

# 第14回日本毒科学会学術年会 プログラム・要旨集

昭和62年7月23日(木)、24日(金)

産業医科大学 ラマツィーニホール

1987 北九州

# 第14回 日本毒科学会学術年会

期 間 昭和62年7月23日(木), 24日(金)

場 所 産業医科大学 ラマツイーニホール

# 食毒商学会学務部本日一回刊

会 長	土 屋 健三郎	(産業医科大学学長)
副 会 長	鈴 木 秀 郎	(産業医科大学病院長)
顧 問	石 西 伸	(九州大学医学部)
	金 戸 洋	(長崎大学薬学部)
	吉 村 英 敏	(九州大学薬学部)
実行委員長 実行委員	野 田 浩 司	(産業医科大学病院薬剤部)
	泉 太	(産業医科大学医学部)
	井 上 尚 英	(産業医科大学産業生態科学研究所)
	大久保利 晃	(産業医科大学産業生態科学研究所)
	児 玉 泰	(産業医科大学医学部)
	馬 場 快 彦	(産業医科大学産業生態科学研究所)
	吉 村 健 清	(産業医科大学産業生態科学研究所)
事 務 局	峯 本 正 夫	(産業医科大学病院薬剤部)

## 事 務 局

〒807 北九州市八幡西区医生ヶ丘1番1号

産業医科大学 病院薬剤部内

☎ (093)603-1611 内線3034, 3049

## 目 次

日程及び座長一覧表 .....	2
お知らせとお願い .....	4
会場案内 .....	6

### プログラム

教育講演 .....	9
シンポジウム .....	10
ワークショップ .....	11
一般演題 .....	12

### 要 旨

教育講演 .....	21
シンポジウム .....	25
ワークショップ .....	41
一般演題 .....	55

## 日程及び座長一覧

月 日	時 刻	A会場(大ホール)	B会場(小ホール)
7 月 23 日 (木)	9:00	開会の辞	開会の辞
	9:05	一般演題 (A01～A09) 座長：A01～A04 江頭 亨 A05～A09 吉村 英敏	一般演題 (B01～B09) 座長：B01～B03 福島 昭治 B04～B06 戸部満寿夫 B07～B09 堀 真一郎
	11:00	教育講演L1 司会：土屋健三郎	
	12:00	評議員会 (多目的ホール, 大学2号館4階)	
	13:10	一般演題 (A10～A13) 座長：A10～A13 小栗 一太	一般演題 (B10～B13) 座長：B10～B13 福田 英臣
	14:00	シンポジウム 司会：金戸 洋 井上 尚英  (S1～S3) 休 憩 (S4～S6)	
	17:45		
	18:30	懇親会 (松柏園グランドホテル)	
	20:30		

月日	時刻	A会場(大ホール)	B会場(小ホール)
7 月 24 日 (金)	8:45	<p>一般演題 (A14~A24)</p> <p>座長：A14~A16 村岡 義博 A17~A21 佐藤 温重           上野 光一 A22~A24 泉 太</p>	<p>一般演題 (B14~B23)</p> <p>座長：B14~B18 齊藤 秀哉           坂口 孝 B19~B23 金津 赫生           堺 俊治</p>
	11:00	<p>教育講演L2 司会：土屋健三郎</p>	
	12:00		
	12:45		
	13:15	<p>ワークショップ 司会：林 裕造       遠藤 仁  (W1~W2) 休 憩 (W3~W4)</p>	
	16:00	<p>閉会の辞</p>	

## お知らせとお願い

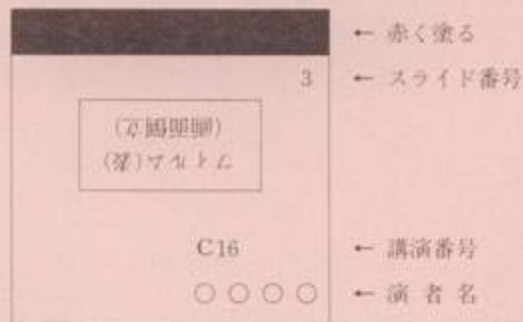
### I. 年会参加者の皆様へ

1. 予め参加登録をしてある方は、お手元の参加章（ネームカード）に所属・氏名をご記入下さい。
2. 参加章をお忘れの方又は紛失された方は、総合受付へお申し出下さい。
3. 当日参加の方は、当日受付にそなえつけの年会当日申込カードに該当事項を記入し、参加費（¥5,000）をお支払いの上、『参加章』及び『プログラム・要旨集』をお受取り下さい。
4. 学会受付は、午前8時15分より開かれています。
5. 会場に入場の際は、必ず参加章（ネームカード）を胸に着用して下さい。胸ポケットのない方は、総合受付でピン付きの名札入れをお受取り下さい。
6. 会場内は禁煙です。喫煙は、ホール又は控室の灰皿のある場所で行なって下さい。
7. 追加発言や討論の採択、時間の調整など、会場内での進行については司会又は座長の指示に従って下さい。
8. 駐車場は大学病院前の一般駐車場をご利用下さい。総合受付で、駐車チケットをお渡しします。
9. 昼食は、大学病院内の食堂又は付近の食堂・レストランをご利用下さい。
10. 口演中のストロボ撮影は、固くお断り致します。
11. 懇親会（会費¥5,000）は、当日の申し込みも受け付けます。準備の都合上、なるべく早めに総合受付に御予約願います。
12. Lasagna教授の教育講演は、同時通訳をいたしますので、イヤホーンをご希望の方は受付でイヤホーン番号、所属、氏名をご記入の上お受取下さい。講演終了後は速やかに受付へ御返却下さい。

