形質転換フォーカスは、OVを含まない培地で増殖することが可能であった。OVは、TPAやオカダ酸に加えて、腫瘍プロモーションに関与する情報伝達カスケードをBALB/3T3細胞を用いて研究する際に有用な物質であると考えられる。

Keywords: orthovanadate, transformation, promotion

大砂博之*, 池澤善郎*, 北村和子*, 大沢純子*, 小菅旬子, 高鳥浩介: **寝具類の真菌分布と布団洗濯による真菌除去効果**

アレルギーの臨床, **17**, 542-545 (1997)

アレルギー疾患の治療の基本はアレルゲンの除去であり、アトピー性皮膚炎(AD)においてもダニ・真菌および近年スーパー抗原として注目されている黄色ブドウ球菌の除去対策で軽快を得ることができる。その中でもダニが重視され、近年アレルギー疾患の増加と気密性の高い居住環境との関わりの指摘のなかで、家屋内、特に布団中のダニが研究対象として注目されてきた。一方環境中にはダニ以外のアレルゲンとして、真菌の存在も無視できない。そこで、我々は、洗濯可能なAD患者布団について、まず真菌分布を調べ、その結果に基づいて洗濯前後での真菌数を測定し、洗濯が真菌除去に有効であるかを検証した。

Keywords: atopic dermatitis, fungi, bedclothes

* 横浜市大浦舟病院皮膚科

黄吉城, 高鳥浩介, 熊谷進¹, 高橋淳子²: **酸化電位水の殺真菌効果**

防菌防黴, **25**, 387-391 (1997)

酸化電位水の殺真菌効果を検討し、以下の結論をえた。

電気分解液(水溶液)の酸化電位水には、殺真菌効果認められたが、還元電位水では、殺真菌効果を認めなかった。酸化電位水の短時間処理による殺真菌効果は、広範な真菌に認められた。一部の抵抗性の強い真菌8種についてCFU測定を行ったところ、多くの供試真菌は、ほぼ5分前後でCFU著しく減少し、10分後に、ほとんど死滅した。しかし、*Chaetomium globosum*のみ、処理2時間でも、抵抗性を維持していた。酸化電位水中での有機物存在が殺真菌効果に、どの程度影響するかを確認したところ、著しく活性が低下した。

Keywords: oxidizing potential liquid, fungicidal activity

¹ 国立感染症研究所

² (財)食品薬品安全センター-秦野研究所

関沢 純: **リスクコミュニケーションの目的と基本要件 化学物質と環境, No.27, 4-7(1998)**

リスクコミュニケーションの考え方の歴史的、社会的な背景、意味するところと目的についてまとめた。さらにリスクの考え方、コミュニケーションの種々の形態と、現状における問題点を事例に沿って検討した。ついで化学物質のリスクコミュニケーションのあり方についていくつかの場面について調べ、また筆者が関係しているリスク評価とその過程におけるコミュニケーションについても考察した。最後に、違いの受け入れ、参加と協働、枠組みの構築、危機管理との関係についての課題を記した。

Keywords: Risk communication, Risk assessment and Transparency, Acceptance of difference

関沢 純: **リスクコミュニケーション—今求められること 21世紀フォーラム, 64, 20-23(1998)**

化学物質や立地に関する、あるいは社会的なリスク関連の最近の話題を引用し、なぜこのような事が起り、リスクのコミュニケーションにおいていかなる問題があったかを分析した。その上であるべき姿を国内外の例や筆者が加わって研究を進めている成果を基に理論的に、また今後の課題については事例をひき、具体的に解明した。すなわち、(1)考え方の違いを認めつつ、共に考え行動する、(2)リスクコミュニケーション上の問題の所在と解決方向、(3)リスクコミュニケーションの枠組みの構築、(4)メディアの役割への期待に分けて、検討、提示した。

Keywords: Risk communication, Risk perception, Partnership

関沢 純: **リスクコミュニケーション—これまでの問題と今後のあり方**

リスクアセスメントとリスクマネジメント第1分冊総論、リスクアセスメント・システム調査報告書、平成8年度通商産業省委託研究、日本化学工業協会、331-343(1997)

リスクコミュニケーションにおけるこれまでの問題、米国内閣府による問題提起と解決方向、リスク対応プロセスとコミュニケーション、リスクコミュニケーションのあり方について研究した結果を記述した。リスクコミュニケーションのあり方については、リスク評価システムにおける信頼性と透明性の確立、労働現場でのリスクコミュニケーション:標準化と教育による有効性の確保、化学品についての被害情報のフィードバックと教育による双方向性と有用性の確保、科学と心理の関係:多様性の理解と信頼関係の樹立、PRTRの背景と具体的対応について解明し提案した。

Keywords: Risk communication, Communication process, Transparency

関沢 純：“リスクアセスメントの実際「情報の検索と評価」，「化学物質のリスクアセスメント—現状と問題点—」，国立医薬品食品衛生研究所「化学物質のリスクアセスメント」編集委員会，薬業時報社，15-29(1997)

リスク評価における情報の位置づけと役割，データの質の評価と不確実性の扱い，評価結果の提示における問題点，情報の検索手法上の問題点と解決，情報の種類と情報源，評価済みデータの重要性，研究者間の情報交換と討論，インターネットの利用，リスク情報データベースの構築と活用について，検討した結果をまとめた。その結果に基づき，(1)評価の科学的根拠と判断プロセス，判断基準の公表，(2)リスク評価に関わる情報の専門家の養成と専門機関の必要，(3)情報の分散管理，情報のネットワークの活用と横断的な討論，協力関係の拡大，(4)国際協力による化学物質のリスク評価の推進と情報について，提案を行った。

Keywords: Risk assessment, Uncertainty, Credibility

関沢 純：“化学物質安全性情報整備”，“化学物質安全性情報提供機関一覧”，「化学物質と環境リスク」，環境庁リスク対策研究会監修，化学工業日報社刊，175-188，441-444(1997)

環境庁の研究班での研究成果を基に，化学物質と環境のリスクに対応するための情報の課題について，情報の体系的整備とネットワーク化，透明性と協調，情報の専門機関創設と専門家の養成の4点に整理してまとめた。取り組みの方策については，情報整備の方法について，情報ニーズの確認，ネットワークの利用，情報の寄託システムの構築と仕分け，評価済み情報の重要性の4項目について検討した。整備すべき情報については，物質情報，環境情報，住民情報，政策情報の4項目について検討した。コオディネーションの枠組みとアクセシビリティについては，国際協力，途上国支援，省庁間の協力，自治体，業界，学会，NGOとの協力について検討した。最後に今後の重要課題を4項目にわたって提案した。

Keywords: Risk information, Network and accessibility, Information specialist

Trosko, JE.* and Inoue, T.: **Oxidative stress, signal transduction, and intercellular communication in radiation carcinogenesis**

Stem Cells, **15** (suppl12), 59-67(1997)

生体に対する酸化ストレスや，シグナル伝達の障害等について離間した細胞相互，接着した細胞相互，細胞内シグナル伝達の三つのレベルからキーとなる分子の役割を論じ，分子毒性学の将来像について展望を推論した。

Keywords: ageing, toxicity, oxidative stress

*Michigan State University

Inoue, T., Cronkite, EP.*¹, Hirabayashi, Y., Bullis, JE.*¹, Mitsui, H.*², Umemura, T.: **Lifetime treatment of mice with azidothymidine(AZT) produces myelodysplasia.**

Leukemia, **11** (Suppl.3), 123-127(1997)

アゾイドチミジン(AZT)は，ヒト獲得性免疫不全症候群ウイルス(HIV)を含むウイルスの複製を阻害するチミジン誘導体である。AZTの長期にわたる治療を受けたAIDS患者では，大細胞性貧血が見られること，AZTをマウスに反復投与すると脾重量が減少し，中等度の貧血と白血球減少を引き起こすことなどが報告されている。これはチミジンキナーゼによって三リン酸化合物に変換されたAZTは，チミジンのかわりにゲノムDNAに挿入されると，リン酸水素結合が阻害されてDNA伸長反応を停止す

るので，造血前駆細胞の増殖が分化の初期段階で抑制されることによるものと理解されている。本論文では，AZTをマウスに長期投与したモデル動物を作成し，造血幹細胞動態の解析と病態の組織学的検索を行った結果，10匹中血小板減少を伴う9匹に骨髓異形成症候群(MDS)に一致する変化を認めたため，これらの病型の組織学的検索を，造血幹細胞数の変化などと併せて報告した。

Keywords: myelodysplasia, azidothymidine, hemopoietic stem cells

*¹ Brookhaven National Laboratory

*² 横浜市立大学医学部

Inoue, T., Hirabayashi, Y., Matsuda, M.*¹, Furuta, Y.*², Aizawa, S.*², Sasaki, H.*¹: **Model of MDS-like myelodysplasia that transforms into single lineage-hemopoietic malignancies upon transplantation implication for pediatric myelodysplastic syndrome.**

Int J Ped Hematol/Oncol., **4**, 221-230(1997)

骨髓異形成症候群(MDS)は造血器における前がん病変として位置づけられる疾患群である。SV-40 Large T 遺伝子導入マウス(T-マウス)の遺伝的背景をC57BL戻し交配したところ，このMDS状態が再現性よく生じるモデル動物となった。さらに，このマウス骨髓細胞を別の正常マウスに移植する骨髓移植アッセイ系を用いることで，MDS状態から白血病へと遷移させることに成功し，その解析結果を報告した。

Keywords: myelodysplasia, transplantation assay, hemopoietic stem cells

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 熊本大学

Hanzawa, C.*¹, Kobayashi, K.*¹, Hirabayashi, Y., Inoue, T., Aizawa, S.*², Adachi, K.*¹: **Hair follicle dermal papilla cell lines from p53-knockout mice.**

J. Dermatol Sci., **15**, 59-63(1997)

P53遺伝子欠失マウスの毛根のdermal papilla細胞を培養して株化に成功し，このものの細胞動態を含む性状についての解析結果を報告した。

Keywords: p53-knockout mice, Hair follicle, cell line

*¹ 資生堂

*² 熊本大学

Hirabayashi, Y., Matsuda, M.*¹, Matumura, T.*², Mitsui, H.*¹, Sasaki, H.*¹, Tukada, T.*³, Aizawa, S.*³, Yoshida, K.*⁴ and Inoue, T.: **The p53-deficient hemopoietic stem cells: their resistance to radiation- apoptosis, but lasted transiently.**

Leukemia, **11** (Suppl.3), 489-492(1997)

P53 遺伝子産物はDNA障害を感知して発現し，障害を受けた細胞を主にG1期で細胞回転を止める。その結果，細胞は損傷を修復するか，修復できなければアポトーシスへ陥るとされる。このP53 遺伝子を欠失した造血幹細胞は，見かけ放射線に抵抗性を示すようになる。ところが，P53 遺伝子欠失骨髓細胞由来の脾コロニーは，正常対照に比べてtunnel陽性細胞を含むものの比率が高いことがわかり，P53 欠失によってアポトーシスを一度は回避する結果コロニーを形成するものの，何らかのシグナル経路によって最終的にはアポトーシスに陥ることが示された。

Keywords: hemopoietic stem cells, radiation sensitivity, p53-knockout mice

^{*1} 横浜市立大学医学部

^{*2} 防衛医科大学校

^{*3} 熊本大学

^{*4} 放射線医学総合研究所

Nishijima, I.^{*}, Nakahata, T.^{*}, Watanabe, S.^{*}, Tsuji, K.^{*}, Tanaka, I.^{*}, Hirabayashi, Y., Inoue, T. and Arai, K.^{*}: **Hematopoietic and lymphopoietic responses in human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) receptor transgenic mice injected with human GM-CSF.**

Blood, **90**, 1031-1038(1997)

ヒト GM-CSF 受容体遺伝子導入マウスでは、当該リガンド添加培養にて種々の造血前駆細胞由来のコロニー形成を観察したことから、人為的に導入した受容体遺伝子産物は機能的に作用することが示唆された。そこで、本論文では、*in vivo* でリガンドを投与した場合の造血細胞及びリンパ系細胞の反応性を解析し、これまで *in vitro* 系で明らかにされてきたこととの異同を検討した。

Keywords: hemopoietic stem cells, hGM-CSF-receptor transgenic mice, hemopoiesis

^{*} 東大医科学研究所

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 C3H/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。さらに、カロリー制限をする時期を誘発照射前からするか、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: calorie restriction, radiation leukemogenesis, extent of lifespan

^{*} 放射線医学総合研究所

Yoshida, K.^{*}, Inoue, T., Hirabayashi, Y., Matsumura, T.^{*}, Nomoto, K.^{*}, Sado, T.^{*}: **Radiation-induced myeloid leukemia in mice under calorie restriction**

Leukemia, **11** (Suppl.3), 410-412(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が、筆者らは、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。本論文では、この事象の機構として、造血幹細胞数や培養性造血幹細胞数に与えるカロリー制限の影響について報告した。

Keywords: calorie restriction, radiation leukemogenesis, myeloid leukemia

^{*} 放射線医学総合研究所

Nishimura, Y.^{*1}, Hirabayashi, Y., Matuszaki, Y.^{*2}, Musette, P.^{*2}, Ishii, A.^{*3}, Nakauchi, H.^{*2}, Inoue, T. and Yonehara, S.^{*4}: ***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)に発現していることを明らかにした。

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.^{*1}, Matsuda, M.^{*1}, Lu, Y.^{*1}, Ikuta, K.^{*1}, Matuyama, S.^{*1}, Hirabayashi, Y., Mitsui, H.^{*1}, Matsumura, T.^{*1}, Muramatsu, M.^{*2}, Tsukada, T.^{*3}, Aizawa, S.^{*3} and Inoue, T.: **A fraction unresponsive to growth inhibition by TGF- β 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- β の抑制が認められることを初めて示した。更に、p53 と TGF- β 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- β , hgh-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

Nishimura-Morita, Y.^{*1}, Nose, M.^{*2}, Inoue, T. and Yonehara, S.^{*3}: **Amelioration of systemic autoimmune disease by the stimulation of apoptosis-promoting receptor with anti-Fas mAb.**

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

作成した抗 Fas 抗体のうち、全身投与によって劇症肝炎を引き起こすことのない抗体を単回投与することで、自己免疫疾患のモデル動物である MRL-gld/gld マウスの種々の病態を回避することを明らかとし、自己免疫疾患治療の可能性を示唆する結果を得ることが出来た。

Keywords: apoptosis, Fas, anti-Fas antigen

^{*1} 日本タバコ産業(株)基礎医薬研究所

^{*2} 東北大学医学部

^{*3} 京都大学ウイルス研究所

Minegishi, K. Suzuki, S. Kaneko, T. Inoue, T. and Takahashi, A.: **Distribution, Accumulation and Excretion of N, N'-Dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine in the 2 Year Feeding Test in Rats**

Jpn J Toxicol Environ Health, **43**(6), 336-347(1997)

雌雄 F344 ラットへ DMPD を 3 用量 (0.004%, 0.02%, 0.1% 混餌) で投与し、6ヶ月、12ヶ月、18ヶ月及び24ヶ月の解剖時に、肝臓、腎臓、脾臓、脂肪組織、血液及び糞・尿について GS-MS の SIM モードで DMPD 及び酸化代謝

物を定量した。25ヶ月投与後1ヶ月の休薬期間をおいた回復試験も行った。その結果DMPDは主として糞中へ排泄され、尿中への排泄はごく微量であった。脂肪組織への著しい蓄積が認められたが、1ヶ月間の休薬回復試験でDMPDの脂肪組織からの著しい消失が認められた。

Keywords: N, N'-dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine, 2 year feeding, distribution.

