

Kaniwa, N., Katori, N., Aoyagi, N., Ishigame, N.*1, Seta, Y.*1, Shinba, T.*1, Fujiwara, K.*2, Nakai, T.*2, Oda, Y.*2 and Kojima, S.: Collaborative study on the development of a standard for evaluation of vibration levels for dissolution apparatus

Int. J. Pharm., **175**, 119-129 (1998)

溶出試験装置の振動レベルを検出する溶出試験用カリブレーターEGを開発し、その特性を明らかにするとともに、その性能についてUSPカリブレータと比較した。EGの毎分50回転による回転バスケット法の溶出試験結果を用いることにより、振動のレベルが0.05 m/s²以上の装置を識別できることが分かった。EGの識別能力は、現在USPで用いられている2つのカリブレータよりも高いことも示された。この結果は、EGが溶出試験装置の振動レベルを評価するためのカリブレータとして有用であることを示唆している。

Keywords: dissolution test apparatus, vibration level, calibrator

*1 東京医薬品工業協会

*2 大阪医薬品協会

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 II

日本薬局方フォーラム, **7**, 157-165 (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。前報では溶出率の平均を規制する目的で新計量型判定基準を新たに提案し、他の判定基準と検査特性を比較して試験の妥当性について検討したが、今回は新計量型判定基準の両側規格への適用を行い、また消費者危険との関わり等について詳細に記述することを試みた。

Keywords: dissolution test, confidence limit, Japanese Pharmacopoeia

Katori, N., Kaniwa, N., Aoyagi, N. and Kojima, S.: A new acceptance sampling plan for the official dissolution test

JP Forum., **7**, 166-173 (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。また、新判定基準の特質を述べると共に、他の試験規格との比較を行った。

Keywords: dissolution test, confidence limit, Japanese Pharmacopoeia

Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: The Effect of Excipients on the Molecular Mobility of Lyophilized Formulations, as Measured by Glass Transition Temperature and NMR Relaxation-Based Critical Mobility Temperature

Pharm. Res., **16**, 135-140 (1999)

メチルセルロースなど6種類の水溶性高分子の医薬品添加剤を用いて調製したタンパク質凍結乾燥製剤について、ガラス転移温度(T_g)、NMR緩和に基づく分子運動性の限界温度(T_{mc})および誘電緩和スペクトルを測定し、製剤の分子運動性に及ぼす医薬品添加剤の影響を検討した。これらの製剤中には、添加剤との相互作用によって運動を束縛された水および束縛されずに自由な動きを示す水が存在することがわかった。凍結乾燥製剤のT_gおよびT_{mc}は、メチルセルロースの製剤のように、自由な動きを示す水の量が多く、その運動性が高いものほど低くなることが明らかになった。

また、T_{mc}はT_gより23℃~34℃低いことが分かり、製剤はT_gよりも低い温度領域ですでに、液体プロトンの存在で示されるような高い運動性をもつことが明らかになった。

Keywords: NMR relaxation, molecular mobility, lyophilized formulation

Nakai, Y., Yoshioka, S., Aso, Y. and Kojima, S.: Solid-State Rehydration-Induced Recovery of Bilirubin Oxidase Activity in Lyophilized Formulations Reduced during Freeze-Drying

Chem. Pharm. Bull., **46**, 1031-1033 (1998)

ビルリピンオキシダーゼの凍結乾燥製剤を固体状態で適切な量の水分を再吸着させることによって、凍結乾燥過程で受けた構造的なダメージを一部回復し、活性を回復できることを明らかにした。この活性の回復は製剤中の高分子添加剤に大きく依存し、ポリビニルアルコールの製剤はデキストランの製剤に比べて、水分再吸着による活性の回復率が著しく大きいことが分かった。ポリビニルアルコールは凍結乾燥過程において水分子の代わりにタンパク質の構造を保護し、可逆的な構造のダメージにとどめる役割を果たすことが示唆された。

Keywords: protein stability, lyophilized formulation, solid-state rehydration

Luo, Y., Aso, Y. and Yoshioka, S.: Swelling Behavior and Drug Release of Amphiphilic N-Isopropylacrylamide Terpolymer Xerogels Depending on Polymerization Methods: g-Irradiation Polymerization and Redox Initiated Polymerization

Chem. Pharm. Bull., **47**, 579-581 (1999)

N-イソプロピルアクリルアミド、アクリル酸およびn-ドデシルアクリルアミドから成る両親媒性キセロゲルを、重合開始剤を用いる化学重合法およびγ線照射によって重合を開始する方法によって調製し、それぞれの平衡膨潤率、膨潤速度および内包薬物5-フルオロウラシルの放出速度を比較し、重合法の影響を検討した。γ線照射による方法では化学重合法より膨潤速度が遅く、それにもなって遅い薬物放出速度を示すキセロゲルが得られることが明らかになった。

Keywords: amphiphilic hydrogel, g-irradiation, drug release

Aso, Y., Yoshioka, S. and Kojima, S.: Determination of the Diffusion Coefficient of Insulin and Lysozyme in Crosslinked Dextran Hydrogels by Pulsed-Field-Gradient NMR

Chem. Pharm. Bull., **46**, 1836-1839 (1998)

メタクリル酸グリシジルを修飾したデキストランにγ線照射することにより、タンパク質医薬品のモデルとしてインスリンやリゾチームを内包した架橋デキストランハイドロゲルを調製した。ハイドロゲル中の医薬品の拡散係数をパルスドフィールドグラジエントNMR法によって測定し、ゲルからの薬物放出速度とNMRで測定した拡散係数とが相関することを明らかにした。NMRで測定される拡散係数はハイドロゲルからの薬物放出速度の指標として有用であることが示された。

Keywords: diffusion, hydrogels, drug release

最所和宏, 王 麗琴, 石橋無味雄, 外岡弘道, 奥田秀毅, 小嶋茂雄: 高速液体クロマトグラフ法によるH₂受容体

拮抗薬の迅速分析法

医薬品研究, 29, 620-626 (1998)

HPLC 法の移動相の組成比などの諸条件を検討し, 4 種 H₂ 受容体拮抗薬の同一条件による迅速分析法を確立した. 市販品 9 剤形に確立した方法を適用し, 特異性, 真度及び精度を調べたところ良好な結果が得られた.

Keywords: H₂-antagonist, rapid analysis, validation

Wang Liqin, Saisho, K., Ishibashi, M. and Kojima, S.: **Rapid determination of H₂-receptor-antagonists by high performance Liquid Chromatography**

Tianjin Pharmacy, 10, 64-66 (1998)

ODS カラムを用いた HPLC 法による H₂ 受容体拮抗薬の迅速分析法を確立した. 4 種 6 剤形の製剤中からの主薬の抽出溶媒を検討したところ, メタノールによる抽出が最適であった. 本法による製剤の定量は回収率及び精度は迅速分析法として十分なものであった.

Keywords: H₂-antagonist, rapid analysis, HPLC

Nakahara, Y., Kikura, R. and Takahashi, K.: **Hair Analysis for Drug Abuse XX. Incorporation and Behaviors of seven Methamphetamine Homologs in rat hair roots**

Life Sci., 63, 883-893 (1998)

毛髪への薬物の分布特性を調べるために, 7 種のフェネチルアミンのラット毛根への取込と保持に関する挙動を調べた. 黒, 白の 2 色の毛を持つ Long Evans ラットの背部の毛を刈り取った 10 日後に, 薬物を 10mg/kg 単回腹腔内に投与し, 経時的に毛根を採取した. 試料は洗浄後, メタノール/塩酸で抽出し, 抽出物を GC-MS で分析した. 毛根中濃度の最大の増加を示したのは, 5 分から 1 時間の間であった. 薬物が黒色毛に取り込まれる様式は 4 群に分かれた: 迅速かつ長く取り込まれる薬物 (NO₂MA, MDMA), 迅速で短い取込の薬物 (MA, DMA), ゆっくりと長く取り込まれる薬物 (BZP, EP), そしてほとんど取り込まれない薬物 (AcMA). すべての薬物は白色毛にはほとんど取り込まれなかった. 本研究結果から, 毛髪に取り込まれる薬物は, 塩基性であること,メラニンの存在 (黒色毛) の 2 つの要素が必要であると結論づけた. また, 毛根に入った薬物の一部が毛幹に蓄積され, その他の薬物は毛幹外に再分布すること, 及び毛髪に取り込まれる薬物量は 2 つの過程 (取込と保持) で決定されることを実証した.

Keywords: methamphetamine homologs, hair root, drug incorporation into hair

Sakamoto, T., Endo, M.*, Nagasaki, A.*, Nakamura, A.*, Watanabe, S.*, Tanaka, A.* and Nakahara, Y.: **Evaluation of Hair Root Analysis for Acute PCP Poisoning and Behavior of PCP Metabolites in Rat Hair Root**

Pharmazie, 53, 310-314 (1998)

ラットを用いて, フェンシクリジン (PCP) 急性中毒を診断する毛根分析の有用性を検討した. 有色毛のラットに PCP の中毒量 (80, 100 and 120 mg/kg) を腹腔内に投与し, 毛根を経時的に採取した. 毛根試料は 30°C で 16 時間, ボルテックスで浸透抽出し, 薬物の定量は, GC-MS で行った. PCP は 5 分後から高濃度で検出され, 投与 6 時間後に最高濃度に達し, その後, やや減少し, 24 時間後にほぼ一定となった. 毛根中の濃度レベルは投与量に比例し, ラットが死亡した後は, 死亡時の濃度で一定濃度で推移した. PCP 主代謝物の水酸化体 (PCHP, t-PCPdial) も同時に 48 時間まで検出され, 急性 PCP 中毒の診断に毛根は有用な検査試料となりうることを示唆された.

Keywords: Phencyclidine, acute poisoning, hair analysis

* 昭和薬科大学

Tagliaro, F.*, De Battisti, Z.*, Groppi, A.*, Nakahara, Y., Scarcella, D.*, Valentini, R.* and Marigo, M.*: **High sensitivity simultaneous determination in hair of the major constituents of ecstasy by high-performance liquid chromatography with direct fluorescence detection.**

J. Chromatogr. B., 723, 195-202 (1999)

エクスタシー (MDMA) 関連薬物 (MDA, MDMA, MDE) の単純で高感度・高選択性の蛍光検出 HPLC 検査法を開発した. 毛髪試料 (100 mg) を 0.25 M 塩酸中で 45 °C でインキュベートし, 液々抽出後, HPLC で分析した. カラムは poly(styrene-divinylbenzene) 担体を用い, 移動層は 0.1 M potassium phosphate (pH 3)-acetonitrile (82:18) を用い, 励起波長は 285 nm, 測定波長は 320 nm を用いた. この条件下で, 3 種の薬物は良好なピークの形状と分離を示した. 検出限界は 1 ng/ml, であり, カットオフ値は 0.1 ng/mg であった. 日内偏差は 10 ng/mL で 1~3%, 100 ng/mg で 0.52~0.88% であった. 日間偏差はそれぞれ 5.12 と 11.12% であった. 92 の治療薬や乱用薬物はこれらのピークを妨害しなかった.

Keywords: methylenedioxymethamphetamine, HPLC, fluorometric detection

* Department of Medicine, Verona University

木倉瑠理, 中原雄二, 渡部基信*: **妊娠中プロン R 液及び覚せい剤乱用の母親と新生児の毛髪分析例**

中毒研究, 12, 43-50 (1999)

出産時異常な状態の新生児とその母親の毛髪の検査を行った. 新生児は, 早産で生まれ, 出産翌日より嘔吐, 四肢振戦, 吸啼反射が強く, 泣き止むことが無く, 38°C 以上の発熱があった. 母親は妊娠中, エスエスプロンを常用していたとのことであった. 毛髪を根元側から 1cm 毎に分画し, 母親は 11 分画, 新生児は 3 分画とし, 検査したところ, プロン液の成分である methylephedrine, dihydrocodeine, caffeine, chlorpheniramine が母親及び新生児の毛髪の各分画から万遍なく検出され, それぞれ 157, 5.7 ng/mg, 136, 24.5 ng/mg, 192, 14.9 ng/mg, 1398, 259 ng/mg が検出された. その他に, 覚醒剤 (メタンフェタミン) が検出され, その濃度は母親で, 6~23 ng/mg, 新生児で, 6~7.5 ng/mg であった. 代謝物のアンフェタミンも同時に確認され, 新生児の異常な状態は, 母親の妊娠中の薬物乱用の影響であると推定された.

Keywords: Hair analysis, Drug abuse during pregnancy, Methamphetamine

* 福井赤十字病院

Kawasaki, N., Ohta, M., Hyuga, S., Hashimoto, O. and Hayakawa, T.: **Analysis of carbohydrate heterogeneity in a glycoprotein using liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry**

Anal. Biochem., 269, 297-303 (1999)

LC/MS および LC/MS/MS を用いた糖タンパク質糖鎖の不均一性解析方法を開発した. モデル糖タンパク質リボスクレアゼ B (RNaseB) の糖鎖をエンドグリカナーゼ H で切り出し, NaBH₄ で還元後, カーボンカラムを用いた LC/MS で分析することによって, Man₉GlcNAc, 3 種の Man₈GlcNAc, 3 種の Man₇GlcNAc, 3 種の Man₆GlcNAc, Man₅GlcNAc および Hex₆HexNAc₂ 構造を有する糖鎖を同定

することができた。さらに、LC/MS/MSによって、3種のMan₇GlcNAcの分岐構造の決定およびHex₆HexNAc₂がハイブリッド型糖鎖であることの同定を行うことができた。また、ESI-MSによって得られた各糖鎖の相対ピーク強度がUV,HPAEC-PADおよびFACEによって得られた相対比とほぼ一致することから、LC/MSにおける高マンノース型糖鎖のピーク強度は、ほぼモル比に一致することが示唆された。LC/MSおよびLC/MS/MSは、糖タンパク製剤の品質評価試験法としても有用であると考えられる。

Keywords: ESI-LC/MS, graphitized carbon column, oligosaccharides

Deras, I.*, Kawasaki, N. and Lee, Y.C.*: **Quantitative recovery of Man₉GlcNAc₂Asn derivatives from concanavalin A**

Carbohydrate Res., **306**, 469-471 (1998)

分子量の大きい高マンノース型糖鎖は、コンカナバリンA (Con A) に強く結合し、溶出されにくいことが知られている。そこで、一般的に使用されているCon Aセファロースから、高分子量の高マンノース型糖鎖を溶出させる方法を開発した。Con Aセファロースカラムに吸着したユーロピウム標識化Man₉GlcNAc₂Asn, Soybean agglutinin, ユーロピウム標識化 soybean agglutinin を1M methyl α -D-mannopyranoside 中で放置し、再溶出することによって、オリゴ糖や糖タンパク質をカラムから完全に分離させることができた。本条件は、様々な高マンノース型糖鎖を有する糖タンパク質の分離精製に有用であると考えられる。

Keywords: Con A, Man₉GlcNAc₂Asn, DELFIA

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Lee, Y.C.*, Kawasaki, N., Lee, R.T.* and Suzuki, N.*: **Quantum-dye labeled proteins for glycobiology. A viable non-radioactive alternative tracer**

Glycobiology, **8**, 849-856 (1998)

糖鎖生物学分野での定性的び定量的研究における環状ユーロピウム錯体 quantum-dye (QD) の標識化剤としての有用性を検討した。まず、QD-soybean agglutinin, およびQD-RCA₁₂₀を用いることによって、ガラクトース転移酵素活性の高感度測定が可能になることを示した。さらに、QD-Man-BSA および QD-Gal-BSA が血清 mannose-binding protein や肝臓 Gal/GalNAc 受容体の研究において、放射性標識法を用いた場合と同様な結果を与えることを確認した。ユーロピウム標識法は、放射性同位元素と比較して長い蛍光寿命を有しており、より安定した実験結果を与えることから、QD は糖鎖生物学分野において有用な標識剤であることが示された。

Keywords: quantum dye, europium, lectins

* Department of Biology, Johns Hopkins University

Morimoto, K., Maeda, N., Abdel-Alim, F.A.A., Toyoshima, S.* and Hayakawa, T.: **Structural characterization of recombinant human erythropoietins by fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis**

Biol. Pharm. Bull., **22**, 5-10 (1999)

糖鎖含有タンパク質製剤の糖鎖の特性・品質評価試験法の開発に関する基礎的研究の一環として、8-amino-naphthalene-1,3,6-trisulphonic acid (ANTS) 標識糖鎖の蛍光体支援糖質電気泳動法 (FACE 法) による糖鎖解析の有用性について、CHO細胞由来エリスロポエチン (EPO) 2種及びBHK細胞由来EPO 1種を用いて調べた。N-結合型糖鎖のシアロ体、アシアロ体の解析、及び exoglycosidase 逐

次消化によるシークエンシング法による解析を行った。3種のEPO試料間では、各バンドの位置はほぼ同じであったが、濃度の割合には、相違が認められた。

FACE法は、糖鎖の分子多様性をパターン解析することにより、迅速に、再現性を持って、総合的に糖鎖構造を観察でき、品質管理にも応用可能であることが示唆された。

Keywords: recombinant human erythropoietin, FACE, N-linked oligosaccharide

* 星薬科大学

Yamaguchi, T., Oshizawa, T., Yamaguchi, T., Suzuki, K., Yamamoto, Y.* and Hayakawa, T.: **Granulocyte colony-stimulating factor-induced dephosphorylation of a 45 kD cytosolic protein in HL-60 cells differentiating into neutrophils**

Br. J. Haematol., **102**, 798-803 (1998)

HL-60細胞の好中球分化のG-CSFによる促進機構を明らかにするために、G-CSF添加によるタンパク質リン酸化の解析を行った。その結果、DMSOで分化を開始したHL-60細胞にG-CSFを添加することにより細胞質に存在する45kDaタンパク質の脱リン酸化が起こることを見出した。

Keywords: G-CSF, neutrophilic differentiation, phosphorylation

* 都臨床研

Yamaguchi, T., Mukasa, T., Uchida, E., Kanayasu-Toyoda, T. and Hayakawa, T.: **The role of STAT3 in granulocyte colony-stimulating factor-induced enhancement of neutrophilic differentiation of Me₂SO-treated HL-60 cells**

J. Biol. Chem., **274**, 15575-15581 (1999)

HL-60細胞の好中球への分化に対するG-CSFとGM-CSFのクロストークについての解析を行った。G-CSFはHL-60細胞の好中球分化を促進するが、このG-CSF添加によりSTAT3の核移行が惹起される。一方、GM-CSFはこのG-CSFの分化促進作用を阻害するとともにSTAT3の核移行も阻害した。従って、GM-CSFによる分化の阻害作用はSTAT3の核移行を阻害するためと考えられた。

Keywords: G-CSF, GM-CSF, STAT3

Yamamoto, M., Kawanishi, T., Kiuchi, T.*, Ohta, M., Yokota, I., Ohata, H.*, Momose, K.*, Inoue, K. and Hayakawa, T.: **Discrepant intracellular pH changes following intracellular Ca²⁺ increase induced by glutamate and Ca²⁺ ionophores in rat hippocampal neurons**

Life Sci., **63**, 55-63 (1998)

グルタミン酸を処置した初代培養海馬ニューロンの細胞内pHの測定を行った。1mMグルタミン酸を10分間処理すると細胞内カルシウムイオン濃度の上昇に遅れてpHの低下が観察され、グルタミン酸洗浄後においてさえ60分以上にわたってアシドーシスが観察された。カルシウムイオン濃度上昇およびアシドーシスは細胞外のカルシウムイオンを除去すると観察されなくなり、NMDA受容体阻害剤MK-801の存在下では減弱した。また、細胞外のカルシウムイオンを除いた状態でグルタミン酸を処置した後、グルタミン酸を洗浄しカルシウムイオンを再添加したところ、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇およびアシドーシスが観察された。一方カルシウムイオンフォア (イオノマイシンとBr-A23187) は、カルシウムイオン濃度は上昇させるが、細胞内pHは上昇させた。以上の結果から以下の3点が示唆された：(1)グルタミン酸処置によって生じる細胞内アシドーシスは細胞外のカルシウムイオンに依存する、(2)細胞内アシドーシスは細胞内カルシウムイオン濃度の

上昇によってのみ生じるのではない, (3) グルタミン酸はカルシウムイオン依存性の機構ではなく, カルシウムイオン非依存性の機構によってカルシウムイオン濃度調節機構の不可逆的な障害を生じる。

Keywords: tributyltin, calcium response, hepatocyte

* 昭和大学薬学部

Kawanishi, T., Asoh, H.*, Kato, T.*, Uneyama, C., Toyoda, K., Teshima, R., Ikebuchi, H., Ohata, H.*, Momose, K.*, Hayakawa, T. and Takahashi, M.: **Suppression of calcium oscillation by tributyltin chloride in cultured rat hepatocytes**

Toxicol. Appl. Pharmacol., **155**, 54-61 (1999)

塩化トリブチル錫を初代培養肝細胞に処置すると, 細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が観察されるとともに, やがて細胞死が生じる。この細胞死は細胞外カルシウムイオンを除いて細胞内カルシウムイオンの上昇を抑えても生じる。次に処置濃度を 0.1 μM 程度にまで減少すると, 細胞毒性を示唆するような変化は生じなくなる。しかしながら, 塩化トリブチル錫を 30 分間前処置した細胞では α アドレナリン性刺激による細胞内カルシウムイオン濃度上昇は抑制される。この抑制は短時間のインキュベーションでは生じないが, バソプレシンや ATP 刺激による上昇においても観察される。このとき細胞内の ATP 濃度やイノシトール三リン酸生成の抑制は観察されない。以上の結果から以下の 3 点が示唆された: (1) トリブチル錫の肝細胞への細胞毒性は細胞内カルシウムイオン濃度の上昇によるのではない, (2) トリブチル錫は形態変化を起こさないような低濃度においても肝細胞に機能毒性を示す, (3) この機能毒性のメカニズムはイノシトール三リン酸の生成後の細胞内貯蔵部位からのカルシウムイオンの遊離の抑制にある。

Keywords: calcium, tributyltin, hepatocyte

* 昭和大学薬学部

Nakanishi, T.*, Kunisawa, J.*, Hayashi, A.*, Tsutsumi, Y.*, Hayakawa, T. and Mayumi, T.*: **Enhancement of liposomal adjuvant actions for tumor vaccines by increasing the degree of positive surface charge**

Drug Delivery System, **13**, 151-157 (1998)

近年, 腫瘍免疫の獲得には抗原提示細胞 (APC) が重要な役割を担っていることが示されつつある。我々は既に, APC 一つであるマクロファージが陽電荷担体を積極的に取り込む細胞生理機能を利用することで, 陽電荷リポソームが優れたアジュバント効果を示すことを見出している。そこで本研究では, リポソームの陽電荷密度とアジュバント効果の連関を追求し, ワクチンアジュバントとしての粒子設計を試みた。その結果, リポソーム陽電荷密度を上昇させることにより, 効果的な腫瘍ワクチンアジュバントの粒子設計が可能であることが明らかとなった。

Keywords: antigen-presenting, liposome, vaccine

* 大阪大学薬学部

Imazu, S.*¹, Nakagawa, S.*¹, Nakanishi, T.*¹, Hayakawa, T., Uemura, H.*², Yamada, O.*² and Mayumi, T.*¹: **Development of VSV-liposomes as a novel gene transfer vector**

Drug Delivery System, **13**, 159-164 (1998)

全身循環血中に投与可能な遺伝子導入ベクターを新規開発すべく, VSV (Vesicular Stomatitis Virus) の特性をリポソームに付与した VSV-リポソーム (VL) を作製し, VL の遺伝子導入ベクターとしての可能性を検討した。その結果,

VL は赤血球溶血活性を示さないうえ, 血清中における安定性も極めて高かった。また, ルシフェラーゼ遺伝子封入 VL を培養細胞に作用させることで, 高いルシフェラーゼ発現が認められた。VL は, 血管内に投与可能な新規遺伝子導入ベクターになりうる可能性が示唆された。

Keywords: VSV, liposome, gene therapy

*¹ 大阪大学薬学部

*² 扶桑薬品工業研究開発センター

Nakanishi, T.*, Kunisawa, J.*, Hayashi, A.*, Tsutsumi, Y.*, Hayakawa, T. and Mayumi, T.*: **Cationization of liposomal surface charge enhances adjuvant effect of liposomes for tumor vaccine**

J. Pharm. Sci. Technol. Jpn., **58**, 59-68 (1998)

抗原提示細胞のひとつであるマクロファージは, 陽電荷担体を積極的に取り込むことが知られている。そこで本研究では, リポソームアジュバントを粒子設計する目的で, リポソームの電荷とアジュバント効果の相関を検討した。その結果, リポソームをカチオン化することにより, マクロファージに封入抗原を効率よく取り込ませることが可能となる結果, アジュバント効果が増強されることが明らかとなった。

Keywords: macrophage, liposome, vaccine

* 大阪大学薬学部

早川堯夫, 内田恵理子: **局方を介した生物薬品の品質確保の国際調和に関する基盤的研究 - マイコプラズマ否定試験法について -**

医薬品研究, **29**, 895-903 (1998)

生物薬品の品質確保の国際ハーモナイゼーションの一環として, 生物薬品の生産に用いるバンク化された細胞 (細胞基材) のマイコプラズマ否定試験法の局方収載試験法案の作成に資することを目的に検討を行った。既存の各公定ガイドラインの比較検討および科学的進歩を考慮して検討した結果, 培養法, DNA 検出法, PCR 法はいずれも一長一短があることから, これらの試験法を組み合わせることで実施することが適切であることを示し, 試験法案の詳細を提示した。

Keywords: mycoplasma testing, cell substrates, pharmacopeia

Watabe, A., Yamaguchi, T., Kawanishi, T., Uchida, E., Eguchi, A.*¹, Mizuguchi, H., Mayumi, T.*², Nakanishi, M.*¹ and Hayakawa, T.: **Target cell specificity of fusogenic liposomes - membrane fusion-mediated macromolecule delivery into human blood mononuclear cells -**

Biochim. Biophys. Acta, **1416**, 339-348 (1999)

標的細胞の細胞膜と融合することにより封入物質を細胞内に導入できる膜融合リポソームについて, ヒト血球系細胞に対する標的細胞特異性を検討した。膜融合リポソームは, ヒト末梢血由来 CD14⁺ monocytes, CD4⁺/CD8⁺ T cells とは効率よく融合するが, CD19⁺ B lymphocytes, CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells とは融合しないことが分かった。血球系培養細胞との融合は, U937 (monoblastic leukemia) > MOLT4, Jurkat (T lymphoma) > Daudi, BALL1 (B lymphoma) > K562 (erythroblastic leukemia) の順であり, 末梢血リンパ球と同様の傾向を示した。しかし, 膜融合リポソームはこれらの細胞株いずれに対しても同程度の結合能を示し, 融合の標的細胞特異性は, 結合に関与する分子のみではなく, 他の未同定の因子によって規定されていると考えられた。

Keywords: fusogenic liposome, lymphocyte

*¹ 大阪大学微生物病研究所

*2 大阪大学薬学部

Nakanishi, M.*¹, Mizuguchi, H., Ashihara, K.*², Senda, T.*³, Akuta, T.*^{1,4}, Okabe, J.*¹, Nagoshi, E.*¹, Masago, A.*¹, Eguchi, A.*¹, Suzuki, Y.*⁴, Inokuchi, H.*⁵, Watabe, A., Ueda, S.*¹, Hayakawa, T. and Mayumi, T.*²: **Gene transfer vectors based on sendai virus**

J. Control. Release, **54**, 61-68 (1998)

遺伝子治療の基礎技術として、遺伝子を細胞に効率よく導入し、安定に発現させることが必須であるが、現在の遺伝子導入法でこれらを全て満たすものはない。既存のベクターの欠点を克服した新しい遺伝子導入法を開発するため、遺伝子導入と発現に関わる生命現象を分析し、(1)膜融合リポソームを用いた細胞質へのDNAの直接導入、(2)核移行シグナルを用いたDNAの核への送達、(3)独立レプリコンとしての核内でのDNAの安定化、の3項目について、遺伝子治療用ベクターに必要な機能を人工的に構築することを試みた。これらの要素を統合することにより、新規ベクターの開発が可能になる考えられる。

Keywords: gene therapy, non-viral vector

- *1 大阪大学微生物病研究所
- *2 大阪大学薬学部
- *3 名古屋大学医学部
- *4 DNAVEC 研究所
- *5 京都大学理学部

Mizuguchi, H., Nakagawa, T.*¹, Toyosawa, S.*², Nakanishi, M.*³, Imazu, S.*¹, Nakanishi, T.*¹, Tsutsumi, Y.*¹, Nakagawa, S.*¹, Hayakawa, T., Ijuhin, N.*² and Mayumi, T.*¹: **Tumor necrosis factor α -mediated tumor regression by the in vivo transfer of genes into the artery that leads to tumors**

Cancer Res., **58**, 5725-5730 (1998)

Tumor Necrosis Factor- α (TNF) が腫瘍血管内皮細胞に特異的に作用すること、免疫系の細胞が腫瘍内に侵入する際には最初に腫瘍血管内皮細胞に作用する必要がある点に着目し、腫瘍上流の動脈血管内皮細胞に膜融合リポソームを用いて直接 TNF 遺伝子を導入し、下流に移植された腫瘍の増殖抑制に及ぼす効果について検討した。その結果、TNF 遺伝子を導入したマウスでは顕著な腫瘍増殖の抑制が観察された。

Keywords: tumor necrosis factor- α , gene therapy, fusogenic liposome

- *1 大阪大学薬学部
- *2 大阪大学歯学部
- *3 大阪大学微生物病研究所

Mizuguchi, H. and Kay, M.A.*: **Efficient construction of a recombinant adenovirus vector by an improved in vitro ligation method**

Human Gene Ther., **9**, 2577-2583 (1998)

アデノウイルスベクターは、現存している遺伝子治療用ベクターの中では、最も効率の優れたベクターであるが、その作製法は比較的煩雑であり、効率の悪い動物細胞内での相同組換えを利用しているため、容易ではない。そこで本研究では、アデノウイルスゲノムの E1 欠損部位にユニークな制限酵素部位である I-CeuI, SmaI, PstI 認識配列を付与し、簡便な in vitro ligation により、全長の組換えアデノウイルス DNA を含むプラスミドを作製するシステムを開発した。in vitro ligation で目的遺伝子を E1 欠損部位に挿入したプラスミドを、293 細胞内に導入すると、homogeneous な組換えアデノウイルスベクターの産生が

期待できる。本系は、特別な試薬、技術を必要とせず、簡便に効率よく組換えアデノウイルスを作製でき、ベクター backbone の構造も通常のプラスミド構築で容易に改変できることから、ベクターの作製に大きな進歩をもたらすものと考えられた。

Keywords: alpha 1-antitrypsin, gene therapy, adenovirus vector
* Stanford University

Mizuguchi, H., Nakanishi, T.*¹, Kondoh, M.*¹, Nakagawa, T.*¹, Nakanishi, M.*², Matsuyama, T.*¹, Tsutsumi, Y.*¹, Nakagawa, S.*¹ and Mayumi, T.*¹: **Fusion of sendai virus with liposome depends on only F protein, but not HN protein**

Virus Res., **59**, 191-201 (1999)

センダイウイルスはレセプターの存在しないリポソームと融合することができるがその機構については不明である。そこで、センダイウイルスを各種プロテアーゼで処理することにより、ウイルス表面蛋白質である F あるいは HN 蛋白質を選択的に不活化したウイルスを用いて、リポソームとの融合に及ぼす影響を調べた。その結果、センダイウイルスとリポソームとの融合には F 蛋白質だけが必要であり、HN 蛋白質は関与しないことが明らかとなった。

Keywords: Sendai virus, liposome, fusion

- *1 大阪大学薬学部
- *2 大阪大学微生物病研究所

Ikeda, K.*¹, Utoguchi, N.*^{1,2}, Makimoto, H.*¹, Mizuguchi, H., Nakagawa, S.*¹ and Mayumi, T.*¹: **Different reactions of aortic and venular endothelial cell monolayers to histamine on macromolecular permeability: role of cAMP, cytosolic Ca²⁺ and F-actin**

Inflammation, **23**, 87-97 (1999)

血管内皮細胞は炎症時において亢進している血管透過性の調節において中心的な役割を演じている。そこで、培養ヒト動脈あるいは静脈由来血管内皮細胞を用いて、血管透過性、細胞内カルシウム濃度、cAMP、F-actin 量に及ぼすヒスタミンの影響を検討した。その結果、細胞内カルシウム濃度の上昇は血管透過性を亢進させ、細胞内 cAMP 濃度の上昇は透過性を減少させた。また、最終的には、F-actin が血管透過性を調節していることが明らかとなった。

Keywords: endothelial cell, histamine, permeability

- *1 大阪大学薬学部
- *2 昭和薬科大学

Niimi, S., Yamaguchi, T. and Hayakawa, T.: **Effect of dexamethasone pretreatment on the dexamethasone - dependent induction of tyrosine aminotransferase activity in primary cultured rat hepatocytes**

Biol. Pharm. Bull., **21** 1009-1012 (1998)

初代培養ラット肝細胞を用いてデキサメタゾン (Dex) 依存性チロシンアミノトランスフェラーゼ (TAT) 活性誘導能を調べた結果、TAT 活性誘導能は培養に伴い低下するが、Dex 前処理によりこの低下は抑制されることが示された。さらに、³H 標識 Dex を用いた結合実験から、肝細胞のサイトソールには高及び低親和性結合部位が存在し、両結合部位の数は培養に伴い減少するが、Dex 前処理により低親和性結合部位の数のみ減少が部分的に抑制されることが明らかになった。これらの結果から Dex 前処理は TAT 活性誘導の減少に対して拮抗することが示されると共にこの Dex の作用は低親和性結合部位の維持によることが示唆された。

Keywords: cultured hepatocytes, glucocorticoids, tyrosine aminotransferase, glucocorticoid receptor

丙 菁*, 尾崎幸紘, 唐元泰*: レンギョウの抗炎症作用及び鎮痛作用

中華薬, 30, 43-45 (1999), (中国)

レンギョウの70%メタノールエキスの抗炎症作用及び鎮痛作用について検討した。メタノールエキスの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, 酢酸誘発 writhing の抑制, ラットでのカラゲニン誘発浮腫の抑制, 綿球誘発肉芽組織増殖の抑制などの抗炎症作用及び鎮痛作用が認められた。これらの作用はメタノールエキスから得られたヘキサソリン可溶画分に移行し, 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, antiinflammation, analgesic effect

* 中国天津市薬品検査所

Ozaki, Y., Sakaguchi, I.*, Tugimura, M.*, Ikeda, N.*, Nakayama, M.*, Kato, Y.*, Suzuki, H. and Satake M.: Study of the accelerating effect of shikonin and alkannin on the proliferation of granulation tissue in rats

Biol. Pharm. Bull., 21, 366-370 (1998)

シコニンとアルカニンの局所投与によるラットでの綿球誘発肉芽組織増殖におよぼす作用を検討した。シコニンとアルカニンは綿球を埋め込んで5日後には肉芽組織増殖を促進する傾向を示し, 10日後では顕著に促進した。両化合物は5日, 10日後において肉芽組織中のマクロファージや単球のような顆粒球の出現を増加させ, 10日後ではさらに繊維芽細胞及びコラーゲン繊維を増加させた。一方, 両化合物は5日, 10日後において肉芽組織中のリンパ球を増加させなかった。これらのことから, シコニンとアルカニンは肉芽組織増殖において組織中の顆粒球の出現を増加させ, さらに繊維芽細胞とコラーゲン繊維を増加させることにより肉芽組織増殖を促進させることが示唆された。

Keywords: shikonin, alkannin, histological, change

* (株)クラブコスメテックス

鎌倉浩之, 佐竹元吉: (-)-, (+)-及び(±)-ノルエフェドリンの体内動態に関する研究

薬学雑誌, 118, 143-149 (1998)

(-)-, (+)-及び(±)-ノルエフェドリンを静脈内投与したときの血漿中濃度, 尿中排泄, 血清たんぱく結合について, 光学分割定量することにより, 比較検討をした。光学活性体とラセミ体とで体内動態に違いが認められ, (-)-ノルエフェドリンに関しては主に尿中排泄量が増加したため (Clr: 4.05 ml/min/kg → 17.6 ml/min/kg) であり, (+)-ノルエフェドリンにおいては, 主に代謝クリアランスが低下したため (Clm: 25.6 ml/min/kg → 12.1 ml/min/kg) であると考えられた。

Keywords: norephedrine, stereoselective disposition, enantiomer-enantiomer interaction

Ono, K., Sakamoto, A.*¹, Masaki, T.*² and Satake, M.: Desensitization of ET_A endothelin receptor-mediated negative chronotropic response in right atria - species difference and intracellular mechanisms.