### II. 演者の方々へ

#### 1. 一般演題

- 1) 口演時間は10分以内、討論・交代は2分以内です。時間を厳守して下さい。
- 2) スライドは1演題10枚以内とします。
- 3) 発表の中止、演者の変更などは、なるべく早めに年会事務局（会期中は各会場受付）にお申し出下さい。
- 4) プロジェクターは1会場1台です。同一スライドを繰り返して使用される場合には、映写回数の枚数を御留意下さい。
- 5) スライドは、35mmフィルム（枠の大きさ50mm×50mm）を使用し、画面は横型として下さい。
- 6) スライドには次に示す必要事項を明記して下さい。



- 7) スライドは予定時刻の30分前（早朝は15分前）までに、各会場の受付にお渡し下さい。発表後、同じ受付でスライドをお受取下さい。
- 8) スライドをお渡しになる際に、『J. Toxicol. Sci.』に掲載する英文抄録を御提出願います。
- 9) 次演者は、早めに最前列の次演者席にお着き下さい。
- 10) 口演中は、座長の指示に従って下さい。

## 2. シンポジウム・ワークショップ

- 1) 口演時間は、25分です。時間を厳守して下さい。
- 2) スライド枚数は、特に制限致しません。
- 3) その他の点は上記「一般演題4)～10)」を御覧下さい。

## Ⅲ. 座長・司会者の方々へ

1. 当日は、御担当予定時刻の20分前（早朝は10分前）までに、各会場の座長受付で到着の旨を御登録願います。
2. 次座長は、早めに次座長席にお着き下さい。

## Ⅳ. 評議員会について

7月23日(木) 12:00より、多目的ホール（大学2号館4階）にて開催致します。

## Ⅴ. 総会について

7月24日(金) 12:45より、A会場（大ホール）にて開催致します。

## Ⅵ. 懇親会について

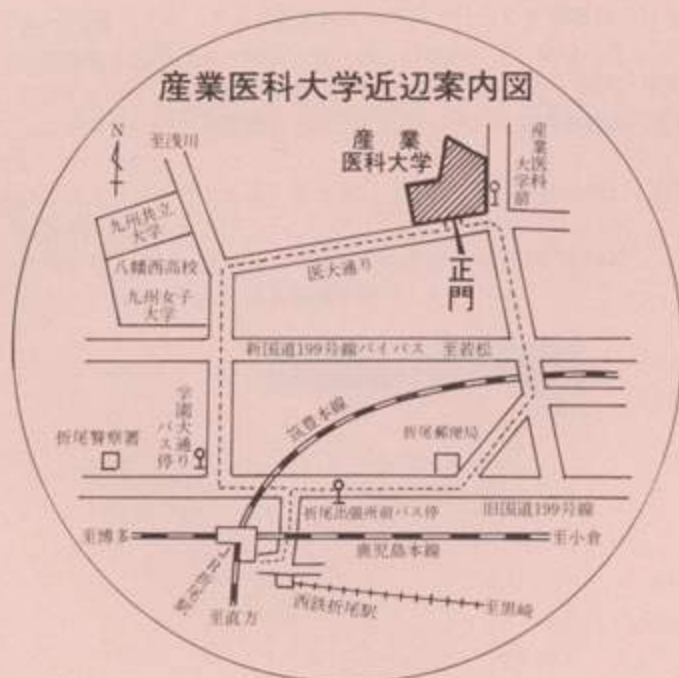
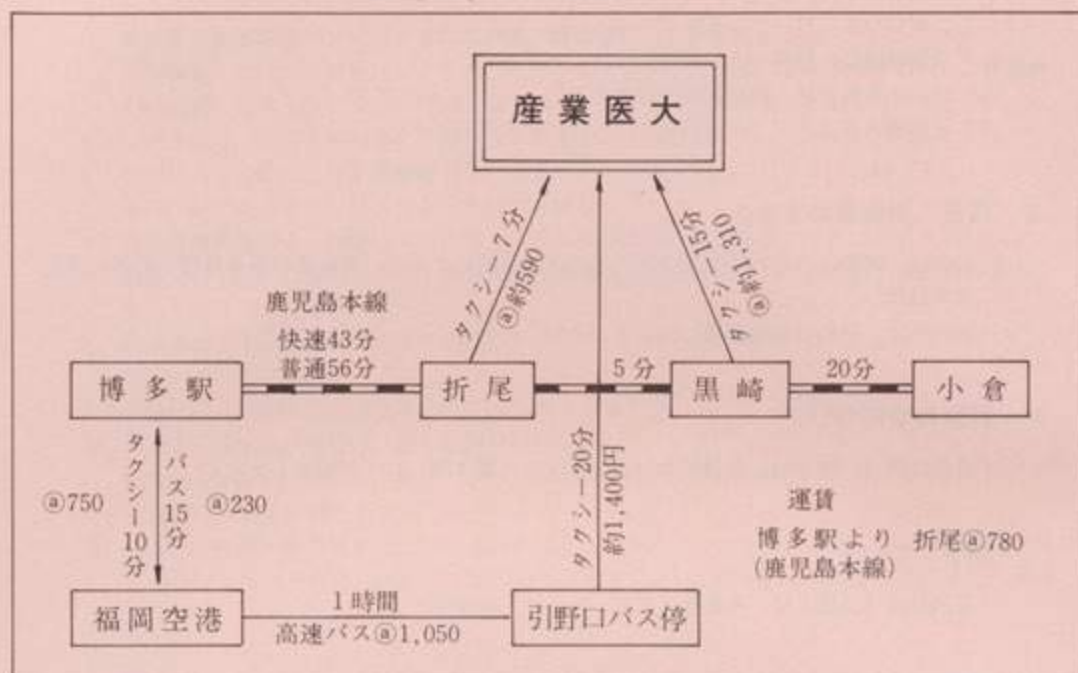
7月23日(木) 18:30より、松柏園グランドホテルにて開催致します。ホテルまでは、バスにて御案内致します。