Umemura, T., Takada, K., Schulz, C.^{*1}, Gebhardt, R.^{*1}, Kurokawa, Y. and Williams, G. M.^{*2}: **Cell proliferation in the livers of male mice and rats exposed to the carcinogen p-dichlorobenzene; evidence for thresholds**

Drug Chem Toxicol 21, 57-66(1998)

雄5週令のB6C3F1マウスおよびF344ラットにマウス肝発がん剤のパラジクロロベンゼン(pDCB)をそれぞれ600, 300, 150および300, 150, 75 mg/kgの用量で4週間強制経口投与し、肝細胞のBrdU標識率およびグルタミン合成酵素発現肝細胞(GS⁺)への影響について検討した。その結果、マウスのBrdU標識率は高用量で対照群に比べて投与1週目で16倍、4週目で4倍と上昇した。中用量では1週目で有意な上昇が観察されたが、低用量では観察期間中変化は認められなかった。ラットでは、高および中用量で1週目に有意な上昇が認められたが、4週目では対照群と差は認められなかった。GS⁺の占める面積への影響は1週目では認められなかったが、マウスの4週目で有意な減少が認められた。以上のことから、マウス肝細胞の持続的細胞増殖活性の上昇がpDCBマウス肝発がん過程に関与していることが示唆された。また、低用量(発がん用量の1/4)ではマウス肝細胞に持続的細胞増殖が認められなかったことからpDCB肝発がん機構における閾値の存在が予想された。

Keywords: p-dichlorobenzene, cell proliferation, threshold

^{*1} Universitat Tübingen, Germany

^{*2} American Health Foundation, USA

Umemura, T., Takagi, A., Sai, K., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Oxidative DNA damage and cell proliferation in kidneys of male and female rats during 13-weeks exposure to potassium bromate(KBrO3)**

Arch Toxicol, 72, 264-269(1998)

雌雄5週令のF344ラットに臭素酸カリウム(KBrO3)を500 ppmの濃度で飲水に混じて13週間投与した。投与開始後1, 2, 3, 4および13週目に動物を解剖し、腎臓DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)量、近位曲部、直部および遠位尿管上皮細胞のBrdU標識率を検討した。さらに α 2u-globulinの沈着を免疫染色により検索した。雄では、投与1週間目より8-OHdGレベルおよび近位尿管上皮のBrdU標識率が有意に上昇し、その変化は13週目においても顕著に認められた。また、近位尿管への α 2u-globulinの沈着が実験期間を通じて観察された。一方、雌においては、投与3週間目より8-OHdGレベルの上昇が観察され、BrdU標識率の上昇は投与13週目において認められた。以上の結果から、KBrO3の腎発がん過程に持続的な酸化的DNA損傷が関与していることが示唆された。また、雄におけるKBrO3発がん感受性の高さは、雄に特有な α 2u-globulin沈着による細胞増殖誘導のみならず、酸化的ストレスに対する感受性の違いも寄与している可能性が示された。

Keywords: potassium bromate, 8-hydroxydeoxyguanosine, cell proliferation

Minegishi, K., Suzuki, S., Kaneko, T., Inoue, T. and Takahashi, A.: **Metabolic Fate of N-N'-Dimonomethylphenyl-p-phenylenediamine(DMPD) in a 2 Year Feeding Test**

Jpn J Toxicol Environ Health, 44, P-37(1998)

DMPDは脂肪組織への著しい蓄積が認められた。特に18ヶ月から24ヶ月の間顕著であった。雌が雄より高い蓄積性を示した。

Kawasaki, Y., Umemura, T., Saito, M., Momma, J., Matsushima, Y., Sekiguchi, H., Matsumoto, M., Sakemi, K., Isama, K., Inoue, T., Kurokawa, Y. and Tsuda, M.: **Toxicity study of a rubber antioxidant, 2-Mercaptobenzimidazole, by repeated oral administration to rats**

J. Toxicol. Sci., 23, 53-68(1998)

ゴム老化防止剤2-Mercaptobenzimidazoleをラットに28日間投与し、毒性を検討した。反復経口投与により、著しい甲状腺肥大を伴った甲状腺機能の低下が明らかとなった。

Keywords: 2-Mercaptobenzimidazole, rats, gavage administration

Hirabayashi, Y., Matsumura, T.^{*1}, Matsuda, M.^{*2}, Kuramoto, K.^{*3}, Motoyoshi, K.^{*1}, Yoshida, K.^{*4}, Sasaki, H.^{*2} and Inoue, T.: **Cell kinetics of hemopoietic colony-forming units in spleen(CFU-S) in young and old mice**

Mechanisms of Ageing and Development, 101, 221-231(1998)

プロモデオキシユリジンを取り込んだ細胞が近紫外線に感受性になることを利用した*in vivo*造血幹細胞動態解析法(BUUV法)を新たに開発した。この方法を用いて加齢個体の造血幹細胞動態を若年個体のそれと比較した結果、分化型の幹細胞に大きな差異を認めなかったが、より未分化な幹細胞では予備力低下を説明し得る結果を得ることが出来た。

Keywords: hemopoietic stem cell, cell cycle, bromodeoxyuridine

^{*1} 防衛医科大学校医学部

^{*2} 横浜市立大学医学部

^{*3} 東京都老人医学研究所

^{*4} 放射線医学総合研究所

Uchida, K.^{*}, Tanaka, H.^{*}, Namba, M.^{*}, Sunagawa, M.^{*}, Ohno, Y. and Kamikawa, Y.^{*}: **Mechanical reactivity of the human isolated distal colon to electrical stimulation and spasmogens**

Dokkyo Journal of Medical Sciences, 24, 91-98(1997)

電気刺激による神経を介した収縮及び平滑筋収縮薬による作用をヒトの遠位結腸を用いて検討した。電気刺激による収縮はアトロピンやテトロドトキシンにより抑制され、コリン作動性神経を介した作用によることが判明した。またアセチルコリン、カルバコール、ヒスタミン、ニューロキニンの作用を結腸の縦走筋及び輪走筋で検討し、結腸が興奮性神経により主に支配されていること及び収縮応答が収縮薬により異なることを示した。

Keywords: human colon, cholinergic nerve, spasmogen

^{*} 獨協医科大学

Uchida, K.^{*}, Nagai, S.^{*}, Shimada, K.^{*}, Ohno, Y. and Kamikawa, Y.^{*}: **A novel neuropeptide, human-galanin inhibits cholinergic neurotransmission of the human isolated bronchi in a species-specific manner**

Dokkyo Journal of Medical Sciences, **24**, 99-107(1997)

新規に分離された神経ペプチドであるガラニンの作用をヒト区域気管支を用いて検討した。ヒト型ガラニンは低頻度電気刺激時のコリン作動性収縮を抑制したことから、ガラニンが内因性のアセチルコリンの神経からの遊離を抑制することにより作用することを明らかにした。

Keywords: human bronchi, galanin, cholinergic nerve

* 獨協医科大学

Khan, M. F.^{*1}, Ohno, Y., Guo, X., Takanaka, A., and Sorenson, J. R. J.^{*2}: **Chemical modulation of glutathione concentration with tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylatodiaquodocopper(II): 1. oxidation of glutathione in vitro**
Gomal Univ. J. Res., **13**, 173-185(1993) Printed in Dec. 1996.

o-phthalaldehyde を用いた蛍光法による GSH の測定を tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylatodiaquodocopper(II) が妨害した。これはこの薬物が GSH を酸化し GSSG に変えることによることを HPLC による分析により明らかにした。なお、この酸化は EDTA により抑制された。2 価の銅イオン存在は GSH の定量を妨害する可能性がある。

Keywords: GSH, analysis, tetrakis-M-3,5-diisopropylsalicylatodiaquodocopper(II)

^{*1} Gomal University

^{*2} University of Arkansas for Medical Sciences

Uneyama, H.^{*1}, Takahara, A.^{*1}, Uchida, H.^{*1}, Yoshimoto, R.^{*1}, Inoue, K. and Akaike, N.^{*2}: **Blockade by cilnidipine (FRC-8653) of N-type Ca²⁺ current in acutely dissociated rat sympathetic neurones**

Br. J. Pharmacol., **122**, 37-42(1997)

交換神経節ニューロンを用い、Ca 拮抗薬の一般的な副作用反射性頻脈のない新規 Ca 拮抗薬シルニジピンのメカニズムと中枢神経系への作用の可能性に関し検討した。その結果、シルニジピンが L 型と同様、N 型 Ca チャンネルをも著明に抑制することが明らかになった。N 型 Ca チャンネルは中枢神経系及び末梢神経系に多く分布し、種々の神経伝達物質の伝達を制御している。特に、交感神経節後細胞からのノルエピネフリン放出に必要な Ca 流入は最終的に N 型 Ca チャンネルの開口に依存している。シルニジピンはその N 型 Ca チャンネル拮抗作用により、交感神経終末からのノルエピネフリン放出を抑制し、血中ノルエピネフリン濃度を調節し、交感神経の緊張が関与した高血圧病態に対して望ましい効果を発揮する可能性が期待できる。

Keywords: cilnidipine, N-type Ca²⁺ current, sympathetic neurones

^{*1} 味の素株

^{*2} 九州大学医学部

Koizumi, S. and Inoue, K.: **Inhibition by ATP of calcium oscillations in cultured rat hippocampal neurons**
Br. J. Pharmacol., **122**, 51-58(1997)

培養ラット海馬神経細胞はおよそ培養 7 から 10 日目まで神経回路網を形成し、特徴的な細胞内カルシウムオシレーションを示すようになる。このオシレーションは、Na チャンネル阻害剤テトロドトキシンや外液からカルシウムを除去することにより、またグルタミン酸受容体ブロッカー、APV (グルタミン酸 NMDA 受容体ブロッカー) や CNQX (nonNMDA 受容体ブロッカー) により消失することから、グルタミン酸を介したシナプス伝達と考えられた。これは工藤らの報告と一致した。このオシレーションを ATP は

10 nM という非常に低い濃度から 100 μM まで濃度依存的に抑制した。この作用は、アデノシン受容体ブロッカーでは抑制されず、またアデノシンを生成しない UTP によっても同様な作用が認められることから、アデノシン受容体を介するものとは明らかに異なることがわかった。実際に培養海馬組織からのグルタミン酸放出を測定したところ、ATP は自発性および刺激性グルタミン酸放出を抑制した。

Keywords: ATP, calcium oscillation, cultured rat hippocampal neurons

Inoue, K., Nakajima, K.^{*1}, Morimoto, T.^{*1}, Kikuchi, Y.^{*1}, Koizumi, S., Illes, P.^{*2} and Kohsaka, S.^{*1}: **ATP stimulates Ca²⁺-dependent plasminogen release from cultured microglia**

Br. J. Pharmacol., **123**, 1304-1310(1998)

これまでミクログリアからプラスミノゲンが放出され脳神経系の修復に寄与していることはわかっていたが、それがなにによって放出されるのかは、そのメカニズムとともに明らかにされていなかった。今回、ミクログリア精製分離培養法により得た細胞を用いて、ATP 刺激によるプラスミノゲン放出作用を検討した。ATP は 10 μM から濃度依存的に、また細胞内カルシウム濃度依存的にプラスミノゲン放出を引き起こすことが明らかになった。P2X7 特異的アゴニスト BzATP によっても同様な作用が認められ、ATP の作用は P2X7 ブロッカー oxidizedATP によって抑制されたことから、ATP の作用に主として関与する受容体はイオンチャネル型 ATP 受容体サブタイプの一つである P2X7 であることが推測された。

Keywords: ATP, Ca²⁺-dependent plasminogen release, cultured microglia

^{*1} 国立精神神経研究センター神経研究所

^{*2} ドイツライプツィヒ大学医学部

Wirkner, K.^{*}, Franke, H.^{*}, Inoue, K. and Illes, P.^{*}: **Differential age-dependent expression of α2 adrenoceptor- and P2 purinoceptor-functions in rat locus coeruleus neurones**

Naumyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., **357**, 186-189 (1998)

青斑核神経 (locus coeruleus neurons) はノルアドレナリン神経系の起始核として広く知られている。ここにアドレナリン α2 受容体とともに ATP 受容体が発現しており、両者はともに青斑核神経の機能の調節を行っていることはすでに著者らは報告してある。今回は、発生から分化・成長に伴い、それぞれの受容体が異なるタイミングで発現パターンを呈することを電気生理学的に明らかにした。その結果、α2 受容体は生後すでに発現しているが、一方の ATP 受容体は生後まもなく発現してなく、およそ出生後 18 日目以降から発現し始め、青斑核の機能制御に関与することが推察された。

Keywords: α2 adrenoceptor, P2 purinoceptor, rat locus coeruleus neurones

^{*} ドイツライプツィヒ大学医学部

Koizumi, S. and Inoue, K.: **Functional coupling of secretion and capacitative calcium entry in PC12 cells**
BBRC, **244**, 293-297(1998)

ラット褐色細胞種由来 PC 12 細胞を用いて、容量性カルシウム流入 (capacitative calcium entry) とドパミン放出について検討した。すでに我々は G 蛋白共役型 ATP 受容体 (P2Y2) 刺激により、IP3 系が活性化され細胞内カルシウム

ム動員により細胞内カルシウムが上昇するが、この上昇によつてはドパミン放出は引き起こされず、カルシウム動員とともに引き起こされる容量性カルシウム流入によつてのみドパミン放出が引き起こされることを明らかにした。すなわち IICR による容量性カルシウム流入と神経伝達物質放出について明らかにすることが出来た。今回は、リアノジン受容体感受性カルシウムプール刺激により容量性カルシウム流入が引き起こされること、そしてこれによりドパミン放出が引き続くことを報告する。すなわち、CICR による容量性カルシウム流入と神経伝達物質放出の関係について明らかにした。

Keywords: secretion, capacitative calcium entry, PC12 cells

Koizumi, S., Uneyama, H.*, Ikeda, M., Ueno, S. and Inoue, K.: **Inhibition by imipramine of ATP-evoked responses in rat pheochromocytoma cells** *BBRC*, **244**, 342-346(1998)

ラット褐色細胞種由来 PC 12細胞を用いて、ATP 受容体刺激により引き起こされる内向き電流とドパミン放出に対する感情障害改善薬(抗うつ薬)イミプラミンの作用について検討した。イミプラミン(1-300 μ M)は ATP 誘発内向き電流とドパミン放出を濃度依存的に抑制した。うつ病の発症起因は未だに明らかではない。セロトニンやカテコールアミンとの関与は古くから示唆されているがうつ病のメカニズムを単独で説明するには至っていない。おそらく多くの神経伝達物質が複雑に絡んで様々なタイプの感情障害を発症させているものと推測される。従つて、未だ検討していない神経伝達物質やその受容体がうつ病の発症に関わっている可能性を否定することは出来ない。この研究により、うつ病に ATP 受容体が関与する可能性の一端が示されたが、さらなる研究が必要であることは論を待たない。

Keywords: imipramine, secretion, PC12 cells

* 味の素(株)

Nakazawa, K. and Ohno, Y.: **Effects of neuroamines and divalent cations on cloned and mutated ATP-gated channels**

Eur. J. Pharmacol., **325**, 101-108(1997)

ATP 受容体チャンネル(P2X 受容体)の4種類のサブクラス(P2X1-4)をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、神経アミンおよび2価イオンに対する感受性を検討した。ドパミン、セロトニン、Zn, Cd はいずれも P2X2 受容体を介するイオン電流を増強した。同様の増強効果は P2X4 受容体でも認められたが、P2X1 および P2X3 受容体では認められなかった。4種類のサブクラスのアミノ酸配列を比較したところ、P2X2 および P2X4 のみに共通する酸性アミノ酸残基が3箇所に見出された。これらのアミノ酸残基を人為的に他のアミノ酸残基に置換して検討を加えた結果、P2X2 受容体においては221番目のアスパラギン酸残基が増強作用に関与することが明らかとなった。

Keywords: P2X receptor/channel, allosteric modulation, site-directed mutagenesis

Nakazawa, K., Liu, M., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Potent inhibition by trivalent cations of ATP-gated channels**

Eur. J. Pharmacol., **325**, 237-243(1997)

ランタンをはじめとする3価イオンの ATP 受容体チャンネルに対する作用を検討した。ラット副腎髄質由来 PC 12細胞においてランタンは ATP 誘発電流を μ M のオーダーで抑制した。

同様の抑制作用はガドリニウム、セリウムおよびネオジムでも認められた。ランタンおよびガドリニウムにより ATP の濃度-作用曲線は右方にシフトし、傾きが増加した。ATP 誘発電流のうち過分極側で活性化する成分は3価イオンにより抑制されなかった。ランタンおよびガドリニウムはアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた P2X1, P2X2 の両受容体を介する電流に対しても抑制作用を示した。以上のことから3価イオンは低濃度で ATP 受容体チャンネルを非競合的に阻害することが明らかとなった。

Keywords: P2X receptor/channel, trivalent cations, non-competitive inhibition

Nakazawa, K., Liu, M., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Voltage-dependent gating of ATP-activated channels in PC12 cells** *J. Neurophysiol.*, **78**, 884-890(1997)

ATP 受容体チャンネルの電位依存性ゲート機構をラット副腎髄質由来 PC 12細胞を用いて検討した。-50 mV の保持電位より過分極パルスを加えた場合、約60 ms の時定数を有する緩徐活性化成分が観察された。過分極の増大に伴いこの成分は増加したが、時定数は変化しなかった。ATP の濃度を増加させた場合、緩徐活性化成分の割合は減少し、時定数は低下した。以上のことから ATP 受容体チャンネルの電位依存性ゲート機構は ATP 結合の電位依存性に起因するという可能性が示唆された。

Keywords: ATP receptor/channel, voltage-dependent gating, activation kinetics

Liu, M., Nakazawa, K., Inoue, K. and Ohno, Y.: **Potent and voltage-dependent block by philanthotoxin-343 of neuronal nicotinic receptor/channels in PC12 cells**

Br. J. Pharmacol., **122**, 379-385(1997)

ハチ毒であるフィランソトキシン(PhTX)の神経型ニコチン様アセチルコリン受容体チャンネルに対する作用をラット副腎由来 PC 12細胞を用いて検討した。PhTX は0.1 μ M という低濃度よりアセチルコリン誘発電流を抑制した。電流抑制は脱分極パルスにより減弱した。過分極パルスを加えた場合、時定数数100 ms の抑制の進行が観察された。脱分極による抑制からの回復の時定数は約100 ms であった。電位依存性より計算した結果、PhTX の結合部位は細胞外側のチャンネル開口部近傍であると推定された。

Keywords: nicotinic acetylcholine receptor/channel, philanthotoxin, pore-blocking action

Nakazawa, K., Liu, M., Inoue, K. and Ohno, Y.: **pH dependence of facilitation by neurotransmitters and divalent cations of P2X2 purinoceptor/channels**

Eur. J. Pharmacol., **337**, 309-314(1997)

ATP 受容体チャンネルのサブクラスである P2X2 受容体をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、このチャンネルに対する神経アミンおよび2価イオンの修飾作用の pH 依存性を検討した。セロトニンによる P2X2 受容体を介する電流増強は酸性側で促進された。一方、Zn および Cd による電流増強は塩基性側で促進された。ドパミンの電流増強は酸性、塩基性の両条件下で減弱するという傾向が認められた。以上のことから、電流増強における神経アミンと2価イオンの結合部位はプロトンにより異なる影響を受けることが示唆された。