Br. J. Pharmacol., 125, 787-797 (1998)

心臓の陰性変時作用を媒介する ET_A エンドセリン受容体 (ET_AR) 脱感作に著しい種差を見出した。ET-1 (50 nM) を反復投与すると, ラット心筋では BQ123 (1 μM) 感受性の

陰性変時効果が急速に脱感作したのに対し, モルモット心筋では脱感作が欠如していた。protein kinase C (PKC) 阻害剤 staurosporine (100 nM) の前処置によりラット心筋の ET_AR 脱感作はほぼ消失した。ET_AR の第2-第4膜貫通領域のアミノ酸配列を動物種間で比較した結果, 全ての Ser/Thr リン酸化部位 (PKC サイトを含む) はモルモット, ラット, ウサギ, ウシ及びヒトの間で完全に保存されていた。一方, モルモット心筋は PKC 刺激下に isoproterenol (300 nM) を処置すると, ET-1 反復投与により ET_AR 脱感作が惹起された。以上の結果より, ET_AR 脱感作に PKC リン酸化が必要条件であること, PKC リン酸化の種による難易の差は同受容体アミノ酸配列の違いには起因しないことが判明した。さらに, 同受容体脱感作に GRK の関与が示唆された。

Keywords: desensitization, negative chronotropic response, ET_A endothelin receptor

*¹ 理化学研究所 (現 国立循環器病センター研究所)

*² 京都大学医学部 (現 国立循環器病センター研究所)

Higuchi, Y., Ono, K., Sekita, S., Onodera, H., Mitsumori, K., Nara, Y.*¹ and Satake, M.: Preventive effects of shichimotsu-koka-to on renal lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats.

Biol. Pharmaceut. Bull., 21(9), 914-918 (1998)

わが国で本態性及び腎性高血圧症の治療に用いられている七物降下湯 (SKT) を用い, 脳卒中易発症自然高血圧ラット (SHRSP) に自然発症する腎傷害に対する効果を検討した。SKT エキスを飲水に混ぜ, 約 1.5 g/Kg/day の用量で SHRSP に8週齢から29週齢の間自由摂取させることで投与した。29週齢の時点で, 対照群の動物は小葉間動脈の血管平滑筋細胞の増殖, 尿管の拡張と変性, 炎症細胞浸潤と出血, 糸球体の膨潤と壊死を特徴とする増殖性動脈炎を発症するのに対し, SKT 投与群ではこれらの病理学的傷害が有意に緩解し, 血漿中の尿素窒素の量が有意に減少していた。更に, SKT 投与により腎臓のキサンチンオキシダーゼ (XOD) の活性が有意に低下し, スーパーオキシサイドディスムターゼ (SOD) 活性が有意に増大していた。これらの結果より, SKT は腎臓の病理組織学的病変の進行を抑制することが判明した。またそれには, 腎臓におけるラジカルの発生の抑制が関与する可能性が示唆された。

Keywords: SHRSP, kidney, shichimotsu-koka-to

*¹ 東亜大学

Totsuka, Y.*¹, Hada, N.*¹, Matsumoto, K.*¹, Kawahara, N., Murakami, Y.*², Yokoyama, Y.*², Sugimura, T.*¹ and Wakabayashi, K.*¹: Structural determination of a mutagenic aminophenylnorharman produced by the co-mutagen norharman with aniline

Carcinogenesis, 19(11), 1995-2000 (1998)

ノルハルマンはたばこ煙中や環境中に幅広く存在し, それ自身では変異原性を示さないが, アニリンなどの芳香族アミンと共存させることにより変異原性を示すことが知られている。今回, ノルハルマンの co-mutagenic 作用機構の解明を目的として S9 mix 存在下でノルハルマンとアニリンを共存させた時に生成する新規変異原物質を検索, 分離し, 各種機器データ解析によりその構造を決定した。さらにこの化合物は S9 mix により代謝活性化され, ヒドロキシアミノ体に変換し, アセチル化された後に DNA と付加体を生成し, 最終的にサルモネラ菌に対して変異原性を示すことが明らかとなった。

Keywords: aminophenylnorharman, co-mutagenic action,

norharman

- *1 国立がんセンター研究所
*2 東邦大学薬学部

Kuroyanagi, M.*¹, Arakawa, T.*², Mimaki, Y.*², Yoshida, K.*², Kawahara, N., Hayashi, T.*³ and Ishimaru, H.*³:
Phytoalexins from Hairy Roots of *Hyoscyamus albus* Treated with Methyl Jasmonate

J. Nat. Prod., 61(12), 1516-1519 (1998)

トロパンアルカロイドの生産植物として知られているヒヨスの起源植物の一つであるナス科の *Hyoscyamus albus* に毛根病菌 *Agrobacterium rhizogenes* を感染させて誘導した毛状根より3種の新規セスキテルペン型ファイトアレキシンを分離し、各種機器データ解析によりそれらの構造を決定した。

Keywords: *Hyoscyamus albus*, Phytoalexins, Methyl Jasmonate

- *1 広島県立大学
*2 静岡県立大学
*3 ライオン(株)

松田宗人*¹, 武藤理英*¹, 筒井夫美子*¹, 小坂 昇*¹, 関田節子, 佐竹元吉: 当帰の基原植物と化学的・薬理的性質に関する研究

和漢医薬学雑誌, 15, 452-453 (1998)

当帰の基原植物は、日本薬局方では *Angerica acutiloba* Kitagawa または *A. acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino と規定されている。一方、中国では基原の異なる *A. sinensis* Diels としていて、それぞれに特徴的な薬理活性が報告されている。化学成分について両者を比較下報告はあるが、薬理作用についての比較は行われていなかった。そこで、日本産当帰と中国産当帰のラット子宮平滑筋に対する作用を *in vitro*, *in vivo* で比較したところ、*in vitro* において oxytocin 収縮、PGF₂ α 収縮および自動運動に対して中国産当帰は 10^{-4} ~ 10^{-3} g/ml で濃度依存的に抑制したが、日本産当帰は殆ど活性は認められなかった。しかし、*in vivo* の生体位子宮運動に対しては作用強度、作用パターンに大きな差は認められなかった。両者に共通の成分として2種類の新規化合物を分離し、構造決定を行った。

Keywords: *Angerica acutiloba*, *A. sinensis*, uterine contraction

- *1 鐘紡漢方研究所

矢上 健, 配島由二, 中村晃忠: ラテックス蛋白質の人工胃液中における安定性

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 2, 97-101 (1998)

天然ゴムや果物・野菜に含まれる交差反応性アレルギーの幾つかは、植物の生体防御に関わるような蛋白質であることが既に明らかにされている。一方こうした蛋白質は、抗カビ活性や病虫害防除活性等を有することから、植物育種の面で注目を集めている蛋白質でもある。そこで問題となるのが、新たに誘導された抵抗性蛋白質のアレルゲン性である。本研究では、食品に導入される蛋白質のアレルゲン性を調べる試験法の一つとして採用されている消化実験により、天然ゴムラテックスに含まれる交差反応性アレルギーを検出することができるかどうかを検討した。粗ラテックス蛋白質と分離した各ラテックス抗原をそれぞれ人工胃液に溶解した後、反応液を経時的に採取して SDS-PAGE 及びラテックスアレルギー患者のプール血清を用いたイムノブロット法で分析し、消化の進行具合を調べた。その結果、患者の IgE 抗体が認識するラテックス抗原の多くが、人工胃液により4分以内に消化されたことがわかった。この結果から、人工胃液を利用する消化実験は、経口感作を

成立させるような食物アレルギーの検出には有効であるものの、交差反応性に基づくアレルギーの検出には有効ではない可能性が示唆された。

Keywords: latex allergy, defense-related protein, food allergy

大砂博之*¹, 山本美穂*¹, 岡島光也*¹, 千葉由幸*¹, 加藤有紀*¹, 武川るみ*¹, 高橋さなみ*¹, 山本有子*¹, 大沼すみ*¹, 相原通子*¹, 池澤善郎*¹, 椿 和文*², 矢上 健, 新井健司*³, 永井宏幸*³, 三田晴之*⁴: アトピー性皮膚炎とラテックスアレルギー

日本ラテックスアレルギー研究会会誌, 2, 41-47 (1998)
アトピー性皮膚炎の患者は、ラテックスアレルギーのハイリスクグループを形成すると考えられている。しかし、IgE 抗体が陽性であっても、症状を経験しない例が多く見られる。そこで、症状がある患者とない患者とで、各種ラテックス抗原 (β -1,3-グルカナーゼ, ヘパミン, カルボキシエステラーゼ, ヘペイン) に対する反応性に差があるかどうかを、IgE-ELISA, プリックテスト及びヒスタミン遊離テストで調べた。その結果、天然ゴム製品に対して実際に症状を有する患者群は、 β -1,3-グルカナーゼ以外の抗原に対する反応性が有意に高いことがわかった。しかし、特定の抗原に対する反応性の有無が症状の有無を決定するといった、明確な関連性を確認することはできなかった。

Keywords: latex allergy, atopy, allergen

- *1 横浜市立大学医学部
*2 AFT 研究所
*3 旭化成
*4 国立相模原病院臨床研究部

Futaki, S.*¹, Aoki, M.*², Ishikawa, T.*², Kondo, F.*², Asahara, T.*², Niwa, M.*², Nakaya, Y.*³, Yagami, T. and Kitagawa, K.*⁴: **Chemical ligation to obtain protein comprising helices with individual amino acid sequences**
Bioorganic & Medicinal Chemistry, 7, 187-192 (1999)

人工蛋白質の設計・合成に際しては、様々な機能を有するペプチドセグメントを効率的に組み立て、一つの分子として完成させる段階が重要なステップとなる。本研究では、テンプレートペプチドにペプチドセグメントを順次選択的に導入する手法として、ケミカルリゲーション法を採用した。4つのヘリックスペプチドを組み合わせて構築した人工蛋白質の CD スペクトルには、ヘリックス構造に特徴的な 220nm 付近の極小値が記録された。さらに、イオンチャネル構造を指向し、設計・合成した人工ヘリックス蛋白質は、実際にイオン透過活性を有していた。以上の実験結果は、ケミカルリゲーション法が人工蛋白質の合成手法として非常に有効であることを示している。

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

- *1 京都大学化学研究所
*2 徳島大学薬学部
*3 徳島大学医学部
*4 新潟薬科大学

入江和夫*, 吉田啓子*, 前田典子*, 庄司裕美*, 鹿庭正昭: ペンキ塗膜に関する CPSC の情報と学校、公園施設にある塗膜の鉛中毒につながる大きさの算出
家庭科教育, 72(8), 94-99 (1998)

中学校、小学校、幼稚園、保育園及び公園において採取した塗膜中の鉛濃度を原子吸光度法により定量した。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, atomic absorption spectrometry

* 山口大学教育学部

Nishioka, K.*¹, Seguchi, T.*¹, Kaniwa, M. and Suetomi, R.*²: **Occupational contact dermatitis due to biotin precursor** *Contact Dermatitis*, 39, 49-51 (1998)

ビオチンの前駆体である(3aS,6aR) hexahydro-1,3-debenzyl-6-hydroxyfurano[3,4-d]imidazol-2,4-dione を合成している医薬品工場において作業者がアレルギー性接触皮膚炎を発生した事例について検討し、上記の化合物が強い皮膚感作性物質であり、原因化学物質となっていたことを明らかにした。

Keywords: biotin precursor, occupational contact allergy, pharmaceutical industry

*¹ 山口赤十字病院

*² 末富皮膚科医院

日野治子*¹, 長谷川 毅*¹, 湧川基史*¹, 鹿庭正昭, 見城一敏*²: 眼鏡フレームの“先セル”による接触皮膚炎臨床皮膚科, 52(9), 701-703 (1998)

眼鏡フレームの先セルが当たる両耳介にアレルギー性接触皮膚炎を生じた事例について検討し、先セルに配合されていた樹脂の着色剤がパッチテストで強い陽性反応を示し、原因となっていたことを明らかにした。着色剤中の色素成分についての詳細な検討は患者の協力が得られず実施できなかったが、2種の有機系着色剤が原因化学物質の候補と推定された。

Keywords: allergic contact dermatitis, eyeglass, colouring agent

*¹ 関東中央病院

*² コンテス

Kato, H.*¹, Kuwano, A.*¹, Ishii, M.*¹ and Kaniwa, M.: **A case of contact dermatitis due to a raincoat** *Environmental Dermatology*, 5(3), 186-190 (1998)

ナイロン製レインコートによるアレルギー性接触皮膚炎事例を検討した結果、裏地にコーティングされていた合成ゴムに配合された加硫促進剤の2-mercaptobenzothiazoleが原因化学物質となっていたことを明らかにした。

Keywords: allergic contact dermatitis, rubber raincoat, 2-mercaptobenzothiazole

* 大阪市立大学医学部

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T., Nakamura, A., Beppu, M.* and Kikugawa, K.*: **Effect of vitamin E on contact sensitization responses induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in mice** *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 44, 225-236 (1998)

ビタミンEがマウスの2,4-dinitrochlorobenzene (DNCEB)に対する接触感作性反応に与える影響を検討した。ビタミンE欠乏食を摂取させたマウスでは脾臓及びリンパ節のチオバルビツール酸価が増加し、ビタミンEによる臓器脂質過酸化の抑制が認められた。ビタミンE欠乏食摂取マウスではDNCEBによる感作誘導に伴うリンパ節細胞増殖反応が通常食摂取マウスよりも低下し、in vitroの惹起反応の脾臓リンパ球幼若化反応も低下した。この幼若化反応はビタミンEの外來添加により回復、増強された。ビタミンEは活性酸素種の消去を通じて、接触アレルギーに対するリンパ球の反応性に関与している可能性が考えられた。

Keywords: vitamin E, contact sensitization, lymphocyte

* 東京薬科大学薬学部

Isama, K., Momma, J.*¹, Kaniwa, M. and Nakamura, A.: **Structure-activity relationships for skin sensitization potential of 2-mercaptobenzimidazole and its methyl derivatives**

Environmental Dermatology, 5, 26-33 (1998)

モルモットマキシミゼーション法を用いて、2-メルカプトベンズイミダゾール(MBI)及びそのメチル誘導体の皮膚感作性について検討した。チオアミド/イミノチオール互変異性する水素原子をもつMBI、2-メルカプト-1-メチルベンズイミダゾール(1MMBI)、2-メルカプト-4-メチルベンズイミダゾール(4MMBI)、2-メルカプト-5-メチルベンズイミダゾール(5MMBI)、2-メルカプト-5,6-ジメチルベンズイミダゾール(56DMBI)には皮膚感作性が認められた。ところが、互変異性する水素原子をもたない2-(メチルメルカプト)ベンズイミダゾール、1-メチル-2-(メチルメルカプト)ベンズイミダゾール、2-メルカプト-1,3-ジメチルベンズイミダゾールには皮膚感作性が認められなかった。また、皮膚感作性強度は、56DMBI > 1MMBI > 4MMBI > 5MMBI > MBIとなり、n-オクタノール/水系における分配係数(log P)と直線関係を示すことが分かった。

Keywords: structure-activity relationship, skin sensitization potential, 2-mercaptobenzimidazole

* 医薬品機構

Isama, K., Momma, J.*¹, Kaniwa, M. and Nakamura, A.: **Skin sensitization potentials of 2-mercapto-5-substituted benzimidazoles in guinea pigs**

Environmental Dermatology, 5, 86-92 (1998)

2-メルカプト-5-置換ベンズイミダゾール(5-置換MBI)の皮膚感作性及び交叉反応性について検討した。その結果、モルモットマキシミゼーション法において、すべての被験物質で感作が成立した。皮膚感作性強度は、5-メトキシMBI > 5-クロロMBI > 5-ニトロMBI > 5-メチルMBI > MBIとなり、これらの皮膚感作性強度とn-オクタノール/水系における分配係数(log P)とは直線関係を示さなかった。また、すべての被験物質間で相互に交叉反応性が認められた。5-置換MBIの抗原決定基は、チオアミド/イミノチオール互変異性する水素原子をもつチオアミド構造であった。

Keywords: skin sensitization potential, guinea pig maximization test, 2-mercapto-5-substituted benzimidazole

* 医薬品機構

Isama, K., Momma, J.*¹, Kaniwa, M. and Nakamura, A.: **Structure-activity relationships for skin sensitization potential of 2-mercaptobenzimidazole derivatives in guinea pigs**

The Journal of Toxicological Sciences, 23, 361 (1998)

2-メルカプトベンズイミダゾール(MBI)誘導体の皮膚感作性についてモルモットマキシミゼーション法を用いて検討した。その結果、チオアミド/イミノチオール互変異性する水素原子をもつ誘導体には皮膚感作性が認められた。また、メチル置換体の皮膚感作性強度はn-オクタノール/水系における分配係数(log P)と直線関係を示した。さらに、メチル置換体同士及び5-置換体同士はそれぞれ交叉反応性を示し、MBI誘導体の抗原決定基はチオアミド/イミノチオール互変異性する水素原子をもつ部分構造であることが確認された。

Keywords: structure-activity relationship, skin sensitization potential, 2-mercaptobenzimidazole derivative

* 医薬品機構

伊佐間和郎：インターネットによる家庭用品の安全性に関する情報提供

生活と環境, 43, 65-71 (1998)

「NIHS 家庭用品 (療品部第 2 室ホームページ) (http://dmd.nihs.go.jp/dmd2/) で提供している家庭用品の安全性に関する情報の概要と、アクセス状況をまとめた。月間総アクセス件数は 1997 年 2 月には 3708 件であったが、1998 年 2 月には 19173 件と大幅に増加した。アクセスしてきたドメインでは、「or.jp (各種団体)」が 23%、co.jp (一般企業)」が 20%、「ne.jp (ネットワーク関連機関)」が 10% を占めていた。さらに、World Wide Web (WWW) による情報提供の有用性について言及した。

Keywords: internet, world wide web, safety information

Shintani, H.: Differential analysis of blood urea using combined automated ultrafiltration and solid phase extraction in on-line series

J. Liquid Chromatogr., 21, 2205-2210 (1998)

尿毒症に罹患すると血中に尿素が蓄積するため人工透析などで除去し、一定値にまで低減させる必要がある。そのためには血中尿素の選択的な分析法が要求される。まず、マトリックスが血液であるため最適な前処理法の開発が要求される。それゆえ自動化された固相抽出、透析などを高速液体クロマトグラフィーと組み合わせて血中尿素の回収率を比較した。その結果、強陽イオン交換を用いた固相抽出と強陽イオン交換クロマトグラフィーの組み合わせが尿素分析に一番適していた。

Keywords: urea, solid phase extraction, dialysis

新谷英晴, 佐々木公一*1, 森 由美*1, 梶原庸生*2, 田中敦子*2, 高橋正毅*3, 小久保 護*4, 林 秀雄*5: Soybean Casein Digest (SCD) 培地のメーカー間の差並びに同一メーカーでのロット間の差に拠る滅菌保証達成の違いについて

防菌防黴, 27, 145-151 (1999)

SCD 培地のロット間ならびに/あるいはメーカー間の差により滅菌保証を達成するための D 値が異なることが報告されている。しかし培地組成の中のどの成分がばらつきに原因しているのかは充分明らかになっていない。それが明らかにされなければ再現性のある滅菌保証はうまく達成されないことになる。著者等は種々の SCD 培地を用いて検討した。その結果 SCD 液体培地と SCD 寒天固形培地との間で有意に D 値が異なり、後者での D 値は前者で得られた D 値より有意に高いことが判明した。それゆえ寒天中の成分が D 値ばらつきに寄与している可能性が示唆された。

Keywords: culture medium, biological indicator, variation

*1 エーザイ(株)美里工場

*2 日本製薬(株)

*3 テルモ(株)甲府工場

*4 渋谷工業(株)

*5 センコム(株)

黒須志のぶ*, 鮫島光曜*, 谷合悦子*, 三木亜希子*, 新谷英晴: バイオバーデン測定におけるメンブレンフィルター法での膜孔径の妥当性について

防菌防黴, 27, 159-162 (1999)

ISO TC/198 (医療用品の滅菌)ではろ過滅菌において 0.22 ミクロンさらには 0.1 ミクロン孔径のフィルターの採用が検討されている。その理由は従来から使用されている 0.45

ミクロンのフィルターではバイオバーデン菌数の多少により、ろ液中へのバイオバーデン菌の漏出の可能性が考えられるためとしている。その可能性が正しいかどうかは実験で検証される必要がある。それゆえバイオバーデン菌の同定法、バイオバーデン数ならびに用いたメンブレンの膜孔径の妥当性について検討した。0.45 ミクロンの孔径の膜を用い、バイオバーデン菌が多い場合と少ない場合でバイオバーデン菌の膜からの漏出の差の可能性を検討した。バイオバーデン菌としては *Pseudomonas cepacia* を用いた。*Pseudomonas cepacia* の負荷の多少に関係なく、0.45 ミクロンの膜からの菌の漏出は否定された。

Keywords: bioburden, pore size, membrane filter

* ミノファーゲン製薬(株)座間工場

Ando, M., Hiratsuka, H.*1, Nakagawa, J.*2, Sato, S.*3, Hayashi, Y.*4 and Mitsumori, K.: Cadmium accumulation in rats treated orally with cadmium chloride for 8 months J. Toxicol. Sci., 23, 243-248 (1998)

カドミウムを 8 ヶ月連続高濃度で暴露させた場合の臓器中カドミウムの蓄積性を検討するための予備試験として、閾値設定の根拠とされる腎臓中の存在量と暴露量の関係を検討した。600 ppm の 2 ヶ月投与群では既に腎臓に 25 µg/g の蓄積が認められ、腎機能障害とされる 200 µg/g を超過していた。また、200 ppm の 8 ヶ月の暴露条件でも 250 µg/g の濃度に達していた。このことから、閾値設定のための長期 (2 年間) 低濃度の試験には、これ以下の濃度で試験することとした。

Keywords: Cadmium, Tissue Distribution, Renal Toxicity

*1 三菱化学安全科学研究所

*2 東京都立衛生研究所

*3 イナリサーチ

*4 北里大学薬学部

松村年郎, 濱田実香, 伊藤健司*1, 安藤正典, 磯崎昭徳 *2: 室内空気中の有機リン化合物の測定法の検討とそのアプリケーションについて

室内環境学会誌, 1, 11-17 (1998)

室内環境で検出が予想される有機リン化合物 10 種類について、ガス状と粒子状の形態別測定法を GC/FPD 法を用いて検討した。すなわち、捕集フィルターの選定、添加回収率、ブランク試験、破過試験、試料の保存安定性、実測試験等である。その結果、ガス状と粒子状の分別測定には石英と Empore C18 Disk フィルターの組み合わせが回収率、破過試験、ブランク等の観点からベターであることが判った。本法を居住環境内の有機リン化合物の実測に適用した結果、トリブチルホスフェート (TBP) とトリス (2-クロロエチル) ホスフェート (TCEP) はガス (G) と粒子状 (P) が常に存在しており、TBP はガス/粒子状の比は 0.98、TCEP は 0.56 を示し、TCEP は粒子状物質が高い傾向を示していた。その他、ダイアジノン、クロルピリホス、フェニトロチオン等の農薬系の有機リン化合物も検出された。

Keywords: organophosphorus compounds, determination method, indoor air

*1 日本大学理工学部(現、東洋特紙工業株式会社)

*2 日本大学理工学部

松村年郎, 長田英二*, 安藤正典: 二酸化窒素とホルムアルデヒドの個人暴露濃度の測定結果について

室内環境学会誌, 1, 19-26 (1998)

著者らが開発したパッシブサンプラーを用いて、都内の集合住宅に居住する主婦を対象に、暖房期と非暖房期に分

けて個人暴露量の実態調査を行い、個人暴露量に及ぼす暖房器具、換気扇使用時間の影響、室内温・湿度の影響、また、ヒトの生活行動パターンの影響等について統計学的に検討し、個人暴露量の予測モデル式を提案した。

Keywords: nitrogen dioxide, formaldehyde, personal exposure levels

* 電気化学計器(株)

渡辺文雄*, 松延邦明*, 松村年郎, 安藤正典: 二酸化窒素のパッシブドジチューブの開発

室内環境学会誌, 1, 35-40 (1998)

化学的知識を持たない一般の人が室内環境中の二酸化窒素濃度を簡単に、安価に、迅速に測定し、その結果を基に窓の開放等の室内汚染防止対策を自らできることを目的として、パッシブドジチューブの開発を行った。本法は分子の拡散原理に基づいた検知管方式のサンプラーで室内に設置するだけで室内NO₂濃度が簡単に測定できる簡易測定器である。本法の総合精度は±20.7%、米国立労働安全衛生研究所(NIOSH)のガイドラインをクリア(±25%)している。また、本サンプラーは2時間暴露で0.05 ppmのNO₂の測定が可能である。更に、化学発光法のNO₂自動計測器と高い相関が認められた。

Keywords: nitrogen dioxide, passive dosi-tube, multipore plastic diffuser

* ガステック(株)

徳永裕司, 小笹知彦, 内野 正, 安藤正典: UVAによる紫外線防御剤の *In vitro* 評価法に関する研究

日本化粧品技術者会誌, 32, 287-291 (1998)

我が国において、UVAに対する紫外線防御剤の *in vitro* 評価法は1996年以来設定されている。この方法は実験にヒトの背部皮膚を用いるため、被験者に苦痛を与える方法である。そこで、我々はUVA *in vivo* 評価法の代替法として *in vitro* 評価法を検討した。トランスポアサージカルテープに紫外線防御剤2 mg/cm²を塗布した後、そのテープを0.1 mMリポフラビン溶液、8 mMメチオニン溶液および1.5 mMニトロブルーテトラゾリウム溶液の混液(4:1:5) 0.1 mlを入れた96穴マイクロプレート上に置き、350~380 nmのUVAを照射した。3分間隔で30分間550 nmでの吸光度を測定したとき、吸光度と測定時間の間の回帰方程式は直線を示した。紫外線防御剤のテープへの塗布と無塗布のものをを用いたときに得られた直線の傾き、S_T及びS₀から *in vitro* PFA値を求めたとき、両者によい相関関係が認められ、*in vitro* 評価法としての可能性が示唆された。

Keywords: sunscreen, *in vitro* PFA value, UVA

徳永裕司, 内野 正, 安藤正典: ウサギ赤血球の溶血に及ぼす界面活性剤の影響

日本化粧品学会誌, 22, 175-181 (1998)

界面活性剤の生体膜への影響を調べるため、アニオン性界面活性剤8種類、カチオン性界面活性剤9種類および非イオン性界面活性剤12種類のウサギ赤血球膜への影響が溶血反応を用いて研究された。種々の濃度の界面活性剤溶液で赤血球を処理した後、20分後の740 nmでの吸光度が測定され、赤血球を50%溶血するのに必要な界面活性剤の濃度(EC₅₀)が求められた。アニオン性界面活性剤の赤血球への影響は界面活性剤のアルキル鎖長に依存しており、アルキル鎖長12のsodium dodecyl sulfate, lauroyl L-glutamate, sodium dodecane sulfonateで出現し、1/EC₅₀は0.21/mMであった。カチオン性界面活性剤の場合には、アルキル鎖長14で赤血球の溶血が現れ、アルキル鎖長の増加

に伴い1/EC₅₀は増加することが明らかになった。アニオン性およびカチオン性界面活性剤の場合、赤血球の溶血の出現点でのアルキル鎖長とメチルパラベン、サリチル酸を透過指標物質としたモルモットの腹部剥離皮膚での透過速度の増加点でのアルキル鎖長の間には一致が観察された。非イオン性界面活性剤のHLBと1/EC₅₀の間には関連性が認められなかった。

Keywords: red blood cells, hemolysis, surfactants

徳永裕司, 鄭 然孫, 内野 正, 安藤正典: 非イオン性界面活性剤のポリオキシエチレン鎖のモルモットの剥離皮膚および赤血球の溶血に及ぼす影響

日本化粧品学会誌, 22, 287-293 (1998)

非イオン性界面活性剤のポリオキシエチレン(EO)鎖の生体膜への影響を調べるため、EO鎖の異なる4種類の非イオン性界面活性剤の影響をモルモットの腹部剥離皮膚および赤血球を用いて研究した。37℃で2時間皮膚を0.5%界面活性剤溶液で処理した後、透過指標物質のメチルパラベン(MP)およびサリチル酸(SA)の皮膚累積透過量を2~6時間測定した。また、赤血球を50%溶血するのに必要な界面活性剤の濃度(EC₅₀)を求めた。4.2~25のEO鎖を持つpolyoxyethylene lauryl ether(POE.LE)および5~20のEO鎖を持つpolyoxyethylene nonylphenyl ether(POE.NP)の場合、親水性/疎水性バランスとMPの相対透過速度(%)の間および1/EC₅₀の間に良い相関関係が認められた。2~50のEO鎖を持つpolyoxyethylene oleyl ether(POE.OE)の場合、SAの相対透過速度(%)は150.7~134.5%であり、皮膚角質層のpolar pathwayに影響を与えていることが示唆された。40~100のEO鎖を持つpolyoxyethylene hydrogenated castol oilの場合、赤血球膜への影響は低いことが示唆された。

Keywords: excised skin, red blood cells, nonionic surfactants

内野 正, 徳永裕司, 安藤正典: 赤血球を用いたUVA防御剤の *in vitro* 評価法

日本化粧品学会誌, 22, 98-101 (1998)

UVA防御指数(PFA)の代わりにUVA防御剤の *in vitro* 評価法を開発するため、光増感剤としてヘマトポルフィリン及びPFA既知のUVA防御剤の存在下でウサギ赤血球にUVA(350~380 nm)を照射し、溶血率を測定した結果、防御剤の濃度依存的に溶血率の減少が有意に抑制された。溶血を50%抑制する防御剤の濃度の逆数(1/IC₅₀)とPFAとの相関性を検討すると、1/IC₅₀とPFAとは顕著に有意な相関を示した。これらの結果から1/IC₅₀はUVA防御剤の *in vitro* 評価法の指標になり得ることが示唆された。

Keywords: UVA, PFA, 1/IC₅₀

Hanioka, N., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: Changes in rat liver cytochrome P450 enzymes by atrazine and simazine treatment

Xenobiotica, 28, 683-698 (1998)

ラットにアトラジンあるいはシマジン(100, 200および400 μmol/kg)を1日1回3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。テストステロン2α-ヒドロキシラーゼ活性は、アトラジンおよびシマジンの投与により有意に減少し、その活性は、対照群のそれぞれ59~46および60~32%であった。しかし、抗ラットCYP2C11/6抗体を用いたウエスタンブロッティングからは、これら化合物によるCYP2C11レベルの有意な変化は認められなかった。アトラジンおよびシマジン投与群のテストステロン2α-ヒドロキシラーゼのV_{max}およびCl_{int}は、対照群のそれらより低かったことからアトラジンおよびシマジンは、ラ

ット肝の CYP2C11 を不活性化させることが推察された。

Keywords: atrazine, simazine, cytochrome P450

Hanioka, N., Jinno, H., Nishimura, T. and Ando, M.: **Suppression of male specific cytochrome P450 isoforms by bisphenol A in rat liver**

Arch. Toxicol., **72**, 387-394 (1998)

ラットにビスフェノール A (10, 20 および 40 mg/kg) 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。テストステロン 2 α -ヒドロキシラーゼ活性は、ビスフェノール A 投与により用量依存的に減少し、最も減少した 40 mg/kg 投与群における活性は、対照群の 13% であった。また、テストステロン 6 β -ヒドロキシラーゼも 40 mg/kg のビスフェノール A 投与により対照群の 50% まで活性が減少した。ウエスタンブロッティングからビスフェノール A 投与による CYP2C11 および CYP3A2 レベルの低下が認められたが、それらの減少率は、シトクロム P450 依存性酵素活性のような顕著なものではなかった。また、テストステロン 2 α -ヒドロキシラーゼおよびテストステロン 6 β -ヒドロキシラーゼの Cl_{int} は、20 および 40 mg/kg のビスフェノール A 投与により有意に減少し、ビスフェノール A は、ラット肝の雄特異的シトクロム P450 分子種である CYP2C11 および CYP3A2 を不活性化させることが示唆された。

Keywords: bisphenol A, cytochrome P450

Hanioka, N., Jinno, H., Kitazawa, K.*, Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T., Ando, M. and Ogawa, K.*: **In vitro biotransformation of atrazine by rat liver microsomal cytochrome P450 enzymes**

Chem.-Biol. Interact., **116**, 181-198 (1998)

ラット肝ミクロソームにおけるアトラジンの *in vitro* 代謝について検討した。主代謝物として *N*-脱イソプロピル化体 (DeiPr-ATZ) が、微量代謝物として *N*-脱エチル化体 (DeEt-ATZ) およびイソプロピルアミノ基の 1-水酸化体 (iPrOH-ATZ) が雌雄いずれのラットでも検出された。シトクロム P450 阻害剤・基質および抗ラットシトクロム P450 抗体を用いた阻害実験から、雄ラットでは、CYP2B2, CYP2C11, CYP2D1 (iPrOH-ATZ のみ) および CYP2E1 が、雌ラットでは、CYP2B2, CYP2D1 および CYP2E1 がアトラジンの代謝に関与していることが示唆された。しかし、雌雄いずれのラットにおいてもアトラジンから DeiPr-ATZ, DeEt-ATZ, iPrOH-ATZ の生成と各シトクロム P450 指標との間には全く有意な相関関係は認められず、未処理ラットにおけるアトラジンの *in vitro* 代謝にはあるシトクロム P450 分子種が選択的に関与するのではなく、複数のシトクロム P450 分子種が関与することが示唆された。

Keywords: atrazine, metabolism, cytochrome P450

* 三菱化学安全科学研究所

Hanioka, N., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Nishimura, T. and Ando, M.: **In vitro metabolism of chlorotriazines: Characterization of simazine, atrazine, and propazine metabolism using liver microsomes from rats treated with various cytochrome P450 inducers**

Toxicol. Appl. Pharmacol., **156**, 195-205 (1999)

シマジン (SIZ), アトラジン (ATZ) およびプロバジン (PRZ) のラット肝ミクロソームにおける *in vitro* 代謝について検討した。*N*-脱アルキル化体 (SIZ-M1, ATZ-M1, ATZ-M2 および PRZ-M2) の生成は、3-メチルコランズレン、フェノバルビタールおよびピリジン投与により、イソプロ

ピルアミノ基の 1-水酸化体 (ATZ-M3 および PRZ-M4) の生成は、フェノバルビタール、ピリジンおよびクロフィブレートにより有意に増加した。Eadie-Hofstee プロットを用いて *in vitro* 代謝の速度論的解析を行ったところ、SIZ, ATZ および PRZ の代謝物生成の V_{max} および Cl_{int} は、デキサメタゾン以外の P450 誘導剤で有意な影響を受けた。また、SIZ-M1, ATZ-M1, ATZ-M2 および PRZ-M2 の生成は、CYP1A1/2 と、ATZ-M3 および PRZ-M4 の生成は、CYP2B1/2 と良い相関性を示し、クロロトリアジン系農薬の代謝における脱アルキル化反応と水酸化反応の誘導性あるいはこれら反応に関与する各 P450 分子種の寄与率は異なることが示唆された。

Keywords: chlorotriazine, metabolism, cytochrome P450

Jinno, H., Hatakeyama, N.*, Hanioka, N., Yoda, R.*, Nishimura, T. and Ando, M.: **Cytotoxic and porphyrinogenic effects of diphenyl ethers in cultured rat hepatocytes: Chlornitrofen (CNP), CNP-amino, chlormethoxyfen and bifenoxy**

Food Chem. Toxicol., **37**, 69-74 (1999)

ジフェニルエーテル系除草剤 CNP, CNP アミノ体, クロメトキシフェン及びピフェノックスについて、ラット肝細胞の細胞生存率とヘム合成に対する影響を検討した。CNP アミノ体の肝細胞毒性が最も強く、その LC_{50} は 0.36 mM であった。CNP にも 0.5 mM 以上で細胞毒性が観察されたが、クロメトキシフェンとピフェノックスでは 1 mM までの濃度で細胞生存率の低下は認められなかった。CNP アミノ体の肝細胞毒性は SKF 525-A 前処理で増強され、メチマゾール処理で抑制されることから、フラビン含有モノオキシゲナーゼが CNP アミノ体の代謝活性化に関与していることが明らかになった。一方、いずれの化合物も濃度依存的に肝細胞のポルフィリン蓄積を引き起こし、蓄積した主なポルフィリン種はプロトポルフィリン IX であり、ジフェニルエーテル化合物及びそのアミノ体による肝細胞プロトポルフィリンノーゲンオキシダーゼの阻害が示唆された。

Keywords: diphenyl ether herbicides, hepatotoxicity, heme biosynthesis

* 共立薬科大学

佐々木久美子, 中村優美子, 二宮隆博*¹, 田中敏嗣*², 豊田正武: 1997 年告示 10 農薬への残留農薬迅速分析通知法の適用

食品衛生学雑誌, **39**, 448-452 (1998)

1997 年 9 月に残留基準値が告示された 10 農薬への迅速分析通知法 (1997 年 4 月通知) の適用を検討した。3 試験室で各々 6 作物への添加回収試験を行った結果、アセタミプリド、シプロコナゾール、テブコナゾール、ピリプロキシフェン、ピリミジフェン、メトラクロールには通知法が適用できた。EPTC とブチレートは、濃縮時の揮散に注意すれば適用できた。アクリナトリンとジフェンゾコートには適用できなかった。一部の作物の残留基準値が特に低いシプロコナゾールとテブコナゾールを除いては基準値の 1/2 以下の検出限界が得られた。

Keywords: pesticide residue, rapid analytical method, gel permeation chromatography

*¹ 日本食品衛生協会

*² 神戸市環境保健研究所

石川雅章*¹, 松田りえ子, 林 譲, 四方田千佳子, 山口 晶*², 岩木和夫*², 尾花裕孝*³, 佐藤守俊*⁴, 吉田徹也*⁴,

辻 正彦⁵: 高速液体クロマトグラフィー分析の精度と検出限界に関する共同実験

分析化学, 48, 265-269 (1999)

9 機関において, パラハイドロキシ安息香酸エステル類の HPLC における検出下限を測定した. ベースライン揺らぎから精度及び LOD を予測するソフトウェア TOCO を用いて, 各機関の結果を解析した. 各機関で得た LOD は, 0.16 µg/L から 30 µg/L の範囲にあった.