会場の受付で懇親会参加証をお渡しの上、御入場下さい。

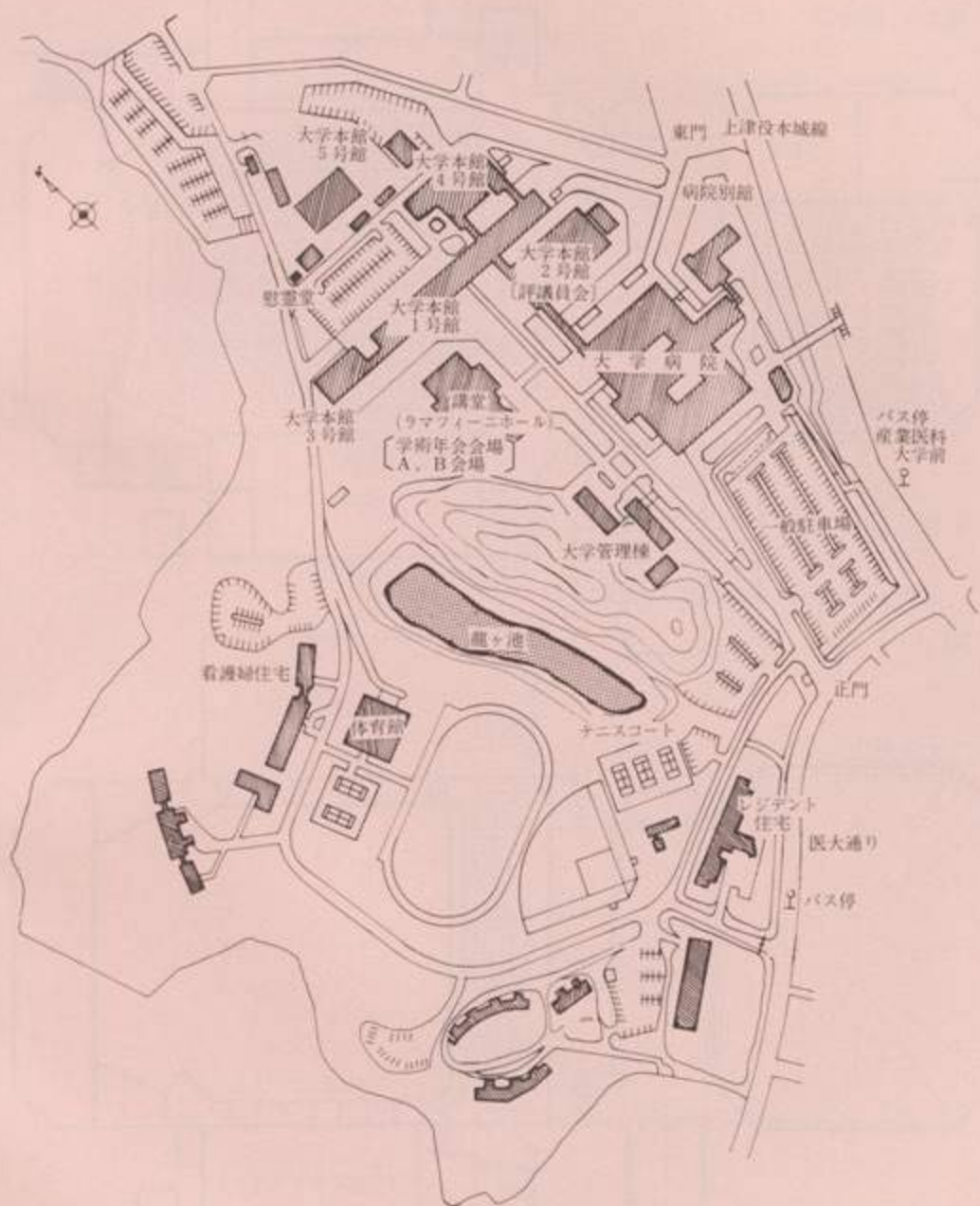


## 会場案内

名称：産業医科大学ラマツイーニホール  
 所在地：北九州市八幡西区医生ヶ丘1番1号  
 ☎ (093) 603-1611



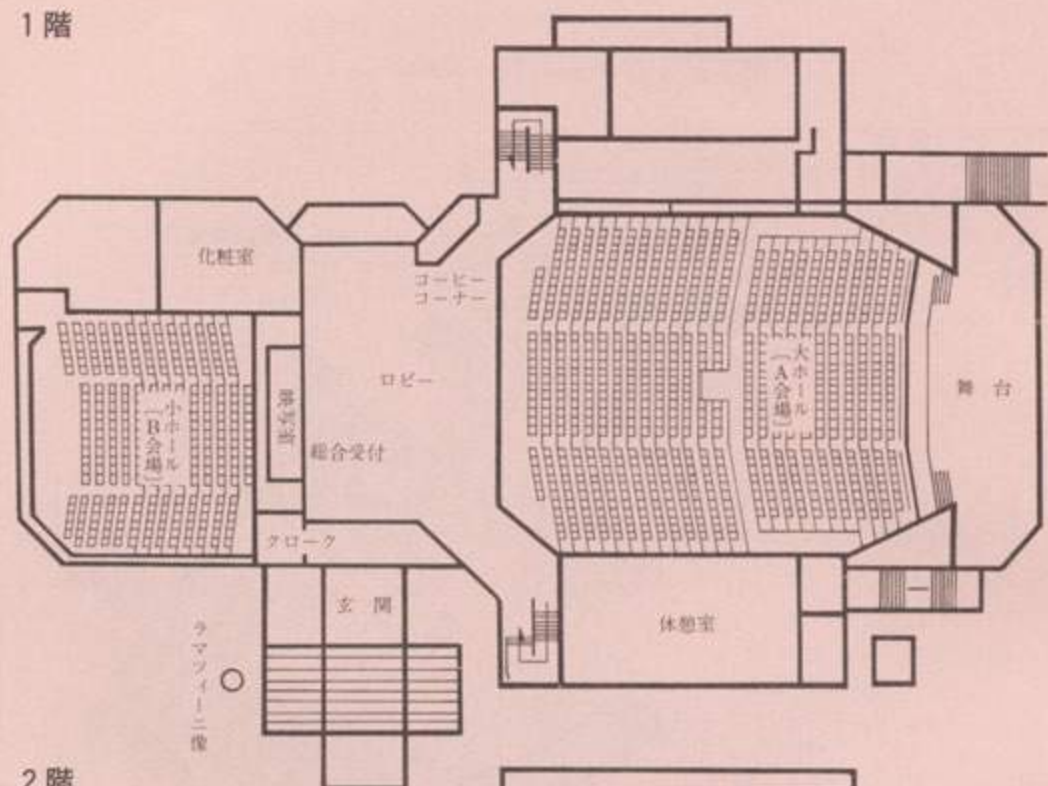
## 産業医科大学施設案内



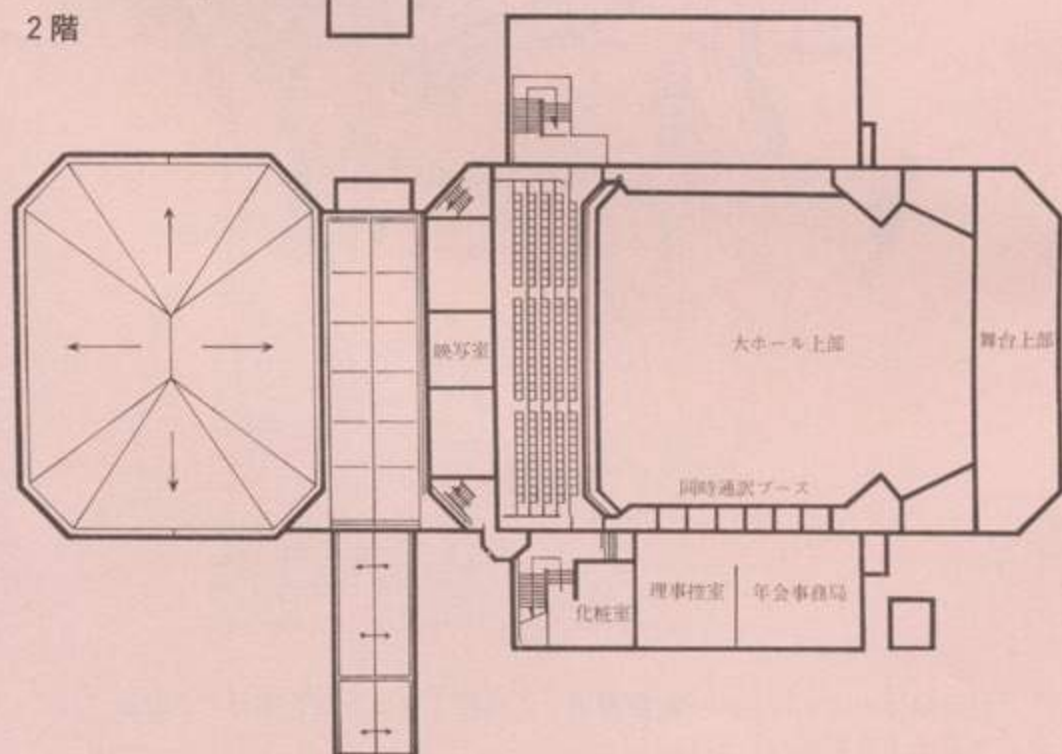
駐車場は大学病院前の一般駐車場をご利用下さい。総合受付で、駐車チケットをお渡しします。

学術年会会場(ラマツイーニホール)内見取図

1階



2階



## 教 育 講 演

7月23日(木), 11:00~12:00

A会場 (大ホール)

司会: 土屋健三郎 (産業医大・学長)

- L1. Predicting Human Drug Safety from Animal Studies: Current Issues  
Dr. Louis Lasagna  
(Sackler School of Graduate Biomedical Sciences, Tufts University)  