Keywords: ATP receptor/channel, allosteric modulation, pH-dependence

Nagata, K.*, Yoshinari, K.*, Ozawa, S. and Yamazoe, Y.*:

Arylamine activating sulfotransferase in liver*Mutat. Res.*, **376**, 267-272(1997)

ラット肝可溶性硫酸転移酵素分子種の一つである ST1C1 は N-ヒドロキシ-2-アセチルアミノフルオレンなどの癌原性 N-水酸化アリルアミン(アセトアミド)を極めて高い効率で代謝活性化する。今回 ST1C1 に相当するヒトの硫酸転移酵素をコードすると考えられる遺伝子を単離した。単離された遺伝子はラット ST1C1 cDNA と特に 3'-側が非常に相同性が高かった。しかし、ヒト mRNA 画分にはそのヒト遺伝子由来の mRNA は発現していなかった。また、ラット ST1C1 抗体を用いてウエスタンブロットをおこなったが、タンパクは検出されなかった。

Keywords: carcinogenic N-hydroxy aryl compounds, rat sulfotransferase, human sulfotransferase

* 東北大学薬学部

Fujita, K-i.¹, Nagata, K.¹, Ozawa, S., Sasano, H.² and Yamazoe, Y.¹: **Molecular cloning and characterization of rat ST1B1 and human ST1B2 cDNAs, encoding thyroid hormone sulfotransferase**

J. Biochem., **122**, 1052-1061(1997)

ヒトおよびラット甲状腺ホルモン硫酸転移酵素(それぞれ ST1B2 および ST1B1)をコードする cDNA を単離した。ST1B1 と ST1B2 間の相同性はアミノ酸配列のレベルで 74%, ST1B2 とヒドロキシステロイド硫酸転移酵素およびフェノール硫酸転移酵素とはそれぞれ 36% および 56% 以下の相同性しか示さず、これらの酵素は新しい ST1 遺伝子サブファミリーに属することが明らかとなった。異種細胞内に発現させた酵素は 3,3,5'-triiodothyronine および dopamine の硫酸抱合活性を示し、これら ST1B1 および ST1B2 は新 ST1 遺伝子サブファミリーに属する甲状腺ホルモン硫酸転移酵素であることが明らかとなった。

Keywords: aryl sulfotransferase, new gene subfamily, thyroid hormone

¹ 東北大学薬学部² 東北大学医学部

Ozawa, S., Tang, Y-M.¹, Yamazoe, Y.², Kato, R.³, Lang, N.P.⁴ and Kadlubar, F.F.¹: **Genetic polymorphisms in human liver phenol sulfotransferases involved in the bioactivation of N-hydroxy derivatives of carcinogenic arylamines and heterocyclic amines**

Chem-Biol.Interact., **109**, 237-248(1998)

ヒト肝の 3 種の近縁フェノール硫酸転移酵素分子種の中で、ST1A3 は癌原性 N-ヒドロキシヘテロサイクリックアミンの代謝活性化能が最も高い。また、本酵素活性には遺伝的多型性が認められている。RT-PCR法で、肝における主要分子種である ST1A3 の mRNA レベルは p-ニトロフェノール硫酸転移酵素活性と相関しており、本酵素活性が、本分子種の転写のレベルで調節されていることを明らかにした。また、ST1A3 遺伝子には Arg213His および Met223Val の多型が見い出され、本酵素の遺伝的多型の機構に、これら異型酵素が関与する可能性が示された。

Keywords: human aryl sulfotransferase, carcinogenic heterocyclic amines, genetic polymorphism

¹ National Center for Toxicological Research, USA² 東北大学薬学部³ 慶応義塾大学医学部⁴ University of Arkansas Med. Sci, USASatarug, S.¹, Haswell-Elkins, M. F.¹, Sithithaworn, P.²,

Bartsch, H.³, Ohshima, H.⁴, Tsuda, M., Mairiang, P.², Mairiang, E.², Yongvanit, P.², Esumi, H.⁵ and Elkins, D. B.⁶: **Relationships between the synthesis of N-nitrosodimethylamine and immune responses to chronic infection with the carcinogenic parasite, *Opisthorchis viverrini*, in men**

Carcinogenesis, **19**, 485-491(1998)

タイ北東部は胆管がんの多発地域として知られ、同地域で多食される魚の発酵食品に起因する肝吸虫(Liver fluke)寄生が、その原因として、疫学的に示されている。本研究では、慢性的寄生虫感染に対する免疫応答に起因する体内一酸化窒素産生が発がん性ニトロソアミン(NDMA)の産生に関与して、胆管がん多発の一因をなしているという仮説に基づいて実施された、分子疫学的研究である。同多発地域住民志願者を感染の程度により、非感染、中程度感染、重度感染グループに分け、血液及び尿を採取した。NDMA の体内生成を明確にするために、アルコール摂取による代謝抑制効果を志願者実験に組み入れた。尿中 NDMA 排泄と体内 NO 産生指標との間には有意の相関が示された。

Keywords: Chalangiocarcinoma, liver fluke infection, endogenous nitrosation

¹ Natl Res. Center for Environ. Toxicol., Queensland, Australia² Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ., Khon Kaen, Thailand³ German Cancer Res. Center, Heidelberg, Germany⁴ International Agency for Res. on Cancer, Lyon, France⁵ 国立がんセンター研・東支所⁶ Queensland Inst. Medical Res., Brisbane, Australia

Nakajima, M.^{*}, Sasaki, M.^{*}, Kobayashi, Y.^{*}, Ohno, Y. and Usami, M.: **Rat embryo culture using rabbit serum as a medium for developmental toxicity studies**

J. Appl. Toxicol., **17**, 185-188(1997)

ウサギ血清のラット全胚培養法の培養液としての有用性を調べた。その結果、ウサギ血清は 50% までラット血清と混合して培養液として用いることができることを示した。

Keywords: embryo culture, rabbit serum, developmental toxicity

* 旭化成工業株式会社

Nakajima, M.^{*}, Takahashi, H.^{*}, Sasaki, M.^{*}, Kobayashi, Y.^{*}, Ohno, Y. and Usami, M.: **Effects on fetal growth of repeated blood collection for toxicokinetics from pregnant rats**

J. Toxicol. Sci., **22**, 455-459(1996)

妊娠ラットからの採血が胎児発育に及ぼす影響を調べた。その結果、各 2 ml ずつの 4 回採血は発生毒性試験において実施できることが示された。

Keywords: blood collection, toxicokinetics, fetal effects

* 旭化成工業株式会社

Uneyama, C., Uneyama, H.¹, Narisawa, K.¹, Takahashi, M. and Akaike, N.²: **Kinetic characteristics of thrombin receptor-mediated responses in rat megakaryocytes**

Eur. J. Pharmacol., **319**, 299-305(1997)

ラット巨核球のトロンビン受容体の速度論的性質について、ニスタチン穿孔パッチクランプ法と Y-チューブ法により解析した。トロンビン受容体に特徴的な性質として反

応の開始までの時間と薬物洗浄後の反応終息までの時間が長いことがあり、これらはトロンビン受容体の特異な活性化機構を反映したものであることを示唆した。

Keywords: thrombin receptor, megakaryocyte, patch-clamp

*1 東北大学医学部

*2 九州大学医学部

Toyoda, K., Shoda, T., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M.: **Carcinogenicity study of β -cyclodextrin in F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 331-336(1997)

ラットを用いて β -cyclodextrin の癌原性試験を実施した。雌雄各3群(各群50匹)に β -cyclodextrin を0, 2.5, 5%の割合で104週間混餌投与した。その結果、雌雄ともに β -cyclodextrin の投与用量に相関した体重増加抑制がみられたが、生存率や腫瘍発生には投与に起因する有意な影響は認められず、 β -cyclodextrin のラットに対する発癌性は無いと結論した。

Keywords: β -cyclodextrin, carcinogenicity study, F344 rat

Toyoda, K., Matsui, H., Shoda, T., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M.: **Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 597-603(1997)

ラットを用いて stevioside の癌原性試験を実施した。雌雄各3群(各群50匹)に stevioside を0, 2.5, 5%の割合で104週間混餌投与した。その結果、雌雄ともに stevioside の投与用量に依存した軽度の体重増加抑制や、高用量群における生存率の有意な低下が認められたが、腫瘍発生においては投与に起因すると思われる重大な影響はみられず、stevioside のラットに対する発癌性は無いと結論した。

Keywords: stevioside, carcinogenicity study, F344 rat

Shoda, T., Toyoda, K., Uneyama, C., Takada, K. and Takahashi, M.: **Lack of carcinogenicity of medium-viscosity liquid paraffin given in the diet to F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 1181-1190(1997)

ラットを用いて liquid paraffin の癌原性試験を実施した。雌雄各3群(各群50匹)に liquid paraffin を0, 2.5, 5%の割合で104週間混餌投与した。その結果、雌雄ともに高用量群で摂餌量の増加と体重増加の亢進が認められたが、腫瘍発生においては投与に起因すると思われる重大な影響はみられず、liquid paraffin のラットに対する発癌性は無いと結論した。

Keywords: liquid paraffin, carcinogenicity study, F344 rat

Yasuhara, K., Shimo, T., Mitsumori, K., Onodera, H., Kitaura, K. and Takahashi, M.: **Lack of carcinogenicity of cyanoguanidine in F344 rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 475-480(1997)

シアノグアニジンはメラミン、グアニジン塩、グアニミン類の製造原料として広く使用されているが、現在までにこの物質の発癌性に関する十分なデータがないのでF344ラットを用いて癌原性試験を実施した。シアノグアニジンを粉末飼料に5, 0.5および0%(対照群)の濃度で添加し、雌雄とも各群50匹よりなる3群の動物にそれぞれの飼料を104週間自由に摂取させた。対照群を含む全群に種々の腫瘍が認められたが、これらの腫瘍発現において雌雄とも対照群と各投与群との間に有意な差は認められず、シアノグ

アニジンに起因すると思われる腫瘍の増加はみられなかった。以上の結果より、シアノグアニジンのF344ラットにおける癌原性はないものと考えられた。

Keywords: carcinogenicity, F344 rats, cyanoguanidine

Higuchi, H., Nakaoka, M., Ozaki, K., Kawamura, S., Okuno, Y., Matsuo, M. and Yasuhara, K.: **Evaluation of recovery from cyclophosphamide testicular toxicity in rats**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 165-173(1997)

サイクロフォスファミド(CP)による精巣毒性を精子形成サイクルを考慮して定量的に評価すると共に、休薬による回復性についてPCNA免疫染色を用いて検討した。SD系雄ラットにCP 40 mg/kgを7日間経口投与し、投与後1日, 3週および8週目に精巣を検索した。CP投与後1日目では精祖細胞の減少が見られたが、残存する精祖細胞(タイプA)はPCNA陽性を示し、細胞増殖能を有していた。3週では精祖細胞数は回復していたが、精母細胞および円形精子細胞に減少が見られた。8週では前記病変は回復していた。以上より、定量的解析は精巣毒性を評価する上で、また、PCNA免疫染色の応用は精巣毒性の回復性を予知する上で有用であることが示された。

Keywords: testicular toxicity, quantitative morphometry, PCNA immunostaining

* 住友化学(株)環境生物科学研究所

Yasuhara, K., Mitsumori, K., Shimo, T., Onodera, H., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Mice with focal pulmonary fibrosis caused by monocrotaline are insensitive to urethane induced of lung tumorigenesis**

Toxicol. Pathol., **25**, 574-581(1997)

肺線維症と肺癌との関連性を明らかにする目的でモノクロタリン(MC)誘発肺線維症動物モデルを用いて肺線維症が肺腫瘍の発生母地に成り得るか否かを検討する目的で、MC 150 mg/kgを4回投与後33週間観察した結果、肺に線維化巣は認められたが、肺腫瘍は認められず、モノクロタリン誘発肺線維化巣に肺腫瘍は発現しないものと推察された。さらに、この動物モデルに既知肺発癌物質のウレタンを投与し、その修飾作用を検討するためにMC 150 mg/kgを4回投与後、ウレタン1,000 mg/kgを1回投与し、投与後15週間目に検索した結果、肺増殖性病変/腫瘍の発現がウレタン単独投与群に比べ有意に抑制され、モノクロタリン誘発肺線維症において肺胞上皮はウレタン等の肺発癌物質に対して耐性を有することが推察された。

Keywords: monocrotaline, urethane, inhibition effect

Kim, H.-C.*¹, Lee, Y.-S.*² and Nishikawa, A.: **Enhancing effects of phenobarbital and 3-methylcholanthrene on GST-P-positive liver cell foci development in a new medium-term rat liver bioassay using D-galactosamine**

J. Toxicol. Environ. Health, **50**, 519-528(1997)

ラットを用いてジエチルニトロサミン単回腹腔内投与に引き続く部分的肝切除の代わりに、D-ガラクトサミン投与による新しい中期発ガン性検索法を開発した。被験物質は第3~8週まで混餌で投与し、8週後の時点で胎盤型グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST-P)陽性肝細胞巢の発生状況を検索した。その結果、遺伝子障害性のない肝腫瘍プロモーターであるフェノバルビタール、および肝臓を標的としない遺伝子障害性発ガン物質であるメチルコラントレンともにGST-P陽性巢の有意な増加を示し、この検索法が広いスペクトラムの発ガン物質検索法として有用であることが確認された。

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

^{*1} Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

^{*2} Department of Veterinary Medicine, Seoul National University

Nishikawa, A., Kase, Y.^{*1}, Hayakawa, T.^{*1}, Yanagisawa, Y.^{*1}, Kanno, J.^{*2} and Hayashi, Y.: **Enhancement of cell proliferation and prostaglandin biosynthesis by 1,8-dihydroxyanthraquinone in the rat large intestine** *Carcinogenesis*, **18**, 1259-1263 (1997)

刺激性緩下作用を有し大腸発ガンを促進することが知られている1,8-dihydroxyanthraquinone(DHAQ)の大腸粘膜における細胞増殖動態とプロスタグランジン(PG)生合成に及ぼす影響について検討した。ラットにDHAQを0.1%または0.2%の用量で24日間混餌投与した結果、血清PGE2レベル、大腸粘膜PGE2レベルおよび尿中PGE主代謝物(PGE-MUM)濃度は用量相関性に有意に増加した。一方、尿中PGE2排泄量には顕著な変動を認めなかった。消化管粘膜上皮のBrdU標識率は、大腸で有意な増加を示したのみであった。以上より、DHAQによる大腸粘膜上皮の細胞増殖活性亢進にPG生合成の関与が示唆され、また、尿中PGE-MUMの測定は刺激性緩下作用を有する薬物の投与に対するモニタリングに有用であることが示された。

Keywords: 1,8-dihydroxyanthraquinone, prostaglandin, cell proliferation

^{*1} ツムラ中央研究所

^{*2} 東京医科歯科大学医学部

Kim, H. C.^{*1}, Cha, S. W.^{*1}, Song, S. W.^{*1}, Ha, C. S.^{*1}, Han, S. S.^{*1}, Roh, J. K.^{*1}, Lee, Y. S.^{*2}, Furukawa, F., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Enhancing effects of captafol on the development of GST-P-positive liver cell foci in a medium-term bioassay, and protection by L-cysteine of the enhancement in rats**

Cancer Lett., **111**, 15-20 (1997)

我々が開発したdiethylnitrosamine (DEN)とD-galactosamineを用いた中期肝発癌性検索モデルで、肝臓はGST-P、腎臓はPCNAを指標としてcaptafolの修飾影響およびL-cysteineの抑制効果を検討した。肝臓のGST-P陽性細胞巣はcaptafolで有意に増加し、その効果はL-cysteineの同時投与により有意に抑制された。腎臓のPCNAによる細胞増殖活性でも同様の結果が得られた。以上により、このモデルは肝の発癌性およびがん予防物質の*in vivo*スクリーニングに有用と考えられた。

Keywords: medium-term bioassay, captafol, L-cysteine

^{*1} Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

^{*2} College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Kim, H. C.^{*1}, Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I. S.^{*2}, Takahashi, M., Yoshida, T.^{*3}, Harada T.^{*3} and Maita, K.^{*3}: **Argyrophilic nucleolar organizer regions in hepatocytes of focal lesions and background parenchyma in rats treated with peroxisome proliferators**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 19-23 (1997)

中期肝二段階発癌モデルにおけるペルオキシゾーム増生物質の投与により発生する肝細胞巣と周辺組織の細胞増殖活性をAgNORsで検索した。その結果、AgNORs数は両

染色巣が一番高く、次いで増殖性結節、非病変部の肝細胞、好酸性巣の順であった。また、ペルオキシゾーム増生物質投与による非病変部の肝細胞のAgNORs数に有意差が認められた。AgNORsを指標としたペルオキシゾーム増生物質の肝発癌性の検索に、AgNORsは有用であった。

Keywords: AgNORs, peroxisome proliferator, hepatocarcinogenesis

^{*1} Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

^{*2} Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

^{*3} Toxicology Division, The Institute of Environmental Toxicology

Furukawa, F., Nishikawa, A., Enami, T., Mitsui, M., Imazawa, T., Tanakamaru, Z., Kim, H. C.^{*1}, Lee, I. S.^{*2}, Kasahara, K. and Takahashi, M.: **Promotional effects of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol(NNAL) on N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine(BOP)-initiated carcinogenesis in hamsters**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 387-392 (1997)