Keywords: limit of detection, precision, HPLC

*1 静岡県富士保健所

*2 荏原総合研究所

*3 大阪府立公衆衛生研究所

*4 長野県衛生公害研究所

*5 兵庫県立衛生研究所

Katsumine, M.*, Iwaki, K.*, Matsuda, R. and Hayashi, Y.: Routine check of baseline noise in ion chromatography

J. Chromatogr. A, 833, 97-104 (1999)

2 年間にわたるイオンクロマトグラフィーのベースライン揺らぎを解析した. この結果, サプレッサーの異常, 溶離液の異常がベースライン揺らぎ解析から, 早期に検出できることが明らかとなった.

Keywords: ion chromatography, precision

* Ebara Research Co. Ltd., Center of Technology Development

Nemoto, S. and Lehotay, S. J.*: Analysis of multiple herbicides in soybeans using pressurized liquid extraction and capillary electrophoresis

J. Agric. Food Chem., 46, 2190-2199 (1998)

加圧溶媒抽出 (PLE) 及びキャピラリー電気泳動 (CE) を用いて大豆中の 6 種類 (イマザキン, クロリムロンエチル, チフェンスルフロンメチル, アシフルオフエン, ベンタゾン, 2,4-D) の極性の高い除草剤の同時分析法を開発した. PLE 抽出液はクリーンアップ後 CE で UV (240 nm) を用いて測定した. クリーンアップ法については, 液-液分配, ゲル浸透クロマトグラフィー, セミ分取 HPLC, 固相抽出など様々な方法について比較検討し, 最もクリーンアップ効果の高い組み合わせを選択した. 6 種類の除草剤のうち 4 種類については基準値濃度での添加回収実験で測定が可能であり, 平均回収率は 71%, 相対標準偏差 (RSD) は 11% であった. また, 高濃度添加回収実験ではいずれの除草剤も 70% 以上の回収率が得られ, RSD はばらつきが大きかったアシフルオフエンを除き 10% 未満であった.

Keywords: herbicides, pressurized liquid extraction, capillary electrophoresis

* USDA Agricultural Research Service

Akiyama, H., Uraroongroj, M., Miyahara, M., Goda, Y. and Toyoda, M.: Quantitation of fumonisins in corn by HPLC with o-phthalaldehyde postcolumn derivatization and their identification by LC/MS

Mycopathologia, 140, 157-161 (1998)

フモニシン B1 とフモニシン B2 についてイオンペア試薬と揮発性緩衝液を使用しないでアイソクラティック分離し, オルトフタルアルデヒドを用いポストカラム HPLC 法を開発した. このシステムによるトウモロコシ試料におけるフモニシン B1 とフモニシン B2 の検出限界は各々 0.01 mg/g であった. また, 定性確認分析をするために分離条件をイオントラップ LC/MS に適用した. ポストカラム HPLC 法により FB1 が 3.75 mg/g, FB2 が 1.44 mg/g 検出された自然

汚染トウモロコシ試料の LC/MS 分析において, 選択イオンモニタリングモードにより各フモニシンが定性確認された.

Keywords: fumonisins, HPLC, LC/MS

松岡 猛*, 川島よしみ*, 穂山 浩, 三浦裕仁*, 合田幸広, 瀬畑 環*, 一色賢司*, 豊田正武, 日野明寛*: **ダイズ及びダイズ加工食品からの組換え遺伝子の検出方 (第 1 報)**

食衛誌, 40, 149-157 (1999)

PCR 法を用いて, 遺伝子組換えダイズ (GM ダイズ), 非組換えダイズ (non-GM ダイズ) 及びそれらのダイズを用いた加工食品から, 組換え遺伝子の検知を行った. 検知感度は, ダイズ種子においては 0.05% の GM ダイズの混入したもので, 豆腐においては 0.5% の GM ダイズを含有した豆腐までであった. 市販豆腐 41 試料に本法を適用し, 27 試料の豆腐から組換え遺伝子を検知した. 納豆では, 本法による組換え遺伝子の検知は困難であった. しかし, 挽き割り納豆において, nested PCR 法によりダイズに内在的に含まれるレクチン遺伝子を検出できた.

Keywords: genetically modified soybean, PCR, detection technique

* 農水省食品総合研究所

神田智正*, 穂山 浩, 柳田顕郎*, 田辺正行*, 合田幸広, 豊田正武, 手島玲子, 齋藤行生: **Inhibitory effects of apple polyphenol on induced histamine release from RBL-2H3 cells and rat mast cells**

Biosci. Biotechnol. Biochem., 62(7), 1284-1289 (1998)

リンゴ未熟果実からポリフェノール画分の抗アレルギー活性を各種試験法により評価した. 未熟果実から逆相カラムクロマトグラフィーで得られた粗ポリフェノール画分 (CAP) をさらに LH-20 カラムクロマトグラフィーにより精製しエピカテキン類の 2 量体から 15 量体の混合物から構成されている縮合型タンニン画分 (ACT) を得た. ACT は抗原抗体刺激による RBL-2H3 からのヒスタミン遊離や compound 48/80 刺激によるラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離を阻害した. また ACT はヒアルロニダーゼ活性を阻害し, RBL-2H3 における抗原刺激時の細胞内カルシウム濃度の増加も阻害した. この結果より ACT はカルシウム流入を含んだ早期の細胞内情報伝達系に影響することが示唆された.

Keywords: apple polyphenol, anti-allergic activity, calcium influx

* ニッカウヰスキー (株)

豊田正武, 内部博泰*, 柳 俊彦*, 河野洋一*, 堀 就英*, 飯田隆雄*: **日本における食事経由の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs の摂取量**

食衛誌, 40, 98-110 (1999)

全国 7 地区から集めたトータルダイエット試料 (1997 年度) を用い, 14 食品群別及び総摂取量を調べた. 1 日摂取量は, PCDDs+PCDFs が平均 48.0 ± 11.7 pgTEQ/人 (29.9~69.5 pgTEQ/人), Co-PCBs が平均 72.7 ± 21.6 pgTEQ/人 (37.7~102.2 pgTEQ/人) で, Co-PCBs を含めた 1 日総摂取量は平均 120.7 ± 31.3 pgTEQ/人 (68.7~158.8 pgTEQ/人) で, 体重 kg 当たりでは平均 2.4 ± 0.6 pgTEQ/kgbw/day (1.4~3.2 pgTEQ/kgbw/day) であった. 食品群別摂取割合は, 10 群 (魚介類) 62.4%, 11 群 (肉・卵類) 17.3%, 12 群 (乳・乳製品) 7.8% で, その他 12.5% であった.

Keywords: dioxins, PCDDs, coplanar PCBs

*1 (財)日本食品分析センター

*2 福岡県保健環境研究所

豊田正武, 飯田隆雄*1, 堀 就英*1, 柳 俊彦*2, 河野洋一*2, 内部博泰*2: 日本における市販食品中の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs 含有量

食衛誌, 40, 111-121 (1999)

市販の魚, 酪農食品, 野菜, 果実等 26 種 119 試料についてダイオキシン類等の汚染レベルを調査した。当量濃度は, 魚類が平均 1.600TEQpg/g (0.121~10.397TEQpg/g), スズキの 1 例は 10TEQpg/g を超えた。肉類は平均 0.295TEQpg/g (0.011~2.960TEQpg/g) で, 濃度は牛肉, 鶏肉, 豚肉の順であった。牛乳は平均 0.050TEQpg/g (0.012~0.081TEQpg/g), チーズは平均 0.179TEQpg/g (0.059~0.263TEQpg/g) であった。米, サツマイモ, 豆類, リンゴは, 平均 0.015TEQpg/g 以下で, キュウリ, 長ネギ, 白菜, 椎茸も平均 0.021TEQpg/g 以下であった。小松菜は平均 0.144TEQpg/g で, ホウレン草は平均 0.189TEQpg/g と最も高い。

Keywords: dioxins, PCDDs, coplanar PCBs

*1 福岡県保健環境研究所

*2 (財)日本食品分析センター

豊田正武, 松田りえ子, 五十嵐敦子, 齋藤行生: 日本における環境汚染物の 1 日摂取量の推定およびその由来の解析

食品衛生研究, 48(9), 43-65 (1999)

1986年~1997年にかけ9~11 地方衛生研究所と協力して行ったトータルダイエット試料からの環境汚染物の摂取量を報告した。同時に各環境汚染物について濃度の高い個別食品別含有量の経年変化も示した。HCH, DDT, PCB の摂取量は低レベルにあるものの減少傾向は緩やかであり, 魚介類中の濃度が高く摂取量への寄与率も大きい。有害金属の鉛, ヒ素, 水銀, カドミウムの摂取量には近年ほとんど変化がない。鉛とカドミウムは穀類, 水銀は魚類由来の摂取が多い。有機塩素系農薬の 1 日摂取量は, 検出限界を定量下限の 1/2 として計算しても ADI の 5% 以下であった。

Keywords: DDT, PCB, cadmium

Kondo, K., Kurihara, M., Miyata, N., Suzuki, T. and Toyoda, M.: Mechanistic studies of catechins as antioxidants against radical oxidation,

Arch. Biochem. Biophys., 362, 79-86 (1999)

カテキン類, (-)-epicatechin 及び (-)-epigallocatechin の peroxy radical に対する抗酸化反応機構について, 初期反応生成物を LC/MS, photodiode array (PDA) により構造解析するとともに, 半経験的分子軌道法を用いて結合解離エンタルピーを計算することにより反応部位を詳細に検討した。その結果, カテキンは phenol 性水酸基に加え C-2 位の水素が radical 消去に重要であることを明らかにした。

Keywords: catechin, LC/MS, semiempirical MO calculation

Ueno*, S.*, Susa, N.*, Furukawa, Y.*, Komatsu, Y.*, Koyama, S.* and Suzuki, T.: Butyltin and Phenyltin Compounds in Some Marine Fishery Products on the Japanese Market.

Archives of Environmental Health, 54, 20-25 (1999)

日本を代表する 11 種の魚についてブチルスズ化合物及びフェニルスズ化合物の実態調査を行った。その結果, 天然魚中のブチルスズ濃度に比べ, 養殖魚中の濃度は一般に高かった。一方, フェニルスズの濃度はブチルスズの濃度に比べ遙かに低かった。これらの有機スズ濃度は 1990 年の

法による規制の結果, 劇的に減少したものと考えられる。一日許容摂取量を基にして, 日本の市場における摂取量を計算すると, 健康を損なう濃度レベルより遙かに低い濃度であると判明した。しかしながら, ある種の養殖魚においては, 依然, 好ましくないレベルにあることが判明した。

Keywords: butyltin, fish, survey

* Department of Veterinary Public Health School of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Kitasato University

Miura, H.*1, Kitamura, Y.*1, Ikenaga, T.*1, Mizobe, K.*1, Shimizu, T.*2, Nakamura, M.*2, Kato, Y.*2, Yamada, T., Maitani, T. and Goda, Y.: Anthocyanin production from *Glehnia littoralis* callus cultures

Phytochemistry, 48, 279-283 (1998)

ハマボウフウ (*Glehnia littoralis*) の葉柄由来のアントシアニン産生カルスを確立し, 産生する主アントシアニンの構造を, 新規化合物である cyanidin3-(6-(6-(E)-feruloyl)- β -D-glucopyranosyl-2- β -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranoside と同定した。培養細胞中のアントシアニン含量は, 乾燥重量で 14% に達し, 生産性は, 5 年間に渡って維持された。

Keywords: *Glehnia littoralis*, callus culture, acylated anthocyanin

*1 長崎大学薬学部

*2 三栄源エフ・エフ・アイ(株)

合田幸広, 酒井信夫, 中村高敏, 穂山 浩, 豊田正武: モロヘイヤ種子中の主強心配糖体の同定, 分析及び, マウスに対する経口毒性について

食衛誌, 39, 256-265 (1998)

モロヘイヤ (*Corchorus olitorius* L.) はシナノキ科の植物で, 中央及び南アジアからアフリカにかけて広く栽培されているが, 近年我が国でも, 野菜として利用される様になり, また健康食品材料として注目されている。他方, 平成 8 年 10 月, 長崎県の農家で牛が同植物種子を食べて死亡する事件がおこった。本報告では, 安全性確保の観点から, 日本で栽培されているモロヘイヤの種子中の強心配糖体の単離構造決定を行い, モロヘイヤ種子に, strophanthidin 強心配糖体に加え, これまで報告のなかった digitoxigenin 配糖体が主強心配糖体として存在していることを明らかにした。次いで, 単離した主強心配糖体について, マウス経口毒性を評価した。さらに, 日本各地で採取したモロヘイヤ種子の成分分析を行い, その結果から, モロヘイヤ種子中の成分は, 種子の色と明確な関連があることを示し, 強心配糖体生合成とモロヘイヤの種子の熟度が関連することを推定した。

Keywords: *Corchorus olitorius*, cardenolide glycoside, mice acute oral toxicity

Nakamura, T., Goda, Y., Sakai, S., Kondo, K., Akiyama, H., Toyoda, M.: Cardenolide glycosides from seeds of *Corchorus olitorius*

Phytochemistry, 49, 2097-2101 (1998)

日本で栽培されているモロヘイヤの種子中の強心配糖体として, 8 種の既知強心配糖体に加え, 新規な digitoxigenin, periplogenin 及び, cannogenol 配糖体 3 種の単離構造決定を行った。

Keywords: cannogenol glycoside, periplogenin glycoside, digitoxigenin glycoside

合田幸広, 酒井信夫, 中村高敏, 近藤一成, 穂山 浩,

豊田正武: HPLCによるモロヘイヤ (*Corchorus olitorius*)
及びその加工品中の Digitoxigenin 配糖体の分析
食衛誌, 39, 415-412 (1998)

HPLC と固相抽出を組み合わせた, モロヘイヤ各部位及
びモロヘイヤ関連食品中の digitoxigenin (DG) 強心配糖体の
分析方法を開発し, 食品中には, DG 強心配糖体が含まれ
ていないことを明らかにした.

Keywords: *Corchorus olitorius*, digitoxigenin glycoside, HPLC

石綿 肇, 山田 隆, 他 21 名: 日本人の B 群 (食品の
常成分としても存在する化合物) 食品添加物の一日摂取
量調査

日本食品化学学会誌, 5, 178-190 (1998)

マーケットバスケット法により, 食品の常成分としても
存在する食品添加物 160 品目 (56 化合物) の一日摂取量調
査を行った. 1 人 1 日当たりのこれらの食品添加物の摂取
量は天然由来成分も含めて 16.1 mg であった. ADI を越え
たものは硝酸塩で, ADI の 125% であった. その大部分は
自然含有量であった.

Keywords: food additives, daily intake, ADI

杉田たき子, 川崎洋子, 長田正大*, 石綿 肇, 山田 隆:
GCによる酢酸ビニル樹脂中の酢酸ビニルモノマーの分
析

食品衛生学雑誌, 39, 410-414 (1998)

ガムベースとして用いられる酢酸ビニル樹脂中の酢酸ビ
ニルモノマーの分析法を開発した. 試料をトルエンに溶解
し, FID-GC (DB-1, 0.32 mmx30 m) により分析した. 12 試
料について分析を行ったところ, 6 試料よりモノマーが検
出された. 濃度は, 3~12 μ g/g であった. 検出限界は 3
 μ g/g.

Keywords: chewing gum base, polyvinyl acetate, vinyl acetate
monomer

* 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

川崎洋子, 石綿 肇, 加藤千晶, 山田 隆: 食品中のア
ルギン酸ナトリウムの定量分析法

食品衛生学雑誌, 39, 297-302 (1998)

食品中のアルギン酸ナトリウムの分析法を開発した. 除
たんばく剤として硫酸マグネシウム/硫酸ナトリウム溶液
を用い, 1% 炭酸水素ナトリウム溶液でベクチン質を沈殿除
去した. 17 品目の食品で 0.01% の添加回収率は 75% 以上.
定量限界は 0.002% であった.

Keywords: sodium alginate, uronic acid, naphthoresorcinol
reaction

Maitani, T., Kabashima, J., Kubota, H., Sugimoto, N. and
Sato, K.: Contents of mercury and cadmium in
commercial annatto extracts

Jpn. J. Food Chem., 5, 226-229 (1998)

天然添加物アナー色素及び合成添加物水溶性アナー
の成分規格において, 水銀及びカドミウム単独の規格が必
要かを検討するために, 市販製品の実態調査を実施した.
水銀については EU の規制値 (1 mg/kg) を越える製品が存
在したこと等により規格の必要性が示唆されたが, カドミ
ウムについては全製品で EU の規制値 (1 mg/kg) の 1/10
以下であったため, 単独の規格は必要ないと考えられた.

Keywords: annatto extract, mercury, cadmium

坂元 (佐々木) 史歩, 合田幸広, 米谷民雄: 市販カラメ
ル色素中の 2-アセチル-4-テトラヒドロキシブチルイミ

ダゾールの分析

日本食品化学学会誌, 5(1), 47-50 (1998)

天然着色料カラメル色素の成分規格を設定するための研
究として, 市販のカラメル I, III, IV の製品につき, 免疫
毒性等が報告されている 2-アセチル-4-テトラヒドロキシ
ブチルイミダゾール (THI) の含量を, HPLC により分析し
た. その結果, 製造工程の熱処理時にアンモニウム化合物
が加えられるカラメル III においては, すべての製品中に
THI が検出された. 一方, 熱処理時にアンモニウム化合物
と亜硫酸化合物の両者が加えられるカラメル IV では, THI
は全く検出されなかった. そのため, THI の規格はカラメ
ル III のみで必要と考えられた.

Keywords: caramel color, 2-acetyl-4-tetrahydroxybutylimidazole,
ammonium compound

坂元 (佐々木) 史歩, 佐藤恭子, 阿部雅美, 杉本直樹,
米谷民雄: 天然着色料ウコン色素の成分分析とクルクミ
ンの光安定性

日本食品化学学会誌, 5(1), 57-63 (1998)

天然着色料ウコン色素の成分規格設定のための研究とし
て, 既存添加物ウコン色素及び一般飲食物添加物のウコン
につき, 色素成分を HPLC で分析した. 3 色素成分の比率
等から, 市販製品は 2 種に分類された. また, 主色素成分
であるクルクミンの光照射実験を実施したところ, クルク
ミンの閉環化合物のほかに, 数種の分解物が確認された.
しかし, 市販のウコン色素からは, これらの光分解物は検
出されなかった.

Keywords: turmeric oleoresin, curcumin, photo-stability

坂元 (佐々木) 史歩, 佐藤恭子, 阿部雅美, 杉本直樹,
米谷民雄: クルクミン類の光安定性に及ぼす溶存酸素の
影響

日本食品化学学会誌, 5(2), 211-217 (1998)

天然着色料ウコン色素の色素成分であるクルクミン類
(クルクミン, デメトキシクルクミン, ビスデメトキシクル
クミン) の光安定性に及ぼす溶存酸素の影響を調べた. そ
の結果, 溶液をあらかじめアルゴンガスで通気処理した場
合の方が, 酸素ガスで通気処理した場合より, 光照射に対
して不安定であり, 溶存酸素が光安定性に関与しているこ
とが示唆された. 一方, 光分解物の構造を調べたところ,
クルクミンの光分解物に対応する構造の分解物が, 他の 2
色素の場合においても確認された.

Keywords: curcumin, dissolved oxygen, photo-stability

佐藤恭子, 坂元 (佐々木) 史歩, 川崎洋子, 米谷民雄:
ベニコウジ色素中のシトリニンの分析法に関する研究

日本食品化学学会誌, 5(1), 64-68 (1998)

ベニコウジ色素中のシトリニンの分析法として, 前処理
に TLC 分取法を用いる方法, 固相抽出カートリッジを用
いる方法及び合成吸着剤であるダイヤイオン HP20 のカラ
ムを用いる方法を検討した. TLC 分取-HPLC 法では回収
率が低く, かつ粉末試料では, 基剤のデキストリンが *R_f*
値に影響を与えた. また, 8 種類の固相抽出カートリッジ
は, 前処理法としていずれも不相当であった. 一方, HP20
カラム処理-HPLC 法では良好な結果が得られた. その方
法では, シトリニンの回収率は 90% 以上であった. 検出限
界は蛍光検出器を用いた場合, 液体試料で 0.2 μ g/g, 粉末
試料で 2 μ g/g であった.

Keywords: monascus color, citrinin, HPLC

佐藤恭子, 杉本直樹, 坂元 (佐々木) 史歩, 安井義徳*,

山田 隆, 米谷民雄: 天然着色料ヘマトコッカス藻色素中の主色素成分の同定

食品衛生学雑誌, 39(6), 368-374 (1998)

天然着色料ヘマトコッカス藻色素の主色素成分について, HPLC を用いて分析したところ, アスタキサンチン (Ast) と類似の UV-Vis スペクトルを持つ 4 種の主色素成分の存在が確認された。けん化したヘマトコッカス藻色素の HPLC 分析及びヘマトコッカス藻色素の LC/APCI-MS 分析により 4 種の主色素成分は Ast モノ脂肪酸エステルと推定された。さらに, それら Ast 脂肪酸エステルを合成し, その LC/APCI-MS 分析を行った結果, 4 種の主色素成分はリノレン酸, リノール酸, オレイン酸及びバルミチン酸を結合脂肪酸とする Ast モノ脂肪酸エステルと同定された。

Keywords: haematococcus algae color, astaxanthin monoester, LC/APCI-MS

* 研修, 現: 東京農林水産消費技術センター

久保田浩樹, 佐藤恭子, 米谷民雄: イオンクロマトグラフィーによるビートレッド製品中の硝酸塩の分析

日本食品化学学会誌, 5(1), 44-46 (1998)

天然着色料ビートレッドの成分規格設定のための研究として, 硝酸塩の分析方法及び市販製品が JECFA 規格の硝酸塩の規格に適合するかについて検討した。その結果, 分析方法としては, イオンクロマトグラフィーが適当であった。それを用いて市販製品を分析したところ, JECFA の規格値を超える製品がいくつかあった。そのため, その規格値を国内で採用した場合には, 製造方法が現行のままだと, 適合できない製品ができる可能性が考えられた。

Keywords: beet red, nitrate anion, ion-chromatography

河村葉子, 河村麻衣子, 武田由比子, 山田 隆: 食品用ポリスチレン製品中のスチレンダイマー及びトリマーの分析

食品衛生学雑誌, 39, 199-205 (1998)

食品用ポリスチレン製品中のスチレンダイマー及びトリマーをシクロヘキサン-2-プロパノール混液で抽出し, GC-FID により, 1,3-diphenylpropane 及び benzyl *n*-butyl phthalate を標準として定量した。25 検体のすべてから, ダイマーが 90~1,030 μ g/g (平均 380 μ g/g), トリマーが 650~20,770 μ g/g (平均 9,210 μ g/g) 検出された。また, トリマーの約 2/3 は, 環状の 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin であった。溶出試験では, 溶媒の脂溶性が高くなるほど溶出量及び化合物の種類が増加した。またポリスチレンの種類により, 溶出量に大きな差がみられ, 耐衝撃性ポリスチレンが最も多く, 次いで発泡ポリスチレンであり, 一般用ポリスチレンは低かった。

Keywords: polystyrene, styrene dimers, styrene trimers

河村葉子, 三浦麻記子, 三浦由希子, 山田 隆: 酸化防止剤及び紫外線吸収剤に対する γ 線の照射影響

食品照射, 33, 1-9 (1998)

合成樹脂の酸化防止剤及び紫外線吸収剤 28 種類について, γ 線照射影響を検討したところ, 添加剤単独ではいずれの添加剤も安定であった。しかし, それらを練り込んだポリエチレンシートでは, 酸化防止剤の多くは材質中の含量が大きく減少した。このことは, 酸化防止剤が, 合成樹脂中に生成したラジカルや過酸化物と反応して自らも分解し, 照射による合成樹脂の劣化に対して防御的に作用したものと推定された。一方, 紫外線吸収剤は, 照射による変化はほとんどみられず, 照射によりポリマー中に誘起される反応には, ほとんど関与しないものと思われた。ポリエ

チレンシートからの添加剤の溶出については, 水性の食品擬似溶媒では, 照射の有無に関わらず, いずれの添加剤も溶出しなかった。しかし, 脂肪性食品の擬似溶媒においては, 照射により添加剤の溶出量が大幅に減少し, 添加剤自体の分解のほか, ポリマーと添加剤のクロスリンクも示唆された。

Keywords: gamma irradiation, antioxidants, ultra-violet stabilizers

河村葉子, 西 暁子*, 佐々木春美, 山田 隆: ポリスチレン容器入り即席めん中のスチレンダイマー及びトリマーの分析法

食品衛生学雑誌, 39, 310-314 (1998)

ポリスチレン容器入り即席めん中のスチレンダイマー及びトリマーの分析法を検討した。スープまたは調理棄て汁は, *n*-ヘキサンを加えて振とう抽出し, めんは超音波抽出を行った。また, めんとスープを含む試料では, めんを超音波抽出した *n*-ヘキサンでスープを抽出した。抽出液はヘキサン/アセトニトリル分配とフロリジルカラムにより精製した。定量は GC-FID を用い, 1,3-diphenylpropane 及び benzyl *n*-butyl phthalate を基準物質とした。回収率は 77.5~111.7%, 定量限界は 5 ppb であった。即席めん 8 検体の移行試験において, ダイマーは検出されなかったが, トリマーは 5 検体から 5~62 ppb 検出された。

Keywords: instant noodles, styrene trimers, GC-FID

* 日本食品分析センター

河村葉子, 西 暁子*, 前原玉枝, 山田 隆: ポリスチレン容器から即席食品へのスチレンダイマー及びトリマーの移行

食品衛生学雑誌, 39, 390-398 (1998)

即席食品 32 種類について, ポリスチレン容器からのスチレンダイマー及びトリマーの移行量を測定した。調理した食品から, トリマーが nd~62.4 ng/g, 1 食あたり 0~33.8 μ g 検出されたが, ダイマーは検出されなかった。即席めんでは, スープよりもめんの方が, また調理後の放置時間の長い方が, 移行量が多かった。ビーズ発泡成形容器 (EPS) では, 材質濃度が 800 μ g/g 以下と低く, 食品への移行はみられなかった。一方, 押し出し法シート成形容器 (PSP) の材質濃度は 4,800 μ g/g 以上であるが, 生めんやノンフライめんへの移行量は低く, 揚げめんが高かった。また, 電子レンジ調理ではやや高い移行を示した。

Keywords: instant noodles, styrene trimers, migration

* 日本食品分析センター

河村葉子, 佐野比呂美, 山田 隆: 缶コーティングから飲料へのビスフェノール A の移行

食品衛生学雑誌, 40, 158-165 (1999)

飲料中のビスフェノール A は, ポリスチレン固相カートリッジにより抽出精製し, TMS 化後 GC/MS/SIM により定量した。缶入り飲料 47 種類中のビスフェノール A 含有量及び検出頻度は, コーヒー飲料で 3.3~213 ng/mL (11/13) と最も高く, 次いで紅茶飲料 8.5~90 ng/mL (4/9), 茶飲料 3.7~22 ng/mL (5/8) であったが, アルコール飲料では 13 ng/mL (1/10) のみで, 清涼飲料 7 検体からは検出されなかった。缶コーティングの材質別では, 天蓋部が塩化ビニル樹脂の試料で高い移行がみられたが, 天蓋部がエポキシ樹脂で本体が PET の場合は移行はほとんどみられず, 天蓋部本体ともエポキシ樹脂ではその中間の移行量を示した。また飲料缶を 60°C で 4 週間保存しても移行量は増加しなかった。1 缶あたりのビスフェノール A 移行量は最大で 40 μ g であった。

た。

Keywords: can coatings, drinks, bisphenol A

武田由比子, 河村葉子, 山田 隆: アルミ箔製品から各種食品擬似溶媒へのアルミニウム溶出挙動

日本食品衛生学雑誌, 39, 178-183 (1998)

アルミホイルから各種食品擬似溶媒へのアルミニウムの溶出について検討したところ, 溶媒により溶出挙動は大きく異なった。水への溶出は少なく, 水道水では超純水よりわずかに高かった。4%酢酸及び0.5%クエン酸溶液では, 水道水の25~200倍であった。また, 4%酢酸へは, 0.5%クエン酸溶液の2倍以上の溶出量であった。酸性溶媒への溶出は温度及び時間に相関して増加した。一方, アルカリ性溶媒への溶出は, 2時間以内に急激に増加し, その後はほぼ一定の状態となった。市販アルミ箔製品10種類の溶出調査を行ったところ, 95°C30分で超純水への溶出は0.1~0.2 µg/cm², 0.5%クエン酸溶液では4.4~14.6 µg/cm², 4%酢酸では24.4~37.6 µg/cm²であった。

Keywords: aluminium foil product, food-simulating solvent, dissolution

武田由比子, 河村葉子, 山田 隆: アルミホイルから各種食品等へのアルミニウムの移行と食品成分の影響

日本食品衛生学雑誌, 39, 266-271 (1998)

アルミホイル片を酸性21種類, アルカリ性6種類の食品から調製した溶液へのアルミニウム移行は, 酢類, 梅干し類, アルカリ性食品で多かった。酸性食品では, 95°C30分でりん酢, レモン酢及び梅干し漬汁で10.02~13.83 µg/cm², りんご酢, かばす酢, ワインビネガーで6.85~3.11 µg/cm²で果汁及び乳製品で0.66~0.92 µg/cm²であった。穀物酢は0.20 µg/cm²と低く, 4%酢酸の約200分の1であった。アルカリ性食品では, 95°C30分でこんにゃく煮汁で13.72~16.24 µg/cm², しらたき煮汁で88.03~107.4 µg/cm², 中華麺煮汁で10.55~10.97 µg/cm²と高かった。また, 食塩は溶出を高めるが, 糖, タンパク質, アミノ酸及び脂肪は溶出抑制の傾向があり, 特にタンパク質, アミノ酸類は4%酢酸の95°C30分の溶出を10%以下に抑えた。

Keywords: aluminium foil, food component, dissolution

武田由比子, 河村葉子, 山田 隆: 調理によるアルミ箔成型容器から食品へのアルミニウムの移行

日本食品衛生学雑誌, 40, 172~177 (1999)

使い捨てアルミ箔成型容器で調理した食品へのアルミニウム移行量は, あらかじめ薄めたつゆや食材を入れて調理したものは, 水を沸騰させた後につゆ原液や食材を入れた場合の約1/2~1/6であった。食材等の添加により, アルミニウムの移行が大きく抑制された。市販のアルミ箔成型鍋入り食品やトレー入り冷凍食品を, 表示の方法で調理したところ, 前者で0.2 µg/g以下, 後者で0.03 µg/g以下と移行量は極めて少なかった。このように, 調理によるアルミ箔成型容器から食品への移行は, 食品擬似溶媒よりはるかに低い。したがって, アルミ箔成型容器入り食品からのアルミニウムの摂取量は極めて少ないと考えられた。

Keywords: disposable aluminium foil vessel, migration, Cooking

Miyata, N., Yamakoshi, Y., Inoue, H.*¹, Kojima, K.*¹, Takahashi, K.*¹, Iwata, N.*²: Mechanistic study of the inhibition of glutathione S-transferase by C₆₀

Recent Advances in the Chemistry and Physics of Fullerenes and Related Materials, 6, 1227-1235 (1998)

PVPで可溶化したC₆₀によるグルタチオン S-トランスフ

エラーゼ (GST) 活性の阻害について, 精製したマウスのGSTを用いた酵素阻害反応速度の解析, ならびに, 分子動力学計算による酵素阻害反応のシミュレーション解析を行った。C₆₀によるGST活性の阻害は非拮抗的であり, エタクリン酸を基質とするときのKi値は48.8±0.3 µMであった。Sybylプログラムを用いた化学計算の結果は, C₆₀がGSTの二つのサブユニットの間に取り込まれ, 阻害活性を発現する可能性を示した。

Keywords: fullerene, glutathione S-transferase

*¹ 東京医科大学 法医学

*² 理化学研究所

Fukuhara, K. and Miyata, N.: Resveratrol as a new type of DNA-cleaving agent

Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 3187-3192 (1998)

赤ワイン中に含まれるレスベラトロールは抗酸化作用の他, 抗変異原作用, 発癌抑制作用等, 多様な生物作用を示すことから近年特に注目されているポリフェノールの一つである。今回, レスベラトロールはCu²⁺存在下では酸素ラジカルを発生してDNA鎖を切断することを明らかにした。DNAに対する親和性と酸素ラジカル生成機構についても解析を行なった。

Keywords: resveratrol, polyphenol, antioxidant

Yamakoshi, Y., Sueyoshi, S., Fukuhara, K., Miyata, N., Masumizu, T.*¹ and Kohno, K.*¹: ·OH and O₂^{·-} Generation in Aqueous C₆₀ and C₇₀ Solutions by Photoirradiation - An EPR Study

J. Am. Chem. Soc., 120, 12363-12364 (1998)

フラレーン類は優れた光増感剤であり, ガンの光線力学療法剤への利用など, 照射下でのフラレーンの生物作用について活発な研究が行われている。照射条件でのフラレーン (C₆₀やC₇₀) の生物作用発現に関与する化学活性種を明らかにする目的で, DNA切断を指標とした*in vitro*生物作用解析実験を行い, 活性発現にはNADHなどの還元剤の存在が重要な役割を果たしていること, また, 従来活性種と考えられていた一重項酸素が活性発現に関与している可能性は非常に低いことを明らかにした。活性種を直接検出する目的でEPR-スピントラップ実験を行い, 反応系内に, ヒドロキシルラジカルおよびスーパーオキシドが生成していることを見いだした。これらが生物作用発現の活性種と考えられる。

Keywords: fullerene, photosensitizer, hydroxylradical

*¹ 日本電子(株)研究所

Kobayashi, S.*¹, Hamashima, H.*², Kurihara, M., Miyata, N. and Tanaka, A.*¹: Hardness Controlled Enzymes and Electronegativity Controlled Enzymes: Role of an Absolute Hardness-Electronegativity(h-c) Activity Diagram as a Coordinate for Biological Activities

Chem. Pharm. Bull., 46, 1108-1115 (1998)

化学的ハードネス概念から求めた簡潔なパラメータ (物理量) と種々の化合物の生物活性との相関を検討した。その結果, 絶対ハードネス-絶対電気陰性度 (h-c) がキノロン化合物, ダイオキシン類等の生物活性とよい相関があることを見いだした。

Keywords: hardness concept, h-c activity diagram, dioxin

*¹ Department of Drug Analysis, Showa College of Pharmaceutical Sciences

*² Department of Microbiology, Showa College of Pharmaceutical Sciences

Kurihara, M., Ishii, K., Kasahara, Y. and Miyata, N.:
Stereoselective Synthesis of an Erythro N-protected α -Amino Epoxide Derivative

Tetrahedron Lett., **40**, 3183-3184 (1999)

α -アミノエポキシドはプロテアーゼ阻害剤 (HIVPR, レニン, など) の重要な合成中間体である。ここでは、特に合成が難しいエリスロ体の立体選択的な合成を行った。酵素リパーゼの加水分解を用いた光学分割により末端にトリメチルシリル基を有するプロパルギルアルコールを光学活性体で得た。次に、それを還元して得られるシスオレフィンであるアリルアルコールをエポキシ化し、高選択的にスレオエポキシドを得た。シリル基を除去した後、アルコールを光延試薬でアミノ基に置き換えることでエリスロアミノエポキシドを合成した。

Keywords: stereoselective synthesis, α -amino epoxide, HIV protease inhibitor

Omori, K., Kishi, M.*¹, Nakaoka, T.*¹ and Miyata, N.:
Synergetic Effect of Naphthoquinones on the Mutagenicity of Nitroarenes

Biol. Pharm. Bull., **22**, 90-92 (1999)

環境化学物質であるニトロアレーンとキノンとの相互作用がニトロアレーンの変異原性に及ぼす影響を明らかにする目的で、Ames 法を用いた変異原性試験を行った。その結果、ナフトキノン類が、強い環境変異原物質である 1,3-ジニトロピレンなどの変異原性を 6-10 倍増強することが明らかになった。

Keywords: nitroarene, quinone, mutagenicity

*¹ 神奈川県衛生研究所

Tanaka, M.*, Imawaka, N.*, Kurihara, M. and Suemune, H.*:
Helical versus Planar Conformation of Homooligopeptides Prepared from Diethylglycine (= 2-Amino-2-ethylbutanoic Acid)

Helv. Chim. Acta., **82**, 485-493 (1999)

α, α -ジ置換アミノ酸は、 α 位に2つのアルキル置換基を有するアミノ酸であり、タンパク質を構成する通常の α -アミノ酸と比較してコンフォメーションの自由度が制限されている。 α, α -ジ置換アミノ酸より構成されるホモペプチドは、 α 位のアルキル置換基の種類により、それぞれ異なるコンフォメーション(ヘリックス, プラナー等)をとることが報告されている。ここでは、 α, α -ジ置換アミノ酸であるジエチルグリシンの3, 5, 6 量体を合成し、その結晶中および溶液中の構造を X 線, NMR, 化学計算等により明らかにした。

Keywords: homooligopeptide, α, α -disubstituted amino acid, X-ray crystallographic analysis

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Liu, Y.-M., Jinno, H., Kurihara, M., Miyata, N. and Toyo'oka, T.:
Determination of 4-hydroxy-2-nonenal in Primary Rat Hepatocyte Cultures by Liquid Chromatography with Laser Induced Fluorescence Detection

Biomed. Chromatogra., **13**, 75-80 (1999)

過酸化脂質である 4-ヒドロキシ-2-ノネナルをレーザー誘起蛍光分析法により、ラット肝細胞より高感度で検出できることを示した。

Keywords: 4-hydroxy-2-nonenal, primary rat hepatocyte culture, laser induced fluorescence detection

Teshima, R., Onose, J., Ikebuchi, H. and Sawada, J.: Ca^{2+} -

ATPase inhibitors and PKC activation synergistically stimulate TNF- α production in RBL-2H3 cells.