《同時通訳をいたします。ご希望の方は受付でイヤホーンをお受取下さい。》

7月24日(金), 11:00~12:00

A会場 (大ホール)

司会: 土屋健三郎 (産業医大・学長)

- L2. 経済学からみた医薬品開発  
藤野 志朗 (中央大・経済)

## シンポジウム

7月23日(木), 14:00~17:45

A会場 (大ホール)

《テーマ：長期毒性——その考え方と評価》

司会：金戸 洋 (長崎大・薬・薬物)

井上 尚英 (産業医大・生態研・環境中毒)

- S 1. 長期毒性検索の方法論的展望  
柳田 知司 (実中研・前臨床医学研)
- S 2. 薬理学的立場から  
高仲 正 (国立衛試・安全性生物研・薬理)
- S 3. 病理学的立場から  
伊東 信行 (名市大・医・第一病理)
- S 4. 臨床の立場から  
上田 豊史 (九大・医・泌尿器科)
- S 5. 産業医学の立場から  
児玉 泰 (産業医大・衛生)
- S 6. メーカーの立場から  
高垣 善男 (中外製薬・開発研)

## ワークショップ

7月24日(金), 13:15~16:00

A会場 (大ホール)

〈テーマ:長期毒性評価とその問題点〉

司会:林 裕造 (国立衛試・安全性生物研・病理)  
遠藤 仁 (東大・医・薬理)