ハムスターを用いたBOP腭二段階発癌モデルにおけるtabacco-specific nitrosamineのNNALの腫瘍発生に対する影響を検討した。BOPを投与し、その後2ppmと5ppm NNALを飲水中に混じて52週間投与した。腭腺管のdysplastic lesionとadenocarcinomaの合計の発生率で有意に増加した。その他にNNALは肺、肝、腎臓の腫瘍発生に対して影響を与えなかった。今回の実験からハムスターのBOP誘発腭発癌に対してNNALは促進効果を示した。

Keywords : NNAL, Pancreatic carcinogenesis, BOP

^{*1} Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

^{*2} Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

森 幸雄*, 小出彰宏*, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人:
喫煙による実験腭発癌抑制の作用機構

Environ. Mutagen Res., **19**, 163-170 (1997)

BOPをハムスター皮下に単回投与するとCYP2B1の誘導とCYP1A2と2B2の減少が認められる。喫煙の腭発癌の抑制作用機構の一つとして、代謝活性化に関与しないCYP1A2が誘導され、逆にCYP2B1の誘導が抑制されるためにBOPのproximate carcinogenへの代謝が促進されない。また解毒に関与すると考えられるUDP-GTaseの誘導と代謝活性化に関与するHSTaseの阻害も強く関与する。すなわちBOP腭発癌に対する喫煙の抑制作用は第1相と第2相の代謝活性化の阻害と不活性化の亢進という多面的であることが推察される。喫煙はCYP2B subfamilyとHSTaseにより代謝活性化される発癌物質に対しては抗発癌性を、しかしCYP1A subfamilyの基質となる発癌物質に対して促進的に作用することが強く示唆された。喫煙による発癌に対する修飾作用は喫煙に含まれる化学物質の数の多さに鑑みてもかなり複雑である。

Keywords: cigarette smoke, anticarcinogenicity, metabolic activation

* 岐阜薬科大学

Yamazaki, Y.*, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M. and Oda, S.*: **Histochemical Determination of stereoselectivity of esterases in normal pancreas and panc-**

pancreatic tubular adenocarcinoma of hamsters*Biotech. & Histochem.*, **73**, 23-31(1997)

ハムスターの正常膵組織と BOP 投与により発生する膵腺管癌を用いて、エステラーゼの立体選択性について酵素組織化学的染色にて検討した。正常膵組織の腺房細胞は N-methoxycarbonylalaninate が軽度の立体選択性であったが、(R)-N-acetylprolinate は脂肪細胞に高い立体選択性を示した。これらのエステラーゼ活性は膵腺管癌には認められなかったが、(S)-N-methoxycarbonylvalinate は高い立体選択性のエステラーゼ活性が認められた。また、この結果は 2 次元電気泳動で確認し、この酵素組織化学的な検索方法は、組織におけるエステラーゼの立体選択性を簡便に検索する優れた方法であることが明らかになった。

Keywords : pancreatic adenocarcinoma, esterase, hamster

* Agency of Industrial Science and Technology

Tanakamaru, Z.^{*1}, Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Lee, I. S.^{*2}, Kasahara, K., Tanaka, T.^{*1} and Takahashi, M.: **Failure of dietary a-difluoromethylornithine to inhibit gastric carcinogenesis in rats after 8 weeks of treatment with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride**

Cancer Lett., **120**, 95-100(1997)

ラット二段階胃発癌モデルを用いて、オルニチン脱炭酸酵素阻害剤 DFMO のポストイニシエーション期における修飾効果について検討した。6 週齢の雄 Wistar ラットを用い、第 1～3 群には 100 ppm の MNNG と 10% の NaCl を各々飲料水および基礎食に混じて 8 週間投与し、その後 DFMO 混餌食を第 1 (2,000 ppm) および 2 (500 ppm) 群に 70 週間投与し、第 3 群には基礎食のみを与え、実験開始 78 週後に実験を終了した。その結果、第 1～3 群にみられた異型的粘膜上皮過形成および腺癌の発生頻度並びに多発性は、いずれの群間において差は認められなかった。以上より本モデルにおいて DFMO は明らかな抑制効果を示さなかった。

Keywords : DFMO, stomach carcinogenesis, rat

^{*1} 岐阜大学医学部

^{*2} Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Lee, I. S.^{*}, Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T. and Takahashi, M.: **Comparative study on organ-specificity of tumorigenicity, mutagenicity and cell proliferative activity induced by dimethylnitrosamine in Big Blue(r) mice**

Cancer Lett., **117**, 143-147(1997)

DMN によって誘発される腫瘍の臓器特異性について検討するため、Big Blue(r) mice を用いて、lac I の変異発現ならびに細胞増殖活性について比較を行った。雄の Big Blue(r) mice に、1 または 10 mg/kg/day の DMN を 5 回、あるいは 5 または 10 mg/kg の DMN を 1 回腹腔内投与した。その結果、気管支上皮細胞の細胞増殖活性が用量依存性に誘導されることが確認された。DMN 5 mg/kg 投与群 43% に肝細胞腫瘍、1 mg/kg 5 回投与群 43% に腎異型尿細管、1 mg/kg 5 回投与群 14% に十二指腸の腺癌が観察された。これらの結果から、DMN 誘発腫瘍の臓器特異性は lac I の変異と一致するが、細胞増殖との関連性は明らかでないことが示された。

Keywords : lac I, Mutagenicity, Tumorigenicity

* Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

Nishikawa, A., Lee, I. S.^{*1}, Uneyama, C., Furukawa, F., Kim, H. C.^{*2}, Kasahara, K., Huh, N.^{*3} and Takahashi, M.: **Mechanistic insights into chemopreventive effects of phenethyl isothiocyanate in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters**

Jpn. J. Cancer Res., **88**, 1137-1142(1998)

BOP ハムスター発がんモデルを用いて、標的臓器における細胞動態および生体外異物代謝酵素に対する PEITC の影響について検討した。ハムスターに PEITC を強制経口投与し、2 時間後に BOP を皮下に単回投与した。BOP 投与後 6 および 22 時間後にハムスターを屠殺した。PEITC は BOP ハムスター発がんのイニシエーション期において、標的臓器における細胞回転の制御、DNA メチレーションおよび肝 phase I 酵素に影響しその抑制作用を示すことが示唆された。

Keywords : Mechanism, PEITC, Chemoprevention

^{*1} Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

^{*2} Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

^{*3} 富山医科薬科大学

Shimo, T.^{*1}, Mitsumori, K., Takahashi, S.^{*2}, Katayama, J.^{*1}, Saito, A.^{*1}, Yoshida, H.^{*1}, Aoki, Y.^{*1}, Onodera, H. and Takahashi, M.: **Comparison of ultrastructural changes in thyrotrophs of the rat pituitary between intermittent and continuous treatments with sulfadimethoxine**

Toxicol. Pathol., **25**, 177-185(1997)

抗甲状腺物質の間欠ないし連続投与による血清中甲状腺刺激ホルモン (TSH) レベルと下垂体 TSH 産生細胞の変化との関連性を検討した。N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine によりイニシエーションした雄ラットに、8 から 14 週間にわたり 0.1% のサルファジメトキシ (SM) を間欠あるいは連続飲水投与した。光顕的には TSH 産生細胞の肥大と TSH 陽性物質の枯渇が、電顕的には TSH 産生細胞の細胞質内分泌顆粒の減少とともに高電子密度顆粒を含む粗面小胞体槽の拡張が認められた。以上より、SM の連続投与は TSH 要求量の増加に対する段階的な順応反応を、一方、間欠投与は視床下部-下垂体-甲状腺系の持続的な強いフィードバックによる TSH 産生細胞の TSH 貯蔵量の減少を招くことが推察された。

Keywords : intermittent treatment, TSH

^{*1} 北陸製薬(株)中央研究所

^{*2} (財)佐々木研究所

Yamamoto, S.^{*1,2}, Hayashi, Y., Mitsumori, K. and Nomura, T.^{*2}: **Rapid carcinogenicity testing system with transgenic mice harboring human prototype c-HRAS gene**

Lab. Animal Sci., **47**, 121-126(1997)

短期発癌試験におけるヒトプロト型 c-H-ras 遺伝子導入トランスジェニック (Tg) マウス (CB6F1-HRAS2 マウス) の有用性を評価するために、CB6F1-HRAS2 マウスと同腹仔の非遺伝子導入 (non-Tg) マウスを用いた短期発癌試験を実施した。種々の遺伝毒性発癌物質を投与した短期発癌試験の結果より、CB6F1-HRAS2 マウスは non-Tg マウスに比べ、発癌物質に対する感受性がより高いことが明らかとなった。以上より、CB6F1-HRAS2 マウスは、短期発癌試験系開発のための動物モデルとして有望な候補動物であると推察された。

Keywords : CB6F1-Tg Hras2 mouse, rapid carcinogenicity testing system, human prototype c-HRAS gene

¹ 慶応大学医学部² (財)実験動物中央研究所

Mitsumori, K., Wakana, S.¹, Yamamoto, S.², Kodama, Y., Yasuhara, K., Nomura, T.¹, Hayashi, Y.³ and Maronpot, R. R.⁴: **Susceptibility of transgenic mice carrying human prototype c-Ha-ras gene in a short-term carcinogenicity study of vinyl carbamate and ras gene analyses of the induced tumors**

Mol. Carcinogenesis, **20**, 298-307(1997)

ヒト c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニック (Tg) マウス (Hras2 マウス) の既知の発癌物質に対する感受性を評価するために, Hras2 マウスと同腹仔の non-Tg マウスに vinyl carbamate (VC) 60 mg/kg を単回腹腔内投与し, 16 週間観察した。その結果, Hras2 マウスは, non-Tg マウスに比べ, VC 投与による肺腫瘍と脾臓および肺の血管肉腫の誘発に対し高い感受性を示すことが明らかとなった。一方, 導入遺伝子およびマウス Ki-ras 遺伝子の点突然変異は, VC の肺腫瘍誘発に関与していないことが示唆された。

Keywords: CB6F1-Tg Hras2 mouse, point mutation, murine Ki-ras

¹ (財)実験動物中央研究所² 慶応大学医学部³ 北里大学薬学部⁴ National Institute of Environmental Health Sciences

Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Mutai, M.¹, Kitaura, K.², Takahashi, S.³, Uneyama, C., Yasuhara, K., Takahashi, M., Yanai, T.⁴, Masegi, T.⁴ and Hayashi, Y.⁵: **UDP-GT involvement in the enhancement of cell proliferation in thyroid follicular cell proliferative lesions in rats treated with thiourea and vitamin A**

Arch Toxicol., **71**, 661-667(1997)

過剰のビタミン A (VA) およびチオウレア (TU) を同時投与したラットにおいて甲状腺増殖性病変の細胞増殖活性が増強されるメカニズムを解析するため, 雄 F344 ラットを DHPN でイニシエーション後, 1 週間目から 0.2% TU 飲料水 (TU 群), 0.1% VA 飼料 (VA 群), 0.2% TU および 0.1% VA (TU+VA), または 0% TU/VA (対照群) を 10 週間与えた。TU 群および TU+VA 群では, 血清中 T3/T4 は減少し, TSH 値は上昇した。その程度は TU+VP 群で有意に強かった。肝臓の UDP-GT 活性は TU 群に比べて TU+VA 群で有意に増加した。甲状腺増殖性病変の細胞増殖活性上昇は, VA 同時投与により増強した。以上より, TU による甲状腺ホルモン合成の抑制に加えて, VA 同時投与により肝 UDP-GT 活性が増強され, その結果として, 血清 T3/T4 の減少と TSH の増加が増強されることが示唆された。

Keywords: vitamin A, thiourea, UDP-GT

¹ 三菱化学(株)横浜総合研究所² 大塚製薬(株)徳島研究所³ (財)佐々木研究所⁴ 岐阜大学農学部⁵ 北里大学薬学部

Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Shimo, T., Yasuhara, K., Takahashi, M., Mutai, M.¹, Takahashi, S.², Yanai, T.³, Masegi, T.³: **Effects of simultaneous treatment with excess amounts of vitamin A and goitrogens on thyroid tumorigenesis in rats**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 91-96(1997)

種々の抗甲状腺物質による甲状腺増殖性病変に対するビタミン A (VA) 同時投与の影響を検討するため, F344 ラットに DHPN によるイニシエーション後, 0.1% VA 飼料および sulfadimethoxine, propylthiouracil, potassium thiocyanate または phenobarbital を 19 週間与えた。投与期間終了後, 血清中 T3, T4 および TSH 値, 肝臓の UDP-GT 活性, および甲状腺重量を測定した。さらに, 甲状腺増殖性病変を組織学的に検索し, PCNA 標識率を測定した。T4 値はすべての抗甲状腺物質において VA により減少したが, TSH 値は VA により上昇しなかった。その他の検査項目においても VA の増強作用は認められず, チオウレアと VA において認められた増強作用は特殊な現象であることが示唆された。

Keywords: thyroid, vitamin A, UDP-GT

¹ 三菱化学(株)横浜総合研究所² (財)佐々木研究所³ 岐阜大学農学部

Mitsumori, K., Onodera, H., Shoda, T., Uneyama, C., Imazawa, T., Takegawa, K., Yasuhara, K., Watanabe, T.* and Takahashi, M.: **Liver tumor-promoting effects of oxfendazole in rats**

Fd Chem. Toxicol., **35**, 799-806(1997)

動物用医薬品である Oxfendazole (Ox) の肝臓に対するプロモーション作用を検討した。Diethylnitrosamine (DEN) でイニシエーション処置一週間後より, Ox 500, 250, 100, 10 ないし 0 ppm 含有混餌飼料を雄 F344 ラットに 8 週間与えた肝重量の増加は Ox 100 ppm 投与以上の群で認められた。100 ppm 投与以上の群の肝臓で小葉中心性肝細胞肥大が, 500 ppm 群では肝細胞の滑面小胞体の著明な増加が観察された。100 ppm 群では CYP1A1/2, 2B1/2, 4A1 が誘導され, 特に CYP1A1/2 の誘導が顕著であった。CYP1A1/2 の誘導は 10 ppm 群でも認められた。細胞間結合タンパク (Cx32) は Ox の用量に相関して数・面積とも減少した。Glutathion S-transferase 胎盤型 (GST-P) 陽性細胞数も 250 ppm 以上の群で有意に増加した。これらの結果より Ox は肝臓に対し腫瘍プロモーション作用を有する可能性が強く示唆された。

Keywords: oxfendazole, promotion, connexin

* 住友化学工業(株)生物環境科学研究所

Yoshida, T.*, Mitsumori, K., Harada, T.* and Maita, K.*: **Morphological ultrastructural study of meningeal granular cell tumors in rats**

Toxicol. Pathol., **25**, 211-216(1997)

ラット脳顆粒細胞腫の起源を明らかにするために, 髄膜腫が自然発生した 40 匹のウイスターラットについて検索を行った。髄膜腫は組織学的に髄膜細胞型髄膜腫 (MMs) 3 例, 顆粒細胞腫 (GCTs) 28 例, 混合型 (MIXs) 9 例に分類され, そのうち MMs 2 例, GCTs 2 例, MIXs 3 例を電子顕微鏡を用いて検索した。MMs の腫瘍細胞は中間径フィラメントと起伏の激しい細胞突起から構成されていた。GCTs は顆粒から構成, MIXs は顆粒, フィラメントから構成されていた。GCTs と MIXs の腫瘍細胞はデスモゾームで結合していた。MIXs は, 形態学的に GCTs 類似および MMs 類似の細胞分化傾向を示した。以上より, GCTs および MIXs は髄膜くも膜細胞から由来する髄膜腫の一種と考えられた。

Keywords: meningioma, meningeal tumor, brain

* (財)残留農薬研究所

Hayashi, S.^{*1}, Mitsumori, K., Yasuhara, K., Mori, I.^{*2}, Imazawa, T., Onodera, H., Nonoyama, T., Takahashi, M., Hayashi, Y.^{*3}: **Significance of cyclin D1 overexpression and K-ras point mutations in lung tumors induced by N-methyl-N-nitrosourea in hamsters**

J. Toxicol. Pathol., **10**, 137-143 (1997)

雌シリアン・ゴールドデンハムスターを用いてN-methyl-N-nitrosourea (MNUR)の投与実験を行った。肺腫瘍の33%にcodon13あるいは64のK-ras遺伝子に突然変異が発現した。codon12に変異は起こらなかった。以上より、K-ras遺伝子の突然変異はMNUR誘発細気管支-肺腺腫の誘発増強に関与し、多形性細胞腫瘍でのサイクリンD1の過剰発現は悪性へ転換する過程に関与する事が示唆された。

Keywords: cyclin D1, K-ras, p53 protein

^{*1} 武田薬品工業(株)薬理研究所

^{*2} 武田薬品工業(株)薬剤安全研究所

^{*3} 北里大学薬学部

Matsuoka, A., Ozaki, M., Takeshita, K., Sakamoto, H., Glatt, H.-R.^{*}, Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Aneuploidy induction by benzo[a]pyrene and polyploidy induction by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in Chinese hamster cell lines V79-MZ and V79**

Mutagenesis, **12**, 365-372 (1997)