Inflamm. Res., **47**, 328-333 (1998)

ラット好塩基球(RBL-2H3)細胞の細胞内カルシウム濃度を上昇させることの知られている3種の小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤(thapsigargin(TG), cyclopiazonic acid(CPA), 2,5-di-(tert-butyl)-1,4-hydroquinone(DTBHQ)につき、RBL-2H3細胞からの炎症性サイトカインである TNF- α 産生への影響を検討した。プロテインキナーゼC活性化剤であるフォルボルエステル(TPA)共存下で、相乗的な産生がみられることが判明し、この TNF- α 産生は、RNA 合成阻害剤 Actinomycin D で阻害され、免疫抑制剤 FK506 でも抑制されたことより、転写レベルでの活性化の起きていることが示された。

Keywords: RBL-2H3, Ca^{2+} -ATPase inhibitors, TNF- α

Kitani, S.*¹, Silva, N.R.D.*¹, Morita, Y.*¹ and Teshima, R.:
Global environmental pollutant substance vanadium activates mast cells and basophils at the late phase in the presence of hydrogen peroxide.

Environ. Toxicol. Pharmacol., **6**, 1-12 (1998)

チロシン脱リン酸化酵素阻害剤であり、大気中の SPM (浮遊粒子状物質)の成分でもある五酸化バナジウムのヒト好塩基球細胞, ラットマスト細胞, ラットがん好塩基球(RBL-2H3)細胞からの脱顆粒, ロイコトリエン(LTC₄)産生, 細胞内カルシウム濃度上昇への影響について検討した。これらの細胞からの脱顆粒反応は、過酸化水素存在下で、相乗的に促され、細胞内カルシウム濃度上昇, LTC₄産生とよい相関がみられた。バナジウムによる脱顆粒反応は、PI-3-kinase 阻害剤ワートマニンにより阻害されること、IgE 受容体を介する情報伝達系を欠損するヒトの好塩基球細胞においても引き起こされることから、比較的後期の情報伝達系に作用しているものと考えられた。

Keywords: vanadium, mast cells, degranulation

*¹ 東京大学医学部

Onose, J.*¹, Teshima, R. and Sawada, J.: Ca^{2+} -ATPase inhibitor induces IL-4 and MCP-1 production in RBL-2H3 cells.

Immunol. Lett., **64**, 17-22 (1998)

2種の小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤(cyclopiazonic acid(CPA), 2,5-di-(tert-butyl)-1,4-hydroquinone(DTBHQ)につき、RBL-2H3細胞からのサイトカイン IL-4 及びケモカイン MCP-1 の産生への影響を検討した。この細胞からの TNF- α の産生に関しては、すでに報告したように、プロテインキナーゼC活性化剤であるフォルボルエステル(TPA)の共存を必要としたが、IL-4, MCP-1 の産生に関しては、TPA の共存を必要とせず、 Ca^{2+} -ATPase 阻害剤単独で、すなわち、細胞内カルシウム濃度上昇のみで引き起こされること、刺激後、それぞれ9時間及び6時間で産生が最高に達することが判明した。これら因子の産生は、FK-506 存在下で抑制されることより、カルシウム及びFK-506 依存性の転写活性化経路の存在するものと考えられた。この報告は、RBL-2H3細胞からの Th-2 タイプのサイトカインの産生及びケモカインの産生を始めて示したものである。

Keywords: RBL-2H3 cells, IL-4, MCP-1

*¹ 明治薬大

Saito, Y., Teshima, R., Takagi, K., Ikebuchi, H., Yamazaki, T. and Sawada, J.: **Activation of protein kinase C α enhances human growth hormone-binding protein release.**

Mol. Cell. Endocrinol., **146**, 197-205 (1998)

ヒト IM-9 細胞からのヒト成長ホルモン結合蛋白質質 (hGH-BP) の放出へのホルボルエステル (PDBu) の影響につき検討したところ、用量依存性の放出増強効果がみられ、その増強効果は、刺激後 60 分で最高に達した。PDBu による hGH-BP 産生増強効果は、EDTA 存在下で、また、プロテインキナーゼ C (PKC) 特異的阻害剤 Ro31-8220 で抑制された。この反応に関与する PKC のサブタイプとしては、PKC α が関与することが、各サブタイプへの感受性を異にするいくつかの PKC 阻害剤を用いることにより示された。

Keywords: IM-9, protein kinase C α , growth hormone-binding protein

Iba, Y.*¹, Hayashi, N.*¹, Sawada, J., Titani, K.*¹ and Kurosawa, Y.*¹: **Changes in the specificity of antibodies against steroid antigens by introduction of mutations into complementarity-determining regions of the V_H domain.** *Protein Eng.*, **11**, 361-370 (1998)

抗ステロイドモノクローナル抗体 (1E9) の可変部のモデリングを行い、変異を導入した種々の改変抗体を用いて、抗体のハプテンに対する特異性の変化を検討した。特異性の変化は、結合ポケットの構造変化に対応することが示唆された。

Keywords: anti-steroid antibody, protein engineering, immunoglobulin

*¹ 藤田保健衛生大学医学部総合医科学研究所

Tanaka, T., Ikebuchi, H., Sawada, J. and Tanaka, Y.: **Production of antiserum for sensitive enzyme-linked immunosorbent assay of 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid by chemiluminescence.** *Lipids*, **33**, 733-736 (1998)

内因性蛋白結合物質であるフラン脂肪酸の 1 つであり、腎障害のマーカーとなる 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid (CMPF) に対する抗体をモルモットを用いて作製し、発光法を用いる高感度で特異性の高い酵素固相免疫測定法 (ELISA) の開発を行った。

Keywords: furan fatty acid, enzyme-assay, chemiluminescence

Suzuki, M.*¹, Furuno, T.*¹, Teshima, R., Sawada, J. and Nakanishi, M.*¹: **Soluble factors from rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells stimulated cooperatively the neurite outgrowth of PC12 cells.** *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 1267-1270 (1998)

RBL-2H3 細胞から産生されるサイトカインの中で、ラット副腎由来 PC12 細胞の神経突起伸張を促す因子の探索を行った。RBL-2H3 細胞培養上清中に NGF (神経増殖因子) 及び IL-6 の存在が確認され、それぞれの抗体で処理を行うことで、PC12 細胞の神経突起伸張が抑制され、神経突起伸張作用への NGF と IL-6 の相加的効果も示された。

Keywords: RBL-2H3 cells, NGF, IL-6

*¹ 名古屋市立大学薬学部

Sato, Y., Ferguson, D.G.*¹, Sako, H.*², Dorn, G.W. II*³, Kadambi, V.J.*², Yatani, A.*², Hoit, B.D.*³, Walsh, R.A.*³ and Kranias, E.G.*²: **Cardiac-specific overexpression of mouse cardiac calsequestrin is associated with depressed cardiovascular function and hypertrophy in transgenic mice**

J. Biol. Chem., **273**, 28470-28477 (1998)

心筋小胞体カルシウム結合タンパク質、カルセクエス

リンの in vivo における機能を検討する目的で心筋特異的にカルセクエスチンを過剰発現したトランスジェニックマウスを作製した。トランスジェニックマウスの心筋小胞体は高カルシウム貯蔵能を示したが、心筋興奮-収縮連関における筋小胞体カルシウム放出および心筋収縮性は著明に減弱したことからカルセクエスチンは心筋興奮-収縮連関におけるカルシウム制御に大きく寄与していることが明らかとなった。

Keywords: transgenic animal, sarcoplasmic reticulum, cardiac hypertrophy

*¹ Department of Anatomy, Case Western Reserve University

*² Department of Pharmacology and Cell Biophysics, University of Cincinnati

*³ Division of Cardiology, University of Cincinnati

Chu, G.*¹, Li, L.*², Sato, Y., Harrer, J.M.*¹, Kadambi, V.J.*¹, Hoit, B.D.*³, Bers, D.M.*² and Kranias, E.G.*¹: **Pentameric assembly of phospholamban facilitates inhibition of cardiac function in vivo**

J. Biol. Chem., **273**, 33674-33680 (1998)

ホスホランバンは心筋小胞体カルシウム取りこみ抑制作用および心筋弛緩減弱作用を持つ心筋小胞体上のタンパク質で、心筋小胞体上で 5 量体および単量体として存在することが知られている。ホスホランバンの in vivo における機能的単位を検討する目的で、野生型ホスホランバンもしくは単量体としてのみ存在する変異型ホスホランバン (C41F) を、心筋特異的プロモーターを用いてホスホランバン欠損マウスに再導入したトランスジェニックマウスを作製した。心筋表現型を比較したところ、変異型ホスホランバンは野生型よりも生理機能的に減弱していることが明らかとなり、ホスホランバンの 5 量体形成は in vivo における心筋収縮の適切な制御に必要であることが示唆された。

Keywords: transgenic animal, cardiac sarcoplasmic reticulum, phospholamban

*¹ Department of Pharmacology and Cell Biophysics, University of Cincinnati

*² Department of Physiology, Loyola University Chicago

*³ Division of Cardiology, University of Cincinnati

Okochi, E., Nishimaki-Mogami, T., Suzuki, K. and Takahashi, A.: **Perfluorooctanoic acid, a peroxisome proliferating hypolipidemic agent, dissociates apolipoprotein B48 from lipoprotein particles and decreases secretion of very low density lipoproteins by cultured rat hepatocytes**

Biochim. Biophys. Acta, **1437**, 393-401 (1999)

ペルオキシゾーム増殖剤の血清脂質低下作用には、核内レセプター PPAR の遺伝子転写制御によるアポ B リポタンパククリアランス増加の機構が提唱されている。我々は、ペルオキシゾーム増殖剤である perfluorooctanoic acid (PFOA) が、PPAR 作用とは独立に、肝での VLDL 産生を直接阻害する作用を持つことを明らかにした。PFOA 処理肝細胞から分泌されるアポリポタンパク B は脂質と会合しておらず、また PFOA はリポタンパク粒子からアポ B を解離させるきわめて特異的な性質を示したことから、PFOA が肝細胞内でのアポ B と脂質との初期会合過程を阻害し VLDL 産生を低下させる機構を推定した。

Keywords: apolipoprotein B, secretion, perfluorooctanoic acid

Nagaishi, K., Adachi, R., Kawanishi, T., Yamaguchi, T., Kasahara, T., Hayakawa, T. and Suzuki, K.: **Participation of cofilin in opsonized zymosan-triggered activation of**

neutrophil-like HL-60 cells through rapid dephosphorylation and translocation to plasma membranes

J. Biochem., **125**, 891-898 (1999)

フォスファターゼ阻害剤のオカダ酸が濃度によって、オプソニン化サイモザンによる好中球様 HL-60 細胞の活性化を促進したり、阻害する二相性効果をもつことを既に報告していた。その二相性効果は、細胞内においてコフィリンが早い脱リン酸化反応を起こすこと、および細胞膜領域へ移行することと良く一致することを示した。さらに、無細胞系における活性酸素産生において、抗コフィリン抗体が促進効果を有することも明らかにし、白血球の活性化におけるコフィリンの重要性を示唆した。

Keywords: actin-binding protein, okadaic acid, superoxide

* 共立薬科大学

Kato, H., Haishima, Y., Tanaka, A. and Tanamoto, K.: Chemical structure of lipid A isolated from *Flavobacterium meningosepticum* lipopolysaccharide

J. Bacteriol., **180**, 3891-3899 (1998)

グラム陰性菌でありながら全菌ではリムルス活性を示さない *Flavobacterium meningosepticum* のリピド A を単離し、その構造決定を行った。その結果、リピド A 骨格として一般的な β (1 \rightarrow 6) 結合 2-amino-2-deoxy-D-glucose 以外に 2-amino-6-O- (2,3-diamino-2,3-dideoxy-b-D-glucopyranosyl) -2-deoxy-D-glucose が 1.00 : 0.35 の比率で存在することが明らかになった。いずれも 1 位はリン酸が α グリコシド結合しており、4, 4', 6' 位は遊離水酸基であった。最大画分は m/z 1673 [M-H]⁻ に認められ、還元末端の 3, 2 位にそれぞれアミド結合 (R)-3-OH iC17:0、エステル結合の (R)-3-OH iC15:0、非還元末端の 2', 3' にはそれぞれアミド結合の (R)-3-O-(iC15:0)-iC17:0 と (R)-3-OH C16:0 の脂肪酸が置換している特異な構造体であることがわかった。

Keywords: *Flavobacterium meningosepticum*, chemical structure of lipid A, lipopolysaccharide

Tanamoto, K.: Induction of lethal shock and tolerance by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in D-galactosamine sensitized C3H/HeJ mice.

Infect. Immun., **67**, 3399-3402 (1999)

P. gingivalis 由来の LPS は LPS 不応性 C3H/HeJ マウスに 1 mg 投与しても致死作用は示さないが、30 mg のガラクトサミンの前感作により 1 μ g でも致死作用を示した。これは LPS 応答性の C57BL/6 マウスの致死量とほぼ同等であった。さらに同 LPS 1 μ g を C3H/HeJ マウスに前投与した場合、マウスは LPS にトレランスとなり、この系での致死量の 100 倍量の LPS で攻撃しても致死作用は起こらなかった。トレランス誘導に要する時間は LPS 応答性マウスでの時間と同様、1 時間以内では誘導されなかった。一方、LPS 応答性マウスに対して同様の致死作用やトレランスの誘導を引き起こす、サルモネラ LPS 及び緑膿菌の蛋白-LPS 複合体は、いずれも C3H/HeJ マウスには活性を示さなかった。以上の結果は、*P. gingivalis* の LPS が C3H/HeJ の活性化に中心的な役割を果たしていることを示している。

Keywords: *Porphyromonas gingivalis* LPS, C3H/HeJ mice, endotoxin tolerance

Miyahara, M., Sugaya, K.*, Tanimura, A.* and Satake, M.: Nucleotide Sequences of 5S-rRNA Gene Spacer Region of *Moraceae* and *Cannabaceae*

Natural Medicines, **52**, 209-212 (1998)

クワ科植物は分類法にもよるが、一般的に使われている Engler の分類では、*Moraceae* Family として、*Ficus*, *Morus*, *Broussonetia*, *Maclura*, *Artocarpus*, *Castilla*, *Humulus* と *Cannabis* の属に分類されている。また、もう一つのよく使われる Takhtajan の分類では、上記の *Moraceae* Family は *Moraceae* と *Cannabaceae* の二つに Family に分類されている。この研究では、Takhtajan で 2 つに分類されている *Moraceae* と *Cannabaceae* が PCR によって区別され得るかどうかを検討してみることを第一の検討目的とした。この分類での *Moraceae* にはクワ、イチジク、こうぞなどがあり、*Cannabaceae* としては、ホップ、カナムグラや麻が分類される。PCR で検討する DNA 領域は 5S-rRNA がいくつかある間の必要ではない領域に着目して、検討することとした。この結果検討した領域では、*Moraceae* と *Cannabaceae* は二つに分類されることがわかった。Takhtajan の分類の法が妥当である結果を得た。また、*Cannabis sativa* はこの検討した中では特徴的な配列を持っていることがわかったので、粉末状になっていても PCR で検討することによりある程度鑑別可能であることがわかった。本来生薬として、葉の形のままであれば区別が付いたかもしれない生薬粉末の鑑別法に PCR 法を導入することによって鑑定が可能である結果を得た。

Keywords: *Moraceae*, PCR, 5S-rRNA gene spacer

* 昭和女子大学生生活機構研究科

宮原美知子, 小沼博隆: PCR 法による食肉からの腸管出血性大腸菌 O157 ベロ毒素産生遺伝子の検出について

食衛誌, **39**, 315-317 (1998)

腸管出血性大腸菌 O157 の迅速検出法として種々検討されている。その中で、PCR 法による検出の問題点について検討した。O157 が菌数にして約 5×10^7 cfu (colony forming unit)/mL 存在していた生肉でも、検討した PCR 法では検出できなかった。PCR 法で検出するためには血液成分が PCR 反応液に混入しない DNA 精製を行う必要があることが示唆された。

Keywords: blood component, vero toxin, inhibition on PCR

Nakagawa, H.*¹, Hara-Kudo, Y.*², Onoue, Y.*³, Konuma, H., Hujita, T.*⁴ and Kumagai, S.*²: Method for isolation *Escherichia coli* O157:H7 from radish sprouts: A collaborative study

Biocontrol Sci., **4**, 45-49 (1999)

かいわれ大根の芽から腸管出血性大腸菌 O157 を検出・分離するための試験法を評価するために 20 試験研究機関が参加して研究室間共同研究(コラボ)を実施した。その結果、腸管出血性大腸菌 O157 は、増菌培地にトリプトソイブロスを用いた 37°C・6 時間培養よりも、増菌培地にノボピオシンを加えた変法 EC 培地を用いた 42°C・18 時間培養法において効率よく検出することができたことを報告した。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprouts, ground beef

*¹ 財団法人東京顕微鏡院

*² 国立感染症研究所

*³ 神奈川県衛生研究所

*⁴ 国立公衆衛生院

Onoue, Y.*¹, Konuma, H., Nakagawa, H.*², Hara-Kudo, Y.*³, Hujita, T.*⁴ and Kumagai, S.*³: Collaborative evaluation of detection methods for *Escherichia coli* O157:H7 from radish sprouts and ground beef

Int. J. Food Microbiol., **46**, 27-36 (1999)

かいわれ大根の芽および牛挽肉から腸管出血性大腸菌 O157 を検出・分離するための試験法 (寒天平板法と免疫学的方法) を評価するために 20 試験研究機関が参加して研究室間共同研究 (コラボ) を実施した。その結果、腸管出血性大腸菌 O157 の検出には、ノボビオシンを加えた変法 EC 培地 (mEC+n) 42°C・18 時間培養後に免疫磁気ビーズを用いて集菌し、選択分離培地には CT-SMAC および酵素基質を添加した BCM O157 および CHROMagarO157 が優れていることを報告した。

Keywords: *Escherichia coli* O157:H7, radish sprouts, ground beef

- *1 神奈川県衛生研究所
- *2 財団法人東京顕微鏡院
- *3 国立感染症研究所
- *4 国立公衆衛生院

Ji-Cheng Huang, Takatori, K., Ohta, T., Kosuge, J., Takahashi, A.*¹ and Kumagai, S.*²: Comparison of fungicidal effects of commercial disinfectants at concentrations suggested for practical use

Biocontrol Science, 3, 105-108 (1998)

市販消毒剤の 34 真菌に対する殺菌効果について検討した。EtOH (70% v/v) の著効は証明されたが、有機物添加によりその活性は著しく低下した。活性塩素 55 μg/ml の酸化水、200 μg/ml 次亜塩素酸 Na は基本的には殺菌性強いが、有機物存在下では不活化された。このように有機物の存在が真菌に対する活性に大きく影響を及ぼすことからその用法には細心の注意を払う必要がある。

Keywords: disinfectants, fungi, fungicidaleffects/yeastextract

- *1 (財)食品薬品安全センター
- *2 国立感染症研究所

Kuwano, A.*, Yoshihara, T.*, Takatori, K. and Kosuge, J.: Onychomycosis in white line disease in horses: pathology, mycology and clinical features

Equine vet. J., Suppl.26, 27-35 (1998)

白線病に焦点を当てて病態の側面、特に現在、世界中に白線病と密接な関連があると疑われている蹄真菌症 (Onychomycosis) に焦点をあてて、病理学および真菌学的に解明を試みた。

Keywords: horse, white line disease, onychomycosis

- * 日本中央競馬会総合研究所

Simozawa, K.*, Anzai, T.*, Kamada, M.* and Takatori, K.: Fungal and bacterial isolation from racehorses with infectious dermatosis

J. Equine Sci., 8, 89-93 (1998)

体表感染微生物について解析した。細菌では、*Staphylococcus hyicus*, *S. aureus* が高率に分離され、いずれも皮膚炎との関わりが証明された。また真菌では *Trichophyton equinum*, *Microsporium equinum* が分離され、馬間での伝播性に注視する必要がある。

Keywords: horse, dermatosis, *Trichophyton equinum*

- * 日本中央競馬会

Takai-Igarashi, T, Nadaoka, Y.* and Kaminuma, T.: A database for cell signaling networks

J. Comp. Biol., 5, 747-754 (1998)

細胞内情報伝達系の知識は急速な勢いで増大している。我々はこれらの知識を有効に利用できるように、ヒトを対象とした細胞内情報伝達系の知識ベースを開発した。本デ

ータベースはオブジェクト指向技術に基づいており、細胞内情報伝達に関する必要な情報、すなわちシグナルを伝達する生体反応と生体分子の配列、構造、機能といった、多種多様な知識を統一して格納できる構造の高い柔軟性をもつ。本データベースは情報伝達経路のグラフ表示や生体分子の立体構造表示などの有用な視覚表現を内部に装備している。本データベースは線虫のゲノム情報を格納する目的で開発された ACEDB の新しい応用例である。本データベースはインターネットを介して公開している

(<http://geo.nihs.go.jp/csndb.html>).

Keywords: cell signaling network, object-oriented database, information visualization

- * The Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

Takai-Igarashi, T. and Kaminuma, T.: A Pathway Finding System for the Cell Signaling Networks Database
In *Silico Biology*, 1, 129-146 (1999)

細胞内情報伝達系データベース CSNDB 上に構築した、知識ベース型経路探索システムについて報告する。この新しいシステム PaF-CSNDB は、組み込まれた一般的な推論エンジンを用いて情報伝達経路の繋がりを探し出すことができるので、CSNDB に格納された任意の生体分子について分子の周囲の経路や複数個の分子の間を繋ぐ経路を検索できる。細胞内情報伝達に関して報告される知識は膨大な知識断片の集合なので、必要な知識をふるい分け拡張した 2 項関係でモデル化する方法を考案した。システムは WWW からアクセスできる (<http://geo.nihs.go.jp/csndb.html>).

Keywords: cell signaling network, knowledge-based expert system, information visualization

関沢 純：リスクコミュニケーション—共存へのカギをにぎる情報と意見の交換

化学, 54(1), 27-30 (1999)

リスクコミュニケーションという言葉が認知されつつあるが、その内容は正しく理解されていない現状にある。なぜリスクコミュニケーションが必要か、情報が伝われば良いのかということから、立場が異なれば考え方も異なり、さまざまな情報と意見を交換し、新しい考え方を作ってゆく過程としてのリスクコミュニケーションのあり方を示した。さらに筆者が参画している日本化学会での化学物質のリスクコミュニケーション手法検討委員会、また FAO と WHO 合同の食品安全にかかわるリスクコミュニケーション会議での検討の内容を解説するとともに、最後に日本の現状の分析を基に共存のカギとしてのリスクコミュニケーションはどうあるべきかを論じた。

Keywords: Risk communication, Exchange of information and opinion, Improving communication in Japan

関沢 純：化学物質リスク評価の最前線—ダイオキシンと環境ホルモンのリスク評価と今後の課題

化学と生物, 37(5), 292-294 (1999)

化学物質のリスク評価の基本および、筆者が担当する国際化学物質安全性計画 (IPCS) における化学物質のリスク評価活動を紹介した。土壌を汚染しているダイオキシンの摂取によるリスクの評価からリスク管理指針を導く手法の例と、筆者が研究した植物ホルモンの評価の実際について解説した。最後に、未知の部分も多く含む不確実な事柄について不確実性要因の解明を含め科学的な予測を行う考え方および、評価過程における透明性を確保し、結果をわかりやすく提示する手法の例として IPCS の国際簡潔評価文書 (CICAD = Concise International Chemical Assessment

Document) 作成について記した。

Keywords: Risk assessment, Dioxins, Endocrine disruptors

関沢 純：環境リスク問題への対応とリスクコミュニケーション

21世紀フォーラム, No.68, 38-39 (1999)

リスクとハザードの違い, リスクコミュニケーション過程での公衆のリスク認知や価値判断への配慮と, 関係者の意思決定過程への参加の重視とそのあり方について, 事例を用いて論じた。またリスクコミュニケーション過程におけるメディアと専門家の役割を検討し, リスクコミュニケーション能力の養成と, リスクコミュニケーションを支える枠組みの構築の重要性を提示した。

Keywords: Risk communication, Environmental risk, Judgement of risk and communication process

関沢 純：化学物質・環境問題のリスクコミュニケーション

環境情報科学, 28(2), 13-19 (1999)

ダイオキシン, 環境ホルモンなどをめぐって化学物質・環境リスクへの関心が高まり, わからないことへの不安, 不満, 不信も高まっている。科学的推測, 価値判断, およびこれらを総合してくだされるリスク対応の関係と, それぞれの過程に含まれる要因とリスクコミュニケーションの関連について論じた。筆者らが監訳した米国 National Research Council の Improving Risk Communication における分析, とりわけ情報公開の先進国である米国でリスクコミュニケーションが問題とされるようになった理由と, その解決方向の模索の結果出されてきたコミュニケーション過程の重視および, その詳細な検討について触れた。米国環境保護庁のインターネットホームページに見られるコミュニケーションへの取り組みの考え方など, いくつかの事例を用いリスクコミュニケーションの改善方向について記した。

Keywords: Risk communication, National Research Council, Assessment and Judgement

関沢 純：化学物質のリスクコミュニケーションを進展させるために

化学と工業, 52(5), 64-66 (1999)

筆者が参画する日本化学会の「化学物質のリスクコミュニケーション手法検討委員会」の活動を紹介した。本委員会発足の背景となった諸問題および, 環境庁, 通産省が推進しようとしている「環境汚染物質排出・移動登録 (PRTR)」におけるリスクコミュニケーションのあり方について解説した。本委員会の行ったアンケートや, これまでのいくつかのリスクコミュニケーションの失敗や成功事例の分析結果および, 今後わが国でのリスクコミュニケーションを進展させるための参考としてのガイドの作成, 検討について記した。

Keywords: Risk communication, Preparation of guidance Material, Chemical Society of Japan

関沢 純：化学物質リスクコミュニケーション問題点と今後のあり方

日本学術会議 50 周年記念 - 第 14 回環境工学連合講演会講演論文集, 49-51 (1999)

化学物質のリスクとそのコミュニケーションをめぐる問題について, 現在の日本社会でおこっているさまざまな問題との共通点およびその背景について論じ, ついでその解決方向を提示した。すなわち従来のリスクに関するコミュ

ニケーションが専門家から非専門家あるいは, 権限を持つ者から権限を持たず被害を蒙る可能性のある人々への一方的な情報提供にすぎなかったこと, そして今後はリスクにかかわるさまざまな関係者がリスクに関する意思決定をチェックし, 意見を述べることで参加してゆく可能性について論じた。一例として筆者が担当する国際化学物質安全性計画 (IPCS) での化学物質のリスク評価における国際簡潔評価文書 (CICAD = Concise International Chemical Assessment Document) 作成のプロセスも引用して, そのあり方を示し, まとめとして, 違いの尊重, リスク評価とコミュニケーションの枠組みの構築の重要性についても記した。

Keywords: Risk communication, Involvement of stake-holders, IPCS

山本 都：化学物質その他の安全性情報

国民生活, 29(1), 50-53 (1999)

国立医薬品食品衛生研究所における化学物質の安全性情報の収集および提供について解説した。特に国立衛研ホームページから提供している生活関連分野の情報等について, その種類と内容を紹介した。

Keywords: chemical safety, WWW, critical document

Kurata, H.*, Liu, C.B.*, Valkova, J.*, Koch, A.E.*, Yssel, H.*, Hirabayashi, Y., Inoue, T., Yokota, T.* and Arai K.*: Recombinant adenovirus vectors for cytokine gene therapy in mice.

Allergy Clin. Immunol., 103, 471-84 (1999)

遺伝子治療の為のベクター開発の基盤研究を行った。Adenovirus vector のマウス個体への投与による発現の分布及びその強度をヒト GM-CSF のマウスとの非交差性を利用した特異的な生物活性を指標にして観察し, 実験系としての基本的な有用性を示すことができた。

Keywords: gene therapy, adenovirus, GM-CSF

* 東京大学医科学研究所

Yoshida, K.*, Inoue, T., Hirabayashi, Y., Nojima, K.* and Sado, T.*: Calorie restriction and spontaneous hepatic tumors in C3H/He mice

J. Nutrition, Health and Aging, 3, 123-128 (1999)

カロリー制限によって齧歯類で寿命が延長するのは, 腫瘍発生が抑制される為だと考えられてきたが, この機構については未だはっきり理解されていなかった。今回, 自然発生腫瘍として肝腫瘍好発系である C3H/He マウスを用い観察したところ, カロリー制限により腫瘍発生の抑制と寿命の延長が観察された。さらに, 比較的若い時期から制限した群では腫瘍発生時期も遅れ, 頻度も減少したのに対して, 十分成長してから制限した群では発生時期は遅れるものの腫瘍の最終累積頻度は非制限群と変わらず制限する時期も重要な因子であることが明らかとなった。

Keywords: calorie restriction, hepatic tumor, C3H/He mice

* 放射線医学総合研究所

Momma, J., Kitajima, S. and Inoue, T.: The guinea-pig skin sensitization test revisited: an evaluation formula to predict possible sensitization levels for eight chemicals used in household products

Toxicology, 126, 75-82 (1998)

我々はこれまで化学物質の皮膚感作性を検討する目的で, モルモットを用いたマキシミゼーションテストを行ってきた。データを解析する中で, 実験により得られる最低感作

濃度 (MID) および標準惹起濃度 (SCD) に加えて、ヒトでの皮膚感作性強度との関係が明らかでない DED (感作性物質の製品中の濃度) という、3つの独立したパラメーターの間に等式で示される法則性があることを発見し、この法則性が、ヒトでの化学物質の皮膚感作性を実験結果から予測するというレギュラトリーサイエンスのみならず、基礎免疫学にも寄与することを報告した。

Keywords: sensitization test, guinea pigs, chemical allergy

花田信継^{*1}, 手島英雄^{*1}, 木村好秀^{*1}, 荷見よう子^{*1}, 天神尚子^{*1}, 有田白峰^{*1}, 成高和稔^{*1}, 菅野 純, 谷澤 徹^{*2}: 悪性卵巣腫瘍と術前診断された後腹膜原発脂肪肉腫の一例

日本産科婦人科学会関東連合地方部会会報, 35, 411-416 (1998)

脂肪肉腫は全悪性腫瘍中の0.1%を占めるに過ぎないが、悪性軟部腫瘍の中では比較的頻度が高く、9.8~16%と言われている。今回我々は、術前診断が悪性卵巣腫瘍であった後腹膜由来の脂肪肉腫を経験したので報告する。

Keywords: retroperitoneal neoplasm, liposarcoma, ovarian neoplasm

^{*1} 三楽病院

^{*2} 東京医科歯科大学

関田清司, 齊藤 実, 内田雄幸, 小野 敦, 小川幸男, 金子豊蔵, 降矢 強, 黒川雄二, 井上 達: F344 ラットによるペカンナッツ色素の90日間反復混餌投与毒性試験

食衛誌, 39, 375-382 (1998)

ペカンナッツ色素(デキストリン60%含有)の0, 0.5, 1.5, 5.0%およびデキストリン添加飼料を90日間ラットの摂取させ、一般毒性について検討した。ペカンナッツによると考えられる毒性は観察されなかった。5.0%添加飼料(デキストリンを除いた平均色素摂取量:雄で1287 mg, 雌で1344 mg/kg/day)は毒性が認められない用量と結論した。このことから本色素の一般毒性は弱いものと推察された。

Keywords: pecan nut color, 90-days toxicity study, rat

相賀裕美子: Mesp1, MesP2 と体節形成

実験医学, 17(増刊), 156-162 (1999)

脊椎動物の分節性は体節から由来する。近年の遺伝子破壊技術の導入は、体節形成の分子機構にかかわる遺伝子の同定、それらの相互作用を明らかにしつつある。その結果、いろいろな発生過程で重要な働きをもつ Notch-delta や FGF のシグナル系が分節化にも関与することが明らかになってきた。一方、体節形成過程でのみ発現するユニークな遺伝子 Mesp2 は、このシステムの制御系に中心的役割を担っていると考えられる。

Keywords: segmentation, anterior-posterior polarity, notch-delta signaling

Saga, Y.: Genetic rescue of segmentation defect in MesP2-deficient mice by MesP1 gene replacement

Mechanism of Development, 75, 53-66 (1998)

遺伝子ノックアウト及びノックイン法が MesP1 の機能を調べるために用いられた。MesP1 は MesP2 と同じ bHLH 転写因子ファミリーに属する。原腸陥入期の初期中胚葉における発現は Mesp1 に限られるが、体節形成期における anterior presomitic mesoderm での発現は Mesp2 と Mesp1 はほとんど同一である。Mesp1 ホモ欠失マウスは 7.5dpc で成長の遅れを示し、10.5dpc 前に死亡する。体節形成における

Mesp1 の機能は早期の死と Mesp2 による代償機能のため明確ではない。体節形成における Mesp1 の機能を調べるため、ノックイン法を用いて、Mesp1 の cDNA を Mesp2 遺伝子に導入した。導入された Mesp1 cDNA は dosage-dependent に MesP2 の欠失を rescue した。MesP2 が欠失し、4 コピーの Mesp1 を有するマウスは成長し、妊娠可能であった。Mesp2 欠失マウスで見られた骨格の異常と Notch 1, Notch 2, FGFR-1 の発現低下はほぼ完全に Mesp1 により rescue された。以上、体節形成における MesP1 の機能は MesP2 のように notch-delta および FGF シグナル系を介するものと結論された。

Keywords: MesP1, MesP2, somitogenesis

Takahashi, Y., Imanaka, T.* and Takano, T.*: Spatial pattern of smooth muscle differentiation is specified by the epithelium in the stomach of mouse embryo

Developmental Dynamics, 212, 448-460 (1998)

マウス胚胃では、胎齢 11 日から 13 日の間に平滑筋が分化し輪走筋を形成する。胎齢 15 日になると前胃に縦走筋が出現し、生後になって粘膜筋板が生じる。上皮-間充織の分離・再結合と器官培養により、平滑筋の分化と空間的パターンの形成に対する上皮の影響を解析した。胃間充織の平滑筋分化には上皮からの誘導が必要であること、器官特異的な平滑筋分化の空間的パターンが上皮からの作用に依存すること、発生段階特異的な空間的パターンが上皮からの作用に依存することがわかった。

Keywords: smooth muscle, stomach, epithelial-mesenchymal interaction

* 帝京大学薬学部

Sai, K., Kai, S., Umemura, T., Tanimura, A., Hasegawa, R., Inoue, T. and Kurokawa, Y.: Protective effects of green tea on hepatotoxicity, oxidative DNA damage and cell proliferation in the rat liver induced by repeated oral administration of 2-nitropropane

Fd. Chem. Toxicol., 36, 1043-1051 (1998)

2-Nitropropane (2NP) のラットへの反復経口投与による肝毒性、肝酸化的 DNA 損傷、細胞増殖作用に対する緑茶の抑制効果を検討した。F344 雄マウスに 2NP (60mg/kg または 90mg/kg) を週 3 回、2 週間強制経口投与し、2%緑茶浸出液を 2NP 投与の 1 週間前より飲料水の代わりに投与した。2NP による肝毒性と関連した生物学的変化(血清 GOT 活性、肝脂質過酸化、肝グリコーゲン減少、血清トリグリセライド減少)、肝酸化的 DNA 損傷ならびに肝細胞増殖作用がいずれも緑茶投与により有意に減少した。これらのことから、緑茶の飲用が 2NP による慢性毒性の予防に有効であることが示唆された。

Keywords: 2-nitropropane, tea, 8-hydroxydeoxyguanosine

Sai, K., Upham, B.L.*, Kang, K.S.*, Hasegawa, R., Inoue, T. and Trosko, J.E.*: Inhibitory effect of pentachlorophenol on gap junctional intercellular communication in rat liver epithelial cells in vitro

Cancer Lett., 130, 9-17 (1998)

非変異原性でマウス肝腫瘍を誘導する pentachlorophenol (PCP) 及び変異原性の代謝産物 tetraochlorohydroquinone (TCHQ) の発がんイニシエーション/プロモーション作用機構について調べるため、肝上皮細胞株 (WB 細胞) のギャップ結合細胞間連絡 (GJIC) を scrape loading/dye transfer 法により検討した。PCP により濃度依存的な一過性 (4 時間後) 及び持続性 (16 時間以降) の阻害が起こり、PCP 除

去により2時間後にはこれらの阻害は回復した。PCPによるGJIC阻害にはコネクシンのリン酸化及び細胞膜状での局在には変化が認められないが、持続性(24時間後)の阻害にはコネクシン蛋白質量の減少を伴っていた。一方、代謝産物のTCHQにはGJIC阻害作用は認められなかった。これらの結果から、PCPそのもののエピジェネティックな作用が発がんプロモーター作用に寄与することが示唆された。