- W1. 長期毒性と加齢による非特異的病変  
真坂 敬三 (残留農薬研)
- W2. 薬物代謝と長期毒性評価  
佐藤 哲男 (東薬大・第一薬理)
- W3. 短期試験法による長期毒性の予測  
○石館 基, 祖父尼俊雄  
(国立衛試・安全性生物研・変異原性)
- W4. 次世代に及ぼす長期毒性の評価法  
藤井 儔子 (帝京大・医・薬理)

# 一般演題

7月23日(木)

A会場 (大ホール)

9:00 開会の辞

9:05~9:53 座長: 江頭 亨 (大分医大・薬理)

9:05 A01. 血液透析患者における透析前後の血中モノアミン濃度の変動  
○齊藤秀哉, 南 勝\*, 遠藤 泰\*, 松本真知子, 河口道夫\*\*  
(北大・医・薬理1, \*東日本学園大・薬・薬理, \*\*河科内科)

9:17 A02. 赤血球の化学的分断現象について  
○金津赫生, 小林勇二郎  
(筑波大・医療技術短大)

9:29 A03. カニクイザル末梢血リンパ球のsubpopulationの同定  
○相良奈美, 古濱和久, 野村 護, 小野寺 威  
(第一製薬・中央研・安全研)

9:41 A04. Myeloperoxidaseを用いた顆粒球減少症のin vitro検出法  
○角 明美, 松本一彦, 山本 宏  
(東洋醸造・リサーチセンター・安全研)

9:53~10:53 座長: 吉村英敏 (九大・薬・衛生裁判化学)

9:53 A05. 諸種動物及びヒト肝ミクロソームによるT-2トキシンの脱アセチル化反応  
○柳 在泉, 佐藤哲男\*, 上野芳夫  
(東理大・薬・毒性, \*東薬大・薬・第一薬理)

10:05 A06. ラット卵巣内カルボニル還元酵素の局在性と卵巣機能における意義  
○稲津教久, 岩田修永, 稲葉二郎, 石原一寿, 佐藤哲男  
(東薬大・第一薬理)

10:17 A07. ラット肝カルボキシルエステラーゼアイソザイムRL1 およびRH1の肝, 腎における分布と誘導に関する免疫組織化学的検討  
○石原一寿, 真木多賀子, 細川正清, 佐藤哲男  
(東薬大・第一薬理)

10:29 A08. イソニアジド肝毒性の発現ならびにリファンピシン併用による増強機構  
○野田敦子, 野田浩司\*  
(九大・薬, \*産業医大・病院薬剤)

10:41 A09. 2, 3肝毒物による血清中の逸脱Monoamine Oxidase(MAO)  
○小畑俊男, 江頭 亨  
(大分医大・薬理)

13:10~13:58

座長：小栗一太

(九大・薬・衛生裁判化学)

13:10 A10. ラットにおける貧血と肝細胞壊死

○堺 俊治, 岡宮英明, 三木壽雄

(山之内製薬・開発研・安全研)

13:22 A11. Ifosfamideによる膀胱障害とその抑制

○村岡義博, 渡辺 弘, 松井信志, 矢原 功, 奈良 博,  
笠井久司, 青山定夫

(塩野義製薬研・神崎川分室)

13:34 A12. シスプラチンによるラット尿中酵素活性の変動に対する抗酸化剤の影響

○玄番宗一, 福石信之, 中野さち子

(大阪薬大・薬理)

13:46 A13. アロプリノール投与によるラット腎臓過酸化脂質の増加について

○鈴木義裕, 須藤純一

(東日本学園大・薬・毒理)



7月24日(金)

A会場 (大ホール)

8:45~9:21

座長:村岡義博

(塩野義製薬研・神崎川分室)

8:45 A14. アミノグリコシド系抗生物質の腎毒性機序に関する研究(3)

培養腎上皮細胞への影響

○清宮健一, 松下直子, 暮部 勝

(明治製薬・薬理安全研)

8:57 A15. 腎由来培養細胞により再形成された単層上皮による毒性評価

○小沢和子, 森末裕行, 桑井康宏, 佐藤温重, 丸茂文昭\*

(東京医歯大・歯・第二理工, \*北里大・医・内科)

9:09 A16. 骨髄幹細胞(CFU-C, CFU-S)を用いたAzathioprine, Bredinin, Levamisoleの骨髄毒性評価

○松本一彦, 藤井博子, 山本 宏

(東洋醸造・リサーチセンター・安全研)

9:21~10:21

座長:佐藤温重

(東京医歯大・歯・第二理工)

上野光一

(千葉大・薬・薬効安全性・薬物)

9:21 A17. 食品化学物質によるin vitro細胞老化について

○笠巻明子, 浦沢正三

(札幌医大・医・衛生)

9:33 A18. 生殖毒性試験の代替法に関する研究(第一報)ラット全胚培養法による方法について

○横山 篤, 須田 宏\*, 大滝義博\*, 古橋忠和\*, 仲吉 洋\*,  
江藤一洋

(東京医歯大・歯・顎研発生, \*野村生科研)

9:45 A19. ラット上頸部交感神経節の蛋白質合成能におよぼすメチル水銀の影響

○堀真一郎, 杉浦弘子, 大谷幸子, 平林民雄\*, 椿 忠雄\*\*

(東京都神経研, \*筑波大, \*\*都立神経病院)

9:57 A20. ラット胚細胞培養と全胚培養系による胎仔毒性物質の検索

○土屋利江, 高橋 惇, 朝田総一郎\*, 高久保文恵\*, 江藤一洋\*

(国立衛試・医化, \*東京医歯大・歯)

10:09 A21. ラット胎仔培養法における薬物代謝酵素系の導入に関する基礎的検討

○小出浩美, 上野光一, 石野章博, 大森 栄, 五十嵐隆,  
北川晴雄

(千葉大・薬・薬効安全性・薬物)