染色体の数的異常は、倍数性と異数性にわけられるが、異数性はヒトの不妊、流産、先天異常、発癌との関連が報告されており、重要な生物学的指標となりうる。しかし、試験管内試験系ではまだ数的異常の検出系は確立されていない。今回、我々は、チャイニーズ・ハムスター由来の4種の培養細胞株(V79-MZ, V79, CHL, CHO-K1)を用いて、代謝的活性化系非存在下、ベンツピレン、ジメチルベンツアントラセン、マイトマイシンC、コルヒチンの数的異常誘発性を検討した。その結果、既知の数的異常誘発物質コルヒチンでは、4細胞株すべてで倍数性が誘発された。陰性対照マイトマイシンCでは、いずれの細胞株でも数的異常は誘発されなかった。しかし、ベンツピレンはV79-MZでのみ異数性を、また、ジメチルベンツアントラセンはV79-MZとV79細胞株で、倍数性を誘発した。V79-MZとV79細胞株は数的異常検出系として期待できる。

Keywords: aneuploidy, benzo[a]pyrene, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene

^{*} German Institute of Human Nutrition

Honma, M., Zhang, L.-S.^{*1}, Hayashi, M., Takeshita, K., Nakagawa, Y.^{*2}, Tanaka, N.^{*3} and Sofuni, T.: **Illegitimate recombination leading to allelic loss and unbalanced translocation in p53-mutated human lymphoblastoid cells**

Mol. Cell. Biol., **17**, 4774-4781 (1997)

ヘテロ接合性の消失(LOH)はヒト発癌過程における主要な遺伝子変異であり、一般に遺伝子全体の欠失、もしくは相同染色体間の組換え反応により生じると考えられている。今回我々は、p53変異細胞において、LOHは主として非同相組換え反応を介して生じ、結果的に不均衡型の転座をもたらすことを明らかにした。X線などのDNAの2本鎖切断を引き起こす変異原によってこの不均衡型の転座の発生頻度が増加することから、p53は染色体間の相同組換えや、DNA 2本鎖切断の組換え修復反応を制御するこ

とによりゲノムの安定化に寄与していることが示唆された。これらのことはヒト癌組織においてp53遺伝子の変異と同時に観察されるLOH型突然変異や、染色体転座を説明しうるものと考えられる。

Keywords: p53, homologous recombination, genomic instability

^{*1} 中国華西医科大学公共衛生学院

^{*2} 食品薬品安全センター秦野研究所

Inoue, A.^{*1}, Yokomori, K.^{*2}, Tanabe, H., Mizusawa, H., Sofuni, T., Hayashi, Y.^{*2}, Tsuchida, Y.^{*2} and Shimatake, H.^{*1}: **Extensive genetic heterogeneity in the neuroblastoma cell line NB(TU)1**

Int. J. Cancer, **72**, 1070-1077 (1997)

神経芽腫における遺伝子異常にはN-myc遺伝子増幅がよく知られており、染色体レベルでは1p欠失およびHSRs/DMsとして観察される。我々は病期Ⅲの20ヶ月女児よりユニークな神経芽腫細胞株NB(TU)1を新たに樹立した。核型およびFISH分析の結果、この細胞株はほぼ偽2倍体で7タイプの核型から成り、2ヶ所のHSRs(2q31, 4p12)と複雑な転座や欠失が見られた。またN-myc遺伝子のサザン分析により、約30倍のN-myc増幅が見られ、2.9 kbの正常バンドに加えて9.0 kbの異常バンド(3クローンでは3.7 kbのバンドも)が検出され、5'非転写領域でのゲノム再構成が確認された。さらに小核形成能を他の5種の神経芽腫細胞株と比較した結果、NB(TU)1のみが高発現を示した。以上のことからNB(TU)1は通常の神経芽腫では見られない、ある種の「ゲノム不安定性」を獲得しているものと考えられた。

Keywords: neuroblastoma, chromosomal instability, N-myc amplification

^{*1} 東邦大学医学部

^{*2} 東京大学医学部

林 真, 渡部 烈^{*1}, 島田弘康^{*2}: **レギュラトリサイエンスにおける変異原性試験**

Environ. Mutagen Res., **19**, 111-115 (1997)

日本環境変異原学会第25回記念大会「21世紀に向けての環境変異原研究の目指すもの」の一環として開催されたシンポジウムの記録である。演題と演者は次の通りである: 「レギュラトリサイエンスとは何か」前所長内山充; 「行政が学会に求めるもの」厚生省津田重城; 「基礎科学と行政」岡山大学早津彦哉; 「企業における変異原性試験の現状」第一製薬島田弘康; 「21世紀の行政における変異原性試験」変異遺伝部長祖父尼俊雄であった。本研究分野における基礎と応用の融和は本学会にとって大きなテーマである。化学物質の安全性評価等において、行政が何を学会に期待しているのか、また、大学を中心とする基礎研究者がどのように行政に関与するのが良いのか、等について議論がなされた。

Keywords: regulatory science, chemical safety evaluation, hazard identification

^{*1} 東京薬科大学

^{*2} 第一製薬(株)安全性研究所

Sofuni, T., Wilcox, P.^{*1}, Shimada, H.^{*2}, Clements, J.^{*3}, Honma, M., Clive, D.^{*4}, Green, M.^{*5}, Thybaud, V.^{*6}, San, R. H. C.^{*7}, Elliott, B. M.^{*8} and Muller, L.^{*6}: **Mouse lymphoma workshop: Victoria, British Columbia, Canada, March 27, 1996: Protocol issues regarding the use of the microwell method of the mouse lymphoma assay**

Environ. Mol. Mutagen., **29**, 434-438(1997)

ICHでの論議を踏まえてマウスリンフォーマ試験(MLA)の国際共同研究が行われたが、その成果に基づいて、MLAのマイクロウェル法の試験プロトコールの問題に関するワークショップが米国環境変異原学会の1996年大会で行われた。ここでは処理時間、培養系列の数、細胞毒性のパラメータ、用量設定のためのパラメータ、陰性対照の突然変異頻度、平板効率、最高用量、結果の判定などの問題について論議を行い、それぞれについて基本的な合意が得られた。

Keywords : mouse lymphoma assay, protocol, international collaboration

*¹ Glaxo Wellcome R&D(UK)

*² 第一製薬(株)安全性研究所

*³ Covance Laboratories Ltd.(UK)

*⁴ Raleigh(USA)

*⁵ University of Sussex(UK)

*⁶ Rhone-Poulenc Rorer(France)

*⁷ Microbiological Associates, Inc.(USA)

*⁸ ZENECA Central Toxicology Laboratory(UK)

*⁹ Federal Institute for Drugs and Medical Devices(Germany)

Ono, T., Ikehata, H., Hosoi, Y., Shung, B.-S., Kurishita, A., Wang, X., Yamamoto, K., Suzuki, T. and Sofuni, T.: **X-ray- and ultraviolet-radiation-induced mutations in MutaTMMouse**

Radiat. Res., **148**, 123-128(1997)

トランスジェニックマウス(MutaTMMouse)を用いて放射線誘発突然変異を検出するために、X線全身照射による影響を検討すると共に、紫外線による影響と比較した。自然突然変異頻度は脾臓、肝臓および皮膚においてそれぞれおよそ 7×10^{-5} であった。X線8 Gy照射1週間後の脾臓、肝臓および皮膚の突然変異頻度はそれぞれ自然突然変異頻度の3.2, 2.6および2.7倍であった。紫外線10 kJm⁻²を照射した皮膚ではおよそ6倍増加した。4 Gyの単回照射および0.15 Gyの78回分割照射(3回/週)を行い、照射終了16週における突然変異頻度は自然突然変異頻度の2倍弱であった。胎児由来培養細胞を用いてX線と紫外線とで比較した結果、紫外線5 Jm⁻²照射により突然変異頻度は非照射の15倍増加したが、X線10 Gy照射では2.6倍であった。このことからMutaTMMouseは紫外線に比べるとX線に対して低感受性であることが判明した。

Keywords : transgenic mouse, X-ray, ultraviolet

* 東北大学

Kobayashi, S.¹, Nishimura, M.¹, Shimada, Y.¹, Suzuki, F.², Matsuoka, A., Sakamoto, H., Hayashi, M., Sofuni, T., Sado, T.¹ and Ogiu, T.¹: **Increased sensitivity of scid heterozygous mice to ionizing radiation**

Int. J. Radiat. Biol., **72**, 537-545(1997)

Scidマウス(ホモおよびヘテロ)およびscidマウスと同じ遺伝的背景の野生型マウスを用いて放射線単回照射による致死効果、骨髄への影響を検討すると共に、これらのマウス由来の培養線維芽細胞を用いて検討を行った。また、紫外線および各種変異原(プレオマイシン, マイトマイシンCなど8種)への感受性を検討した。さらに、全身照射マウスを用いて小核試験を行った。放射線照射に対しscidヘテロマウスはホモに比べて感受性が低いが、野生型よりは感受性が高かった。培養した骨髄細胞においても同様の結果が得られ、この遺伝子が部分優性であることが示

唆された。一方、これらのマウス由来の培養線維芽細胞を用いて紫外線や各種変異原に対する感受性を検討したが、明らかな差異はみられなかった。さらに、放射線による小核誘発性においても差異はみられなかった。

Keywords : scid mouse, ionizing radiation, genotoxicity

*¹ 放射線医学総合研究所

*² 広島大学放射線生物医学研究所

Sasaki, Y.¹, Izumiyama, F.¹, Nishidate, E.¹, Ishibashi, S.¹, Tsuda, S.², Matsusaka, N.², Asano, N.³, Saotome, K.⁴, Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Detection of genotoxicity of polluted sea water using shellfish and the alkaline single-cell gel electrophoresis(SCG) assay: a preliminary study**

Mutat. Res., **393**, 133-139(1997)

水環境の汚染をモニターするため、ホタテ貝とアサリを用いて単細胞ゲル電気泳動法(コメット法)によるDNA損傷性を検討した。モデル化合物としては典型的な変異原であるMNNG, EMS, MX, B[a]Pを用いた。4時間被験物質を含む海水で貝を処理し、コメット法を行った。全てのモデル化合物について統計学的に有意なDNA損傷の誘発が観察された。さらに、予備的な検討により東京、大阪、神戸の汚染が予想される海水で貝を処理したところ、汚染の低いことが予想される八戸の海水と比較して、高いDNA損傷性が観察された。今後さらに検討を重ねる予定である。

Keywords : COMET assay, water pollution, shellfish

*¹ 八戸高専

*² 岩手大学農学部

*³ 日東電工(株)

*⁴ 横浜市立衛生研究所

鄭 然孫*, 市川和洋*, 林 真, 内海英雄*: **in vitro 小核試験とコロニー形成阻害試験を用いた多摩川河川水の遺伝・細胞毒性評価**

水環境学会誌, **20**, 716-721(1997)

遺伝毒性の評価法として試験管内小核試験, 細胞毒性の評価法としてコロニー形成阻害試験を東京多摩川の河川水に適用し, 調査地点での汚染度の評価を試みた。その結果ほぼ予想通りの結果が得られ, ヒト由来細胞を用いるこれらの試験系が河川水の毒性評価に有用であることを示した。同一細胞を用いて毒性発現機序の異なる遺伝毒性と細胞毒性を同時に評価することは, 簡便な上に毒性情報を多面的に得ることができる。従って, この方法は水環境保全のために総合的に毒性を評価可能な系として有用であると期待される。

Keywords: *in vitro* micronucleus assay, colony forming assay, water pollution

* 九州大学薬学部

Suzuki, T., Hayashi, M., Wang, X., Yamamoto, K.¹, Ono, T.¹, Myhr, B. C.² and Sofuni, T.: **A comparison of the genotoxicity of ethylnitrosourea and ethyl methanesulfonate in lacZ transgenic mice(MutaTMMouse)**

Mutat. Res., **395**, 75-82(1997)

我々はlacZトランスジェニックマウスを用い, エチル化剤の遺伝子突然変異および末梢血を用いる小核試験によって染色体異常誘発性について検討した。単回投与48時間後の小核誘発頻度はENU(100 mg/kg)で6.6%, EMS(400 mg/kg)で3.3%を示し, いずれも強い小核誘発性が認められた。処理7日後のlacZにおける突然頻度を調べた結

果, 対照群においては骨髄と肝臓で 2.0×10^{-6} および 4.6×10^{-6} であった. ENU (200 mg/kg) と EMS (400 mg/kg) 処理群においては, 骨髄で 3.4×10^{-5} および 1.8×10^{-5} と突然変異頻度が上昇したが, 肝臓においては最高用量群でわずかな上昇が観察されたのみであった. 誘発変異体について DNA 塩基配列を解析した結果, EMS 誘発突然変異の75%は GC to AT transitionで, *O*⁶-ethylguanine に起因するものと考えられる. ENU 誘発変異体では AT 塩基対に変異が起こっているものが多く, チミン付加体が重要な役割を果たしていることが示された.

Keywords: transgenic mouse, micronucleus assay, *lacZ* mutation

*¹ 東北大学

*² Covance Inc.

Yamada, M., Espinosa-Aguirre, J. J.^{*1}, Watanabe, M.^{*2}, 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)

S. typhimurium TA 1535 と TA 1538 の classical nitroreductase (CNR) 遺伝子破壊株を作製し YG 7131 および YG 7127 株と命名した. CNR 遺伝子の破壊により TA 1538 株のニトロ還元酵素活性はほぼ完全に消失したが, TA 1535 株のニトロ還元酵素活性は1/4程度減少したにすぎなかった. 以上の結果から, *S. typhimurium* には少なくとも2種類のニトロ還元酵素が存在することが明らかになった. YG 7131 株, YG 7127 株を用いた変異原性試験の結果から 2-nitronaphthalene の代謝的活性化には, 第2のニトロ還元酵素が関与することが示唆された.

Keywords: classical nitroreductase, metabolic activation, mutagenicity

*¹ Instituto de Investigaciones Biomedicas, U.N.A.M.

*² 国立がんセンター研究所

Yamada, M., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **New tester strains of *Salmonella typhimurium* lacking *O*⁶-methylguanine DNA methyltransferase and highly sensitive to mutagenic alkylating agents**

Mutat. Res., **381**, 15-24 (1997)

S. typhimurium YG 7104 株と YG 7108 株は, アルキル化 DNA 損傷の修復に関与する *ogt*ST 遺伝子あるいは *ogt*ST と *ada*ST を破壊した菌株である. YG 7104 株と YG 7108 株を用いてアルキル化剤を含む15種類の化学物質の変異原性を検索した. その結果, YG 7104 株と YG 7108 株は ENNG, ENU, DMN などのアルキル化剤に対し極めて高い感受性を示すことが明らかとなった. これらの菌株は, 環境中に存在する微量のアルキル化剤による変異原性の検出および作用機構の検討に有効である.

Keywords: alkylating agents, Ames test, *ogt*ST

Suzuki, M., Matsui, K., Yamada, M., Kasai, H.^{*}, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Construction of mutants of *Salmonella typhimurium* deficient in 8-hydroxyguanine DNA glycosylase and their sensitivities to oxidative mutagens and nitro compounds**

Mutat. Res., **393**, 233-246 (1997)

8-hydroxyguanine DNA glycosylase (8-OH-DG) は酸化的 DNA 損傷の一つである 8-hydroxyguanine の修復酵素である. Ames test に用いられる *S. typhimurium* TA 1535,

TA 1975, TA 102 株の 8-OH-DG をコードする *mutM*ST 遺伝子を破壊した. 遺伝子破壊により TA 1535, TA 1975 の neutral red+visible light, methylene blue+visible light に対する感受性が高まった. また TA 102 株では *mutM*ST 遺伝子の破壊により過酸化水素に対する感受性が高くなった. TA 1975 の *mutM*ST 遺伝子破壊株 (YG 3002) は 4NQO に対し, 親株よりも約30倍高い感受性を示した. これらの菌株は, 酸化的 DNA 損傷を起こす変異原の高感度検出に有効である.

Keywords: oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine DNA glycosylase, *mutM*ST

* 産業医科大学

Gruz, P., Matsui, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Roles of the mutagenesis proteins SamA' and MucA'B in chemically induced frameshift mutagenesis in *Salmonella typhimurium* hisD3052**

Mutat. Res., **398**, 33-42 (1998)

突然変異誘発を促進する蛋白質 SamA', SamB, MucA', MucB によるフレームシフト型突然変異誘発の促進について, *S. typhimurium* hisD3052 で起こる突然変異を指標に検討した. その結果, SamA' と SamB を同時に発現すると, MucA' と MucB を同時に発現した場合と同様の効率で, furylfuramide, aflatoxin B1, 1-nitropyrene, 1,8-dinitropyrene による突然変異を促進した. 興味深いことに MucB のみを高発現させると, 1-nitropyrene, 1,8-dinitropyrene で起こる突然変異が促進された. 他の3種類の蛋白質 SamA', SamB, MucA' を高発現した時には, 変異の促進は観察されなかった. Mutagenesis protein によるフレームシフト突然変異促進機構について討論した.

Keywords: Mutagenesis protein, frameshift

Suzuki, A.^{*1}, Kushida, H.^{*1}, Iwata, H.^{*1}, Watanabe^{*2}, M., Nohmi, T., Fujita, K.^{*1}, Gonzalez, F. J.^{*3} and Kamataki, T.^{*1}: **Establishment of a *Salmonella* tester strain highly sensitive to mutagenic heterocyclic amines**

Cancer Res., **58**, 1833-1838 (1998)

Heterocyclic amine は焦げた食品中に存在する変異原であり, cytochrome P-450 1A2 (CYP1A2) と *O*-acetyltransferase (OAT) によって代謝活性化される. *S. typhimurium* TA 1538 株にヒトの CYP1A2 遺伝子, NADPH CYP reductase 遺伝子, *S. typhimurium* の OAT 遺伝子を導入発現させ TA 1538/ARO 株とした. TA 1538/ARO 株は IQ, MeIQ に対し, 親株の TA 1538 よりも極めて高い感受性を示した. 新たに樹立した *S. typhimurium* TA 1538/ARO 株は, 環境中の heterocyclic amine の高感度検出に有用である.