Keywords: pentachlorophenol, tetrachlorohydroquinone, gap

junctional intercellular communication

* Michigan State University

Ohno, Y., Miyajima, A. and Sunouchi, M.: **Alternative methods for mechanistic studies in toxicology. Screening of hepatotoxicity of pesticides using freshly isolated and primary cultured hepatocytes and non-liver-derived cells, SIRC cells.**

Toxicology Letters., **102-103**, 569-573 (1998)

遊離肝細胞, 初代培養肝細胞, 及びウサギ眼由来の細胞株(SIRC細胞)を用いて種々農薬の作用について検討し, それらの細胞で得られた結果を比較検討することにより, 肝特異的な毒性を検出できることを示した。

Keywords: hepatocytes, hepatotoxicity, SIRC cells

Uchida, H.*, Nagai, S.*, Shimada, K.*, Ohno, Y. and Kamikawa, Y.*: **Responsiveness of human and guinea-pig isolated pulmonary arteries to α -agonists in-vitro.**

Pharm. Pharmacol. Commun., **4**, 349-353 (1998)

肺高血圧症の患者に対して α -遮断薬が使用されるが, 肺動脈における α -受容体の分布は余り判明していないことから, ヒトとモルモットについてその反応性について検討した。その結果, ヒト肺動脈では $\alpha 1$ 受容体の分布は少ないが, モルモットでは多いことが判明した。また, ヒトでは抑制性の $\alpha 2$ 受容体が肺動脈内皮上に分布しているが, モルモットでは興奮性 $\alpha 2$ 受容体が肺動脈平滑筋に存在していることが判明した。

Keywords: human, pulmonary artery, α -agonist

* 獨協医科大学

Ohno, Y., Sunouchi, M., Miyajima, A., Ogawa, Y., Umemura, T., Inoue, T., Nagamatsu, K.*: **Lack of preneoplastic changes and induction of CYP2B11 in the liver of dogs treated with CNP.**

Reviews in Toxicology, **2**, 47-51 (1998)

ジフェニルエーテル系農薬のCNPはヒトで胆嚢がんを誘発するのでは無いかと疑われている。そこで, ヒトと類似した胆管系を有するイヌを用いてCNPの代謝と肝臓の前がん症状発現作用の有無を検討した。その結果, 胆汁中には変異原性を有するニトロソ体に変化した代謝物が検出され, 肝臓ではフェノバルビタール様の代謝酵素誘導作用を示したが, BrdU法によっても前がん変化は認められなかった。なお, 対照物質として用いたaramiteでは胆嚢に著明な変化が認められた。

Keywords: CNP, induction of CYP2B11, preneoplastic change

* 日本大学薬学部

Uchida, H.*, Sakuma, A.*, Kogure, H.*, Ohno, Y., Kamikawa, Y.*: **Mechanical reactivity of isolated human and guinea-pig portal veins to spasmogens.**

Polish J. Pharmacol., **50**, 453-456 (1998)

Prostaglandin F₂ α とエンドセリン-1の門脈の収縮性はヒト及びモルモットで異なっており, モルモットではPGF₂

α で律動的収縮が増強され, その収縮も3 μ Mでほぼ最高に達するのに対し, ヒトでは律動的収縮は抑制され, 30 μ Mで最高収縮に達した。エンドセリン収縮はモルモットではtonic相が短かった。

Keywords: human, portal veins, α -receptor

* 獨協医科大学

Shiraga, T.*¹, Iwasaki, K.*¹, Hata, T.*¹, Yoshinari, K.*¹, Nagata, K.*², Yamazoe, Y.*² and Ohno, Y.: **Purification and characterization of two amine N-sulfotransferases, AST-RB1 (ST3A1) and AST-RB2 (ST2A8), from liver cytosols of male rabbits.**

Arch. Biochem. Biophys., **362**, 265-274 (1999)

アミン N-硫酸抱合活性の高い二つのリン酸抱合酵素(AST-RB1, AST-RB2)をラット肝臓可溶性分画より生成し, その特性を明らかにした。分子量は約34kDaでAST-RB1は環状アミン, アルキルアミン, 芳香族アミン類に対する活性が高いが, ナフトールやデヒドロエピアンドロステロンに対する活性は低い。一方, AST-RB2はデシフラミンやDHEAの硫酸芳香活性が高いが, 2-ナフトールへの活性は低かった。AST-RB1のアミノ酸配列は今までに報告された硫酸抱合酵素との類似性はなかった。一方, AST-RB2はST2ファミリーとの類似性が高かった。

Keywords: purification, rabbit, sulfotransferase

*¹ 藤沢薬品工業

*² 東北大学薬学部

Ohno, Y., Kaneko, T., Inoue, T., Morikawa, Y.*¹, Yoshida, T.*², Fujii, A.*¹, Masuda, M.*¹, Ohno, T.*³, Hayashi, M., Momma, J., Uchiyama, T.*¹, Chiba, K.*¹, Ikeda, N.*¹, Imanishi, Y.*¹, Itagaki, H.*¹, Kakishima, H.*¹, Kasai, Y.*¹, Kurishita, A.*¹, Kojima, H.*¹, Matsukawa, K.*¹, Nakamura, T.*¹, Ohkoshi, K.*¹, Okumura, H.*¹, Saijo, K.*³, Sakamoto, K.*¹, Suzuki, T.*⁴, Takano, K.*¹, Tatsumi, H.*¹, Tani, N.*¹, Usami, M.*¹, Watanabe, R.*¹: **Inter-laboratory validation of the in vitro eye irritation tests for cosmetic ingredients 1) Overview of the validation study and Draize scores for the evaluation of the tests.**

Toxicology in Vitro, **13**, 73-98 (1999)

眼刺激性試験代替法として開発された11種の方法について国立衛研と日本化粧品工業連合会を中心とする多施設バリデーションを行った。被験物質としては, 主に化粧品原料(39種)を用いた。その結果, それぞれの試験法についての基礎的なデータを収集することができた。なお, 使用した試験法の内では培養液に血清を添加した細胞毒性試験法の結果がウサギの眼を用いたドレイス試験の結果と最も良く対応した。また, 細胞の種類は結果に大きな影響を与えなかった。

Keywords: Validation study, Draize eye irritation test, Alternatives

*¹ 日本化粧品工業連合会

*² 昭和大学薬学部

*³ 理研ジーンバンク

*⁴ セイギケン

Hagino, S.*, Kinoshita, S.*, Tani, N.*, Nakamura, T.*, Ono, N.*, Konishi, K.*, Iimura, H.*, Kojima, H.* and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of in vitro eye irritation tests for cosmetic ingredients. 2) chorioallantoic membrane (Cam) test.**

Toxicology in Vitro, **13**, 99-113 (1999)

受精鶏卵の漿尿膜に薬物を接触させ、その変性や出血 (HET-CAM 法)、また、トリバンブルー染色性 (CAM-TB 法) を指標に被験物質の刺激性を検討する方法である。この方法は液体検体のみならず、個体、化粧品最終製品にも応用可能である。しかし、肉眼観察に依存する HET-CAM 法ではドレイズ評点との相関性は 0.688 であり、十分とは言えなかった。一方、CAM-TB 法では液体検体では 0.801、粉体検体では 0.926 であった。また、順位相関係数は HET-CAM 法で 0.802 であった。これらの結果は受精鶏卵を用いた本方法が眼刺激性試験代替法として使用可能であることを示唆している。

Keywords: Validation study, Draize eye irritation test, Alternatives

* 日本化粧品工業連合会

Okamoto, Y.*, Ohkoshi, K.*, Itagaki, H.*, Tsuda, T.*, Kakishima, H.*, Ogawa, T.*, Kasai, Y.*, Ohuchi, J.*, Kojima, H.*, Kurishita, A.*, Kaneko, T., Matsushima, Y., Iwabuchi, Y. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 3) Evaluation of hemolysis test.**

Toxicology in Vitro, **13**, 115-124 (1999)

羊赤血球を用いた溶血性試験が化粧品原料の眼刺激性を評価するのに使用できるか否か判定するためにバリデーションを行った。本方法は簡便であるが、適用可能な物質数は他の方法と比較し少なく、ドレイズ評点との相関性も余り良く無かった (-0.631)。一方、本方法は細胞膜に対する直接の作用を検討するものであることから、刺激性発現機序についての情報を得たり、また、スクリーニング法として使用することが望ましいと思われた。

Keywords: validation study, Draize eye irritation test, Alternatives

* 日本化粧品工業連合会

Hatao, M.*, Murakami, N.*, Sakamoto, K.*, Ohnuma, M.*, Matsushige, C.*, Kakishima, H.*, Ogawa, T.*, Kojima, H.*, Matsukawa, K.*, Masuda, K.*, Chiba, K.*, Yoshizawa, K.*, Kaneko, T., Iwabuchi, Y., Matsushima, Y., Momma, J. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients (4) Hemoglobin denaturation test.**

Toxicology in Vitro, **13**, 125-137 (1999)

本方法はヘモグロビン変性作用から被験物質の眼刺激性を評価するものである。当初はヘモグロビン変性による吸光度の変化をピーク波長周辺の吸光度変化で捉え、評価する方法を用いていたが、フィルターの特性がロット毎にこととなり、十分な施設間バリデーションが行えなかった。そこで、陽性対照物質による変性の 50% 変性を起こす濃度 (50% HD)、1% の被験物質による変性 (1% RDR)、及び最大吸収波長の相対的変化 (1% λ max) の三つのプロトコールで再度施設間バリデーションを行った。その結果、それぞれの方法についていくつかの問題点が明らかになったものの、RDC50 法の相関係数は -0.91 と大きかったことから、単独では問題があるが、他の方法と組み合わせることにより眼刺激性評価の上で有用であると思われた。

Keywords: validation study, Draize eye irritation test, Alternatives

* 日本化粧品工業連合会

Kurishita, A.*, Katoh, T.*, Ohsawa, H.*, Nakasawa, H.*, Sugiura, H.*, Usami, M.*, Kakishima, H.*, Kuwahara, H.*,

Ohuchi, J.*, Kasai, Y.*, Ohkoshi, K.*, Okamoto, Y.*, Morito, Y.*, Shibata, M.*, Tsuda, T.*, Kojima, H.*, Mizutani, A.*, Ikeda, N.*, Sumida, Y.*, Nishifuji, M.*, Katagiri, M.*, Kazama, A.*, Hayashi, N.*, Hirose, A., Kaneko, T. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 5) Skin² ZK1100 and tissue equivalent assay.**

Toxicology in Vitro, **13**, 139-151 (1999)

本方法はヒト皮膚モデルとして開発されたものであり、単層培養法 (ZK1100) と三次元モデル (ZK1200) の二つの種類について検討した。ドレイズ評点との相関係数は、それぞれ -0.71 と -0.63 であった。なお、cetyltrimethylammonium chloride, domiphen bromide, 及び di (2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate では施設間のバラツキが大きかった。

Keywords: Draize eye irritation test, artificial skin model, Validation study

* 日本化粧品工業連合会

Ohuchi, J.*¹, Kasai, Y.*¹, Sakamoto, K.*¹, Ohnuma, M.*¹, Kitamura, M.*¹, Kawasaki, Y.*¹, Kakishima, H.*¹, Suzuki, K.*¹, Kuwahara, H.*¹, Imanishi, Y.*¹, Tatsumi, H.*¹, Kotani, M.*¹, Inoue, K.*¹, Okumura, H.*¹, Arashima, M.*¹, Kurishita, A.*¹, Kinoshita, S.*¹, Tani, N.*¹, Kojima, H.*¹, Nakamura, T.*¹, Suzuki, K.*¹, Ishibashi, T.*², Hori, H.*², Takahashi, H.*², Nishikawa, T.*², Kitano, Y.*² and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 6) Evaluation of matrex.**

Toxicology in Vitro, **13**, 153-162 (1999)

MATREX は皮膚モデルとして開発されたものであり、ヒトの皮膚線維芽細胞とコラーゲン層からなる三次元モデルである。バリデーションの結果ではドレイズ評点との相関係数は -0.672 であった。なお、使用するプレート数を削減させたプロトコールにおいても同様の結果が得られた。

Keywords: Matrex, Draize eye irritation test, Alternative

*¹ 日本化粧品工業連合会

*² 東洋紡

Uchiyama, T.*, Akiyama, J.*, Miyai, E.*, Sakamoto, K.*, Takino, Y.*, Ohnuma, M.*, Ohkoshi, K.*, Okamoto, Y.*, Morito, Y.*, Kojima, H.*, Okumura, H.*, Sawamura, J.*, Ikeda, N.*, Sumida, Y.*, Chiba, K.*, Makino, I.*, Kawakami, K.*, Yamamoto, R., Torishima, H., Yanase, H., Miyajima, A., Sunouchi, M., Hayashi, M. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 7) Evaluation of cytotoxicity test by CornePack.**

Toxicology in Vitro, **13**, 163-173 (1999)

本方法はウサギ角膜上皮由来の正常細胞を無血清で培養するキットで、他の培養細胞法と比較して、感度が高い。しかし、酸やアルカリ、低分子アルコールなどの被験物質を除いたときのドレイズ評点との相関は -0.738 であり、血清添加細胞培養法と比較し、若干小さい。

Keywords: alternative, CornePack, validation

* 日本化粧品工業連合会

Tani, N.*¹, Kinoshita, S.*¹, Okamoto, Y.*¹, Kotani, M.*¹, Itagaki, H.*¹, Murakami, N.*¹, Sugiura, S.*¹, Usami, M.*¹, Kato, K.*¹, Kojima, H.*¹, Ohno, T.*², Saijo, K.*², Kato, M.*², Hayashi, M. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 8) evaluation of cytotoxicity tests on tsdts on SIRC cells.**

Toxicology in Vitro, 13, 175-187 (1999)

本方法はウサギ角膜上皮由来の細胞株 (SIRC 細胞) を血清添加 MEM 培地で単層培養するものである。施設間のバラツキが少なく、再現性が良い。また、培養法に適さない酸やアルカリ、低分子アルコールなどの被験物質を除いたときのドレイズ評点との相関は-0.924 であり、極めて良い相関を示したことから、この方法の特徴をわきまえて使用するならば、眼刺激性代替法として使用可能と思われた。なお、細胞毒性のエンドポイントや細胞の種類の異なる、他の血清添加培養細胞法 (HeLa 細胞法, CHL 細胞法) と極めて良い相関を示したことから、通常の被験物質の場合は使用する細胞の種類やエンドポイントに関わらずほぼ一定の結果を与えるものと思われた。

Keywords: Validation study, Draize eye irritation test, *in vitro*

*1 日本化粧品工業連合会

*2 理研ジーンバンク

Chiba, K.*, Makino, I.*, Ohuchi, J.*, Kasai, Y.*, Kakishima, H.*, Tsukumo, K.*, Uchiyama, T.*, Miyai, E.*, Akiyama, J.*, Okamoto, Y.*, Kojima, H.*, Okumura, H.*, Tsurumi, Y.*, Usami, M.*, Katoh, K.*, Sugiura, S.*, Kurishita, A.*, Sunouchi, M., Miyajima, A., Hayashi, M. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 9) evaluation of cytotoxicity test on HeLa cells.**

Toxicology in Vitro, 13, 189-198 (1999)

本方法は生化学実験で広く使用されているヒト子宮由来の細胞株 (HeLa 細胞) を血清添加 MEM 培地で単層培養するものである。施設間のバラツキが少なく、再現性が良い。また、界面活性剤のみについて比較した場合のドレイズ評点との相関は-0.913 であり、極めて良い相関を示したことから、この方法の特徴をわきまえて使用するならば、眼刺激性代替法として使用可能と思われた。

Keywords: Cytotoxicity test, Draize eye irritation test, Validation study

* 日本化粧品工業連合会

Okumura, H.*, Arashima, M.*, Ohuchi, J.*, Kasai, Y.*, Tsukumo, K.*, Kakishima, H.*, Kotani, M.*, Kojima, H.*, Kurishita, A.*, Hayashi, M., Miyajima, A., Sunouchi, M. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients 10) Evaluation of cytotoxicity test on CHL cells.**

Toxicology in Vitro, 13, 199-208 (1999)

本方法は染色体異常試験で広く使用されているチャイニーズハムスター肝臓由来の細胞株 (CHL 細胞) を血清添加 MEM 培地で単層培養するものである。施設間のバラツキが少なく、再現性が良い。但し、培養液に溶けにくい検体では他の培養細胞法と比較し施設間のバラツキが大きい傾向があった。また、界面活性剤のみについて比較した場合のドレイズ評点との相関は-0.840 であった。この方法の特徴をわきまえて使用するならば、眼刺激性代替法として使用可能と思われた。

Keywords: validation, Draize eye irritation test, cytotoxicity test

* 日本化粧品工業連合会

Matsukawa, K.*1, Masuda, K.*1, Kakishima, H.*1, Suzuki, K.*1, Nakagawa, Y.*1, Matsushige, C.*1, Imanishi, Y.*1, Nakamura, T.*1, Mizutani, A.*1, Watanabe, R.*1, Shingai, T.*2, Kaneko, T., Hirose, A. and Ohno, Y.: **Inter-laboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic**

ingredients 11) Eytex.**Toxicology in Vitro, 13, 209-217 (1999)**

Eytex 法は植物由来の試料を用いた非生物試験系であり、被験物質による試料の変性により評価する方法である。方法は容易である。しかし、本方法で得られた結果は今回用いた被験物質についてはドレイズ評点との相関は悪かった。

Keywords: validation, *in vitro*, Draize eye irritation test

*1 日本化粧品工業連合会

*2 インビトロテクノロジー社

Koizumi, S., Bootman, M.D.*1, Bobanovic, L.K.*1, Schell, M.J.*2, Berridge, M.J.*1 and Lipp, P.*1: **Characterization of elementary Ca²⁺ release signals in NGF-differentiated PC12 cells and hippocampal neurons.**

Neuron, 22, 125-137 (1999)

NGF で分化させた PC12 細胞及び海馬初代培養神経細胞における、空間的に局在した、非常にライフタイムの短いカルシウム遊離現象をとらえ、視覚化し、その性質を明らかにした。低濃度の caffeine によりリアノジン受容体をからのカルシウム遊離 "spark" が、低濃度 bradykinin により inositol-1,4,5-trisphosphate 受容体を介するカルシウム応答 "puff" が、認められた。これらの応答は、神経線維の分岐点 "branch point" で多く認められ、その近傍に局在していたが、小胞体内カルシウム増加させることにより、グローバルなカルシウム応答に移行しうることを明らかとした。

Keywords: puffs, sparks, Ca²⁺

*1 Babraham Institute

*2 University of Cambridge

Koizumi, S., Ishiguro, M.*, Ohsawa, I.*, Morimoto, T.*, Takamura, C.*, Inoue, K. and Kohsaka, S.*: **A secreted form of β -amyloid-precursor protein stimulates intracellular Ca²⁺ increase in cultured rat hippocampal neurones.**

Br. J. Pharmacol., 123, 1483-1489 (1998)

培養海馬神経細胞において分泌型 β -amyloid-precursor protein (APP) が細胞内カルシウム濃度上昇を引き起こすことを明らかにした。この作用の活性部位を明らかにするために分泌型 β -amyloid-precursor protein の C 末端側ならびに N 末端側のペプチドを合成して同様の検討を行ったところ、N 末端側のみ活性を認めた。アルツハイマーと APP の関係について論議がなされているが、神経細胞発育段階あるいは特定の条件下の神経細胞ではこのような APP の作用が重要な働きをしている可能性が示唆された。

Keywords: β -amyloid-precursor proteins, Ca²⁺, hippocampal neurone

* 国立精神神経センター神経研究所

Uneyama, H.*1, Uchida, H.*1, Yoshimoto, R.*1, Ueno, S., Inoue, K. and Akaike, N.*2: **Effects of a novel antihypertensive drug, cilnidipine, on the catecholamine secretion from the differentiated PC12 cells.**

Hypertension, 31, 1195-1199 (1998)

PC12 細胞を用い、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作用を検討した。シルニジピンは電位依存性カルシウムチャネルの L 型と同様、N 型をも著明に抑制し、それぞれを介するドバミン放出ならびに細胞内カルシウム濃度上昇を抑制した。以上のことから、シルニジピンは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でてきた。

Keywords: cilnidipine, N-type Ca^{2+} current, sympathetic neurones

*1 味の素(株)

*2 九州大学医学部

Ueno, S., Koizumi, S. and Inoue, K.: **Characterization of Ca^{2+} influx through recombinant P2X receptor in C6BU-1.** *Br. J. Pharmacol.*, **124**, 1484-1490 (1998)

C6BU-1 細胞を用い、痛みに関係すると思われるイオンチャンネル型 ATP 受容体を介するカルシウム流入の特徴を明らかにした。同細胞に P2X2, P2X3 の cDNA をそれぞれ単独、あるいは同時強制導入し、発現した受容体の機能を電気生理学的手法およびカルシウムイメージングで検討した。P2X2 導入群では比較的高濃度の ATP により持続性の大きな内向き電流と再現性良い細胞内カルシウム濃度上昇を認め、P2X3 導入群では比較的低濃度の ATP により一過性の小さな内向き電流を認めたが、細胞内カルシウム濃度上昇はほとんど認められなかった。一方、同時導入群では、単独群とは明らかに異なる性質を示し、恐らくヘテロマーとして機能していることが示唆された。

Keywords: recombinant P2X receptor, Ca^{2+} , C6BU-1

Poelchen, W.*, Sieler, D.*, Inoue, K. and Illes, P.*: **Effect of extracellular adenosine 5'-triphosphate on principal neurons of the rat ventral tegmental area.** *Brain Res.*, **800**, 170-173 (1998)

ラット脳 ventral tegmental 部位での主な神経細胞における外液性 ATP の効果が明らかになった。

Keywords: ATP, neuron, ventral tegmental

* Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Leipzig

Shibata, K.*, Ikuko, M.*, Inoue, K. and Katsuragi, T.*: **Muscarinic acetylcholine receptor-mediated increase of angiotensin type 2 receptor mRNA in PC12 cells.** *NeuroReport* **9**, 3783-3789 (1998)

PC12 細胞でのアンジオテンシタイプ 2 受容体のムスカリン・アセチルコリン刺激による mRNA 生合成増大を見いだして報告した。

Keywords: Muscarinic acetylcholine receptor, angiotensin type 2 receptor mRNA, PC12

* 福岡大学医学部

Ueno, S., Tsuda, M., Iwanaga, T. and Inoue, K.: **Cell type-specific ATP-activated responses in rat dorsal root ganglion neurons.** *Br. J. Pharmacol.*, **126**, 429-436 (1999)

ラット後根神経節 (DRG) 神経細胞での ATP 刺激により誘発される生理反応の特徴を明らかにした。DRG ニューロンは大きさから大中小に分けられるが、知覚神経毒カプサイシンに反応するのは中型および小型細胞であった。in situ hybridisation の結果、中型には P2X2 および P2X3 の mRNA が発現しており、小型細胞には P2X3 のみが発現していることが明らかとなった。ATP 誘発生理反応もこの成績と一致し、痛みを伝える C 繊維では P2X3 受容体が、A デルタ繊維では P2X2 と P2X3 のヘテロ受容体が機能していることを示唆している。

Keywords: ATP, nociception, rat dorsal root ganglion neuron

Nakazawa, K., Ohno, Y. and Inoue, K.: **An aspartic acid residue near the second transmembrane segment of ATP**

receptor/channel regulates agonist sensitivity.

Biochem. Biophys. Res. Commun., **244**, 599-603 (1998)

ATP 受容体チャンネル (P2X₂ 受容体) の M2 セグメントおよびその近傍の電荷あるいは極性を有するアミノ酸残基を中性アミノ酸と置換した変異体を作製し、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、その電気生理学的特性を検討した。315 番目のアスパラギン酸をバリンに置換した変異体 (D315V) では、ATP 感受性が 60 分の 1 に低下していた。Walker A 型の ATP 結合配列に含まれる 324 番目のリジンをイソロイシンに置換した場合 (K324I) にはこのような低下は認められなかった。D315V においては ATP 以外の作動薬に対する感受性も低下したが、遮断薬に対する感受性には変化が認められなかった。以上のことから 315 番目のアスパラギン酸残基がチャンネルの正常な開口に必須であることが示された。

Keywords: ATP receptor/channel, site-directed mutagenesis, activation mechanism

Nakazawa, K., Inoue, K. and Ohno, Y.: **An asparagine residue regulating conductance through P2X₂ receptor/channels.**

Eur. J. Pharmacol., **347**, 141-144 (1998)

野性型および変異型の ATP 受容体チャンネルをアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、単一チャンネル電流記録を行なった。透過イオンとして 100 mM ナトリウムを用いた場合、野性型チャンネルでは 80 pS の単一チャンネル電流が記録された。このチャンネル電流は 333 番目のアスパラギン残基をイソロイシンに置換 (N333I) することにより、半減した。同様のコンダクタンス低下はリチウムあるいはセシウムを透過イオンとして用いた場合でも認められた。以上のことから、333 番目のアスパラギン酸残基がチャンネル孔の形成に関与し、正常なイオン透過に必須であることが示された。

Keywords: ATP receptor/channel, site-directed mutagenesis, ion permeation

Chou, H.-C.*¹, Ozawa, S., Fu, P. P.*¹, Lang, N.P.*² and Kadlubar, F.F.*¹: **Metabolic activation of methyl-hydroxylated derivatives of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene by human liver dehydroepiandrosterone-steroid sulfotransferase.**

Carcinogenesis, **19**, 1071-1076 (1998)

7,12-dimethylbenz[a]anthracene の methyl-hydroxy 誘導体はラットなどの実験動物の種々の組織において、硫酸抱合を受けて、代謝活性化されることが示されていた。今回、ヒト肝に存在する種々の硫酸転移酵素分子種のうち、dehydroepiandrosterone など steroid のアルコール性水酸基に硫酸抱合を行う steroid sulfotransferase により、ラットで認められた硫酸抱合反応による代謝活性化が触媒されることを示した。

Keywords: human liver, steroid sulfotransferase, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene

*¹ National Center for Toxicological Research, AR, USA

*² John L. McClellan VAMC, AR, USA

Nakajima, M.*¹, Takahashi, H.*¹, Sasaki, M.*¹, Kobayashi, Y.*¹, Awano, T.*², Irie, D.*², Ohno, Y., Usami, M.: **Developmental toxicity of indium chloride by intravenous or oral administration in rats.**

Teratogen. Carcinogen. Mutagen., **18**, 231-238 (1998)

インジウムの発生毒性をラットを用いて調べた。その結果、インジウムはラットにおいて催奇形性を示すことを明らかにした。

Keywords: developmental toxicity, indium chloride, rat

*1 旭化成工業株式会社

*2 山崎産業株式会社

Usami, M., Tabata, H., Ohno, Y.: **Effects of ascorbic acid on selenium teratogenicity in cultured rat embryos.**

Toxic. Lett., **105**, 123-128 (1999)

セレンの催奇形性に及ぼすアスコルビン酸の影響を調べた。その結果、アスコルビン酸は亜セレン酸の催奇形性には増強作用を示し、セレン酸の催奇形性には阻害作用を示すことを明らかにした。

Keywords: selenium teratogenicity, embryo culture, ascorbic acid

Mitsumori, K., Imazawa, T., Onodera, H., Takahashi, M., Kitajima, S., Inoue, T. and Kurokawa, Y.: **Ultrastructural changes in motor endplates of the lumbrical muscles from rats induced by a microsomal Ca²⁺ ATPase inhibitor, 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone**

Arch. Toxicol., **72**, 115-118 (1998)

Ca²⁺ ATPase 阻害剤の 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone (DTBHQ) 80 mg/kg を雌 Wistar ラットに 5 日間経口投与し、虫様筋の運動終板を光顕および電顕的に観察した。投与 1 日目より体重減少、3 日目より伏臥、流涎、流涙、歩行異常、筋力低下がみられた。最終投与後 1 日目では、虫様筋の運動終板に肉眼および光顕的異常は認められなかった。電顕観察では、虫様筋における運動終板のシナプス小胞とミトコンドリアの消失、運動終末の崩壊を特徴とする神経毒性が認められた。以上より、DTBHQ の標的部位はラット虫様筋の運動終板であり、その障害の結果として、歩行異常および筋制御障害などの神経症状が現れることが強く示唆された。

Keywords: 2,5-di(tert-butyl)-1,4-hydroquinone, neurotoxicity, ultrastructure

Hayashi, S.*1, Mori, I.*2, Nonoyama, T.*2 and Mitsumori, K.: **Point mutations of the c-Ha-ras gene in spontaneous liver tumors of transgenic mice carrying the human c-H-ras gene**

Toxicol. Pathol., **26**, 556-561 (1998)

ヒトプロト型 c-H-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウス (rasH2) の肝臓の自然発生増殖性病変について、ヒトおよびマウス内因性 c-H-ras 遺伝子の codon 61 における変異を PCR-SSCP およびドットプロットハイブリダゼーションにより解析した。肝細胞癌ではマウス c-H-ras 遺伝子の codon 61 に CAA→AAA, CAA→CT あるいは CAA→CGA の変異が認められた。血管肉腫ではヒト c-H-ras 遺伝子の codon 61 に CAG→CTG の変異がみられたが、マウス c-H-ras 遺伝子の変異は認められなかった。変異細胞巢および肝細胞腺腫にヒトおよびマウス c-H-ras 遺伝子の変異は認められなかった。rasH2 マウスの自然発生肝腫瘍における c-H-ras 遺伝子の変異パターンの違いは腫瘍の組織型あるいは細胞起源に起因することが示唆された。

Keywords: human prototype c-H-ras transgenic (rasH2 Tg) mouse, hepatocellular carcinoma, hepatic hemangiosarcoma

*1 (株)武田薬品工業 薬理研究所

*2 (株)武田薬品工業薬剤安全性研究所

Koujitani, T., Mitsumori, K., Yasuhara, K., Mori, I.*1, Onodera, H., Nonoyama, T.*1 and Hayashi, Y.*2: **Modifying effects of NNK on lung tumorigenesis in hamsters with**

pulmonary fibrosis induced by MNUR

J. Toxicol. Pathol., **11**, 169-175 (1998)

雌シリアンハムスターに 2 週間間隔で 5 回、0.6 mg MNUR (I, II 群) あるいは 0.5% エタノール (III, IV 群) を皮下投与し、3 ppm 濃度の NNK を混じた蒸留水 (I, III 群) あるいは水道水 (II, IV 群) を 27 週間与えた。腺様化生、乳頭状増殖、気管支-肺胞腺腫が I および II 群の全例の肺にみられたが、その多発性および PCNA 陽性率に有意差は認められなかった。I 群の動物にみられた気管支-肺胞腺腫および腺癌に c-K-ras 遺伝子の codon 12 あるいは 61 における点突然変異が認められた。遺伝子変異は 4/13 例の腺腫と 3/4 例の腺癌にみられ、その変異は codon 12 における GGT→GAT と codon 61 における CAA→CGA であった。以上より、本実験条件下では、MNUR により誘発されるハムスター肺線維症モデルにおける肺増殖性病変に対し、NNK 投与による修飾作用は認められなかった。

Keywords: hamsters, N-methyl-n-nitrosourea, 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridinyl)-1-butanone

*1 武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所

*2 北里大学

Mitsumori, K., Shibutani, M., Sato, S.*1, Onodera, H., Hayashi, Y.*2 and Ando, M.: **The relationship between the development of hepato-renal toxicities and cadmium accumulation in rats given minimum to large amounts of cadmium chloride for a long-term: Preliminary study**

Arch. Toxicol., **72**, 545-552 (1998)

塩化カドミウムを 0, 8, 40, 200 ないし 600 ppm 含有する飼料を SD ラットに 8 ヶ月間投与し、肝腎毒性の発現と臓器内カドミウム (Cd) 蓄積の関連を検討した。600 ppm 群では一般状態の悪化により 4 ヶ月で全例屠殺した。肝毒性は 200 ppm 以上の群で 2 ヶ月からみられ、600 ppm 群では 4 ヶ月までに小葉周辺部の肝細胞壊死が認められた。近位尿管上皮の変性を特徴とする腎毒性が 200 ppm 以上の群で 2 ヶ月からみられ、600 ppm 群ではその程度は 4 ヶ月で顕著となった。600 ppm 群での腎皮質への Cd の蓄積は 2 ヶ月で 250 μg/g に到達し、以後増加しなかった。200 ppm 群では 2 ヶ月で腎障害がみられ、その時点での Cd の蓄積は 104-244 μg/g であった。一方、40 ppm 群では腎毒性はみられなかったが、Cd の蓄積は 91-183 μg/g であった。以上の成績から、微量の塩化カドミウムを長期間投与しても腎障害が発現しないであろうことが示唆された。

Keywords: cadmium, renal toxicity, body burden of Cd

*1 (株)イナリサーチ

*2 北里大学 薬学部

Okamiya, H.*1, Mitsumori, K., Onodera, H., Ito, S.*2, Yasuhara, K., Takegawa, K. and Takahashi, M.: **Mechanistic study on liver tumor promoting effects of piperonyl butoxide in rats**

Arch. Toxicol., **72**, 744-750 (1998)

ピペロニル・ブトキシドはラットの発癌性試験において肝腫瘍を誘発することが報告されている。その発癌メカニズムを明らかにするため、本物質を 0.05, 0.2 ないし 2% 含有する飼料を F344 ラットに 4 週間投与した。陽性対照として 0.1% のフェノバルビタールを 4 週間飲水投与した。0.2% 以上の群で、肝重量の増加、SER の増加による小葉中心性肝細胞肥大、コネクシン 32 の数および面積の減少、細胞増殖活性の増加がみられた。肝細胞壊死が 2% 群においてのみ認められた。同様の変化がフェノバルビタール群にみられた。以上の成績から、ピペロニル・ブトキシドは

肝腫瘍プロモーション作用を有し、その作用はフェンバルピタールのそれと非常に類似することが示唆された。さらに、高用量群での肝細胞の壊死に続く細胞増殖活性の増加もこのプロモーション作用の原因と考えられた。

Keywords: piperonyl butoxide, promoting mechanism, gap junction

*1 山之内製薬 安全性研究所

*2 日本実験医学研究所

Shoda, T., Mitsumori, K., Imazawa, T., Toyoda, K., Tamura, T., Takada, K and Takahashi, M.: A spontaneous seminal vesicle papillary adenocarcinoma in an aged F344 rat *Toxicol. Pathol.*, **26**(3), 448-451 (1998)

ラットにおける精嚢腫瘍は極めて希であり、今まで詳細な症例報告はない。我々は、癌原性試験の対照群の109週例の雄F344ラットの1例に自然発生精嚢腫瘍を見出した。剖検では、右側精嚢が黒色～灰白色となり腫大していた。組織学的に、腫瘍細胞はやや好塩基性の核と豊富な細胞質を持ち、充実性もしくは腺管状に増殖し、その管腔内にマクロファージ様細胞の集簇がみられた。核異型や細胞分裂像もしばしば認められた。免疫染色では、腫瘍細胞はkeratin および S-100 に陽性であり、マクロファージ様細胞は vimentin および ED-1 に陽性であった。顕微鏡観察では、腫瘍細胞は多数の分泌顆粒や microvilli および細胞間結合装置を有し、一方マクロファージ様細胞は穹入した核と、lysosome および豊富な rER を持ち、反応性に浸潤したマクロファージであった。本例は精嚢腺癌と診断したが、精嚢の自然発生悪性腫瘍は、F344 ラットにおいて初めての報告である。

Keywords: seminal vesicle, adenocarcinoma, rat

Watanabe, T.*¹, Manabe, S.*¹, Ohashi, Y.*¹, Okamiya, H.*², Onodera, H. and Mitsumori, K.: Comparison of the induction profile of hepatic drug-metabolizing enzymes between piperonyl butoxide and phenobarbital in rats *J. Toxicol. Pathol.*, **11**, 1-10 (1998)

piperonyl butoxide (PiB) と phenobarbital (PhB) を4週間ラットに投与した。肝相対重量、チトクローム p450 値、種々の薬物代謝酵素活性値が変動した。2%と0.2% PiB 群のパラメーターが有意に変動した。p450 アイソザイムは、肝小葉中心部への誘導が認められた。PiB 群では、CYP1A1 誘導以外は陽性対照の PhB 群と類似した結果が得られた。これらの結果から、PhB の肝腫瘍プロモーター活性と CYP2B1/2 誘導は関連し、PiB は肝腫瘍プロモーターとして有用であることが示唆された。

Keywords: piperonyl butoxide, cytochrome p450, CYP2B1/2

*1 (株)三共 安全性研究所

*2 (株)山之内製薬 創薬安全性研究所

Mitsumori, K., Koizumi, H.*¹, Nomura, T.*¹ and Yamamoto, S.*^{1,2}: Pathological features of spontaneous and induced tumors in transgenic mice carrying a human prototype c-Ha-ras gene used for six-month carcinogenicity studies *Toxicol. Pathol.*, **26**, 57-69 (1998)

rasH2 マウスを用いた発癌試験の有用性を実証するため6ヶ月試験を行った。rasH2 マウスは non-Tg マウスに比し、一般的に発癌物質の感受性が高かった。腺胃乳頭腫、脾血管肉腫の発生率は non-Tg マウスに比し高かったが、自然発生腫瘍としては一般的に低かった。既知発癌物質を投与した rasH2 マウスの結果は、B6C3F1 を用いた癌原性試験と一致するとは限らず、non-Tg マウスとも一致しなかった。