10:21~10:57

座長：泉 太

(産業医大・薬理)

10:21 A22. マウス横隔膜神経筋標本においてネオスチグミンにより増強される単収縮におよぼす薬物の影響

○大谷裕也, 西村昌数, 矢ヶ崎 修

(大阪府大・農・家畜薬理)

10:33 A23. 脱分極によるボツリヌスA型毒素の作用の促進

○西村昌数, 小崎俊司\*, 阪口玄二\*

(大阪府大・農・家畜薬理, \*獣医・公衆衛生)

10:45 A24. 無麻酔・無拘束ネコにおけるERG及びVEPの記録法

○今井良悦, 神子田武, 鈴木祥太, 佐藤秀蔵, 千葉祐広

(武田薬品・中央研)

7月23日(木)

B会場 (小ホール)

9:00 開会の辞

9:05~9:41 座長: 福島昭治 (名市大・医・第一病理)

9:05 B01. マウスに対するニバレノールの慢性毒性に関する研究  
柳 在泉, ○山村 久, 大坪浩一郎\*, 上野芳夫  
(東理大・薬・毒性, \*東京都老人研・第一臨床病理)

9:17 B02. マーモセットによるマイトマイシンCの長期毒性試験  
○松本清司, 落合敏秋, 関田清司, 川崎 靖, 安原加寿雄,  
中路幸男, 降矢 強, 戸部満寿夫  
(国立衛試・安全性生物研・毒性)

9:29 B03. 2-Mercaptoimidazoline(2-MIZ)の毒性に関する研究(第4報)慢性毒性試験  
○金子豊蔵, 安原加寿雄, 池田康和, 鈴木幸子, 鎌田栄一,  
小川幸男, 戸部満寿夫  
(国立衛試・安全性生物研・毒性)

9:41~10:17 座長: 戸部満寿夫 (国立衛試・安全性生物研・毒性)

9:41 B04. Vitamin Pの亜慢性毒性試験  
○小木曾正, 倉田 靖, 田川義章, 近藤 光, 伊東信行  
(名市大・医・第一病理)

9:53 B05. CaptafolのF344ラットにおける亜慢性毒性試験  
○倉田 靖, 広瀬雅雄, 福島昭治, 山田真弓, 伊東信行  
(名市大・医・第一病理)

10:05 B06. 三種のトリハロメタンの毒性に関する研究(その1)  
○会田喜崇, 高田幸一, 門馬純子, 斉藤 実, 安原加寿雄,  
内田雄幸, 小林和雄  
(国立衛試・安全性生物研・毒性)

10:17~10:53 座長: 堀真一郎 (東京都神経研)

10:17 B07. 臭化メチルの神経毒性  
○本間健資  
(労働省・産業医学総合研)

10:29 B08. アルゴールの農業毒性に及ぼす影響  
○中島信明, 真板敬三, 小坂忠司, 白須泰彦  
(残留農業研)

10:41 B09. p-Dichlorobenzene(p-DCB)の毒性に関する吸入と経口投与による差異について

○梅村隆志, 高田幸一, 中路幸男, 若菜雅美, 小川幸男,  
鎌田栄一, 金子豊蔵, 戸部満寿夫

(国立衛試・安全性生物研・毒性)

13:10~13:58

座長: 福田英臣

(東大・薬・毒性薬理)

13:10 B10. 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)の毒性に関する研究(その1)

○高木篤也, 門馬純子, 会田喜崇, 吉本浜子, 鈴木幸子,  
高田幸一, 内藤克司, 大野泰雄\*, 中路幸男, 黒川雄二,  
戸部満寿夫

(国立衛試・安全性生物研・毒性, \*薬理)

13:22 B11. ToritoqualineとParaquat中毒

古瀬陽子, 赤堀文昭, ○新井成之, 政岡俊夫, 坂口和子\*

(麻布大・獣医, \*環境保健)

13:34 B12. パラチオン連続投与によるマウス継代的免疫毒性について

上野光一, ○安河内泉, 大森 栄, 五十嵐隆, 北川晴雄

(千葉大・薬・薬効安全性・薬物)

13:46 B13. Fenthionの吸入毒性における全身暴露と鼻部暴露の比較

○岩崎 真, 吉田 稔, 池田孝則, 津田修治, 白須泰彦

(残留農薬研)

7月24日(金)

B会場 (小ホール)

8:45~9:45

座長: 齊藤秀哉

(北大・医・薬理1)

坂口 孝

(ヘキストジャパン・総合開発研)

8:45 B14. アルコール連続摂取による自発行動および摂食行動の変化について

○小坂忠司, 斎藤 徹, 真板敬三, 白須泰彦

(残留農薬研)

8:57 B15. ラットの活動性の概日リズムを指標とした一酸化炭素亜急性曝露の影響評価

○宮川宗之, 佐藤光男, 本間健資, 長谷川弘道

(労働省・産業医学総合研)

9:09 B16. ラットの飲水行動と水・電解質代謝におよぼすトルエン曝露の影響

○有藤平八郎, 鶴田 寛

(労働省・産業医学総合研)

9:21 B17. ラットの実験的高コレステロールと石灰沈着に対するマグネシウムの影響について

○山本博昭<sup>\*</sup>・<sup>\*\*\*</sup>, 藤代光一<sup>\*</sup>, 香山英一<sup>\*\*</sup>, 山本一郎<sup>\*\*\*</sup>,  
杉山玉枝<sup>\*</sup>

(<sup>\*</sup>河野臨床医学研・実験病理, <sup>\*\*</sup>臨床化学, <sup>\*\*\*</sup>北里大・衛生・病理)