Keywords: heterocyclic amine, CYP1A2, *O*-acetyltransferase

*¹ 北海道大学薬学部

*² 国立がんセンター研究所

*³ 米国衛生研究所

Kim, S.-R. and Komano, T.: **The plasmid R64 thin pilus identified as a type IV pilus**

J. Bacteriol., **179**, 3594-3603 (1997)

Incl1 プラスミド R64 の pil 領域の全塩基配列を決定した. 塩基配列の解析により, R64 の細線毛の形成に関与する pilI から pilV までの14個の遺伝子の存在を認めた. 8個の pil 遺伝子についてはマキシセル法によりその産物を同定した. その内, pilN の産物はグロボマイシンを用い

た実験からリポタンパク質であることが示された。コンピューターによる検索は、多くの R64 pil 遺伝子が IV 型線毛の生合成やタンパクの細胞外への放出に関与するタンパク質群とアミノ酸配列間の相同性を持つことが示された。特に、pilS と pilV 遺伝子の産物は、R64 細線毛の構造遺伝子である prepilin であり、pilU の産物は、prepilin peptidase として機能することが示唆された。これらの結果は、R64 の細線毛が IV 型(グループ IVB)の線毛に分類されることを示す。R64 の液内接合における pilR, pilU 両遺伝子の関与は、それらの欠損株を作製することにより明らかにした。R64 の pil システム、Vibrio cholerae の tcp システム、病原性大腸菌の bfp システムの 3 種の IVB 型線毛形成システム間の比較は、それらが共通の遺伝子システムから進化してきたことを示す。

Keywords : R64 thin pilus, type IV pilus, conjugal transfer

* 東京都立大学理学部

Arai, K.^{*1,2}, Morishita, K.^{*1}, Shinmura, K.^{*1}, Kohno, T.^{*1}, Kim, S.-R., Nohmi, T., Taniwaki, M.^{*3}, Ohwada, S.^{*2} and Yokota, J.^{*1}: **Cloning of a human homolog of the yeast OGG1 gene that is involved in the repair of oxidative DNA damage**

Oncogene, **14**, 2857-2861(1997)

グアニン塩基の酸化によって生成される 8-ヒドロキシグアニンの除去修復に関与する DNA グリコシラーゼをコードする酵母 OGG1 遺伝子のヒトホモログをクローニングした。ヒト EST (N55394) の予想されるアミノ酸配列が酵母 OGG1 タンパクの一部の配列と 40% 以上の一致することが認められたので、この N55394 クローンをプローブとして用い、完全長の cDNA クローンを HeLa 細胞の cDNA ライブラリーから単離した。この cDNA クローンは、酵母の OGG1 タンパクと約 38% の相同性を示す 345 アミノ酸からなるタンパクをコードしていた。このヒトホモログの発現は、酵母 OGG1 の場合と同様に大腸菌の *mutM*, *mutY* 2 重欠損株における自然突然変異を抑制した。この遺伝子は、ヒト染色体上 3p26.2 にマップされ、様々な組織で普遍的に発現されることが認められた。これらの結果は、今回分離されたこの遺伝子がヒトの OGG1 遺伝子であり、ヒト細胞での酸化的 DNA 損傷の修復に関与することを強く示唆する。

Keywords : oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, DNA repair

^{*1} 国立がんセンター研究所

^{*2} 群馬大学医学部

^{*3} 京都府立医科大学

Tani, M.^{*1, *2}, Shinmura, K.^{*1}, Kohno, T.^{*1}, Shiroishi, T.^{*3}, Wakana, S.^{*4}, Kim, S.-R., Nohmi, T., Kasai, H.^{*5}, Takenoshita, S.^{*2}, Nagamachi, Y.^{*2} and Yokota, J.^{*1}: **Genomic structure and chromosomal localization of the mouse OGG1 gene that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in DNA damage**

Mammalian Genome, **9**, 32-37(1998)

8-ヒドロキシグアニンは活性酸素により生成されるグアニン塩基の損傷で、GC から TA への塩基置換を引き起こす。以前、我々は DNA 中の 8-ヒドロキシグアニンを除去する DNA グリコシラーゼ/リアーゼをコードする酵母 OGG1 のヒトのホモログである *hOGG1* 遺伝子を単離した。今回、OGG1 のマウスホモログ *mOgg1* をクローニングし、その産物の 8-ヒドロキシグアニン特異的な DNA グリコシラーゼ/AP リアーゼ活性について解析するとともに、そ

の遺伝子の構造と染色体上の位置を決定した。予想されるタンパクは、ヒトと酵母の OGG1 タンパクと相同的な 5 つのドメインを持っていた。その GST 融合タンパクは、ヒトと酵母の OGG1 タンパクと同様なグリコシラーゼ/リアーゼ活性、基質特異性および大腸菌 *mutM*, *mutY* 2 重欠損株に対する自然突然変異抑制活性を示した。Ogg1 遺伝子は、マウスの 6 番染色体にマップされ、7 つのエクソンからなる全長約 6 kb の遺伝子であることが明らかになった。2 つの DNA 結合ドメインはエクソン 4 と 5 にコードされていた。これらの結果は、酸化的 DNA 損傷と発ガンの関係を明らかにするための OGG1 遺伝子の研究を容易にすると思われる。

Keywords : oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, DNA repair

^{*1} 国立がんセンター研究所

^{*2} 群馬大学医学部

^{*3} 国立遺伝学研究所

^{*4} 実験動物中央研究所

^{*5} 産業医科大学

Kim, S.-R., Maenhaut-Michel, G.^{*1}, Yamada, M., Yamamoto, Y.^{*2}, Matsui, K., Sofunu, T., Nohmi, T. and Ohmori, H.^{*3}: **Multiple pathways for SOS-induced mutagenesis in Escherichia coli: an overexpression of *dinB/dinP* results in strongly enhancing mutagenesis in the absence of any exogenous treatment to damage DNA**

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **94**, 13792-13797(1997)

大腸菌染色体上 5.5 分に同定された *dinP* 遺伝子の産物は、誘発突然変異に関与する大腸菌 UmuC タンパクとアミノ酸配列間の相同性を示す。この遺伝子は以前、*lac* の近傍 8 分にマップされ、その機能は UV 照射した大腸菌に感染させた非照射ラムダファージの突然変異 (λ UTM; λ untargeted mutagenesis) に必要とされることが示唆されていた。新たに作製された *dinP* 欠失株は、以前に観察された *dinB*:Mu 変異と同様、 λ UTM の欠損を示し、その欠損は大腸菌の遺伝子として *dinP* のみを持つプラスミドによって相補された。さらに *dinP* 遺伝子の高発現は、UV 照射やその他の DNA 損傷を与える処理をしなくとも F' *lac* プラスミド上の突然変異を強く促進した。特に、G6 から G5 への 1 塩基のフレームシフトは約 800 倍上昇した。また、この突然変異の促進は *recA*, *uvrA*, *umuDC* などに依存しなかった。これらの結果は、大腸菌は *umuDC* に依存した経路と *dinB/P* に依存した経路の少なくとも 2 つの SOS によって誘導される突然変異の経路を持つことが確認された。

Keywords: SOS response, untargeted mutagenesis, frameshift mutations

^{*1} Université Libre de Bruxelles(Belgium)

^{*2} 兵庫医科大学

^{*3} 京都大学ウイルス研究所

Connelly, J. C.^{*1}, Hasegawa, R., McArdle, J. V.^{*2}, Tucker, M. L.^{*3}: **ICH Guideline Residual Solvents**

Pharmaceuticals, **9** (suppl.1), S1-S68 (1997)

医薬品中の不純物としての残留溶媒の安全性に関して、日米欧三極で合意されたガイドラインとして、その許容量 (permitted daily exposure: PDE) が設定された。ここでは、許容量設定の基本的考え方、設定方法を解説すると共に、ガイドラインに取り上げられたすべての溶媒の全毒性試験結果、安全推定値の計算法とその結果、許容量をまとめた。

これは、ICH 残留溶媒ガイドラインにおける各溶媒の許容量設定のための引用文献としての位置づけとなっている。

Keywords : ICH, residual solvents, guideline

*1 Toxicology Dept, SmithKline Beecham Pharmaceuticals

*2 Analytical Sciences, SmithKline Beecham Pharmaceuticals

*3 Medicines Safety Evaluation, Glaxo Wellcome R&D

Kamata, E., Nakadate, M., Uchida, O., Ogawa, Y., Kanako, T. and Kurokawa, Y.: **Effects of Formaldehyde Vapor on the Nasal Cavity and Lungs of F-344 Rats.**

J. Environ. Path. Toxicol. Oncol., **15**, 1-8(1996)

ホルムアルデヒドの肺の肺胞表面活性物質や脂質の過酸化に対する作用を検討する目的で、雄 F-344 ラットに 15.0 または 145.6 ppm のホルムアルデヒドを 6 時間 1 回鼻部暴露した。鼻粘膜と肺の非蛋白性 SH 化合物と鼻粘膜の過酸化脂質 (LPO) は減少したが、肺中の LPO は増加した。また、肺胞表面活性物質の生成抑制が見られた。組織学的検査結果では、鼻甲介、気管や肺に扁平上皮の過角化、分泌過多や糜爛が見られ、145.6 ppm のホルムアルデヒド暴露は、呼吸器系に強い変化が見られた。

Keywords : Formaldehyde toxicity, Pulmonary surfactant, Lipid peroxide

Kamata, E., Nakadate, M., Uchida, O., Ogawa, Y., Suzuki, S., Kanako, T., Saito, M. and Kurokawa, Y.: **Results of a 28-Month Chronic Inhalation Toxicity Study of Formaldehyde in Male Fisher-344 Rats.**

J. Toxicol. Sci., **22**, 239-254(1997)

ホルムアルデヒドの慢性影響を調べる目的で、0.3, 2.0 及び 15.0 ppm のホルムアルデヒド混合空気を、F-344 ラットに、6 時間/日、5 日/週のスケジュールで 28 ヶ月暴露した結果、15 ppm 暴露した動物に、体重減少、血清トリグリセライドと肝臓重量の減少及び鼻粘膜の扁平上皮に乳頭腫と扁平上皮癌が見られた。しかし、他の暴露群ではこれらの変化は観察されなかった。しかし、暴露全群に鼻粘膜の過形成、過角化および扁平上皮化生が見られた。この試験結果からラットへの無毒性濃度が得られなかったため、ベンチマークドーズを計算した結果、0.24 ppm であった。

Keywords : Formaldehyde, Inhalation toxicity study, Fisher-344 rat, Benchmark dose

岡田敏史, 北島 文, 谷本 剛: **日本薬局方一般試験法「ビタミン A 定量法」の改正について(1)**

医薬品研究, **28**, 795-799(1997)

現行の『ビタミン A 定量法』は、日局医薬品各条の「酢酸レチノール」ほか、5 品目に適用されており、吸光度測定法による二つの方法 (第 1 法及び第 2 法) が規定されている。この方法は、ビタミン A を含む一般の製剤に対しても応用することができるが、処方量が少ないこと及び共存する薬物との分離の必要があることから、現行法を混合ビタミン剤中のビタミン A の定量分析に応用することは困難である。本研究においては、日局と外国薬局方 (USP, EP, BP) におけるビタミン A 定量法の相互比較を踏まえ、「ビタミン A 定量法」の改正の方向を明らかにした。

Keywords: Vitamin A Assay, HPLC, Japanese Pharmacopoeia

Yomota, C., Matsumoto, Y., Okada, S., Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Discrimination limit for purity test of human**

insulin by capillary electrophoresis

J. Chromatogr. B, **703**, 139-145(1997)

インスリン中の A-21 デスアミド体含量は純度試験の限度値で規定されており、USP や EP では HPLC による方法が採用されている。キャピラリー電気泳動 (CE) では A-21 デスアミド体と同時に B-3 デスアミド体の分離も可能で、純度試験法として使用可能と考えられる。CE によるインスリンの純度試験における判別限界を FUMI 理論により予測し、実際の繰り返し実験による結果と良く一致することを示した。CE のベースラインノイズの測定により、純度試験の判別限界を理論的に予測することが可能であることが明らかとなった。

Keywords : human insulin, capillary electrophoresis, purity test

四方田千佳子, 岡田敏史: **注射用デキストランのサイズ排除クロマトグラフィーによる分子量測定と分子量標準品に関する研究**

分析化学, **46**, 979-985(1997)

注射用デキストランの分子量及び分子量分布をサイズ排除クロマトグラフィーにより測定した。プルランを標準とする通常の方法により得られた分子量値は、ヨーロッパ薬局方 (EP) で採用された特殊な計算処理を必要とする方法で得た値とほぼ一致することを示した。プルランを標準品とすることにより注射用デキストランの分子量評価が可能と思われた。また、我が国のデキストラン製剤中には、EP の規格を下回るものがあることを示した。

Keywords: dextran for injection, size-exclusion chromatography, pullulan, dextran

Miyazaki, T., Yomota, C. and Okada S.: **Change in molecular weight of hyaluronic acid during measurement with a cone-plate rotational viscometer**

J. Appl. Polym. Sci., **67**, 2199-2206(1998)

回転粘度計を用いてヒアルロン酸溶液の粘度を測定した際、経時的に粘度が低下する傾向を認めた。そこでこの現象が、ヒアルロン酸の特異的な絡み合い構造の変化によるものか、あるいはヒアルロン酸分子鎖の切断による低分子化によるものかを、低角度レーザー光散乱法を用いた分子量測定により検討を行った。その結果、重量平均分子量が約 250 万のヒアルロン酸では 0.5 rpm の軽微な回転負荷によっても分子鎖が切断され、負荷時間を増加させるほど分子量が小さくなっていった。また、負荷する回転数によって分子鎖の切断方式が異なり、比較的緩やかな回転負荷では末端切断が、速やかな回転負荷によっては中央切断が優位に引き起こされることが示された。一方、重量平均分子量が約 100 万のヒアルロン酸ではほとんど分子量の変化が認められず、初期の分子量が大きいほど切断が起こりやすいという、既報の他の高分子の場合と同様の傾向が得られた。

Keywords : hyaluronic acid, degradation, molecular weight

谷本 剛, 前川京子, 岡田敏史, 渡辺典子*, 陣ヶ尾政一*, 目黒幸子*: **日本薬局方 L-トレオニンの薄層クロマトグラフ法による純度試験**

医薬品研究, **29**, 284-289(1998)

日本薬局方 L-トレオニンの純度試験の 1 項目である「他のアミノ酸」はろ紙クロマトグラフ法による試験方法が規定されているが、局方収載の他の 10 品目のアミノ酸では薄層クロマトグラフ法による試験方法が採用されている。また、薄層クロマトグラフ法が採用されているこれら 10 品目の試験の判定は標準溶液との相対比較によるものであり、不純

物としての「他のアミノ酸」の許容限度を再現性よく試験できるが、L-トレオニンのそれは試料溶液中の主スポット以外のスポットの有無によるものであり、不純物としての「他のアミノ酸」の限度を客観的に評価することは困難である。更に、ろ紙クロマトグラフ法は検出感度や試験所要時間などの点で薄層クロマトグラフ法より劣っている。このような科学的な観点とアミノ酸類の各モノグラフ間での試験方法の統一という観点から、L-トレオニンの当該試験法を薄層クロマトグラフ法による試験方法に改正するための検討を行い、改正試案を作成した。

Keywords: L-threonine, paper chromatography, thin-layer chromatography

* 味の素株式会社

谷本 剛, 田頭洋子, 北島 文, 岡田敏史, 鈴木英世, 佐竹元吉, 横田洋一^{*1}, 斎藤晴夫^{*1}, 伊藤亮一^{*2}, 大竹俊一^{*2}, 妹尾節哉^{*2}: 日本薬局方メシル酸ジヒドロエルゴトキシン標準品の新規設定

医薬品研究, **29**, 290-298(1998)

メシル酸ジヒドロエルゴトキシン標準品の新規設定のために標準品原料の品質を4機関での共同検定により評価した。次の試験結果より本原料を初回日本薬局方メシル酸ジヒドロエルゴトキシン標準品(Control 971)とした。1) IR スペクトル: 2970, 2886, 1730, 1671, 1634, 1549 及び 1043 cm^{-1} に特異吸収を認める。2) $[\alpha]_D^{20}$: $14.04 \pm 0.93^\circ$ 。3) 水分: $3.48 \pm 0.58\%$ 。4) TLC による純度: 4-6 個の不純物質スポットを認めるが、各不純物質の量は 0.1% 以下で、全不純物質の量は 0.5% 以下。5) メシル酸ジヒドロエルゴトキシン含量: $100.4 \pm 1.13\%$ 。6) メシル酸ジヒドロエルゴコルニン, メシル酸ジヒドロエルゴクリプチン, メシル酸ジヒドロエルゴリスチンの相対含量: 各 34.3 ± 0.98 , 33.8 ± 0.46 , $31.9 \pm 1.36\%$ 。7) メシル酸ジヒドロエルゴクリプチンの α/β 異性体比: $2.04 \pm 0.05\%$ 。