肺、脾、腺胃腫瘍は既知発癌物質を投与した rasH2 マウスで誘発されることより、長期発癌性試験より早急な標的臓器検索の可能性が示唆された。

Keywords: human prototype c-Ha-ras mice, ras H2 mice, 6-month carcinogenicity testing

*1 (財)実験動物中央研究所

*2 慶応大学医学部

Yamamoto, S.*^{1,2}, Urano, K.*², Koizumi, H.*², Wakana, S.*², Hioki, K.*², Mitsumori, K., Kurokawa, Y., Hayashi, Y.*³ and Nomura, T.: Validation of transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene as a bioassay model for rapid carcinogenicity testing

Environ. Health Perspect., **106 Suppl.1**, 57-69 (1998)

発がん性試験は化合物の安全性を確認するために不可欠であるが、動物、時間およびコストの問題から、短期間で発がん性が評価できる短期発がん試験系の開発が社会的に求められている。今回、ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニック (Tg) マウス (rasH2 マウス) を用いて短期発がん試験系の動物モデルとしての有用性を検討した。その結果、rasH2 マウスでは6ヶ月以内に様々な変異原性発がん物質が検出可能であること、また、非変異原性発がん物質も検出出来ることが明らかにされた。さらに、rasH2 マウスは非遺伝子導入マウスに比べ変異原性および非変異原性発癌物質に対してより敏感であることが明らかにされた。なお、rasH2 マウスでは変異原性あるいは非変異原性非発癌物質において腫瘍の増加は認められなかった。以上の成績より、この rasH2 マウスは短期発がん試験系の動物モデルとして有用であることが明らかにされた。

Keywords: CB6F1-TgHras2 mouse, human c-Ha-ras, transgenic mouse

*1 慶応大学

*2 (財)実験動物中央研究所

*3 北里大学

Shinoda, K.*¹, Mitsumori, K., Yasuhara, K., Uneyama, C., Onodera, H., Takegawa, K., Takahashi, M. and Umemura, T.*²: Involvement of apoptosis in the rat germ cell degeneration induced by nitrobenzene *Arch. Toxicol.*, **72**, 296-302 (1998)

Nitrobenzene (NB) はラット生殖細胞、特に精母細胞に変性を起こすことが知られており、また、この過程にアポトーシスの関与が疑われている。今回、アポトーシスの関与を明らかにするため、成熟 SD 系雄性ラットに 250mg/kg の NB を単回経口投与後6、12、24時間および2、3、5、7日に精巣を摘出し、核DNAの断片化を TUNEL 法およびアガロースゲル電気泳動法を用いて解析すると共に、病理組織学および超微形態学的に観察した。形態学的に生殖細胞の変性は24時間後にパキテン期精母で観察され、これらの変性は超微形態学的にアポトーシスの特徴である核クロマチンおよび細胞内小器官の凝縮として認められた。また、TUNEL 法により DNA の断片化が検出される共に、アガロースゲル電気泳動により DNA にラダーが観察された。以上の成績より、NB による生殖細胞の変性にはアポトーシスが関与していることが明らかとなった。

Keywords: nitrobenzene, apoptosis, testicular toxicity

*1 (財)化学製品検査協会

*2 鳥取大学

Mitsumori, K., Yasuhara, K., Mori, I.*¹, Shimo, T.*¹, Onodera, H., Nomura, T.*², Takahashi, M. and Hayashi, Y.*³:

Pretreatment with N-methyl-N-nitroso-urethane inhibits lung tumors induced by urethane in transgenic mice carrying human prorotype c-Ha-ras gene

Cancer Lett., 129, 181-190 (1998)

肺線維症に合併する肺癌の組織発生を解明する目的でヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニック (Tg) マウス (rasH2 マウス) および同腹仔の野生型マウス (Non-Tg マウス) の雌雄に肺線維症を誘発する N-methyl-N-nitrosourethane (MNUR) 0.3mg/個体を隔週 1 回計 3 回皮下投与後 2 週目に 1000mg/kg の urethane (UR) を腹腔内に投与し、その後 14 週目に生存動物全例の肺を病理組織学的に検索した。rasH2 マウスでは雌雄とも UR 単独投与により 100% に肺腫瘍が認められたが、MNUR 投与後 UR を投与した群では約 20% と有意に減少して見られた。また、Non-Tg マウスでも同様の傾向が認められたが、UR 単独投与による肺腫瘍は 20~40% と少なかった。以上の成績より、rasH2 マウスは UR 誘発肺腫瘍のに対して感受性が高いこと、また、肺線維症修復過程の肺胞上皮は UR などの肺発癌物質による DNA 障害に対して耐性を有することが示唆された。

Keywords: N-methyl-N-nitrosourethane, urethane, transgenic mouse

*1 (株)武田薬品工業

*2 (財)実験動物中央研究所

*3 北里大学

Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Kitaura, K., Shimo, T. and Takahashi, M.: Induction of squamous cell carcinoma in the salivary glands of rats by potassium iodide

Jpn. J. Cancer Res., 89, 105-109 (1998)

F344/DuCrj ラットを用いたよう化カリウム (KI) の 2 年間の癌原性試験において、KI を 1000 ppm の濃度で含む飲料水を摂取した雄 4/40 例および雌 3/40 例の唾液腺に扁平上皮癌 (SCC) が認められた。高用量群の動物の顎下腺においては腺房の萎縮に伴う小導管の増殖が高率に認められ、増殖した小導管および太い小葉間導管はしばしば扁平上皮化生を示していた。化生から SCC への移行も認められた。これらの結果より、KI により誘発された小葉の障害に対して二次的に小導管が増殖し、そこに生じた扁平上皮化生から非遺伝毒性的に SCC が発生した可能性が示唆された。

Keywords: squamous cell carcinoma, salivary gland, potassium iodide

Takegawa, K.*1, Mitsumori, K., Onodera, H., Yasuhara, K., Takahashi, M., Yanai, T.*2, Masegi, T.*2 and Hayashi, Y.*3: Immunohistochemical studies of TSH-producing cells in the pituitary and expression of growth factors in thyroidal proliferative lesions in rats treated with thiourea and excess vitamin A

J. Toxicol. Sci., 23, 213-221 (1998)

下垂体における TSH 産生細胞の変化、および増殖因子である transforming growth factor α (TGF α), epidermal growth factor receptor (EGFR) ならびに cyclin D1 の甲状腺における発現が、チオウレア (TU) 誘発甲状腺腫瘍発生に対する過剰ビタミン A (VA) の増強効果に関与するかどうかを明らかにするために、それらを免疫組織化学的に検討した。雄ラットに DHPN (2800 mg/kg) を単回皮下投与した後、対照群、TU 群、VA 群、および TU+VA 群の 4 群に分け、それぞれ無処置、0.2% TU 含有飲料水、0.1% VA 含有飼料、その両方の処置を 10 週間または 19 週間与えた。抗 TSH 抗

体を用いた免疫組織化学の結果、TU+VA 群では TU 群に比べて TSH 産生細胞が肥大しており、TSH 刺激の増強が過剰 VA の効果の主な原因であるとする我々の結論に一致していた。今回の実験では、TU 群および TU+VA 群の間で、甲状腺の増殖性病変における TGF α , EGFR, および cyclin D1 の発現に差が認められなかったことから、VA による腫瘍発生の増強にこれらの因子が関与する可能性は低いと考えられた。

Keywords: immunohistochemistry, thyroidal carcinogenesis, excess vitamin A

*1 (株)吉富製薬

*2 岐阜大学

*3 北里大学

Wada, S.*1, Hirose, M., Shichino, Y.*1, Ozaki, K.*1, Hoshiya, T.*1, Kato, K.*1 and Shirai, T.*1: Effects of catechol, sodium chloride and ethanol either alone or in combination on gastric carcinogenesis in rats pretreated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

Cancer Lett., 123, 127-134 (1998)

ラット MNNG 誘発胃発がんモデルを用いたポストインシエーション時期でのカテコール、食塩、エタノール投与の影響を検索した。6 週齢の雄 F344 ラットに 150mg/kg の MNNG を単回投与後、0.8% カテコール、5% 食塩、10% エタノールを単独ないしは組み合わせ、51 週間にわたり混餌投与した。その結果、前胃ではバピローマ及び扁平上皮癌の発生率が、MNNG 単独群に比較してカテコール投与群で高く、逆にエタノール投与群ではバピローマの発生が減少した。また、カテコール投与群に比べ、カテコール・食塩・エタノールの併用投与は扁平上皮癌の発生を減少させた。腺胃においてもカテコール投与により腺癌の発生率が著しく上昇し、食塩とエタノールの併用により抑制された。また MNNG の前処置なしの食塩投与により、前胃の上皮の増殖が軽度に進化した。これらの結果より、食塩とエタノールの併用投与は、カテコールにより誘発される前胃ならびに腺胃の腫瘍発生に対して抑制作用を示すものと考えられ、その大部分はエタノールの寄与によるものと考えられた。

Keywords: rat gastric carcinogenesis, catechol, modifying effects

* 名古屋市立大学医学部

Takahashi, S.*1, Hirose, M., Tamano, S.*1,*2, Ozaki, M.*1, Orita, S.*1, Takeuchi, M.*3, Ochi, H.*3, Fukada, S.*4, Kasai, H.*4 and Shirai, T.*1: Immunohistochemical detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in paraffin-embedded sections of rat liver after carbon tetrachloride treatment

Toxicol. Pathol., 26, 247-252 (1998)

四塩化炭素誘発ラット肝傷害モデルを用いて、パラフィン包埋切片を用いた 8-OH-dG 抗体の免疫組織学的応用を検討した。雄のラットに四塩化炭素を単回投与し、6 時間、12 時間、1, 2, 3, 7 日目に肝臓を取り出し、その傷害の程度を検索した。その結果、強い小葉中心性壊死が 1 日目で認められ、2 日目ではその壊死領域に単核細胞浸潤を認めた。2 日目および 3 日目で、浸潤単核細胞、洞様毛細血管内皮細胞、および肝細胞が 8-OH-dG 抗体により染色された。この時期では、DNA における 8-OH-dG の形成ならびに 8-oxo-dGTPase mRNA の発現が増加し、また、marondialdehyde と 4-hydroxy-2-nonenal の量が 6 時間目と 3 日目に二峰性のピークを示した。これらの結果より、肝細胞壊死には 8-OH-dG の過剰の形成よりも脂質過酸化が強く関与し、8-

OH-dG の形成は浸潤した単核細胞によるものであることが明らかになった。これらの生化学的データと免疫組織学的染色結果の整合性から、抗 8-OH-dG 抗体は、パラフィン包埋切片においてフリーラジカルに傷害された細胞の検出に有用であり、発がん等の酸化的ストレスの関連した疾患のメカニズムの解析に有用であることが示された。

Keywords: lipid peroxidation, liver injury, oxidative damage

- *1 名古屋市立大学医学部
- *2 大雄会医科学研究所
- *3 日本老化制御研究所
- *4 産業医科大学

Tamano, S.*1, Hirose, M., Tanaka, H.*1, Hagiwara, A.*1 and Shirai, T.*1: Variation in susceptibility to the induction of forestomach tumors by butylated hydroxyanisole among rats of different strains

Fd. Chem. Toxic., 36, 299-304 (1998)

Butylated hydroxyanisole (BHA) の前胃発がん性の系統差を、雄の F344, SHR, Lewis および SD ラットを用いて検索した。1 群 30 匹の 6 週齢のラットに対して 2% BHA の混餌投与を 104 週間行った。系統に関連なく BHA 投与したすべてのラットに前胃扁平上皮のパピローマおよび過形成が認められたが、扁平上皮がんの発生率には系統差が認められ、SHR ラットにおいて最も高率であった。この系統では、炎症に起因する細胞傷害性の影響が最も強く、扁平上皮がんの発生とよく相関していた。この結果より、BHA によるラットの前胃発がんに関して大きな系統差の存在すること、およびそれには細胞傷害に対する感受性の差が重要なパラメーターとして存在することが示唆された。

Keywords: forestomach carcinogenesis, butylated hydroxyanisole, strain difference in rats

- *1 名古屋市立大学医学部

Futakuchi, M.*1, Hirose, M., Miki, T.*2, Tanaka, H.*1, Ozaki, M.*1 and Shirai, T.*1: Inhibition of DMBA-initiated rat mammary tumor development by the novel synthetic ascorbic acid derivatives, synthetic phenolic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone (HTHQ) and phenylethyl isothiocyanate

Eur. J. Cancer Prev., 7, 153-159 (1998)

DMBA 誘発ラット乳腺発がんモデルを用いて、合成フェノール性抗酸化剤である HTHQ、合成アスコルビン酸誘導体である 3-O-ethyl ascorbic acid (EAsA) と 3-O-dodecylcarboxymethyl ascorbic acid (DAsA)、および phenylethyl isothiocyanate (PEITC) の乳腺発がんに対する影響を検索した。1 群 20 匹の 7 週齢の SD ラットに対し、DMBA を 50mg/kg の割合で強制経口投与し、1 週間後より 1% HTHQ、1% EAsA、1% DAsA もしくは 0.1% PEITC の混餌投与を 35 週間行った。これらの群では最終的な乳腺がんの発生率に有意な差を認めなかったが、EAsA 投与群と HTHQ 投与群では基礎食投与群と比べ、発生頻度が有意に低下していた。また、1 個当たりの平均腫瘍容積も EAsA、DAsA、PEITC 投与群で DMBA 単独群に比べ有意に低下していた。この結果より、HTHQ、EAsA および PEITC のすべては DMBA 誘発ラット乳腺発がんのプロモーション/プログレッション時期に抑制効果を示すものと考えられた。

Keywords: antioxidant, chemoprevention, rat mammary carcinogenesis model

- *1 名古屋市立大学医学部
- *2 (株)日本ハイボックス

Hirose, M., Futakuchi, M.*1, Tanaka, H.*1, Orita, S.*1, Ito, T.*1, Miki, T.*2 and Shirai, T.*1: Prevention by antioxidants of heterocyclic amine-induced carcinogenesis in a rat medium term liver bioassay -results of extended and combination treatment experiments

Eur. J. Cancer Prev., 7, 61-67 (1998)

ラット中期肝発がんモデルを利用して、ヘテロサイクリックアミンによる肝発がんへの HTHQ および他の抗酸化剤の修飾作用を検索した。実験 I では、6 週齢の雄の F344 ラットに対して 200mg/kg の DEN を単回腹腔内投与し、2 週間後に 0.03% Glu-P-1+0.5% HTHQ、Glu-P-1 単独、HTHQ 単独の混餌投与を 26 週間行った。DEN 処置後 3 週間目で肝部分切除を施した。肝腺腫および腺がんの総発生率は Glu-P-1 単独群で高く (89%)、HTHQ 併用群では低く (40%)、DEN 単独群と同程度の発生率を示した。実験 II では、DEN 投与後、ヒトにおける暴露状況に似せた肝発がん性のヘテロサイクリックアミンの混合物 (0.003% Glu-P-1, 0.015% Trp-P-1, 0.004% MeAaC, 0.003% IQ, 0.004% MeIQx) を 0.0155% の割合で 6 週間混餌投与し、同時に 0.5 ないし 0.125% の HTHQ の併用投与を行った。GST-P 陽性肝細胞変異巣の数は、併用投与した HTHQ の用量に依存して減少した。実験 III は、DEN イニシエーション処置後、0.02% MeIQx + 0.25% HTHQ + 0.05% PEITC + 1% 緑茶カテキン (GTC) もしくは HTHQ + PEITC + GTC の混合物、MeIQx 単独、抗酸化剤単独もしくはその組み合わせを 6 週間にわたり混餌投与した。MeIQx + HTHQ 群および MeIQx + 抗酸化剤混合物投与群における GST-P 陽性細胞巣の数は MeIQx 単独群に比べ有意に減少したが、相乗作用は証明できなかった。これらの結果から、ヘテロサイクリックアミンにより誘発される肝発がんは HTHQ により抑制されることが明らかとなった。

Keywords: antioxidant, rat hepatocarcinogenesis, heterocyclic amines

- *1 名古屋市立大学医学部
- *2 (株)日本ハイボックス

Ogawa, K.*1, Futakuchi, M.*1, Hirose, M., Boonyaphiphat, P.*1, Mizoguchi, Y.*1, Miki, T.*2, Shirai, T.*1: Stage and organ dependent effects of 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone, ascorbic acid derivatives, n-tritriacontane-8,10-dione and phenylethyl isothiocyanate in rat multi-organ carcinogenesis model

Int. J. Cancer, 76, 851-856 (1998)

ラット多臓器発がんモデルにおける HTHQ、PEITC、3-O-ethyl ascorbic acid (EAsA)、dodecylcarboxymethylascorbic acid (DAsA)、n-heptadecane-8,10-dione の影響を検索した。動物は DEN の単回腹腔内投与を行い、次いで MNU の 4 回腹腔内投与、BBN の 2 週間にわたる飲水投与ののちに、dimethylhydrazine の 4 回皮下投与と同時に DHPN の 2 週間にわたる飲水投与を行い、多臓器発がんモデルとした。被験化学物質は、イニシエーション時期もしくはポストイニシエーション時期に投与し、28 週目に実験を終了した。検索した 5 つの化学物質はどれも肺における過形成の発生率を減少させ、特にイニシエーション期での PEITC 投与によりその効果は顕著であった。さらに、HTHQ は、食道上皮過形成の発生率をイニシエーション時期に減少させ、小腸・大腸腺腫の発生率をポストイニシエーション時期に減少させた。しかし、HTHQ は、舌および前胃における扁平上皮過形成とパピローマの発生を増加させた。PEITC はイニシエーション時期に投与した場合、食道上皮過形成、腎異形成尿管、肝 GST-P 陽性細胞巣の誘発を抑制した。

他方, PEITC をポストイニシエーション時期に投与することにより, 肝 GST-P 陽性細胞巢, 膀胱腫瘍の発生を増加させた。これらの結果から, HTHQ の舌および前胃に対する発がん標的性が明らかとなり, イニシエーション時期に投与することにより, いくつかの臓器で発がん抑制性に作用する PEITC が, ポストイニシエーション時期に投与することにより肝および膀胱に発がんプロモーション作用を示すことが明らかとなった。

Keywords: multiorgan carcinogenesis model, antioxidant, isothiocyanate

*1 名古屋市立大学医学部

*2 (株)日本ハイボックス

Hirose, M., Yamaguchi, T.*, Kimoto, N.*, Ogawa, K.*, Futakuchi, M.*, Shirai, T.*: Strong promoting activity of phenylethyl isothiocyanate and benzyl isothiocyanate on urinary bladder carcinogenesis in F344 male rats *Int. J. Cancer*, 77, 773-777 (1998)

肝および膀胱発がんのポストイニシエーション時期における phenylethylisothiocyanate (PEITC) と benzylisothiocyanate (BITC) の影響を検索するために, ラットに DEN および BBN の投与を行い, 投与終了後3日目より PEITC もしくは BEITC の 0.1% 混餌投与を 32 週間行った。また, イニシエーションなしの群も設定した。肝臓においては, PEITC 投与により, 腫瘍発生率に有意な差は認められなかったものの, 径 0.5cm 以上の変異巢の発生頻度が軽度増加した。膀胱においては, 乳頭状/結節性 (PN) 上皮過形成 および癌の発生率がポストイニシエーション時期における PEITC もしくは BITC 投与により有意に増加した。イニシエーション処置をしない動物においても, 膀胱の PN 過形成がすべての動物で認められ, いくつかの動物で乳頭腫および癌の発生が認められた。これらの結果より, PEITC および BITC は, 完全発がん物質の特性を有する膀胱発がんの強力なプロモーターであることが示された。

Keywords: isothiocyanate, rat urinary carcinogenesis, tumor-promotion effect

* 名古屋市立大学医学部

Hirose, M., Ito, T.*1, Takahashi, S.*1, Ozaki, M.*1, Ogiso, T.*1, Nihro, Y.*2, Miki, T.*2, Shirai, T.*1: Prevention by synthetic phenolic antioxidants of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinixaline (MeIQx)- or activated MeIQx-induced mutagenesis and MeIQx-induced rat hepatocarcinogenesis, and role of antioxidant activity in the prevention of carcinogenesis

Eur. J. Cancer Prev., 7, 233-241 (1998)

合成フェノール性抗酸化剤である HTHQ, BHA, BHT, TBHQ および propyl gallate (PG) の, MeIQx もしくは活性化 MeIQx 誘発変異原性とラット肝発がん性に対する影響を検索し, それらの抗酸化作用と発がん抑制作用の関連性について検討を行った。抗変異原性作用の検索の結果, HTHQ が最も強く, BHA, BHT, PG, TBHQ の順で作用が减弱した。ラットを用いた肝中期発がんモデルにおいて, 混餌にて 0.03% の MeIQx 単独投与ないし MeIQx とそれぞれの抗酸化剤 (0.25%) の併用投与もしくは抗酸化剤のみの投与を 6 週間にわたり行った。DEN イニシエーション後 3 週目に肝部分切除を行い, この摘出肝臓につき 8-OHdG と脂質過酸化の程度を測定した。MeIQx 投与により, GST-P 陽性細胞巢の数および面積が有意に増加した。また抗酸化剤併用投与によりその効果は减弱し, HTHQ で最も強い抑制作用が認められた。肝臓の DNA における

8-OHdG レベル, malondialdehyde, 4-hydroxyalkenals のレベルは群間に差を認めなかった。これらの結果より, MeIQx に対する抗変異原性作用と抗酸化作用は発がん抑制作用とパラレルであり, HTHQ は, 最も強い抗腫瘍効果を示した。しかし, 酸化ストレスおよび抗酸化作用はそれぞれ MeIQx 誘発肝発がんとその抑制には関連しないものと考えられた。

Keywords: antimutagenesis, antioxidant, rat hepatocarcinogenesis

*1 名古屋市立大学医学部

*2 (株)日本ハイボックス

Mizoguchi, Y.*1, Hirose, M., Yamaguchi, T.*1, Boonyaphiphat, P.*1, Miki, T.*2, Shirai, T.*1: Dose dependence of 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone promotion of forestomach carcinogenesis in rats pretreated with N-ethylnitrosourea *Jpn. J. Cancer Res.*, 89, 475-480 (1998)

雄 F344 ラットを用いた ENUR 誘発前胃/舌発がんに対するポストイニシエーション時期における HTHQ の用量依存性の修飾作用を検索した。ENUR の 4 週間にわたる飲水投与後, HTHQ を 1%, 0.5%, 0.25% もしくは 0.125% の割合で 36 週間にわたり混餌投与した。すべての動物は 40 週目に屠殺した。舌の乳頭状過形成および乳頭腫は 0.125~0.5% の HTHQ 群で増加したが, 最高用量である 0.5% HTHQ では効果を認めなかった。BrdU 標識率も同様の結果を示した。前胃の乳頭腫および扁平上皮がんは ENUR イニシエーションに引き続く 0.125% HTHQ 投与群においてのみ有意に増加した。ENUR 前処置なしでは, 乳頭状過形成は 0.125% ~1% HTHQ 投与群においてのみ認められたが, 用量依存性は明らかではなかった。以上の結果から, HTHQ は舌および前胃発がんに対して非常に弱い発がんプロモーション作用を有することが示唆され, 閾値の上限と下限の存在することが明らかとなった。

Keywords: rat forestomach carcinogenesis, antioxidant, dose-dependence

*1 名古屋市立大学医学部

*2 (株)日本ハイボックス

Kato, T.*1, Hirose, M., Takahashi, S.*1, Hasegawa, R.*1, Kohno, T.*2, Nishibe, S.*3, Kato, K.*1, Shirai, T.*1: Effects of the lignan, arctiin, on 17- β ethinyl estradiol promotion of preneoplastic liver cell foci development in rats *Anticancer Res.*, 18, 1053-1058 (1998)

ラット肝中期発がんバイオアッセイ法を用いて 17- β ethinyl estradiol (EE) と 2-acetylaminofluorene (2-AAF) に対する, 抗エストロゲン作用をもつリグナンである arctiin の抗プロモーション作用を GST-P 陽性細胞巢の解析により検討した。雄 F344 ラットを DEN 処置後, 2 週目より arctiin (1%), EE (1.5 ppm ないし 5 ppm), 2AAF (20 ppm), arctiin+EE (1.5 ppm ないし 5 ppm), arctiin+2AAF (20 ppm) を 6 週間にわたり混餌投与した。肝部分切除は 3 週目に行った。その結果, EE と 2AAF は GST-P 陽性細胞巢の活性を増加させ, arctiin による抗プロモーション作用は 2AAF のみに認められた。これらの結果から, arctiin はラット肝発がんに対して弱い抑制作用を有することが示された。

Keywords: arctiin (lignan), 17-B ethinyl estradiol, rat hepatocarcinogenesis

*1 名古屋市立大学医学部

*2 (株)明治乳業

*3 東日本学園大学薬学部

Takahashi, S.*1, Tamano, S.*2, Hirose, M., Kimoto, N.*1,

Ikeda, Y.*¹, Sakakibara, M.*¹, Tada, M.*³, Kadlubar, F. F.*⁴, Ito, N.*¹, Shirai, T.*¹: **Immunohistochemical demonstration of carcinogen-DNA adducts in tissues of rats given 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP): detection in paraffin-embedded sections and tissue distribution**

Cancer Res., **58**, 4307-4313 (1998)

抗 PhIP-DNA adduct ポリクローナル抗体を作製し、パラフィン包埋切片における免疫組織学的な検出法の検討を行った。この抗体の特異性は competitive ELISA によって確認した。陽性シグナルは、PhIP 単回投与後、1, 2, 7 日目における F344 ラットのアセトン固定材料において検出されたが、ホルマリン固定材料においては検出されなかった。この陽性シグナルは、ほとんどすべての臓器で用量依存性に認められた。また adduct の消失によって判断される修復活性は、臓器ないしは細胞のタイプによって異なっていた。これらの結果より、この抗体は、パラフィン包埋切片において PhIP の標的となる細胞の検出に有効であり、PhIP による発がんメカニズムの研究に有用であると考えられた。

Keywords: PhIP, antibody development, carcinogen-DNA adducts

*¹ 名古屋市立大学医学部

*² 大雄会医科学研究所

*³ 愛知淑徳大学

*⁴ Office of Reseach, National Center for Toxicological Reseach, U.S.A.

Shibutani, M., Lazarovici, P.*¹, Johnson, A.J.*², Katagiri, Y.*¹, Guroff, G.*¹: **Transcriptional down-regulation of epidermal growth factor receptor by nerve growth factor in PC12 cells**

J. Biol. Chem., **273**, 6878-6884 (1998)

PC12 細胞の NGF 神経分化過程に生じる EGFR (EGFR) の慢性的な down-regulation の分子制御機構を検索した。まず PC12 細胞を NGF 刺激し、EGFR の蛋白質量の経時的变化を Western blotting にて、mRNA 量の変化を Northern blotting と Competitive RT-PCR にて検索した。蛋白質量は mRNA 量に対応して慢性的に減少し、無処置対照と比較し、刺激 5 日目で蛋白で 67%, mRNA で 85% 減少した。ActinomycinD 処置後の EGFR mRNA の半減期を比較した結果、NGF 刺激の有無で RNA stability に差が無く、更に核 Run-on assay により NGF 刺激 5 日後で EGFR 転写量が 56% 減少した。NGF 刺激 5 日後の細胞に EGFR 遺伝子プロモーター領域の transfection 後、Reporter gene assay によるプロモーター活性と、RNA template-specific PCR による実際の転写産物量を測定した結果、両者の著しい低下を認めた。p140^{nk} を欠損した PC12 nnr5 mutant での NGF 刺激は、EGFR の蛋白質及び mRNA 量、EGFR プロモーター活性に影響を与えなかった。同様に Dominant-negative (DN) Ras 及び DN Src 細胞でも、NGF 刺激により EGFR 蛋白質量は低下しなかった。EGFR の転写抑制因子である GCF2 は、PC12 細胞で NGF 刺激により経時的にその発現が増加したが、nnr5, DN Ras 及び DN Src 細胞では増加しなかった。以上より、NGF による EGFR の down-regulation は転写レベルで制御され、それは p140^{nk}, Ras, Src 依存性であった。更にその転写抑制には GCF2 の関与が示唆された。

Keywords: nerve growth factor, EGF receptor, transcriptional down-regulation

*¹ NIH/NICHD

*² NIH/NCI/DBS

Uneyama, C., Uneyama, H*., Akaike, N*., and Takahashi, M.: **Cyclic GMP inhibits cytoplasmic Ca²⁺ oscillation by increasing Ca²⁺-ATPase activity in rat megakaryocytes**

Eur. J. Pharmacol., **347**, 355-361 (1998)

ラット巨核球のプリン受容体刺激誘発性の細胞質カルシウムオシレーションに対する cGMP の影響をホールセルパッチクランプ法により調べた。ATP 誘発性の K⁺電流オシレーションはニトロプルシドナトリウムや 8-Br-cGMP で抑制され、その抑制は環状ヌクレオチド依存性キナーゼ阻害剤 H-8 で阻害された。またニトロプルシドナトリウムは IP3 誘発性の K⁺電流オシレーションに対しても抑制効果を示したが、Ca²⁺-ATPase 阻害剤存在下では抑制作用は見られなかった。従って cGMP は Ca²⁺-ATPase 活性を増強することでカルシウムオシレーションを抑制すると考えられる。

Keywords: cGMP, Ca²⁺ oscillation, megakaryocyte

* 九州大学医学部

西川秋佳, 古川文夫, 高橋道人, 広瀬雅雄: **胃発がん修飾要因の探索に関する実験的検討**

消化器癌の発生と進展, **10**, 207-210 (1998)

MNNG を発がんのイニシエーターとしてラットに一定期間投与し、同時に塩化ナトリウムを混餌投与すると胃がんの発生が増加することを明らかにしてきた。今回、それを利用した二段階胃発がんモデルを用いて、胃がん発生の修飾要因を探索した成績を総括した。有意な促進影響を及ぼした物質は、プロモーション相では formaldehyde, potassium metabisulfite, glyoxal, methylglyoxal, potassium chloride, ethoxyquin, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-2(5H)-furanone (MX) などであり、イニシエーション相では cysteamine hydrochloride であった。一方、有意な抑制影響を示した物質は、プロモーション相では calcium chloride, caffeine, 24R,25-vitamin D3 などであり、イニシエーション相では oltipraz であった。

Keywords: gastric carcinogenesis, modifying factor, rat

Furukawa, F., Nishikawa, A., Imazawa, T., Kasahara, K., and Takahashi, M.: **Enhancing effects of quinacrine on development of hepatopancreatic lesions in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters**

Jpn. J. Cancer Res., **89**, 131-136 (1998)

Quinacrine (QC) は合成マラリア剤として用いられたアクリジン誘導体の化合物であり、肝臓をはじめとして膵臓等に強い親和性を示し、長期間の蓄積は脂質症を誘発する。我々はハムスターの N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) による発癌モデルを用いて腫瘍の発生に対する QC の影響を検討した。5 週齢のハムスターに 10mg/kg の BOP を週 3 回皮下投与し、その後 300ppm, 100ppm および 0ppm を粉末基本飼料に混じり投与した。実験は 40 週後に終了した。膵管癌および異形成は有意に増加し、肝細胞腺腫も有意に増加した。肝内胆管、肺および腎臓の腫瘍性病変の増加は認められなかった。

Keywords: quinacrine, hamster, BOP-induced pancreatic carcinogenesis

Nishikawa, A., Tanakamaru, Z.*¹, Furukawa, F., Lee, I. S.*², Kasahara, K., Ikezaki, S.*¹ and Takahashi, M.: **Chemopreventive activity of oltipraz against induction of glandular stomach carcinogenesis in rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine**

Carcinogenesis, **19**, 365-368 (1998)

ラット二段階胃発癌モデルのイニシエーション期に

oltipraz を投与して腫瘍発生に対する影響を検討した。6週齢の雄 Wistar ラットに、第1~3群には10週間100ppm MNNG を飲水投与し、また実験開始12週間後まで第1群には0.04%、第2群には0.02%の oltipraz 混餌飼料、第3群には基本食のみを与えた。実験開始80週間後には実験は終了した。第1群における幽門部腺癌発生率および異型の粘膜上皮過形成の多発性が第3群に比べて有意に抑制された。さらに短期試験で oltipraz は MNNG 投与後のラット胃粘膜の細胞増殖活性を減少させ、glutathione レベルを上昇させた。oltipraz はラット MNNG 投与による胃粘膜増殖病変の誘発を抑制することが示された。

Keywords: oltipraz, stomach carcinogenesis, rat

*1 岐阜大学医学部

*2 Department of Food Sciences & Technology, Keimyung University

Hori, T.*1, Wanibuchi, H.*1, Yano, Y.*2, Otani, S.*2, Nishikawa, A., Osugi, H.*3, Kinoshita, H.*3 and Fukushima, S.*1: **Epithelial cell proliferation in the digestive tract induced by space restriction and water-immersion stress** *Cancer Lett.*, **125**, 141-148 (1998)

消化管、特に食道、胃および十二指腸の上皮細胞増殖における水浸拘束ストレスの影響を8週齢のSD雄ラットを用いて検討した。組織学的検索により、腺胃の胃底部粘膜に出血巣が認められ、有意な BrdU 標識率の増加を伴っていた。生化学的検索により、胃底部において polyamine 合成の律速酵素である ODC と SAT の活性増加が認められた。また、ストレスにより、腺胃粘膜において c-fos, c-jun および c-myc の mRNA レベルでの発現が著明に増加する可能性が示された。一方、食道には顕著な変化を認めなかった。これらの成績から、水浸拘束ストレスは胃発がんの促進に関連する可能性がある。

Keywords: space restriction, water-immersion stress, cell proliferation

*1 大阪市立大学医学部 病理学教室

*2 大阪市立大学医学部 生化学教室

*3 大阪市立大学医学部 外科学教室

Watanabe, M., Nishino, T., Takio, K.*1, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Purification and characterization of wild-type and mutant "classical" nitroreductases of *Salmonella typhimurium***

J. Biol. Chem., **273**, 23922-23928 (1998)

S. typhimurium のニトロ還元酵素 (NR) はフラビンを含む酵素であり、*Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* の NR, *Vibrio fischeri* の oxidoreductase, *Thermus thermophilus* の NADH oxidase と共通の構造を有している。*S. typhimurium* TA1535NR 株の NR 遺伝子上の変異部位を同定し、T から G への transversion により 33 番目のロイシンがアルギニンに変異しているものと推定した。この変異 NR は標準的な測定条件下では活性を示さず、限外濾過により簡単に FMN を失った。ロイシン 33 からアルギニンへの変異が NR の FMN 結合能に及ぼす影響に関して考察した。

Keywords: classical nitroreductase, flavin mononucleotide, metabolic activation

* 理化学研究所

Espinosa-Aguirre, J. J.*1, Yamada, M., Matsui, K., Watanabe, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **New *O*-acetyltransferase-deficient Ames *Salmonella* strains generated by specific gene disruption**

Mutat. Res., **439**, 159-169 (1999)

O-アセチル転移酵素 (OAT) は、ニトロアレーンや芳香族アミン由来の *N*-ヒドロキシアリアルアミンの代謝活性化に関わる酵素である。*oat* 遺伝子を特異的に破壊したエームス試験菌株を作製し、既存の *oat* 欠損株 (TA100/1,8-DNP, TA98/1,8-DNP₆) と感受性を比較した。YG7126 株と YG7130 株は、1,8-ジニトロピレン (1,8-DNP), 1-ニトロピレン, Glu-P-1, IQ に対し既存の *oat* 欠損株とほぼ同様の感受性を示した。既存の *oat* 欠損株は変異原処理により得られた菌株であるが、この結果から変異原の活性化に関しては *oat* 遺伝子のみが欠損しているものと考えられる。一方、2-ニトロフルオレン (2-NF) に対する YG7126 株と YG7130 株の感受性は、親株と既存の *oat* 欠損株との中間の値を示した。*cat* 遺伝子を含むプラスミドを既存の *oat* 欠損株に導入し、2-NF に対する感受性を調べると、プラスミド導入株が 3~10 倍高い感受性を示した。この結果から、クロラムフェニコールアセチル転移酵素が 2-NF の活性化に関与することが示唆された。

Keywords: acetyltransferase, nitroarene, aromatic amine

* メキシコ大学生物医学研究所

Yoshida, T.*1, Kim, S.-R. and Komano, T.*1: **Twelve *pil* genes are required for biogenesis of the R64 thin pilus**

J. Bacteriol., **181**, 2038-2043 (1999)

Inc11 プラスミド R64 は、太細 2 種類の性線毛を産生する。IV 型線毛に分類される細線毛は、液内接合伝達にのみ必要とされる。R64 の細線毛の形成に必要とされる DNA 領域内には *pilI* から *pilV* までの 14 個の遺伝子が発見された。本研究では、R64 細線毛形成における各遺伝子の必要性を調べるため、14 個の *pil* 遺伝子それぞれにフレームシフト型突然変異を導入した。細線毛の菌対外への分泌と液内接合における伝達頻度の解析により、*pilK* から *pilV* までの 12 個の遺伝子が細線毛の形成に必要とされることを明らかにした。また、相補性試験により、今回導入した変異が下流の遺伝子の発現に影響を及ぼさないことを確認した。この領域の上流に位置する *traBC* 遺伝子が *pil* 遺伝子群の発現に必要とされることはすでに示した。加えて、下流の *rci* 遺伝子はシャフロンでの DNA 再編成を引き起こすことにより、細線毛の構造と機能の変換に寄与している。これらのことから、*traBC* と *pilK* から *pilV*, *rci* の 15 の遺伝子が R64 の細線毛の形成とその働きに必要とされる。