9:33 B18. ラット発癌促進における尿中Na<sup>+</sup>とpHの役割

○柴田雅朗, 玉野静光, 増井恒夫, 朝元誠人, 福島昭治

(名市大・医・第一病理)

9:45~10:45

座長: 金津赫生

(筑波大・医療技術短大)

堺 俊治

(山之内製薬・開発研・安全研)

9:45 B19. ラット肝を用いた発癌、発癌修飾物質のin vivo早期検索法 (rapid bio-assay): 発癌抑制物質の検出

○宇和川賢, 今井田克己, 津田洋幸, 香川雅孝, 伊東信行

(名市大・医・第一病理)

9:57 B20. 免疫組織化学検査におけるトリプシン消化の有用性

○後藤鋼星, 稲津水穂, 小林孝好, 坂口 孝

(ヘキストジャパン・総合開発研)

10:09 B21. Lewis およびF344近交系ラットにおけるetonitazeneの強化効果の相違

○鈴木 勉, F. R. George<sup>\*</sup>, R. A. Meisch<sup>\*\*</sup>

(星薬大・応用薬理, <sup>\*</sup>NIDA・ARC, <sup>\*\*</sup>Minnesota大・精神)

- 10:21 B22. ビーグル犬にフェノバルビタールを長期間投与したときの毒性学的変化  
(予備的検討)  
○石川敦子, 吉田俊夫, 澤野芳範, 花田貴直, 三木寿雄  
(山之内製薬・開発研・安全研)
- 10:33 B23. マウスの毛周期 (hair cycle) に関する研究—特に系統差について—  
○宮川義史, 高橋道人\*, 林 裕造\*  
(日本たばこ・生物実験センター, \*国立衛試・病理)

教 育 講 演

PREDICTING HUMAN DRUG SAFETY FROM ANIMAL STUDIES: CURRENT ISSUES:  
Louis LASAGNA (Sackler School of Graduate Biomedical Sciences, Tufts  
University, Boston, Massachusetts, 02111, U.S.A.)

The prediction of human toxicity from pharmaceutical products on the basis of animal testing is of necessity limited by species and genetic differences, by constraints on the number and extent of animal studies realistically capable of being completed, and by the interrelation of drug effects and a variety of pathological conditions in human patients. In light of these considerations, the goal of animal testing in this context should be to seek to predict what is possible to predict, realizing that it will be impossible to foresee all the toxicologic possibilities that may occur once a medicine is available for use by the general public via doctors' prescriptions. The approach should be flexible and capable of devising non-standard tests as suggested by theory, chemical or pharmacologic class, or feedback from preliminary animal or human studies. In addition, toxicologic studies must not ignore the legitimate and increasingly prominent concerns of animal welfare advocates.

In the drug development process, toxicologic testing is first of utility in the early screening designed to help select, for possible eventual commercial marketing, those specific members of a drug family that would appear to have the most favorable safety profile. Such procedures tend to focus on a limited spectrum of toxic effects, selected on the basis of previous animal and human experience with one or more prototype compounds. In addition, short-term tests for mutagenicity and carcinogenicity may be carried out at this stage, with the understanding that while there is a certain amount of controversy about the validity of extrapolating from such data, a congener that seems free, e.g., of mutagenic potential will be less stigmatized than one that seems to possess mutagenic possibilities.

More complete studies are, of course, required before proceeding to clinical trials. Whatever the problems that may exist in extrapolating from animal data to humans, there is no ethical alternative to delineating what appears to be a satisfactory safety margin between those doses that produce, at least in animals, a desired pharmacologic effect, and those doses associated with significant toxicity. These studies seem to be similar in different countries, and rely for the most part on repeated-dose toxicity in two species, usually rat and dog, with at least three dose levels, at least one level of which must cause toxicity. Despite the widespread acceptance of these standardized tests, there is some question as to their utility in predicting human drug reactions of greatest toxic concern. Examples will be given of such reactions. There is no general agreement as to how to select the lowest dose to be administered to the first human subjects, or how to proceed upward in dosage in these Phase I studies, or whether to study healthy volunteers, patients with the target entity in question, or both.

Once clinical trials have demonstrated that therapeutic benefit can be achieved with the drug candidate at doses devoid of significant adverse effects, long term toxicity tests in animals are required to assess the likelihood of cumulative organ damage, abnormalities in endocrine regulatory functions or metabolism, teratogenicity, and carcinogenicity. Since metabolic handling of chemicals always varies across species, it is impossible to select a species identical to man in



its metabolism of a chemical. Indeed, even if on average an inbred species closely resembles man, we know that the inborn and acquired diversity in drug metabolism in the human population will limit our predictive capacity. In addition, one must not overlook the possibility that excessive dosing may overwhelm the organism's metabolic and physiologic defense mechanisms in a way that will simply not occur in actual clinical practice. Carcinogenicity and teratogenicity testing also pose interpretive problems. The numerous ways of calculating tumorigenic potential allow for a variety of conclusions to be drawn, as well be shown by discussion of specific examples.

Teratogenicity predictions are also problematic. Thalidomide, e.g., is a teratogen in a few rabbit breeds and seven species of primates, but it is not teratogenic in at least 10 rat strains, three hamster strains, fifteen mice strains, eleven rabbit breeds, two dog breeds, and eight species of primates. When systematic studies were done on 165 chemicals known not to be teratogenic in man, only 28% were negative in all species tested, and 41% were positive in more than one animal species. These false positives included drugs like penicillin and cortisone.

It is common for unsuspected adverse effects to be detected after marketing of a drug. The reasons for this include pharmacogenetic factors, drug-drug and drug-disease interactions, allergic diatheses, and drug abuse, among others. At times such suspected or documented events may require a return to the animal toxicology laboratories to help elucidate the situation.