Keywords: Dihydroergotoxine mesylate, JP Reference standard

^{*1} 富山県薬事研究所

^{*2} ノバルティスファーマ株式会社

斎藤博幸: 脂質エマルションの表面膜構造と血漿アポリポ蛋白質の結合性に関する研究

膜(MEMBRANE), **22**, 337-342(1997)

血漿リポ蛋白質モデル粒子としての脂質エマルションについて、表面構造の NMR、定常光あるいは時間分解蛍光異方性測定により、二分子膜(リポソーム)との詳細な比較を行った。その結果、エマルション表面膜はコアのトリグリセライドとの相互作用によって二分子膜とは著しく異なる構造を有すること、リポ蛋白質の構成脂質であるコレステロールの存在形態が二分子膜中と異なることなど、これまで不明であったエマルションの動的構造について新規な知見が得られた。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についても検討を行い、HDL の主蛋白質であるアポリポ蛋白質 A-I や LPL の活性化因子であるアポリポ蛋白質 C-II の結合性がコレステロールによって大きく低下すること、レムナントレセプターのリガンドであるアポリポ蛋白質 E の結合はむしろコアの組成変化によって大きく減少することなどが明らかとなった。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表面構造やコアの組成変化がもつ生理的役割について議論した。

Keywords: emulsions, cholesterol, apolipoproteins

Arimoto, I.^{*}, Saito, H., Kawashima, Y.^{*}, Miyajima, K.^{*} and Handa, T.^{*}: Effects of sphingomyelin and cholesterol on lipoprotein lipase-mediated lipolysis in lipid emulsions

J. Lipid Res., **39**, 143-151(1998)

リポ蛋白質リパーゼ(LPL)は血管内皮表面に存在し、血中でのリポ蛋白質やエマルションのトリグリセライド加水分解を行う酵素であり、この LPL によるエマルションのリポリシスが、リポ蛋白質の表面膜構成脂質であるスフィンゴミエリンとコレステロールによってどのように影響されるかを *in vitro* で検討した。スフィンゴミエリンはリポリシスを著しく抑制し、その原因として LPL の基質親和性と反応活性の両方が低下していることが反応速度論的解析から明らかとなった。一方、表面コレステロールはリポリシスに全く影響を与えなかった。また、LPL の活性化因子であるアポリポ蛋白質 C-II の表面結合量とリポリシス活性との間に相関は見られなかった。これらの結果は、スフィンゴミエリンを比較的多く含む VLDL でリポリシスの進行が穏やかであること、カイロミクロン代謝過程での表面コレステロールの増加はリポリシスに影響を与えないことなど、体内でのリポ蛋白質の代謝挙動とよく一致し、リポ蛋白質代謝での表面脂質組成の重要性が示唆された。

Keywords: lipoprotein lipase, sphingomyelin, cholesterol

* 京都大学大学院薬学研究科

辻 澄子, 今井昌也^{*1}, 三島郁子, 石光 進, 柴田 正, 伊藤誉志男^{*2}: 比色定量法による食品中の亜硝酸根の試料溶液調製法の検討

衛生化学, **43**, 305-310(1997)

加工食品中の硝酸根(NO_3^-)の比色定量法における試料調製法について除タンパク操作を中心に詳細に検討した。いくらのアルカリ抽出液に一定量の酢酸亜鉛及び水酸化ナトリウム溶液を添加することにより、水酸化亜鉛のコロイド性を利用した迅速かつ精度の良好な除タンパク操作が達成された。いくら、たらこ、ソーセージ、ハムに NO_3^- を 5, 50 あるいは 70 $\mu\text{g/g}$ 添加した試料を用いて添加回収実験を実施した結果、84.8% 以上の回収率が得られた。本試料溶液調製法は食品中に残留する NO_3^- のジアゾ化反応に基づく比色法の試料溶液調製法として応用可能である。

Keywords: nitrite, colorimetry, deproteinizing agent

^{*1} 大阪薬科大学

^{*2} 武庫川女子大学薬学部

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田 正: ギムネマ・シルベスタを使用した健康食品中の有効成分ギムネマ酸の実態調査

食品衛生学雑誌, **38**, 178-184(1997)

市販のギムネマ・シルベスタ葉或いはその抽出物を用いた健康食品21品目について、ギムネマ酸含量(ギムネマゲニンとして算出)の実態調査を行った。検体の熱湯浸出物に 4 mol/L 塩酸を加えて遠心分離した。酸沈殿物のエタノール溶解物について、12% 水酸化カリウム溶液次いで 4 mol/L 塩酸で加水分解を行い、ギムネマ酸をギムネマゲニンに変換した。ODS カートリッジで精製後、HPLC によりギムネマゲニンを定量した。健康食品中のギムネマゲニン含量は、錠剤用の粒状固形物11品目で検出限界以下(10.5 $\mu\text{g/g}$ 未満)~20.5 mg/g, 粉茶1品目で 8.46 mg/g, ティーバッグ5品目で 2.12~6.89 mg/g, 清涼飲料水2品目で検出限界以下(0.207 $\mu\text{g/ml}$)~4.41 $\mu\text{g/ml}$, チューインガムで 0.029~0.054 mg/g であった。

Keywords: health foods, *Gymnema sylvestris*, gymnemagenin

Nakamura, Y., Tsumura, Y., Tonogai, Y., Shibata, T. and Ito, Y.*: **Differences in behavior among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats**

Fundam. Appl. Toxicol., **37**, 106-116(1997)

7種の希土類元素(REE)即ちY, 軽希土類(Ce, Pr), 中希土類(Eu, Dy), 重希土類(Yb, Lu)の塩化物をラットに静脈内投与し, 生体内での作用を調べた。まず2段階の用量で投与後1日目における7種REEの体内分布及び各臓器中のCa濃度を調べた。REEの主要な蓄積臓器は肝臓, 骨及び脾臓であった。Y及び中希土類投与時には, 高用量で脾臓及び肺臓へのREEの蓄積率は高くなり, 肝臓, 脾臓及び肺臓中のCa濃度は有意に上昇した。次にY(高用量), Pr, Eu, Dy, Yb(低用量)投与時の各臓器中のREE及びCa濃度の経時変化を調べた。REEは血中から1日以内に消失したが, 臓器中に長期間にわたり蓄積した。肝臓, 脾臓及び肺臓中のCa濃度はREE濃度とはほぼ同様の経時的変化を示した。さらに, 7種REE低用量投与時の肝毒性を調べた。軽希土類投与時のみ強い肝毒性(脂肪肝, 黄疸, GOT, GPT活性の上昇)を示し, 特に投与3日後で明白だった。以上のことより, REEは生体内分布パターン, Ca蓄積作用, 肝毒性の発現の違いにより軽希土類, Y及び中希土類, 重希土類の3つに分類できることが示唆された。

Keywords: rare earth elements, calcium, hepatotoxicity

* 武庫川女子大学薬学部

中村優美子, 吉井公彦, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田正: **4種農薬キントゼン, トリフルラリン, イソプロチオラン, ブタクロールの告示試験法への適応性と改良法に関する検討**

食品衛生学雑誌, **39**, 51-59(1998)

GC-ECDで測定可能なキントゼン, イソプロチオラン, トリフルラリン, ブタクロールの, 告示試験法「BHC, DDT, アルドリノ, エンドリン, ジコホール, デイルドリン, テフルトリン及びハルフェンプロックス試験法」(平成8年9月2日厚生省告示)への適用の可否について, 11種農産物について調べた。キントゼン及びトリフルラリンの回収率は全作物について良好であったが, イソプロチオラン及びブタクロールは全く回収されなかった。イソプロチオラン及びブタクロールはカラムへの吸着性が高く, 溶出が遅いことが判明したため, フロリジルカートリッジを使用することにより, 4種農薬を飼料から定量的に回収できる方法を作成した。

Keywords: GC-ECD, pesticides, bulletin method

Ishimitsu, S., Mishima, I., Tsuji, S. and Shibata, T.: **Formation of a hydroxyl radical from riboflavin sodium phosphate by photo-illumination**

Chem. Pharm. Bull., **45**, 2107-2109(1997)

フェニルアラニン存在下リソフラビンナトリウムを照射することにより, 水酸化生成物としてo-, m-およびp-tyrosineの生成することを見出した。この水酸化はpH依存性で, pH4.0付近が最大であった。水酸化の生成量は窒素置換した時, スーパーオキシドデスムターゼやカタラーゼの添加により抑制された。チロシン類の生成量はヒドロキシルラジカルの捕捉剤であるヨウ化カリウム, 臭化カリウム, チオ尿素やギ酸ナトリウムの添加によ

り著しく抑制された。誘導結合プラズマ発光分析器により反応液中の鉄イオンや銅イオンを測定したところ検出されなかった。以上の結果から, 好氣的条件下リソフラビンナトリウムの照射によるヒドロキシルラジカルの生成は, スーパーオキシドラジカルと過酸化水素との反応により生成することが明らかとなった。

Keywords: riboflavin sodium phosphate, photochemical reaction, hydroxyl radical

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田正: **HPLCによる青果物中残留農薬及びその代謝物の一斉分析法**

食品衛生学雑誌, **39**, 13-25(1998)

UV及びFL同時検出HPLCによる青果物中残留農薬の一斉分析法について検討した。試料をMeCN抽出し, アルカリ性食塩水と分配後Bond Elut® SAX+PSAカートリッジでクリーンアップした。カラムからの溶出には5, 15, 50%アセトン/ヘキサン混液を用い, 1-3画分に分けて溶出することにより, 妨害成分の影響を少なくした。

Keywords: pesticide, HPLC, Bond Elut® SAX+PSA

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 柿本芳久^{*1}, 田中雄三^{*2}, 柴田正: **農産物中のネオニコチノイド系殺虫剤ニテンピラム及びその代謝物の分析**

食品衛生学雑誌, **39**, 127-134(1998)

ネオニコチノイド系殺虫剤ニテンピラム及び代謝物CPMA, CPMFの分析法を検討した。試料をアセトン抽出した後, エクストレルートカラムで再抽出し, シリカゲルカラムで精製した。代謝物はCPFに変換した。CPMFからCPFを導く反応においてアセトンが存在すると回収率が低下した。ニテンピラムはHPLCで, CPFはGCで定量した。果実, 野菜, 米, 茶への添加回収率は, ニテンピラム66~85%(0.2~0.8 ppm添加), 代謝物64~120%(茶中のCPMA除く, 0.5~2.0 ppm添加)であった。検出限界はニテンピラムが0.0025~0.01 ppm, 代謝物が0.025~0.1 ppmであった。

Keywords: nitenpyram, metabolite, HPLC

^{*1} 神戸農林水産消費技術センター

^{*2} 大阪薬科大学

津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 柴田正: **玄米中の殺菌剤テクロフタラム及びその代謝物テクロフタラムイミドの分析**

食品衛生学雑誌, **39**, 142-147(1998)

イネ用殺菌剤テクロフタラム及び代謝物テクロフタラムイミド(イミド体)の分別定量法を検討した。玄米試料をアセトン抽出した後, 酢酸エチルで再抽出し, n-ヘキサン/アセトニトリル分配し, Sep-Pak Plus Florisilカートリッジに負荷した。初めに50%ジエチルエーテル/n-ヘキサンでイミド体を溶出させ, 次にメタノールでテクロフタラムを溶出させることによって両者を分離した。イミド体はDB-1を装着したGC-ECDを用いて定量した。テクロフタラムは無水酢酸を用いてイミド体に変換した後に定量した。本法による玄米からの回収率(0.2 ppm添加)は, テクロフタラムが89.3±1.9%, イミド体が82.6±1.5%であり, 検出限界は試料中0.01 ppmであった。

Keywords: tecloflam, metabolite, tecloflam-imide

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Effect of the day of administration on the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats**

Arch. Environ. Contam. Toxicol., **33**, 90-96(1997)

tributyltin chloride (TBTCI) による奇形胎児発現の感受期について検討した。Wistar ラットの妊娠 7, 8 または 9 日 (精子発見日 = 妊娠 0 日) の間の 1 日に 100 mg/kg, 妊娠 7 日から 15 日の間の 1 日に 200 mg/kg の TBTCI を経口投与し, 妊娠 20 日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。着床後の胚死亡率は妊娠 7, 8 及び 9 日の 100 及び 200 mg/kg 投与群, 妊娠 10 及び 11 日の 200 mg/kg 投与群において有意に上昇した。TBTCI 投与による骨格及び内部器官の奇形胎児発現頻度の上昇は認められなかった。しかし, 外表奇形を有する胎児の発現頻度は妊娠 8 日の 100 及び 200 mg/kg 投与群, 妊娠 11, 12, 13 及び 14 日の 200 mg/kg 投与群において有意に上昇し, 妊娠 13 日の投与群で最も高かった。妊娠後半の TBTCI 投与ではすべての奇形胎児において口蓋裂が観察された。これらの結果から, TBTCI の発生毒性は投与時期によって発現様式及び感受性が変化した。TBTCI による奇形発現の感受期は妊娠 8 日と妊娠 11~14 日の二相性を示すことが明らかになった。

Keywords: tributyltin, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: **Developmental effects of di-n-butyl phthalate after a single administration in rats**
J. Appl. Toxicol., **17**, 223-229 (1997)

dibutyl phthalate (DBP) の奇形胎児発現の感受期について検討した。Wistar ラットの妊娠 6 日から 16 日 (精子発見日 = 妊娠 0 日) の間の 1 日に 1,500 mg/kg の DBP を 1 回経口投与し, 妊娠 20 日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。着床後の胚死亡率は妊娠 7 及び 11 日を除く妊娠 6 日から 16 日の投与群で有意に上昇した。妊娠 8, 9 及び 15 日の投与で骨格奇形胎児, 妊娠 9 日の投与で内部器官奇形胎児, 妊娠 15 日の投与で外表奇形胎児の発現頻度が有意に上昇した。妊娠 8 日の投与では頸椎骨の奇形, 妊娠 9 日の投与では頸椎及び腰椎骨及び肋骨の奇形及び腎盂拡張, 妊娠 15 日の投与では口蓋裂が高頻度に認められた。これらの結果から, DBP の発生毒性は投与時期によってその発現様式及び感受性が変化した。胚の催奇形性に対する感受期は妊娠 8-9 日及び妊娠 15 日の二相性を示すことが明らかになった。

Keywords: dibutyl phthalate, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Miyawaki, E., Harazono, A. and Kawashima, K.: **Developmental toxicity evaluation of phthalic acid, one of the metabolites of phthalic acid esters, in rats**
Toxicol. Lett., **93**, 109-115 (1997)

フタル酸エステルの代謝物の一つである phthalic acid (PA) の発生毒性について検討した。Wistar ラットの妊娠 7 日から 16 日 (精子発見日 = 妊娠 0 日) に 1.25, 2.5 または 5.0% の PA を含む飼料を与え, 妊娠 20 日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。1 日当たりの平均 PA 摂取量は 1.25% 投与群で 1,021 mg/kg, 2.5% 投与群で 1,763 mg/kg, 5.0% 投与群で 2,981 mg/kg であった。いずれの群の妊娠ラットにも一般状態の変化は観察されなかった。2.5 及び 5.0% 投与群において投与期間中に有意の母体重増加抑制及び飼料摂取量低下が観察されたが, 1.25% 投与群においては母体毒性は観察されなかった。着床後胚死亡率, 生存胎児の数及び性比には PA 投与による変化は認められなかった。5.0% 投与群における雄生存胎児体重及び尾椎化骨数の有意の低下が認められた。しかしながら, いずれの PA 投与群においても奇形胎児の発現頻度の上昇は認め

られなかった。

Keywords: phthalic acid, developmental toxicity, teratogenicity

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: **Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats**

Reprod. Toxicol., **12**, 127-132 (1998)

butyl benzyl phthalate (BBP) の妊娠障害について偽妊娠ラットを用いて検討した。ラットの妊娠 0-8 日 (精子発見日 = 妊娠 0 日) に 250, 500, 750 及び 1,000 mg/kg の BBP を経口投与し, 妊娠 20 日に母体を開腹して胚/胎児に対する影響を調べた。1,000 mg/kg 投与群において着床前胚死亡率が有意に上昇し, 750 mg/kg 以上の投与量において着床後胚死亡率が有意に上昇した。更に, 偽妊娠 4 日に子宮内膜を機械的に刺激することにより脱落膜反応を誘起したラットを用いて胚致死作用の発現機序について検討した。偽妊娠ラットの偽妊娠 0-8 日 (膣栓発見日 = 偽妊娠 0 日) に同投与量の BBP を経口投与し, 偽妊娠 9 日の子宮重量を脱落膜反応の指標として調べた。750 mg/kg 以上の投与量において有意に低い子宮重量が観察され, BBP による子宮における脱落膜反応の抑制が示された。これらの結果から, 妊娠初期における BBP による胚致死作用と脱落膜反応抑制作用とがよく一致することが明らかになり, BBP による胚致死には脱落膜反応の抑制が関与していることが示唆された。

Keywords: butyl benzyl phthalate, early embryonic loss, uterine decidualization

Harazono, A., Ema, M., and Ogawa, Y.: **Evaluation of early embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats: phase- and dose-dependent antifertility effects**

Arch. Environ. Contam. Toxicol., **34**, 94-99 (1998)