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

* 東京都立大学理学部

Kohno, T.*1, Shinmura, K.*1,*2, Tosaka, M.*1, Tani, M.*1, Kim, S.-R., Sugimura, H.*2, Nohmi, T., Kasai, H.*3 and Yokota, J.*1: **Genetic polymorphisms and alternative splicing of the *hOGG1* gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA**

Oncogene, **16**, 3219-3225 (1998)

hOGG1 遺伝子は、損傷 DNA から 8-ヒドロキシグアニンを切り出す DNA グリコシラーゼをコードしている。*hOGG1* の遺伝子構造とその転写産物の解析を正常細胞と肺ガン細胞を用いて行った。コドン 326 での遺伝的多型により、*hOGG1*-Ser³²⁶ と *hOGG1*-Cys³²⁶ タンパクがヒト細胞内で作られていた。大腸菌の 8-ヒドロキシグアニン修復欠損株を用いた相補試験により、8-ヒドロキシグアニンに対する修復活性は、*hOGG1*-Ser³²⁶ タンパクが *hOGG1*-Cys³²⁶ タンパクより高かった。*hOGG1* 転写産物は、スプライシングの相違によって異なる *hOGG1* タンパクをコードする 2 つのアイソフォームが作られていた。一方は核移行シグナ

ルと思われる配列を持っていたが、他方は持っていなかった。hOGG1 座位での LOH は肺ガン細胞で高頻度 (15/23, 62.2%) に観察され、培養細胞株の一つである NCI-H526 は、短い hOGG1 をコードする転写産物の形成をもたらす変異を持っていた。しかし、核 DNA の 8-ヒドロキシグアニンのレベルは、肺ガン細胞株と発現している hOGG1 のタイプの関係ない白血球細胞間で差が無かった。これらの結果は、8-ヒドロキシグアニンのレベルは、hOGG1 遺伝子の遺伝的多型や突然変異、スプライシングの相違によって多様な hOGG1 タンパクが作られたとしても安定したレベルで維持されていることを示す。

Keywords: hOGG1 gene, genetic polymorphism, alternative splicing

*1 国立がんセンター研究所

*2 浜松医科大学

*3 産業医科大学

Hayashi, M., Ueda, T.*1, Uyeno, K.*2, Wada, K.*3, Kinac, K.*4, Saotome, K.*5, Tanaka, N.*6, Takai, A.*7, Sasaki, Y. F.*8, Asano, N.*9, Sofuni, T. and Ojima, Y.*10: **Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms** *Mutat. Res.*, **399**, 125-133 (1998)

水生生物を用いた遺伝毒性試験を行い水質汚染のモニタリングを行う試験系の確立を目的とした共同研究の報告書である。主に、魚類の末梢血を用いた小核試験と、タイリクバラタナゴの初期発生胚を用いた染色体異常試験に関する手法について共同研究の成果をまとめた。また、予備的検討として実際の環境水に適用した場合の試験結果についても考察した。

Keywords: genotoxicity assay, aquatic organisms, water pollution

*1 宇都宮大学教育学部

*2 近畿大学農学部

*3 国立養殖研究所遺伝育種

*4 静岡県立大学食品栄養科学部

*5 横浜市立衛生研究所

*6 食品薬品安全センター秦野研究所

*7 大阪信愛女学院短期大学

*8 八戸工業高等専門学校

*9 日東電工(株)安全性試験センター

*10 日本魚類生物学研究所

谷所達幸*, 八木利仁*, 岩崎浩一*, 下位香代子*, 木苗直秀*, 林 真, 祖父尼俊雄: **魚類の小核試験を用いる沿岸水域の汚染モニタリング**

環境変異原研究, **20**, 1-9 (1998)

静岡県清水港, 用宗港, および大井川港で採取した小型魚類について、末梢血とエラ細胞を用いて小核試験を実施し、試験方法に検討を加えると同時に汚染度の比較を試みた。エラ細胞を用いることにより末梢血を用いた場合より高感度に汚染が検出できることが判明した。

Keywords: water pollution, micronucleus assay, genotoxicity

* 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科

Asano, N.*1, Katsuma, Y.*2, Tamura, H.*3, Higashikuni, N.*4 and Hayashi, M.: **An automated new technique for scoring the rodent micronucleus assay: computerized image analysis of acridine orange supravital stained peripheral blood cells**

Mutat. Res., **404**, 149-154 (1998)

イメージアナライザーを用い、げっ歯類を用いる小核試

験の自動化に関する共同研究のバリデーション研究に関する報告。数種類のモデル化学物質についてマウスを用いる小核試験を実施し、アクリジンオレンジ超生体染色標本を蛍光顕微鏡とイメージアナライザーを用いて解析し、両手法の結果を比較したところ、よく一致することが判明した。

Keywords: micronucleus assay, image analysis, acridine orange supravital staining

*1 日東電工(株)安全性試験センター

*2 東洋紡績株式会社

*3 日本新薬株式会社

*4 伊藤ハム株式会社

Adler, I.-D.*1, Bootman, J.*2, Favor, J.*1, Hook, G.*3, Schriever-Schwemmer, G.*1, Welzl, G.*1, Whorton, E.*4, Yoshimura, I.*5 and Hayashi, M.: **Recommendations for statistical designs of in vivo mutagenicity tests with regard to subsequent statistical analysis**

Mutat. Res., **417**, 19-30 (1998)

In vivo 変異原性試験結果の評価のための統計学的手法の統一化を目的とした国際ワークショップの報告。小核試験、骨髄を用いる染色体異常試験、生殖細胞を用いる染色体異常試験、優性致死試験結果の統計学的评价法についての指針を示した。今後、この分野での評価について検討を加える場合のたたき台となることが期待される。

Keywords: in vivo mutagenicity test, statistical design, data evaluation

*1 GSF-National Research Center for Environmental and Health, Germany

*2 Pharmaco-LSR, UK

*3 National Institute of Environmental Health Sciences, USA

*4 University of Texas Medical Branch, USA

*5 東京理科大学

Morita, T.* and Hayashi, M.: **1,4-Dioxane is not mutagenic in five in vitro assays and mouse peripheral blood micronucleus assay, but is in mouse liver micronucleus assay**

Environ. Mol. Mutagen., **32**, 269-280 (1998)

1,4-Dioxane について 5 種類の in vitro 試験と 2 種類の in vivo 試験を行い、遺伝毒性について総合的に検討した。その結果 5 種類の in vitro 試験の全てとマウスの末梢血を用いる小核試験で陰性の結果が得られたが、マウスの再生肝細胞を用いた小核試験において陽性の結果が得られた。この陽性反応は非常に高用量でのみ観察されたものであり、腫瘍形成とは直接関係のないものと考えられる。

Keywords: 1,4-Dioxane, genotoxicity, mouse liver micronucleus assay

* 日本グラクソ(株)筑波研究所

Miyamae, Y.*1, Yamamoto, M.*1, Sasaki, Y. F.*2, Kobayashi, H.*3, Igarashi-Soga, M.*4, Shimoi, K.*5 and Hayashi, M.: **Evaluation of a tissue homogenization technique that isolates nuclei for the in vivo single cell gel electrophoresis (comet) assay: a collaborative study by five laboratories**

Mutat. Res., **418**, 131-140 (1998)

DNA 損傷性を検出する試験法として単細胞ゲル電気泳動法(コメット法)が用いられるようになってきた。この手法を in vivo の評価系として確立するために行った共同研究の成果をまとめたものである。処理した動物の肝臓、腎臓、脾臓、肺および骨髄細胞に対してコメット法の実験条件に検討を加え、モデル化学物質について評価を行った。

Keywords: single cell gel electrophoresis assay, comet assay, DNA damage

- *1 藤沢薬品(株)安全性研究所
- *2 八戸工業高等専門学校
- *3 資生堂株式会社
- *4 第一製薬株式会社
- *5 静岡県立大学食品栄養科学部

Ohno, T.*¹, Asakura, M.*², Awogi, T.*³, Futamura, Y.*⁴ and Hayashi, M. *et al.*: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-I. Overview of the study and analyses of variations of ED50 values

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 1-38 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーション共同研究の結果をまとめたものである。コロニー形成法、クリスタルバイオレット染色法、乳酸脱水素酵素湧出法(LDH法)、ニュートラルレッド取り込み法およびMTT法について49機関が参加して行われ、機関間のばらつき等について検討した。

Keywords: alternatives, cytotoxicity assay, collaborative study

- *1 理化学研究所
- *2 日本バイオアッセイ研究センター
- *3 大塚製薬(株)徳島研究所
- *4 東邦大学医学部
- 他 44 機関

Omori, T.*¹, Saijo, K.*², Kato, M.*², Itagaki, H.*³, Hayashi, M., Miyazaki, S.*², Ohno, T.*², Sugawara, H.*², Teramoto, N.*², Tanaka, N.*⁴, Wakuri, S.*⁴ and Yoshimura, I.*¹: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-II. Statistical analysis

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 39-58 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーション共同研究の結果を評価するに当たり、50%影響濃度(ED50)を正確に求めるために開発した統計学的手法に関する論文である。本プログラムはSASで書かれており、現在市販されている。

Keywords: alternatives, inter-laboratory validation, non-linear least squares method

- *1 東京理科大学
- *2 理化学研究所
- *3 資生堂株式会社
- *4 食品薬品安全センター秦野研究所

Omori, T.*¹, Saijo, K.*², Kato, M.*², Itagaki, H.*³, Hayashi, M., Miyazaki, S.*², Ohno, T.*², Sugawara, H.*², Teramoto, N.*², Tanaka, N.*⁴, Wakuri, S.*⁴ and Yoshimura, I.*¹: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-III. Quality of collected data files

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 59-73 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーション共同研究の結果を評価するに当たり、各参加機関から集めたデータの質を評価した論文である。実際の評価に先立ち、質の評価手法に関する検討がなされた。

Keywords: alternatives, cytotoxicity assay, quality of data

- *1 東京理科大学
- *2 理化学研究所
- *3 資生堂株式会社
- *4 食品薬品安全センター秦野研究所

Tanaka, N.*¹, Asakura, M.*², Hattori, C.*³, Hayasaka, A.*⁴ and Hayashi, M. *et al.*: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-IV. Details of the colony formation assay

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 74-86 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーションの内、コロニー形成法に関する共同研究の結果をまとめたものである。27機関が参加してHeLa S3とBALB/3T3 A31-1-1細胞を用い、6種類のモデル化合物について研究が行われた。

Keywords: alternatives, colony formation assay, inter-laboratory validation

*1 食品薬品安全センター秦野研究所

*2 日本バイオアッセイ研究センター

*3 第一製薬株式会社

*4 中外製薬株式会社

他 22 機関

Itagaki, H.*¹, Ohno, T.*², Hatao, M.*¹, Hayasaka, A.*³ and Hayashi, M. *et al.*: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-V. Details of the crystal violet staining assay

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 87-98 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーションの内、クリスタルバイオレット染色法に関する共同研究の結果をまとめたものである。18機関が参加してHeLa S3とCHL細胞を用い、6種類のモデル化合物について研究が行われた。

Keywords: alternatives, crystal violet staining assay, inter-laboratory validation

*1 資生堂株式会社

*2 理化学研究所

*3 中外製薬株式会社

他 14 機関

Ohno, T.*¹, Futamura, Y.*², Harihara, A.*³, Hatao, M.*⁴ and Hayashi, M. *et al.*: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-VI. Details of the LDH release assay

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 99-118 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーションの内、乳酸脱水素酵素遊離試験に関する共同研究の結果をまとめたものである。16機関が参加してHeLa S3とSQ-5細胞を用い、6種類のモデル化合物について研究が行われた。

Keywords: alternatives, LDH release assay, inter-laboratory validation

*1 理化学研究所

*2 持田製薬株式会社

*3 塩野義製薬株式会社

*4 資生堂株式会社

他 11 機関

Itagaki, H.*¹, Ohno, T.*², Hatao, M.*¹, Hattori, C.*³, Hayasaka, H.*⁴ and Hayashi, M., *et al.*: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-VII. Details of the MTT assay

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 119-130 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーションの内、MTT試験に関する共同研究の結果をまとめたものである。22機関が参加してHeLa S3とSQ-5細胞を用い、6種類のモデル化合物について研究が行われた。

Keywords: alternatives, MTT assay, inter-laboratory validation

- *1 資生堂株式会社
- *2 理化学研究所
- *3 第一製薬株式会社
- *4 中外製薬株式会社
- 他 17 機関

Ohno, T.*¹, Futamura, Y.*², Harihara, A.*³, Hatao, M.*⁴, Hayasaka, A.*⁵ and Hayashi, M. *et al.*: Validation study on five cytotoxicity assays by JSAAE-VIII. Details of the neutral red uptake assay

Altern. Animal Test. Experiment., 5, 131-145 (1998)

日本代替法学会が主催して行った5種類の細胞毒性試験に関する大規模バリデーションの内、ニュートラルレッド取込試験に関する共同研究の結果をまとめたものである。26機関が参加してHeLa S3とNRCE細胞を用い、6種類のモデル化合物について研究が行われた。

Keywords: alternatives, neutral red uptake assay, inter-laboratory validation

- *1 理化学研究所
- *2 持田製薬株式会社
- *3 塩野義製薬株式会社
- *4 資生堂株式会社
- *5 中外製薬株式会社
- 他 20 機関

Matsuoka, A., Hayashi, M. and Sofuni, T.: In vitro clastogenicity of 19 organic chemicals found in contaminated water and 7 structurally related chemicals

Environ. Mutagen Res., 20, 159-165 (1998)

水質汚染物質として報告されている19種の有機化学物質とそれらの構造類似体7種について培養細胞CHLを用いる染色体異常試験を行った。マウスS9存在下、および非存在下について実施した。その結果、全26種のうち9物質が陽性となった。特に、高頻度の染色体異常を誘発した物質は、1,2-dichloroethane, pentachlorophenol, heptachlor, biphenyl, cyclohexylamineであった。内分泌攪乱物質も3種(DBP, DEHP, methoxychlor)含まれていたが、この方法では陰性に終わった。

Keywords: chromosome aberration test, contaminated water, endocrine disrupters

Matsuoka, A., Matsuura, K., Sakamoto, H., Hayashi, M. and Sofuni, T.: Spindle disturbances induced by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in a Chinese hamster cell line (V79-MZ) and the stability of the numerical chromosome aberrations that follow

Mutat. Res., 419, 1-12 (1998)

Benzo[a]pyren(BP)および7, 12-dimethylbenz[a]anthracene(DMBA)がチャイニーズハムスター細胞株, V79-MZで染色体の数の異常を誘発する事をこれまでに報告した。今回は、紡錘体染色を行い、その作用機構の解析を行った。その結果、BPは不完全な紡錘体を形成し、結果として異数性を誘発し、DMBAは紡錘体の形成を阻害し、結果として倍数性を誘発することが判明した。

Keywords: numerical chromosome aberrations, benzo[a]pyrene, spindle disturbances

Hayashi, M., Honma, M. and Sofuni, T.: Dilution series for test chemicals in the mouse lymphoma mutation assay

Mutat. Res., 415, 165-166 (1998)

マウスリンフォーマ試験(MLA)においては用量設定が重要である。これは、最高用量における細胞の生存率が10~20%に入る必要があるためである。しかし、現実的にはこの範囲に最高用量を設定することが困難である場合が多い。我々は、必ずしもこの範囲に最高用量が入らなくとも10%以下の生存率を示す用量があり、それが陰性を示せば、その1/2の用量を最高用量にすることができることを提案する。この用量設定方法は現実的であり、また過去のデータにもよく適応した。

Keywords: mouse lymphoma assay (MLA), dose-finding, cytotoxicity

Honma, M., Hayashi, M., Shimada, Y.*¹, Tanaka, N.*², Wakuri, S.*², Awogi, T.*³, Yamamoto, K. I.*⁴, Kodani, N.-U.*⁴, Nishi, Y.*⁵, Nakadate, M. and Sofuni, T.: Evaluation of the mouse lymphoma tk assay (microwell method) as an alternative to the in vitro chromosomal aberration test

Mutagenesis, 14, 5-22 (1999)

マウスリンフォーマ試験(MLA)が染色体異常試験の代替となりうるかを検討する国際共同研究を行った。染色体異常試験陽性の34化合物についてマイクロウェル法のMLAを実施したところ、陽性と判定されたものは20化合物にとどまり、14/34(41%)はMLAでは検出できないことがわかった。MLAの低い検出力はそのプロトコルに問題があることが指摘され、この問題を解決することによりMLAは染色体異常試験と同程度の検出力を持つ可能性が示唆された。

Keywords: mouse lymphoma assay (MLA), chromosome aberration test, clastogenicity

- *1 第一製薬株式会社
- *2 食品薬品安全センター秦野研究所
- *3 大塚製薬(株)徳島研究所
- *4 武田薬品工業株式会社
- *5 日本たばこ産業株式会社

Honma, M., Zhang, L.-S., Sakamoto, H., Ozaki, M., Takeshita, K., Momose, M., Hayashi, M. and Sofuni, T.: The need for long-term treatment in the mouse lymphoma assay

Mutagenesis, 14, 23-29 (1999)

マウスリンフォーマ試験(MLA)は多くの変異原物質を検出できる遺伝毒性試験として利用されているが、我々の共同研究の結果では41%の染色体異常誘発物質を検出できないことがわかった。この検出力の低さは短時間処理(3時間)のみで試験を行うプロトコルに起因すると考え、染色体異常試験と同様に、長時間処理(24時間)のプロトコルを検討した。共同研究において短時間のMLAで検出できなかった15化合物について24時間処理のMLAを実施したところその12化合物が陽性を示した。これら化合物には、核酸アナログ, spindle poisonなど、細胞周期に依存して間接的に突然変異や染色体異常をもたらすものが多く含まれる。MLAは長時間処理を導入することにより染色体異常と同程度の検出力を持つものと考えられる。

Keywords: mouse lymphoma assay (MLA), protocol, continuous treatment

Kohara, A., Shimizu, N.* and Kawazoe, Y.*: Cytotoxic factor induced in murine serum after intravenous administration of a dehydrogenation polymer of p-coumaric acid (a synthetic lignin)

Biol. Pharm. Bull., 21, 1098-1101 (1998)

p-クマル酸の脱水素重合体(DHP-pCA)をマウスに静脈

内投与することにより、その血清中に哺乳動物培養細胞に対して細胞傷害活性を持つ因子が誘導される。その細胞傷害活性は血清中よりエタノールによって抽出され、エタノール上清分画 (EtOH-sup) に保存される。陰性対照群より調製した EtOH-sup にも、このような細胞傷害活性を持つ因子が存在するが、その量は極めて微量である。この細胞傷害性因子の活性はアルカリ処理に対しては安定であるが、酸性条件下 90 °C で 30 分間熱処理することで失活する。さらにタンパク質分解酵素による処理に対しても安定で、タンパク質性の因子ではないと考えられる。この EtOH-sup から DHP-pCA 由来物質を分離除去したところ、細胞傷害性因子は DHP-pCA の代謝体などではなく、血清中に内在する因子であることが強く示唆された。

Keywords: lignin, cytotoxic factor

* 名古屋市立大学薬学部

Wakata, A.*¹, Miyamae, Y.*², Sato, S.*³, Suzuki, T., Morita, T.*⁴, Asano, N.*⁵, Awogi, T.*⁶, Kondo, K.*⁷ and Hayashi, M.: **Evaluation of the rat micronucleus test with bone marrow and peripheral blood: Summary of the 9th collaborative study by CSGMT/JEMS・MMS**

Environ. Mol. Mutagen., **32**, 84-100 (1998)

日本環境変異原学会の哺乳動物試験研究会における小核試験研究グループの第9回の共同研究として、34の国内機関と6つの海外機関が参加し、ラット骨髄および末梢血を用いた小核試験の有効性について検討を行った。これまでラットでは、小核を持った赤血球が脾臓で除去されるため末梢血を使った解析は適さないと考えられてきたが、今回40化合物を用いて検討したところ、骨髄での小核試験の結果とよい相関が得られ、その有効性が示された。

Keywords: micronucleus test, rat, peripheral blood

- *¹ 山之内製薬(株)創薬安全性研究所
- *² 藤沢薬品工業(株)安全性研究所
- *³ 日本たばこ産業(株)安全性研究所
- *⁴ 日本グラクソ(株)筑波研究所
- *⁵ 日東電工(株)安全性試験センター
- *⁶ 大塚製薬(株)徳島研究所
- *⁷ 塩野義製薬(株)新薬研究所

Ochiai, M.*, Ishida, K.*, Ushijima, T.*, Suzuki, T., Sofuni, T., Sugimura, T.* and Nagao, M.*: **DNA adduct level induced by 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline in Big BlueTM mice does not correlate with mutagenicity**

Mutagenesis, **13**, 381-384 (1998)

2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ) は魚の焼けこげの中に含まれる変異原物質として知られているが、トランスジェニックマウス (Big Blue) を用いた解析により肝臓、大腸、骨髄などの臓器で遺伝子突然変異を誘発することを既に報告している。今回の報告では各臓器に誘発された DNA 付加体量と *lacI* 遺伝子の突然変異頻度との相関について検討した。MeIQ により誘発された DNA 付加体を ³²P ポストラベル法にて調べて結果、グアニンの C8 位への付加体である N2-(deoxyguanosin-8-yl)MeIQ 5'-monophosphate に相当するスポットがいずれの臓器においても単一スポットとして認められた。混餌投与4週と12週目における DNA 付加体生成量は、肝臓で最も高く、次いで心臓、大腸、前胃、骨髄の順であった。この結果は各臓器での変異頻度の強さとは相関せず、突然変異の誘発には付加体だけでなく、細胞増殖など他の要因も重要であることが示唆された。

Keywords: MeIQ, DNA adduct, ³²P-post-label

* 国立がんセンター研究所

Miyata, Y.*, Saeki, K.*, Kawazoe, Y.*, Hayashi, M., Sofuni, T., Suzuki, T.: **Antimutagenic structural modification of quinoline assessed by an in vivo mutagenesis assay using *lacZ*-transgenic mice**

Mutat. Res., **414**, 165-169 (1998)

キノリンは各種医薬品の基本骨格となっているが、それ自身肝発がん性を有することが知られている。その作用機序を探るとともに、毒性軽減化を目的として、キノリンのフッ素置換効果を、トランスジェニックマウス (MutaTMMouse) を用いた変異原性試験を用いて調べた。その結果、キノリンのベンゼン環側を置換した 5-fluoroquinoline はキノリンと同程度に肝臓での *lacZ* 遺伝子変異頻度を上昇させたが、ピリジン環側をフッ素置換した 3-fluoroquinoline においては、変異原性が消失した。このことは、キノリンの代謝活性化にはピリジン環の酸化 (2,3-epoxy 化) が関与していることを示唆している。またフッ素置換による修飾は、キノリンの遺伝子傷害性を消失させる上で有効であることが示された。

Keywords: quinoline, fluorine-substitution, antimutagenesis

* 名古屋市立大学薬学部

Suzuki, T., Miyata, Y.*, Saeki, K.*, Kawazoe, Y.*, Hayashi, M., Sofuni, T.: **In vivo mutagenesis by the hepatocarcinogen quinoline in the *lacZ* transgenic mouse: evidence for its in vivo genotoxicity**

Mutat. Res., **412**, 161-166 (1998)

肝発がん物質であるキノリンの in vivo での変異原性について、*lacZ* 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスである MutaTMMouse を用いて検討した。その結果、キノリン投与後の各臓器の *lacZ* 変異頻度は、発がん標的臓器である肝臓で4倍程度上昇した。一方、非標的臓器と考えられる肺、腎臓、脾臓などの臓器では変化が認められなかった。この結果から、トランスジェニックマウスを用いた変異原性試験が発がん標的臓器での遺伝子傷害性の検出に有効であることが示されるとともに、キノリンの発がん性には、遺伝子突然変異誘発によるイニシエーション作用も深く関与していることがわかった。

Keywords: quinoline, *lacZ*, mutation

* 名古屋市立大学薬学部

Wang, X., Suzuki, T., Itoh, T., Honma, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Takahashi, M., Hayashi, M., Kato, T.* and Sofuni, T.: **Specific mutational spectrum of dimethylnitrosamine in the *lacI* transgene of Big Blue[®] C57BL/6 mice**

Mutagenesis, **6**, 625-630 (1998)

lacI 遺伝子を標的として組み込んだトランスジェニックマウス (Big Blue) を用いて、肝発がん剤であるジエチルニトロソアミン (DMN) により誘発された突然変異の特徴を、変異体のシーケンス解析により明らかにした。DMN は O⁶-methylguanine 付加体を形成することにより G:C から A:T へのトランジション変異を誘発すると考えられていたが、肝臓、腎臓、肺において誘発された変異体の解析を行った結果、いずれも G:C から A:T の変異が多く見られたものの、それ以外のタイプの変異も認められた。中でも、2-23塩基対の短い欠失型変異が特徴的に見られた。この欠失にはその切断部位に繰り返し配列を持っており、相同配列が欠失の生成に関与すると予想されるが、そのメカニズムについてはさらに検討が必要である。

Keywords: mutation spectrum, dimethylnitrosamine, deletion

* 京都大学放射線生物研究センター

Ishidate, M. Jr.*¹, Miura, K. F.*² and Sofuni, T.: **Chromosome aberration assays in genetic toxicology testing in vitro**
Mutat. Res., **404**, 167-172 (1998)

染色体異常試験が実施された 951 の化学物質について調査を行ったところ、47%が一貫して陽性を示したが、そのうちの 8%は 10mM を超える高用量でのみ陽性を示した。それらのほとんどの化学物質は染色分体型の切断を誘発したが、交換型の異常を示すものも存在した。そこで分裂中期像の 20%に異常が検出される最小用量 (mg/ml) D_{20} 値と交換型の頻度を表す TR 値を用いて、被験化学物質の比較検討を行った。その結果、陽性対照となりうるグループは比較的低い D_{20} 値であるにもかかわらず、高い TR 値を示すことが判明した。

Keywords: chromosome aberration, CHL/IU cell, D_{20} value

* オリンパス光学工業(株)染色体研究センター

Nagao, M.*¹, Fujita, H.*², Ochiai, M.*¹, Wakabayashi, K.*¹, Sofuni, T., Matsushima, T.*², Sugimura, T.*¹ and Ushijima, T.*¹: **No direct correlation between mutant frequencies and cancer incidence induced by MeIQ in various organs of Big Blue[®] mice**

Mutat. Res., **400**, 251-257 (1998)

ヘテロサイクリックアミンである MeIQ の発がん性について、変異原性の解析に用いたトランスジェニックマウス Big Blue で検討を行った。300ppm の MeIQ を飼料に混ぜ、雌マウスに 92 週間投与した結果、42% (8/19) に大腸がんが、68% (13/19) に盲腸のがんが見られた。また、肝細胞がんの発生も 84% (16/19) のマウスに見られた。これに対し、対照群ではいずれのがんの発生も認められなかった。既に報告したように、同じマウスを用いた *lacI* 遺伝子の変異頻度の解析では、大腸において最も高い変異頻度が得られており、肝臓ではその 1/10 程度の頻度であった。また、がんの発生の認められなかった臓器である骨髄や前胃でも変異頻度の上昇が認められたことより、変異頻度の上昇は直接がんの発生とは相関しないことが示唆された。

Keywords: MeIQ, carcinogenesis, *lacI*

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 日本バイオアッセイ研究所

Takahashi, I.*¹, Nobukuni, T.*², Ohmori, H.*³, Kobayashi, M.*², Tanaka, S.*², Ohshima, K.*⁴, Okada, N.*⁴, Masui, T., Hashimoto, K.*¹ and Iwashita, S.*²: **Existence of a bovine LINE repetitive insert that appears in the cDNA of bovine protein BCNT in ruminant, but not in human, genomes**
Gene, **211**, 387-394 (1998)

ウシの GTPase 活性を有する BCNT 遺伝子は、ウシ特有の LINE 反復配列をもちその部分が翻訳されて蛋白質配列に反映している。しかし、ヒトの相同遺伝子に LINE 配列は存在しない。そこで、LINE 配列の起源について検討し、それがヒツジ、ヤギ、シカに存在し、ブタとヒトに存在しないことを明らかにした。

Keywords: repetitive sequence, GTPase, evolution

*¹ 国立感染症研究所

*² 三菱化学生命科学研究所

*³ 京都大学ウイルス研究所

*⁴ 東京工業大学生命理工学部

水沢 博, 田辺秀之, 増井 徹, 高田容子, 樽松美治,

峯岸大輔, 吉田東歩*¹, 佐藤元信*¹, 竹内昌男*¹, 阿部武丸*², 原沢 亮*³: **技術情報「細胞培養系に混入するウシウイルス性下痢ウイルス (BVDV) の RT-PCR 法による検出」**

Tiss. Cult. Res. Commun., **18**, 131-138 (1999)

JCRB 細胞バンクでは、研究資源として培養細胞を配布する立場での品質管理の一環として、ペスティウイルスの 1 種であるウシウイルス性下痢ウイルス (BVDV, Bovine Viral Diarrhea Virus) のネステッド PCR 法による検出法を確立した。これを用いて、8 社 22 ロットのウシ胎児血清を調査したところ 1 ロットを除いた全ての血清から BVDV のゲノム断片が検出された。この結果は必ずしも感染性ウイルスが混入していることを意味するものではないが、少なくとも BVDV ゲノム断片が検出されるウシ血清はかなり広範囲に及んでいるものと思われる。また、ATCC ならびに JCRB 細胞バンクで品質管理を受けている細胞について調査した結果では 20 株中 15 株から BVDV が検出された。

Keywords: BVDV, RT-PCR, virus contamination

*¹ 財団法人発酵研究所

*² 三菱化学(株)中標津製造所

*³ 東京大学医学部附属動物実験施設

van den Berg M*¹, Birnbaum L*², Bosveld ATC*³, Brunstrom B*⁴, Cook P*⁵, Feeley M*⁶, Giesy JP*⁷, Hanberg A*⁸, Hasegawa R, Kennedy SW*⁹, Kubiak T*¹⁰, Larsen JC*¹¹, van Leeuwen FXR*¹², Liem AKD*¹³, Nolt C*¹⁴, Peterson RE*¹⁵, Poellinger L*¹⁶, Safe S*¹⁷, Schrenk D*¹⁸, Tillitt D*¹⁹, Tysklind M*²⁰, Younes M*²¹, Warn F*²², Zacharewski*²³: **Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife**

Environ. Health Perspect., **106**, 775-792 (1998)

本論文は国際化学物質安全計画 (IPCS) 主催の専門家会合でダイオキシン類に関するすべての毒性情報を整理・再評価し、それらの毒性等価係数 (Toxic equivalency factors: TEFs) を決定し、それを公表したものである。TEFs は 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシンの毒性を 1 としたときの値で、6 種の高塩素化ジベンゾダイオキシン、10 種の高塩素化ジベンゾフランおよび 10 種のコプラナー PCB に属する高塩素化ビフェニールについて、それぞれヒト/ほ乳類、魚類および鳥類に対する TEFs が設定された。本論文では、TEFs 設定の経緯、考え方、根拠および混合物への適用法などを詳細に説明している。

Keywords: toxic equivalency factors, dioxins, co-planar PCB

*¹ Research Institute of Toxicology, Utrecht University, Utrecht, Netherlands

*² Experimental Toxicology Division, US Environmental Protection Agency, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Research Triangle Park, NC, USA

*³ Institute for Forestry & Nature research, Department of Ecotoxicology, Wageningen, Netherlands

*⁴ Uppsala University, Department of Environmental Toxicology, Uppsala, Sweden

*⁵ US Environmental Protection Agency, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, MN, USA

*⁶ Toxicological Evaluation Section, Bureau of Chemical Safety, Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada

*⁷ Michigan State University, Department of Fisheries & Wildlife, East Lansing, MI, USA

*⁸ Unit of Toxicology, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

- *9 Environment Canada, Canadian Wildlife Service, National Wildlife Research Centre, Hull, Quebec, Canada
- *10 U.S. Fish and Wildlife Service, Division of Environmental Contaminants, Arlington, VA, USA
- *11 Institute of Toxicology, National Food Agency of Denmark, Ministry of Health, Soborg, Denmark
- *12 European Centre for Environment and Health, Bilthoven Division, World Health Organization, The Netherlands
- *13 Laboratory for Organic-Analytical Chemistry, National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven, Netherlands
- *14 US Environmental Protection Agency, Office of Science Policy, Washington, DC, USA
- *15 University of Wisconsin-Madison, School of Pharmacy, Madison, WI, USA
- *16 Laboratory of Molecular Biology, Dept. of Cellular and Molecular Biology, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden
- *17 Veterinary Physiology and Pharmacology, Texas A&M University, Colleges Station, Texas, USA
- *18 Food Chemistry and Environmental Toxicology, University of Kaiserslautern, Kaiserslautern, Germany
- *19 Midwest Science Center, Dept. of Interior, US Geological Survey, Biological Resource Division, Columbia, Missouri, USA
- *20 Institute of Environmental Chemistry, Umea University, Umea, Sweden
- *21 Programme for the Promotion of Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland
- *22 Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden
- *23 University of Western Ontario, Dept. of Pharmacology and Toxicology, London, Ontario, Canada

奥田秀毅*1, 松尾賢明*1, 外岡弘道*2, 岡田敏史: 一般試験法浸透圧測定法の改正に関する検討
医薬品研究, 29, 904-912 (1998)

日局一般試験法「浸透圧測定法」の改正案作成にあたり、装置の適合性試験を規定すること、標準生理食塩液のオスモル濃度の定数化が可能か判断すること及び 1000 mOsM 以上のオスモル濃度の試料に対する希釈測定のは非につき、結論を出す必要があり、東西の技術委員会の協力を得て 17 施設による共同実験が行われた。

本報告は、この共同実験の結果をまとめたものであり、この実験成績を基に「浸透圧測定法(オスモル濃度測定法)」(案)が最終的にまとめられた。

Keywords: Osmolarity Measurement, Japanese Pharmacopoeia, Revision

- *1 大阪医薬品協会技術研究委員会
*2 東京医薬品工業協会技術委員会

Miyazaki, T., Yomota, C. and Okada S.: Degradation of hyaluronic acid at the metal surface
Colloid Polym. Sci., 276, 388-394 (1998)

以前、回転粘度計を用いた測定中に、ヒアルロン酸分子の切断が引き起こされる現象を報告したが、回転のずり応力を負荷しない場合にも分子量の低下が認められた。粘度計の材質であるステンレスとの接触によってもヒアルロン酸の分解が引き起こされる可能性が示唆されたため、固体状態の金属によるヒアルロン酸の分解について検討を行った。その結果、ステンレスからの金属イオンの溶出は認め

られなかったにもかかわらず、投入したステンレス球の表面積及び接触時間に依存して、ヒアルロン酸は低分子化された。また、タングステンカーバイドとの接触では分子量が低下しなかったこと、銅球の投入によっては著しい分解が引き起こされたこと、ヒドロキシラジカルのスカベンジャーであるマンニトールの添加によってこれらの分解反応が抑制されたことなどから、酸化還元反応を触媒する遷移金属を含む固体金属の表面において、ラジカルを介した反応によりヒアルロン酸が分解されることを見出した。

Keywords: hyaluronic acid, degradation, metal surface

中村邦男*1, 塩田知美*1, 荻野一善*2, 西成勝好*3, 小川悦代*4, 岡本彰夫*5, 窪田健二*6, 平沼正弘*7, 四方田千佳子: ヒアルロン酸の構造と特性の解析による高機能性発現の基礎的研究

酪農学園大学紀要, 第23号, 153-158(1999)

ヒアルロン酸の分子量、溶液中の分子形態に関する浸透圧、光散乱、カ学生理作用に関するレオロジー測定、溶液中の水のダイナミクスと分子間相互作用に関する構造解析・熱測定グループ研究組織を構成し、共通・標準試料の測定により得られた結果を比較検討し、総合的にヒアルロン酸の特性の研究を開始した。

Keywords: hyaluronate, properties, functionality

- *1 酪農学園大学酪農学部食品科学科
*2 千葉工業大学工業化学科
*3 大阪市立大学生活科学部食品栄養学科
*4 昭和学院短期大学
*5 電気化学工業(株)総合研究所
*6 群馬大学工学部生物化学工学科
*7 HOYA ヘルスケア(株)児玉開発研究所

Hamada, Y.*1, Nishimura, C.*2, Koh, N.*1, Sakakibara, F.*1, Nakamura, J.*1, Tanimoto, T. and Hotta, N.*1: Influence of interindividual variability of aldose reductase protein content on polyol-pathway metabolites and redox state in erythrocytes in diabetic patients
Diabetes Care, 21, 1014-1018 (1998)