ラットの妊娠 0~3 日又は妊娠 0~4 日に tributyltin chloride (TBTCI) を経口投与し, 妊娠 20 日に開腹して胚一胎児に対する影響を調べた。妊娠 0~3 日に TBTCI を投与した群の妊娠率は, 16.3 及び 32.5 mg/kg 投与群で 37.5 及び 12.5% となり対照群 (100%) と比べて有意に減少した。しかし, 妊娠の成立した母体において黄体数, 着床数及び生存胎児数には対照群と TBTCI 投与群との間の差はみられなかった。これに対して, 妊娠 4~7 日に投与した群では, 16.3 mg/kg 以上の投与量で対照群と比べて着床後胚死亡の有意な増加がみられた。以上のことから, TBTCI は妊娠 0~3 日に投与したとき不妊を引き起こし, 妊娠 4~7 日に投与したとき胚の着床後死亡を引き起こすことが明らかになった。

Keywords: tributyltin chloride, pregnancy failure, post-implantation loss

姉帯正樹*, 柴田敏郎, 畠山好雄: **北海道産当帰の調製法と化学的品質評価 (第 1 報) 調製条件とショ糖および希エタノールエキス含量の変動**

Natural Medicines, **51**(4), 331-334 (1997)

当帰のエタノールエキス含量とショ糖含量は乾燥法の違いにより変動し, 自然乾燥品が最高値, 温風 (80℃) 乾燥品が最低値を示した。そして, 両含量の間には高い正の相関が認められた。収穫直後の温風 (50℃以上) による強制乾燥は酵素の失活を招くため好ましくなかった。また, 乾燥途中の温湯洗いはショ糖, 希エタノールエキス含量の低下を来した。

Keywords: Angelicae Radix, sucrose, dilute ethanol soluble

extract

* 北海道立衛生研究所

梶村計志^{*1}, 高木康博^{*1}, 横山 浩^{*1}, 熊谷健夫, 畠山好雄, 米田諒典^{*2}: **In Vitro** におけるマウスの抗体産生能に及ぼす *Astragalus* 属植物の効果

大阪府立公衛研所報, 第35号, 203-205(1997)

8月と9月に掘り上げたナイモウオウギとキバナオウギを基原とする黄耆の抗体産生能に対する効果を12週令マウスを用いて調べた。その結果, 9月下旬に収穫した両種の黄耆はいずれも抗体産生能を増強させる効果が認められた。また, 8月上・下旬に収穫した株より9月下旬収穫のものが効果が有意に高かった。

Keywords: *Astragalus mongholicus*, *A. membranaceus*, antibody production

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所^{*2} 大阪大学薬学部

熊谷健夫, 畠山好雄, 逸見文子^{*}, 芝野真喜雄^{*}, 草野源次郎^{*}: **カンゾウの栽培および育種に関する研究(第1報)**

Natural Medicines, 51(5), 403-407(1997)

Glycyrrhiza glabra (A), *G. uralensis* (B, C 2 系統), *G. glabra* var. *glandulifera* (D) の3種4系統を用い, 生育・収量・成分などを検討した。AとDは1株当りのストロン長と根長が同等であり, 地下部重が大きく, B, Cではストロン長が根長より大きく, 生産効率が高かった。無機栄養の吸収量については, 1株当り N5.7, P₂O₅7.0, K₂O 9.6 gであった。グリチルリチン含量は2%前後で, 局方Ⅷの規定値2.5%に満たなかった。

Keywords: T-R ratio, mineral nutrients, glycyrrhizin

* 大阪薬科大学

Shoyama, Y.^{*}, Kawachi, F.^{*}, Tanaka, H.^{*}, Nakai, R.^{*}, Shibata, T. and Nishi, K.: **Genetic and alkaloid analysis of *Papaver* species and their F₁ hybrid by RAPD, HPLC and ELISA.**

Forensic Science International, Vol.91, 207-217(1998)

ケシ属植物の内, ハカマオニゲシ *P. bracteatum* と *P. pseudo-orientale* との人為交配種の育成を行い, 発現形質や染色体により両種の雑種であると判断された個体を, DNA解析及びELISA法, HPLC法及びRAPD法によるアルカロイド分析を行った結果, 雑種であることが確認でき, 微量の植物体で, これらの種・雑種の判別が可能であることを明らかにした。

Keywords: *Papaver* species, F₁ hybrid, Thebaine

* 九州大学薬学部

川村智子^{*1}, 久田陽一^{*1}, 奥田和代^{*1}, 森 崇^{*1}, 野呂征男^{*1}, 田中俊弘^{*2}, 酒井英二・官 秀慶^{*3}, 西部三省^{*4}: **生薬ゲンノショウコのフラボノイド成分による基原判別**

Natural Medicines, 51(4), 298-303(1997)

ゲンノショウコの葉に含まれる3種のフラボノイド(kaempferol 3-O-rhamnoside, kaempferol 3-O-arabinoside-7-O-rhamnoside, kaempferol 3, 7-di-O-rhamnoside)を指標に, 19種の *Geranium* 属植物について検索を行った。その結果, これら3種のフラボノイドはゲンノショウコ以外では3種で確認できるだけであり, 生薬基原植物の判定に有益な方法と考えられる。

Keywords: *Geranium*, Flavonoides

^{*1} 名城大学薬学部^{*2} 岐阜薬科大学^{*3} 長崎大学医学部^{*4} 北海道医療大学薬学部

Yoshimatsu, K., Jaziri, M.^{*1}, Kamada, K.^{*2} and Shimomura, K.: **Production of diploid and haploid transgenic *Atropa belladonna* plants: Morphological traits and tropane alkaloid production**

Belgian Journal of Botany, 130, 38-46(1997)

アグロバクテリウムの感染により二倍体および半数体のペラドンナ毛状根(形質転換根)を誘導し, 生育とトロパンアルカロイド生産を調べた。さらに, 毛状根から植物体を再生させ, その形態とアルカロイドについて調べた。半数体毛状根は, 二倍体毛状根に比べて生育およびアルカロイド生産量が劣っていた。また, 半数体毛状根から得られた再生植物体は, 二倍体毛状根から得られた再生個体よりも植物ゲノム中に挿入されたT-DNAの発現により生じる異常形態が強く現れた。

Keywords: *Atropa belladonna*, *Agrobacterium*, transgenic plants

^{*1} Universite Libre de Bruxelles, Laboratory of Plant Morphology^{*2} 筑波大学生物科学系

Bakkali, A. T.^{*1}, Jaziri, M.^{*1}, Ishimaru, K.^{*2}, Tanaka, N.^{*2}, Shimomura, K., Yoshimatsu, K., Homes, J.^{*1} and Vanhaelen, M.^{*3}: **Tannin production in hairy root cultures of *Lawsonia inermis***

Journal of Plant Physiology, 151, 505-508(1997)

アグロバクテリウムの感染により *Lawsonia inermis* L. の毛状根(形質転換根)を誘導し, 毛状根培養および非形質転換根培養によるフェノール性化合物生産について検討した。毛状根は, 3種のポリフェノール, (+)-catechin, 1, 2, 3, 6-tetra-O-galloyl-β-D-glucose, 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl-β-D-glucoseを生産し, 特に加水分解型タンニンである後者 galloylglucose 類2種を高含量で生産した。一方, 非形質転換根においては, 主として(+)-catechin(縮合型タンニンのユニット化合物)が検出され, galloylglucose 類の含量は非常に低かった。これらの結果から, アグロバクテリウムによる形質転換により通常の植物根とは異なった生合成能を示す培養根が得られることが判明した。

Keywords: *Lawsonia inermis*, hairy roots, tannin

^{*1} Universite Libre de Bruxelles, Laboratory of Plant Morphology^{*2} 佐賀大学農学部^{*3} Universite Libre de Bruxelles, Laboratory of Pharmacognosy and Bromatology

Ishikawa, K.^{*1}, Harata, K.^{*1}, Mii, M.^{*1}, Sakai, A.^{*2}, Yoshimatsu, K., Shimomura, K.: **Cryopreservation of zygotic embryos of a Japanese terrestrial orchid (*Bletilla striata*) by vitrification**

Plant Cell Reports, 16, 754-757(1997)

シラン(*Bletilla striata*)種子胚のガラス化法による超低温保存を検討した。無菌播種後10日目の種子胚を0.3 M ショ糖を含む培地で3日間前培養し, 2 M グリセリンと0.4 M ショ糖を含む培地で15分間前処理後, 0°Cで3時間ガラス化液(PVS2)処理を行って液体窒素中に保存した。急速解凍および1.2 M ショ糖を含む培地で20分間洗浄後, 再培養を行った種子胚は, 再生率60%で正常な植物体に生長した。

Keywords: *Bletilla striata*, cryopreservation, embryo

^{*1} 千葉大学園芸学部

² 札幌市

Omoto, T.¹, Murakami, Y.², Shimomura, K., Yoshihira, K.³, Mori, K.⁴, Nakashima, T.⁴, Tanaka, M.⁴ and Ishimaru, K.²: **Caffeic acid derivatives in Lamiaceae and Boraginaceae plants**

Jpn. J. Food Chem., **4**, 11-16 (1997)

シソ科植物26種およびムラサキ科植物4種のコーヒー酸誘導体である rosmarinic acid (RA), lithospermic acid (LA), lithospermic acid B (LAB) の生産について HPLC により分析した。RA は *Melissa officinalis* (4.7%), 培養系の *Ocimum basilicum* (5.0%), LA はムラサキの根で4.7%, LAB はタンジンで5.1%と最も高い含量であった。幾つかの植物の培養系との生産能の比較も併せて行った。

Keywords: caffeic acid derivative, Lamiaceae, Boraginaceae

¹ 三栄源エフ・エフ・アイ² 佐賀大学農学部³ 東亜大学大学院⁴ 佐賀県農業試験研究センター

Nishikawa, K.¹, Shimomura, K., Kayano, T.², and Ishimaru, K.¹: **Shoot regeneration in root cultures of *Centaurium scilloides***

Plant Biotechnology, **14**, 117-118 (1997)

リンドウ科植物 *Centaurium scilloides* の約1年間、1/2 MS 固形培地にて継代培養した shoot の根から不定根培養系を確立した。1/2MS および WP 固形および液体培地に植え付けた不定根から短期間に約10本の不定芽が形成されることを明らかにした。

Keywords: *Centaurium scilloides*, root culture, shoot formation

¹ 佐賀大学農学部² 農業生物資源研究所

Nishikawa, K.^{*}, Tanaka, N.^{*}, Nakanishi, F., Shimomura, K. and Ishimaru, K.^{*}: **Tannins and related phenolics in callus and root cultures of *Quercus glauca***

Plant Biotechnology, **14**, 123-125 (1997)

Quercus glauca の callus および不定根培養系を確立し、親植物の果実、葉のフェノール化合物の含量を HPLC により分析した。果実は、penta-galloyl-glucose が、葉は catechin, 培養 shoot の葉および茎は catechin が主生産化合物で、根はかなり低含量であった。Callus および不定根は、1%以上のフェノール化合物生産が認められた

Keywords: *Quercus glauca*, tannin, callus

^{*} 佐賀大学農学部

Tanaka, N.¹, Shimomura, K., Kamiya, T.², Kayano, T.³ and Ishimaru, K.¹: **Tannin and related compounds in callus and root cultures of *Cornus capitata***

Plant Cell and Molecular Biology Letters, **14**, 59-62 (1997)

Cornus capitata のカルスおよび不定根培養による各種培養条件におけるフェノール性化合物の生産について検討した。カルスは、MS および WP 培地 (0.1 mg/L 2,4-D, 0.1 mg/L BA) で、procyanidin 系化合物を、不定根は、MS 培地 (3 mg/L IAA) で gallotannin 類を生産することを明らかにした。

Keywords: *Cornus capitata*, tannin, callus

¹ 佐賀大学農学部² 秩父小野田株式会社³ 農業生物資源研究所

Ando, M.¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.² and Ishimaru, K.¹: **Polyacetylene production in hairy root cultures of *Wahlenbergia marginata***

J. of Plant Physiology, **151**, 759-762 (1997)

Agrobacterium rhizogenes 15834 および MAFF 03-01724 株により形質転換した *Wahlenbergia marginata* の毛状根を得た。毛状根は、ホルモン無添加の各種培地で良好に生育し、polyacetylene の glucose 配糖体である lobetyoline を主に生産した。生育と polyacetylene 生産の経時変化および最適シヨ糖濃度を調べた結果、MAFF 03-01724 菌により得られた毛状根が、MS 培地において良好な生育と polyacetylene 生産を示し、3%シヨ糖を含む MS 培地が比較的良好的な生育と polyacetylene 生産が得られた。

Keywords: *Wahlenbergia marginata*, polyacetylene, hairy root

¹ 佐賀大学農学部² 東京大学大学院農学研究科

Ishimaru, K.¹, Tasaki, S.¹, Tanaka, N.¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.² and Yoshihira, K.³: **Polyacetylenes in hairy root cultures of *Lobelia siphilitica***

Jpn. J. Food Chem., **4**, 85-88 (1997)

北米原産のカナダサワギキョウの毛状根培養系を確立し、各種培地における生育と polyacetylene 類の生産に関して検討した。毛状根は、polyacetylene, 特にグルコース配糖体である lobetyoline および lobetyolinine が高含量で生産し、照明下で培養すると chlorophyll を蓄積した。確立した一つのクローンは、これまで調査したキキョウ科植物の培養体中最高の lobetyoline 生産 (6.2%, B5 培地, 6 週間) を示した。

Keywords: *Lobelia siphilitica*, polyacetylene, hairy root

¹ 佐賀大学農学部² 東京大学大学院農学研究科³ 東亜大学大学院

Ando, M.¹, Shimomura, K., Yamakawa, T.² and Ishimaru, K.¹: **Plant regeneration from *Wahlenbergia marginata* hairy root cultures**

Plant Biotechnology, **15**, 39-40 (1998)

Agrobacterium rhizogenes 15834 菌株により誘導した *Wahlenbergia marginata* の毛状根は、polyacetylene 類を生産し、MS および WP 固形あるいは液体培地にて、照明下培養すると、不定芽を形成することを明らかにした。得られた再生植物体は、非形質転換体と異なり、試験管内で、多数の葉を形成、1~2ヶ月で開花、花弁数が、3~5枚であった。また、polyacetylene 類の含量は、栽培親植物に近い値であった。

Keywords: *Wahlenbergia marginata*, polyacetylene, regeneration

¹ 佐賀大学農学部² 東京大学大学院農学研究科

Kunishi, M.^{*}, Shimomura, K., Takido, M.^{*} and Kitanaka, S.^{*}: **Growth and ginsenoside production of adventitious and hairy root cultures in an interspecific hybrid ginseng (*Panax ginseng* x *P. quinquefolium*)**

Natural Medicines, **52**, 1-4 (1998)

オタネニンジンとアメリカニンジンとの種間交配種の不定根および毛状根について生育とジンセノシド含量に関して検討した。交配種の不定根は3週間の培養で、13倍に新鮮重量が増加した。毛状根は、オーキシンを添加した培地で、40倍に増殖し、これまで報告された例より良好な増殖であった。総ジンセノシド含量は、0.63%で、親植物よりは、低かった。

Keywords: *Panax* interspecific hybrid, ginsenoside, root culture

* 日本大学薬学部

Sasaki, K.^{*1}, Udagawa, A.^{*2}, Ishimaru, H.^{*2}, Hayashi, T.^{*2}, Alfermann, A. W.^{*3}, Nakanishi, F. and Shimomura, K.: **High forskolin production in hairy roots of *Coleus forskohlii***

Plant Cell Reports, **17**, 457-459 (1998)

Coleus forskohlii の毛状根培養系を確立し、生育および forskolin 生産に関して検討を行った。各種基本培地における forskolin 生産を検討した結果、Woody Plant 培地が最適で、5週間培養後、100 ml 三角フラスコ当たり約1.3 mgであった。経時変化を調べた所、2週目から5週目にかけて急速に増殖し、5週目にこれまで報告された中で最高の forskolin 生産(100 ml 三角フラスコ当たり約1.6 mg)が得られた。

Keywords: *Coleus forskohlii*, forskolin, hairy root

^{*1} 青森大学工学部

^{*2} ライオン(株)生物科学センター

^{*3} Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Kohjyouma, M., Iida, O., Yoshida, N.^{*1}, Hatakeyama, Y., Satake, M., Sekita, S. and Kohda, H.^{*2}: **Random Amplified Polymorphic DNA Analysis of *Angelica acutiloba* and Its Varieties**

Natural Medicines, **52**(2), 130-134 (1998)

生薬「当帰(トウキ)」の基原植物 *Angelica acutiloba* var. *acutiloba* Kitagawa 及び関連植物の Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 分析による分子遺伝学解析を行った。RAPD 分析の結果、実験に用いた20種全てのプライマーにおいて明らかな多型が認められた。多型の得られたプライマーのほとんどにおいて *A. acutiloba*, *A. acutiloba* var. *iwatensis*, *A. acutiloba* var. *sugiyamae* がほぼ同様なバンドパターンを示した。しかしながら、プライマーNo.21において、*A. acutiloba* には存在するが、*A. acutiloba* var. *sugiyamae* にはないメジャーバンドが1.1 kbp に認められ、*A. acutiloba* と *A. acutiloba* var. *sugiyamae* を区別する場合のマーカースバンドとして利用しうる可能性を確認した。

Keywords: *Angelica acutiloba*, RAPD, PCR

^{*1} 北海道大学薬学部

^{*2} 広島大学医学部