糖尿病患者におけるポリオール経路に関連する代謝へのアルドース還元酵素(AR)レベルの影響を明らかにする目的で、赤血球中のソルビトール量、フルクトース量、乳酸/ピルビン酸(L/P)比とARレベルとの関連を検討した。ARレベルが平均値以上の患者群でのソルビトール量、フルクトース量、L/P比はARが平均値以下の患者群より有意に上昇していた。また、ARレベルとAR活性、ソルビトール量、フルクトース量、L/P比との間には有意な相関が認められた。これらの結果から、ARレベルは糖尿病患者のポリオール経路の流れや細胞内酸化還元偏異に大きく関与していることが示唆された。

Keywords: aldose reductase, diabetes, polyol pathway

- *1 名古屋大学医学部
*2 京都府立医科大学

斎藤博幸, 岩田美保, 北島 文, 谷本 剛, 岡田敏史, 鎌倉浩之, 川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 横田洋一*1, 津野敏紀*1, 鈴木英世*1, 山岸恭子*2, 白砂勝也*2, 岩嶋浄*2, 松浦敬一*2: 国立医薬品食品衛生研究所ベオニフロリン標準品の新規設定
医薬品研究, 29, 725-729 (1998)

ベオニフロリ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国立医薬品食品衛生研究所ベオニフロリ

ン標準品 (Control 981) とした。1) 比吸光度[E 1 % 1cm(230nm)]: 260±3。2) IR スペクトル: 3414, 1713, 1280 及び 1076 cm⁻¹ に特異吸収を認める。3) 水分: 1.73±0.12%。4) HPLC による純度: 2 個の不純物質ピークを認めるが、各不純物質の量は 0.3% 以下で、全不純物質の量は 0.5% 以下。

Keywords: Paeoniflorin, NIHS Reference standard

*1 富山県薬事研究所

*2 松浦薬業株式会社

Tanimoto, T., Maekawa, K., Okada, S. and Yabe-Nishimura, C.*1: **Clinical analysis of aldose reductase for differential diagnosis of the pathogenesis of diabetic complication**
Anal. Chim. Acta, **365**, 285-292 (1998)

ヒト組織のアルドース還元酵素量 (AR) を測定するための酵素免疫測定法を確立した。本測定法の室内及び室間再現性はそれぞれ 3.7 及び 4.8%, 回収率は 101-106% であり、血中成分や糖尿病治療薬の妨害は認められなかった。本測定法でヒトの各組織内 AR 量を調べたところ、腎臓髄質、末梢神経、水晶体などの糖尿病合併症好発器官に高レベルに存在することが明らかになった。また、末梢神経の AR レベルは赤血球 AR レベルとよく相関した。罹病期間 10 年未満の患者では、神経障害を有する患者の赤血球 AR レベルは合併症を併発していない患者のそれより有意に高値であり、罹病期間の短い患者においては赤血球の AR レベルが神経障害の発症と相関することが明らかになった。このことより、患者の赤血球 AR 量の測定は AR 阻害剤療法の至適化に有用な情報を提供しうることが示唆された。

Keywords: aldose reductase, ELISA, diabetic complication

*1 京都府立医科大学

Arimoto, I.*, Matsumoto, C.*, Tanaka, M.*, Okuhira, K.*, Saito, H. and Handa, T.*: **Surface Composition Regulates Clearance from Plasma and Triolein Lipolysis of Lipid Emulsions**

Lipids, **33**, 773-779 (1998)

レシチンと共にリポ蛋白質の主要な表面脂質であるスフィンゴミエリンとコレステロールのリポ蛋白質代謝における役割を、モデル粒子として脂質エマルジョンを用い、ラット血中動態、アポリポ蛋白質結合性、トリグリセライドリポリシス等から検討した。スフィンゴミエリンは LPL やアポ E の表面結合を阻害することでエマルジョンの血中消失を遅延させたが、コレステロールはアポ C 群によるアポ E レセプター認識阻害効果を弱めることで血中消失を逆に促進した。これらのエマルジョン表面組成と血中動態との関係はリポ蛋白質の体内挙動とよく一致し、スフィンゴミエリンやコレステロール含量が血中リポ蛋白質の代謝に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

Keywords: sphingomyelin, cholesterol, lipolysis

* 京都大学大学院薬学研究所

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

Journal of Health Sciences, **45**, 15 (1998)

7 種の希土類元素即ちイットリウム (Y), セリウム (Ce), プラセオジウム (Pr), ユーロピウム (Eu), ジスプロシウム (Dy), イッテルビウム (Yb) 及びルテチウム (Lu) をラットに静脈内投与し、希土類元素の体内分布、臓器内のカルシウム (Ca) 蓄積作用、肝毒性の発現の違いについて調べた。

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

石光 進, 三島郁子, 辻 澄子, 柴田 正: **食用タール色素試験法への水素化物発生-ICP 発光分析法の応用**
食品衛生学雑誌, **39**, 341-344 (1998)

食用タール色素中のヒ素試験法への水素化物発生-ICP 発光分析法の応用を検討した。ヒ素の検出限界は 0.005 μg/ml であり、0.5 μg/ml までは原点を通る直線性が得られた。三酸化ヒ素として 4 μg/g 添加し添加回収率の検討を行ったところ、回収率は 76.7~101.3% と良好な結果が得られた。市販国産品 67 製品及び外国産品 7 製品の実態調査を行ったところヒ素含有量は 0.43 μg/g が最高で規格値のほぼ十分の一であった。また、国産品と外国産品の比較においてヒ素含量に差異は認められなかった。

Keywords: food coal-tar dyes, arsenic, ICP atomic emission spectrometry

津村ゆかり, 中村優美子, 吉井公彦, 外海泰秀, 肥後真美子*, 柴田 正: **HPLC を用いる農産物中の N-メチルカルバメート系農薬 21 種及びそれらの代謝物 12 種の同時分析**

食品衛生学雑誌, **39**, 357-367 (1998)

N-メチルカルバメート (NMC) 系農薬 21 種及びそれらの代謝物又は異性体 12 種を同時に定量する方法を確立した。ジクロロメタンを使用せず、分析操作中に酸化生成した物質をも検出できる方法とした。試料をアセトン次いで酢酸エチルで抽出し、アセトニトリル/*m*-ヘキササン分配及び Sep-Pak[®] アミノプロピルミニカラムで精製した。NMC はポストカラム反応蛍光検出 HPLC で定量し、添加回収率 (0.1~1 μg/g 添加) は玄米, たまねぎ, りんご等 10 種の穀類, 果実類, 野菜類でブトカルボキシスルホキシドを除き 56.9~108.2 % であった。検出限界は大多数について試料中 0.01 μg/g であった。

Keywords: HPLC, agricultural product, N-methyl carbamate pesticide

* 大阪薬科大学

吉井公彦, 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 柴田 正: **超臨界流体抽出及び HPLC による穀類中 15 種農薬の一斉分析法の検討**

食品衛生学雑誌, **39**, 184-191 (1998)

穀類に使用される農薬 15 種を超臨界流体抽出 (SFE) で抽出後、Extrelut[®] + Sep-Pak[®] C₁₈ で脱脂し、Sep-Pak[®] フロリジルでクリーンアップし、HPLC で測定する一斉分析法を作製した。SFE 装置からの抽出物を Extrelut[®] で補集する方法を考案した。また脂肪の抽出率から SFE の有用性を明らかにした。また脂質を多量に含むとうもろこし等の試料は、ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を併用するのが有効であった。クリーンアップに Sep-Pak[®] フロリジルを使用し、各種農薬を 3 画分に分けて溶出することによって、検体からの農薬の検出を容易にした。また、GC での測定の必要性が生じることも考慮して、最終溶媒をイソプロパノールで調製した。

Keywords: pesticide, super critical fluid extraction, HPLC

吉井公彦, 津村ゆかり, 中村優美子, 石光 進, 外海泰秀, 土屋 鍛*1, 木村実加*2, 関口幸弘*2: **超臨界流体抽出及び GC, HPLC による穀類中残留農薬の多成分一**

斉分析法

食品衛生学雑誌, 40, 68-74 (1999)

穀類に使用される農薬をSFEで一度に抽出し, Extrelut^R + Sep-Pak^RC₁₈で脱脂, GPC及びSep-Pak^Rフロリジルでクリーンアップした後, HPLC (フォトダイオードアレイ検出器及び蛍光検出器付き) 又はGC (FPD, FTD, ECD, MS) で測定する一斉分析法について検討した。また, 本法を輸入小麦及びとうもろこしに適用し, マラチオン, クロルピリホスメチル, フェニトロチオン, シフルトリンがGC及びGC/MSで定量, 確認された。また, HPLCでエトフェンブロックス, ジフェノコナゾール, イプロジオンが検出された。

Keywords: pesticide, super critical fluid extraction, GC

*1 横浜検疫所 輸入食品・検疫検査センター

*2 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

Emma, M., Gebrewold, A.*, Altura, B.T.*, Zhang, A.* and Altura, B.M.*: Alcohol-induced vascular damage of brain is ameliorated by administration of magnesium

Alcohol, 15, 95-103 (1998)

ラット脳表面の細動脈血管に対する magnesium aspartate HCl (MgA) の作用を検討した。局所投与した MgA は雌雄のラットの脳細動脈血管を拡張させ, 細動脈では細静脈に比べて拡張度が大きかった。血管拡張を惹起しない用量の MgA を静脈内又は動脈内投与したところ, エタノール又はバリウムによる細動脈血管収縮を抑制し, エタノールによる脳血管損傷を防御した。エタノール投与後, 脳血管筋細胞の Mg イオンは消失し, Mg イオンの血中レベルは上昇した。これらの結果から, Mg イオンは脳微小血管に対して拡張因子として作用し, 抗収縮作用を有することが示された。また, Mg はエタノールによる脳血管損傷防御作用を有し, エタノールによる脳血管痙攣及び脳血管損傷(脳血管筋細胞からの Mg イオンの急速な消失)に関連していることが示唆された。

Keywords: cerebral arteriole and venule, alcohol, magnesium

* Department of Physiology and Medicine, State University of New York, Health Science Center at Brooklyn

Emma, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Further evaluation of developmental toxicity of di-n-butyl phthalate following administration during late pregnancy in rats

Toxicol. Lett., 98, 87-93 (1998)

dibutyl phthalate (DBP) を妊娠後半に与えたときの発生毒性について検討した。Wistar ラットの妊娠 11 日から妊娠 21 日 (精子発見日=妊娠 0 日) の間に 0.5, 1.0 又は 2.0% の DBP を含む飼料を与え, 妊娠 21 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 DBP 摂取量は 0.5, 1.0 及び 2.0% 投与群でそれぞれ 331, 555 及び 661 mg/kg であった。DBP 投与による着床後の胚死亡率の上昇はみられなかった。2.0% 投与群において雌雄の胎児体重の低下がみられた。2.0% 投与群における口蓋裂及び胸骨核癒合を有する胎児の出現頻度, 1.0 及び 2.0% 投与群における精巣下降不全を有する胎児の出現頻度の上昇が認められた。1.0 及び 2.0% 投与群におけるオス胎児の肛門-生殖器間距離 (AGD) の短縮, 胎児体重に対する AGD 比の低下も認められた。これらのことから, ラットの妊娠後半に与えた DBP はオス胎児の生殖器官に異常を惹起することが明らかになった。

Keywords: dibutyl phthalate, developmental toxicity, Anogenital distance

Emma, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Developmental toxicity of triphenyltin chloride after administration on three consecutive days during organogenesis in rats

Bull. Environ. Contam. Toxicol., 62, 363-370 (1998)

triphenyltin chloride (TPTCI) の発生毒性について検討した。Wistar ラットの妊娠 7-9 日, 妊娠 10-12 日又は妊娠 13-15 日 (精子発見日=妊娠 0 日) に 6.3, 9.4 又は 12.5 mg/kg の TPTCI 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。TPTCI 投与のすべての群で妊娠ラットの体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。妊娠 7-9 日の 6.3 mg/kg 以上の投与群及び妊娠 10-12 日又は妊娠 13-15 日の 9.4 mg/kg 以上の投与群において着床後胚死亡率の上昇が観察された。妊娠 10-12 日の 12.5 mg/kg 投与群及び妊娠 13-15 日の 9.4 mg/kg 以上の投与群において胎児体重の低下が観察された。しかしながら, いずれの TPTCI 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: triphenyltin chloride, developmental toxicity, teratogenicity

Harazono, A., Emma, M. and Kawashima, K.: Evaluation of malnutrition as a cause of tributyltin-induced pregnancy failure in rats

Bull. Environ. Contam. Toxicol., 61, 224-230 (1998)

ラットの妊娠 0-7 日に tributyltin chloride (TBTCI) を 16.3mg/kg 経口投与し, 妊娠 20 日に開腹して胚-胎児に対する影響を調べた。投与期間中に TBTCI 投与群で摂餌量減少及び体重減少がみられたので, 妊娠 0-8 日に飼料摂取量を制限した群をもうけ比較した。妊娠 0-7 日に TBTCI を投与した群の妊娠率は 15.4% となり, 対照群 (100%) 及び飼料制限群 (80%) と比べて有意に低下した。妊娠の成立した母体において, TBTCI 投与群では, 黄体数, 着床数及び生存胎児数に対照群との差はみられなかったが, 飼料制限群では, TBTCI 投与群と異なり着床後死亡率の有意な上昇がみられた。以上のことから, TBTCI を妊娠 0-7 日に投与したときの着床阻害作用は, 飼料摂取量の減少によるものではなく TBTCI による作用であることが明らかになった。

Keywords: tributyltin chloride, pregnancy failure, feed restriction

Mia, M. W., Sakai, E., Minami, M., Nishi, K., Anetai, M.*, Aoyagi, M.*, Hatakeyama, Y. and Shibata, T.: Effect of Plowing Conditions in the Field on Root Growth and Glycosides Contents in Taproots of 1- and 2-year-old Plants of *Astragalus mongholicus* Bunge (Leguminosae)

Natural Medicines, 52(6), 477-484 (1998)

生薬黄耆の基原植物 *Astragalus mongholicus* 1~2 年生根の生育・形状・品質に及ぼす土壌硬度の影響を検討し, 地表から 50 cm 以下の土壌の貫入抵抗値が 12 kg/cm² 以下の膨軟な土壌で栽培すれば, 分枝根の発生が抑制され, 主根が良く発達した形状の生薬生産が可能であることを明らかにした。

Keywords: *Astragalus mongholicus*, tap root growth, soil penetration resistance

* 北海道立衛生研究所

Shibano, M.*¹, Nakao, E.*¹, Matsumoto, Y.*¹, Henmi, A.*¹, Kusano, G.*¹, Shibata, T., Hatakeyama, Y., Hayashi, H.*² and Kinoshita, T.*³: Studies on Index Compounds for HPLC Analysis of *Glycyrrhiza glabra*

Natural Medicines, 52(3), 279-283 (1998)

生薬甘草の基原植物 *Glycyrrhiza glabra* 根中の指標成分の

検索を45点の植物材料について行ない、*G. glabra* に特有の10成分を単離・同定し、さらに、3-hydroxyglabrolとglabrolにより特徴づけられるタイプと、parvisoflavone Bにより特徴づけられるタイプの2タイプが存在することを明らかにした。

Keywords: *Glycyrrhiza glabra*, HPLC analysis

- *1 大阪薬科大学
- *2 新潟薬科大学
- *3 帝京大学薬学部

Hosokawa, K.: Cell layer-specific accumulation of anthocyanins in response to gibberellic acid in tepals of *Hyacinthus orientalis*.

Biosci. Biotechnol. Biochem., **63**, 930-931 (1999)

野外で開花したヒアシンスの花被ではアントシアニンがL2細胞(表皮細胞直下の細胞)で生成していた。一方、生育ステージ初期の蕾をGA3を含むMS培地で培養することにより花被のL1細胞(表皮細胞)においてもアントシアニンが生成することを見出した。このGA3の効果は蕾の生育ステージにより大きく異なり、生育初期のL1細胞に対して効果を示し、蕾の生育ステージが進むに従いその効果を失った。一方、L2細胞はGA3の有無に関わらず生育ステージ初期にはアントシアニンを生成せず、ステージが進むに従いその生成能を示した。花被に含まれるアントシアニン成分は、培養において生成した成分と野外で開花した花被の成分で同じであった。

Keywords: gibberellic acid, *Hyacinthus orientalis*

姉帯正樹*, 青柳光敏*, 柴田敏郎, 飯田 修, 畠山好雄:
北海道産黄耆の調製法と化学的品質評価

Natural Medicines, **52**(1), 10-13 (1998)

北海道で栽培されたナイモウオウギの根を温風乾燥及び自然乾燥したところ、しょ糖と希エタノールエキス含量は乾燥方法によって大きく変動し、乾燥品をえるまでに要した時間が長くなると両含量は増加した。エキス含量から判断すると、本植物には自然乾燥が適していると判断される。

Keywords: *Astragalus mongholicus*, preparation, chemical evaluation

- * 北海道立衛生研究所

畠山好雄, 熊谷健夫, 香月茂樹, 本間尚治郎, 石崎昌吾, 三浦忠一, 沢井清道, 山岸 喬*, 西沢 信*, 林 隆章*, 姉帯正樹*: シャクヤクの栽培・育種に関する研究(1) 薬用品種「北宰相」の特性について

Natural Medicines, **52**(2), 103-108 (1998)

1996年に登録された薬用品種「北宰相」の特性を概括した。その形態的特性は茎数型・一重咲、生態的には萌芽および開花早生であり、早熟性でもあるので3年目に収穫可能である。多収性であり、paeoniflorin含量も安定して高い。根重と成分含量の間には相関性が認められないので、多収・高含量成分の品種育成が可能であることが示された。

Keywords: *Paeonia lactiflora*, medicinal cultivar, 'Kitasaishou'

- * 北海道立衛生研究所

畠山好雄, 熊谷健夫, 香月茂樹, 本間尚治郎, 石崎昌吾, 三浦忠一, 沢井清道, 山岸 喬*, 西沢 信*, 林 隆章*, 姉帯正樹*: シャクヤクの栽培・育種に関する研究(2) 生育・成分に関する研究

Natural Medicines, **52**(2), 109-115 (1998)

シャクヤクは根の特徴によって根数型と根重型の2つに

分けられる。萌芽及び開花期は系統によって異なり、萌芽晩生系統はおおむね開花も晩生であった。1株根重は3年生で240~580g, 5年生で470~1161gと系統間変異が大きいが、乾物率はいずれも50%前後であった。供試54系統の5年生根のペオニフロリン含量は1.32~4.47%と変化し、日本薬局方の既定値2.0%以上の系統は66%であった。

Keywords: *Paeonia lactiflora*, multi-root type, thick root type

- * 北海道立衛生研究所

畠山好雄, 熊谷健夫: シャクヤクの栽培・育種に関する研究(3) 北海道における花芽形成

Natural Medicines, **52**(3), 284-286 (1998)

北海道におけるシャクヤクの花芽形成を観察したところ、八重系統では1月に外花卉, 3月に内花卉の分化が始まった。一重系統は2月が花芽形成期に当り、萌芽期まで雌雄蕊が分化, 生長を続け, 真の休眠は見られなかった。

Keywords: anther, carpel, rest

畠山好雄: シャクヤクの栽培・育種に関する研究(4) 無機栄養の吸収特性

Natural Medicines, **52**(3), 236-244 (1998)

シャクヤクの生長過程を見てみると, 1年めの中期に根の生長が始まり, 2年目以上の株では前半に地上部が増加し, 開花から休眠まで地下部が増加する。葉中チッソ含量は生育初期に高く, 開花期に下がり, 開花後再び上昇し以降, 休眠期に向けて漸減する。リン酸とカリの消費もチッソとよく似た経過を示す。地下部のチッソ・カリ含量は生育期間中ほぼ一定であり, 根茎中のリン酸含量は時期によって激しく変化するが, これは新芽の分化, 伸長に対応しているようである。

Keywords: nitrogen, phosphoric acid, potash

Mimaki, Y.*, Satou, T.*, Kuroda, M.*, Sashida, Y.* and Hatakeyama, Y.: New Steroidal Constituents from the Bulbs of *Lilium candidum*

Chem. Pharm. Bull. **46**(11), 1829-1832 (1998)

マドンナリリーの新鮮球根から8種のスピロスタノール型サポニン(中4種は新規物質)と2種の既知フロスタノール型サポニンが単離され, 新規物質については構造決定がなされた。また, サポニン類のNa⁺/K⁺ATPaseに対する阻害活性を検討した。

Keywords: *Lilium candidum*, steroidal saponin, spirostanol saponin

- * 東京薬科大学

西川和孝*1, 西岡 恵*1, 下村講一郎, 中西 史*2, 石丸幹二*1: 小町リンドウの組織培養と二次代謝成分

日本食品化学会誌, **5**, 111-115 (1998)

小町リンドウの莖葉およびカルス培養系を確立し, 莖葉培養体において, *Centaurium* 属植物では初めてセコイリドイド苦味配糖体である gentiopicrin と swertiamarin の生産が認められた。カルスからは, キサントン成分である 3,5,6,7,8-pentamethoxy-1-O-primeverosylxanthone を単離同定した。これら苦味配糖体やキサントンの生合成に関して, 小町リンドウ植物体における部位特異性や細胞の分化との関係を明らかにした。さらに, 不定根から直接再生した植物体からもカルス誘導を行った。これら再生植物体または再生植物体由来カルスにおける二次代謝成分の分析も行い, 小町リンドウの不定根からの再生過程における二次代謝の遺伝的安定性を示した。

Keywords: Gentianaceae, *Centaurium scilloides*, secondary

metabolites

- *1 佐賀大学
*2 東京学芸大学

大本俊郎*1, 浅井以和夫*1, 村上慶枝*2, 石丸幹二*2, 下村講一郎: ペパーミント (*Mentha piperita* L.) のシュート培養における生育と香気成分生産及びコーヒー酸誘導体生産

日本食品化学会誌, 5, 163-169 (1998)

培養シュートは、約1週間で発根し、培養3週以降には草丈は10 cm以上となった。香気成分は、培養初期から主成分として carvone が茎葉部当り約 80 μg 生産され、menthone, pulegone は極く微量検出された。親植物の主成分である menthol の生産は全く認められなかった。Rosmarinic acid (RA) は生産された(乾燥重量当り 1~1.5%) が、lithospermic acid (LA) や lithospermic acid B (LAB) は全く検出されなかった。暗黒下で培養したシュートは、葉の展開が認められず、carvone のみが培養開始直後から極く微量検出され、また、RA のみ生産(約 1.5% 乾燥重量当り)された。暗黒から照明へと光条件を変えると、シュートの緑化が認められ、良好に生育した。Carvone のみが検出されたが、含量は非常に低いものであった。コーヒー酸誘導体は、RA (約 1.5%) のみが検出された。香気成分生産の場合とは異なり、コーヒー酸誘導体生産のためには、光照射は必ずしも重要な因子ではないことが示唆された。植物体は土壌移植後、良好に生育した。香気成分は、移植後3週目になると主成分である menthol の生産が開始された。RA の生産は、土壌移植後1週目では培養時とほぼ同じ含量(約 1%)であったが、その後、徐々に増加し、栽培7週目では乾燥重量当り約 4%と高含量になった。また、栽培5週目からは3量体である LA の生産も認められた。

Keywords: *Mentha piperita* L., menthol, caffeic acid derivative

- *1 三栄源エフエフアイ
*2 佐賀大学

Yagi, A.*1, Hine, N.*1, Asai, M.*1, Nakazawa, M.*1, Tateyama, Y.*1, Okamura, N.*1, Fujioka, T.*2, Mihashi, K.*2 and Shimomura, K.: Tetrahydroanthracene glucosides in callus tissue from *Aloe barbadensis* leaves

Phytochemistry, 47, 1267-1270 (1998)

アロエベラの葉切片よりカルス培養系を確立した。光照明下で培養したカルスは黒色になり生育も悪かった。しかし、暗黒下では、カルスは黄色を呈し旺盛に生育した。黄色カルスの成分検索の結果、2種の新規 tetrahydroanthracene 配糖体 3,4-dihydro-2,4,8,9-tetrahydroxy-6-methyl-1(2H)-anthracenone-4-O-β-D-glucopyranoside および 3,4-dihydro-2-methoxy-4,8,9-trihydroxy-6-methyl-1(2H)-anthracenone-4-O-β-D-glucopyranoside を単離同定した。

Keywords: *Aloe barbadensis*, tetrahydroanthracene glucosides, callus

- *1 福山大学
*2 福岡大学

Murakami, Y.*1, Shimomura, K., Yoshihira, K.*2 and Ishimaru, K.*1: Polyacetylenes in hairy root cultures of *Trachelium caeruleum* L.

J. of Plant Physiology, 152, 574-576 (1998)

Trachelium caeruleum 毛状根を *Agrobacterium rhizogenes* 15834 株で形質転換し誘導した。毛状根は、幾つかの基本液体培地で生育し、WP 液体培地で polyacetylene monoglucoside である lobetyolin を 4.72 % (乾燥重量) と高い含

量で生産した。毛状根培養系において lobetyolin 含量の最高レベルは、親植物の 16 倍以上であった。本研究は、今回初めて *Trachelium* 属植物の二次代謝産物の同定を示した。

Keywords: *Trachelium caeruleum* L., hairy root, polyacetylene

- *1 佐賀大学
*2 東亜大学

Murakami, Y.*1, Omoto, T.*2, Asai, I.*2, Shimomura, K., Yoshihira, K.*3 and Ishimaru, K.*1: Rosmarinic acid and related phenolics in transformed root cultures of *Hyssopus officinalis*

Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 53, 75-78 (1998)

誘導したヒソップ形質転換根は各種基本培地に植え付けて生育を調査した。ホルモンフリーWP 培地で形質転換根を培養するとフェノール性化合物である rosmarinic acid (最高値 8.03 % 乾燥重量) および lithospermic acid B (最高値 3.89 % 乾燥重量) 高レベルで生産することを明らかにした。

Keywords: *Hyssopus officinalis*, transformed root, caffeic acid derivative

- *1 佐賀大学
*2 三栄源エフエフアイ
*3 東亜大学

Ishimaru, K.*1, Ando, M.*1, Yamakawa, T.*2, Touno, K.*3 and Shimomura, K.: Polyacetylene production in transformed root cultures of *Campanula lactiflora*

Natural Medicines, 52, 448-481 (1998)

日本産 *Agrobacterium rhizogenes* の感染により *Campanula lactiflora* の形質転換根を誘導した。各種ホルモンフリー基本培地で形質転換根は良好に生育した。WP 液体培地を用いて7週間培養した結果、13.6g の新鮮重量(100 ml フラスコ当たり)、0.22 % lobetyolin 含量が得られた。1/2MS 液体培地で培養した形質転換根の乾燥重量は、ショ糖の添加量により増加したが、lobetyolin の含量は、変化しないことが判明した。

Keywords: *Campanula lactiflora*, transformed root, polyacetylene

- *1 佐賀大学
*2 東京大学
*3 千葉大学

Watanabe, A.*1, Araki, S.*1, Kobari, S.*1, Sudo, H.*2, Tsuchida, T.*2, Uno, T.*2, Kosaka, N.*2, Shimomura, K., Yamazaki, M.*1 and Saito, K.*1: In vitro propagation, restriction fragment length polymorphism, and random amplified polymorphic DNA analyses of *Angelica* plants

Plant Cell Reports, 18, 187-192 (1998)

トウキの側芽培養によるクローン増殖法を確立した。増殖したトウキと培養に使用した親植物について RAPD 分析を行った結果、培養により増殖しても DNA 配列に変化がないことが示された。数種の *Angelica* 属植物の遺伝的相同性を RFLP および PAPD 分析により調査した。中国産 *Angelica* 属植物の RFLP および PAPD パターンは、日本産のものと同様に異なっていた。10種の異なった制限酵素を使用した、日本産トウキの品種における RFLP は、認められなかった。RAPD 分析により日本産トウキは、*A. acutiloba* Kitagawa と *A. acutiloba* Kitagawa var. *sugiyamae* Hikino の2種の主サブグループに分類可能である。日本産トウキと中国北東部の *Angelica* 属植物は、非常に近接した遺伝的関係にあることを示した。

Keywords: *Angelica* plants, RFLP, RAPD-PCR

*1 千葉大学

*2 鐘紡(株)

Nakanishi, F.*1, Sasaki, K.*2 and Shimomura, K.: **Isolation and identification of littorine from hairy roots of *Atropa belladonna***

Plant Cell Reports, **18**, 249-251 (1998)

日本産 *Agrobacterium rhizogenes* MAFF03-01724 により形質転換したトロパンアルカロイド高生産するベラドンナ毛根 M8 クローンを確立した。本形質転換根にトロパンアルカロイドの生合成の中間体である littorine を HPLC および GC-MS によりアルカロイドフラクションに検出した。Littorine を単離し、NMR により同定した。本化合物は、これまで、ベラドンナには検出されていなかったが、非形質転換根においても生産されることを明らかにした。

Keywords: *Atropa belladonna*, hairy root, littorine

*1 東京学芸大学

*2 青森大学

Lee, K.-T.*1, Yamakawa, T.*1, Kodama, T.*2, Igarashi, Y.*1 and Shimomura, K.: **Effects of aeration on tropane alkaloid production by transformed root of *Atropa belladonna* in flask cultures**

J. of Fermentation and Bioengineering, **86**, 614-616 (1998)

ベラドンナ形質転換根 M8 をフラスコ培養で通常空気を 1 vvm で通気、アルミニウムフویلでキャップ、シリコンゴムでキャップし、根の生育とアルカロイド生産とその比率に対する通気の効果を検討した。4 週間の培養後、1 vvm で通気しながら培養した形質転換根は、良好に生育し、アルカロイド生産は 52.9 mg/l と最も良かった。特に、形質転換根に蓄積された全アルカロイドの比率で scopolamine は 5.7 % から 11.2 % と増加した。

Keywords: *Atropa belladonna*, hairy root, aeration

*1 東京大学

*2 信州大学

田中章江*1, 神谷 隆*2, 下村講一郎, 石丸幹二*1: ***Cornus capitata* 培養根のポリフェノール成分**

Natural Medicines, **52**, 510-517 (1998)

ヒマラヤヤマボウシ (ミズキ科) の不定根の生育およびポリフェノール生産に対する各種培地の組成および濃度の効果について検討した。炭素源としてマルトース、グルコース、ラフィノースなどを添加した MS 培地で大量の galloylglucose 類が生産された。硝酸アンモニウムを除いた MS 液体培地で培養した不定根の 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloyl- β -D-glucose の含量は、MS 基本培地に培養した不定根の 3.7 倍であった。Woody Plant 培地においては、pentagalloyl glucose の蓄積は、添加した銅イオンの濃度に影響されることが明らかになった。

Keywords: *Cornus capitata*, adventitious root, polyphenol

*1 佐賀大学

*2 秩父小野田

西川和孝*, 西岡 恵*, 下村講一郎, 石丸幹二*: ***Blackstonia perfoliata* および 3 種の *Gentiana* 属植物の組織培養と二次代謝成分**

Natural Medicines, **52**, 536-540 (1998)

Blackstonia perfoliata および *Gentiana* 属植物である *G. lutea*, *G. triflora*, *G. rubicunda* のシュートおよびカルス培養系を確立し、苦味配糖体およびフェノール性化合物の量を調べた。ホルモン無添加 MS 培地上で培養した *B. perfoliata*

の培養植物体は、乾燥重量当たり約 4.5 % の gentiopicrin を生産した。これは、*G. lutea* とほぼ同程度であった。IAA 3 mg/l を添加した 1/2 MS 培地で培養した *B. perfoliata* のカルスは、乾燥重量当たり約 1.4 % の gentiopicrin を生産したが、*G. lutea*, *G. triflora*, *G. rubicunda* のカルスでは、苦味物質およびフェノール性化合物の生産は、低かった。

Keywords: *Blackstonia perfoliata*, *Gentiana*, secondary metabolite

* 佐賀大学

Takamiya, M.*1, Tanaka, N.*1, Touno, K.*2, Terahara, N.*3, Shimomura, K. and Ishimaru, K.*1: **Anthocyanin and procyanidin in *Hypericum patulum* tissue cultures**

Japanese J. of Food Chemistry, **5**, 3-8 (1998)

キンシバイのカルス、懸濁培養細胞および不定根の二次代謝産物について分析したところ、2 種のアントシアニン類と 3 種のプロシアニジン類の生産を認めた。各種スペクトルデータの解析により、アントシアニン類は、cyanidin 3-glucoside と cyanidin 3-rutinoside、プロシアニジン類は、(-)-epicatechin, (+)-catechin と procyanidin B2 とそれぞれ決定した。*Hypericum* 属植物においては、今回のキンシバイの不定根培養系が初めての成功例である。不定根は、暗黒下では、良好に生育したが、照明下では、ほとんど生育せず、暗黒下でプロシアニジン類の生産のみ認められた。

Keywords: *Hypericum patulum*, anthocyanin, procyanidin

*1 佐賀大学

*2 千葉大学

*3 南九州大学

Jung, D.-W.*1, Shibuya, M.*2, Ebizuka, Y.*2, Yoshimatsu, K., Shimomura, K. and Sung, C. K.*1: **ELISA for the determination of saikosaponin a, an active component of *Bupleuri radix***

Chem. Pharm. Bull., **46**, 1140-1143 (1998)

Saikosaponin a を定量分析する目的で、競合および間接 ELISA 法を開発した。ウサギを免疫して得たポリクロナール抗体は、50 pg/ml から 20 ng/ml の saikosaponin a を定量することが可能で、検出限界は、40 pg/ml (5.13 pM) であった。Saikosaponin c との交差反応性は、12.7% と若干高いが、saikosaponin d, saikosaponin b1, saikosaponin g に対しては、約 2 % 以下で、saikosaponin a を定量するには、十分な高感度 ELISA 法を開発できた。

Keywords: ELISA, saikosaponin a, *Bupleuri radix*

*1 Chonnam National University

*2 東京大学

Lee, K.-T.*1, Suzuki, T.*1, Yamakawa, T.*1, Kodama, T.*2, Igarashi, Y.*1 and Shimomura, K.: **Production of tropane alkaloids by transformed root cultures of *Atropa belladonna* in stirred bioreactors with a stainless net**

Plant Cell Reports, **18**, 567-571 (1998)

300 ml から 30 l へのベラドンナ形質転換根培養のスケールアップが、アルカロイドの生産性を減少させる事なく行えた。種培養の切断処理は、1 ヶ月間のフラスコ培養期間において根の生育、形態およびアルカロイド含量に顕著な影響は、示さなかった。この様に生育シランダムに切断した根は、スケールアップのための 3 l および 30 l 改良型攪拌培養槽で更に培養した。1 ヶ月の培養後、30 l 培養槽で約 1500 mg の総トロパンアルカロイドが生産された。培養した根は、圃場で 12 ヶ月間栽培した植物の根と同レベルの atropine を含有し、他のアルカロイドに関しても満足すべ

き量含有していた。

Keywords: *Atropa belladonna*, bioreactor, transformed root

*1 東京大学

*2 信州大学

米光 裕*, 楠部真崇*, 野口 衛: キキョウ (*Platycodon grandiflorum* A. DC.) の組織培養による増殖

Natural Medicines, 52, 368-371 (1998)

キキョウは、鎮咳、去痰の作用を持つ重要な生薬で、切り花、鉢植えとしても広く栽培されている。優良品種の作出と遺伝資源の保存を目的に、組織培養技術の利用を試みた。腋芽からの増殖法を確立し、最終的に圃場に定植することが出来た。ただし、分枝根が多く、生薬の性状としては不適當であり、今後の検討が示唆された。

Keywords: *Platycodon grandiflorum*, tissue culture, multiple shoots

* 和歌山工業高等専門学校

橋爪 崇*1, 田中敬子*1, 直川和弘*1, 山下善樹*2, 野口衛: シャクヤクの優良品種の検索に関する研究 (第2報) 一次選抜系統の根の生育と品質

Natural Medicines, 52, 385-389 (1998)

シャクヤクは、婦人病等に用いる漢方薬に配合される重要な生薬であり、古くから栽培されてきた。薬用種としては主に白花の一重が栽培されてきたが、一方で観賞用として多くの品種が作出されている。そこで、栽培される品種

について、その生薬としての品質を明らかにする目的で、成分等の調査を行った。何れも成分含量に問題はなく、生薬としての利用の可能性が示唆された。

Keywords: *Paeonia lactiflora*, tannin, paeoniflorin

*1 和歌山県薬事指導所

*2 和歌山県立大学付属病院

Yoshida, M.*1, Tanaka, J.*1, Sakai, E., Noro, Y.*2, Kawamura, T.*2, Thuan, N., V.*3 and Tanaka, T.*4: Cultivation of *Geranium thunbergii* in Vietnam (1) Morphological Characteristics and Geraniin Contents

Natural Medicines, 52, 529-532 (1998)

Geranium thunbergii (ゲンノヨウコ) は、整腸、止瀉を目的に使用される生薬であり、日本を代表する民間薬である。国内に於いては人件費等の問題により、栽培生産が困難であるため、ベトナムでの栽培を試みた。試験栽培に選んだ地方には、同属植物の分布はなく、自然交配により種が変化する可能性は少ないと思われた。日本より種子を導入し栽培した植物の形態は、国内栽培品と同等であり、geraniin含量も同程度を示した。これにより、ベトナムでの *Geranium thunbergii* の栽培の可能性が示唆された。

Keywords: *Geranium thunbergii*, geraniin, morphology

*1 本草製薬(株)

*2 名城大学薬学部

*3 Research Station of Medicinal Plants Van Dien

*4 岐阜薬科大学