In linking a chemical with an observed adverse event in humans, the causal relationship is occasionally easy to delineate, e.g., because of clear-cut dose-response relationships or dechallenge-rechallenge experiments. But for many adverse effects, causality can only be suspected, despite the introduction of a number of algorithms thought to be of use in reducing uncertainty.

In the lecture, a number of other specific issues will be discussed, including the problem of long-delayed toxic effects; the concept of "zero-level risk"; the questionable value of lifetime animal toxicity tests; problems arising out of new formulation procedures, dyes, and excipients; the changing attitude towards LD50 tests; the value and limitations of epidemiologic and case-control techniques for studying human toxicity; and the special problems posed by the advent of recombinant DNA biotechnology products.

Inevitably, expert judgment is required to evaluate the totality of toxicologic data on a medicine. While it is often assumed that experts provided with the same data will come to similar conclusions, such is not necessarily the case, for a variety of reasons, including value judgments about benefits and risks as well as differences in regulatory philosophy. The radically different conclusions of two boards of inquiry in the U.S. and U.K. addressing the hazards of Depo-Provera as an injectable depot contraceptive constitute a case in point, and will be discussed.

It is clear that the field of toxicologic prediction is not, and will never be, static. Hence while it is appropriate to move towards standardized and harmonized toxicologic testing in animals, we must continually consider the possibility of revising our standards if persuaded by new data, and of invoking ad hoc studies when needed. In devising policy, we cannot avoid the ethical implications of our work with animals.

藤野 志朗

中央大学経済学部

医薬品の研究開発は非常にリスクが高く、したがって成功率は極端に低いことは周知のことである。最近ではその傾向が加速され、研究の原初期的段階（着想の段階）からそれが開発決定され、臨床導入から申請、許可の最終段階までに、ますます長期間を必要とするようになり、それに応じて成功確率は低下し、開発コストは上昇し、更に、許可の最終時点の価格は全くの不確実性のもとにおかれる度合を強めている。このことは医薬品の研究開発をますます困難にし、それが特定の少数の国と少数の企業に否応なしに研究開発を限定されることになりつつある。

しかし、医薬品が医療の中で果たす役割は大きく、健康に一層の貢献をする新薬の開発は常に求められている。たとえば、わが国のように、これからの数十年間で高齢化が急速に進行する社会においては、健康な高齢者をつくり出すことは保健政策の一大課題であり、そのような社会ではそれら高齢者の疾病に対応する新薬の開発はきわめて重要なことである。その社会の一層の健康度の増大に関して社会的合意が形成されていて、それへの達成手段の一つとして新薬の開発が期待されているとすれば、それらの社会的要請と1企業の負担すべき開発リスクとの調整が社会的課題となる。

しかし、そのような医薬品といえども、その価格形成は基本的には市場の調整機能によって行われるべきである。なんとなれば、市場の調整メカニズムを活用することが資源効率の視点から望ましいからである。

しかし、実際には多くの国において、医薬品の価格は完全に自由

市場で形成されているということはない。そこには、なんらかのかたちで政府の介入が行われている。それは医薬品が医療サービスの1つであり、医療サービスの提供が公的介入を受けるべきであるとの考えがあるからである。

そこで問題は、医薬品の価格、とくに新薬の価格づけにおいて、高いリスクと莫大なコストをカバーし、企業へ創意工夫のインセンティブを与える価格を考えねばならないことである。そして、一方では、医薬品はその性質上、医師の選別と選択という経済的評価以外の医学的評価を必要とする（手続的には、このことは新薬と既存薬とのコスト・ベネフィット分析やコスト・エフェクティブネス分析を行うことになる）。

医薬品産業がかかえる問題の1つは、増大する新薬への期待と、その研究開発コストとの関係であろう。医薬品産業全体としての社会的責任を果たすということ以外に、個々の企業の存続の問題にも深く関わり、わが国のように薬価基準で価格決定がなされているような国においては、報酬と費用とのバランスをどのようにとることが最適であるか、又は最適に近いかは稀少資源の有効利用の点からも極めて重要な課題である。医薬品産業は現在薬価基準による価格決定、あるいは、研究・開発、製造及び流通の各段階において、それぞれG L P、G M P、G S Pの規制をうけ、更には種々の法的規制のもとで、可能なかぎり市場の調整機能を生かし、そのうえで安全性有効性の高いすぐれた新薬の開発のインセンティブを企業に与えるシステムをつくることが、目下の最重要課題であろう。

# シンポジウム

## 1. 長期毒性検索の方法論的展望

柳田知司

(財)実験動物中央研究所付属前臨床医学研究所

毒性とは化学物質の生体に対する有害作用特性をいう。しかし、有害作用の判断は必ずしも容易でないことがある。長期毒性とは化学物質を長期間投与したときにみられる毒性である。「長期」の厳密な定義はないが、一般には慢性毒性や発癌性などがこれに該当するものと思われる。しかし、急性毒性に対比させていう毒性の場合には、数週間以上の反復投与によりみられる毒性も含めてよいであろう。以下、長期毒性の検索の方法論的問題を考えてみたい。

## 1. 現行毒性試験による長期毒性の種類

医薬品などの化学物質の長期毒性は、通常、亜急性毒性試験および慢性毒性試験により検索される。ここでは全身諸臓器組織への機能的および形態的毒性が検索される。検索方法は、動物に被験物質を一定期間投与し、その期間中の全身状態の肉眼的観察、摂餌量および体重の観察、血液学および血清生化学的検査、尿検査、眼および心電図検査、血圧測定などを行い、また投与終了時に剖検して、全身諸臓器の重量測定、肉眼的および組織病理学的観察を行うことによる。これだけでは不十分あるいは不明な長期毒性もあり、それらが特殊毒性試験として検索される。これらの主なものには発癌性、生殖毒性（催奇形性を含む）、局所刺激性、抗原性、光感作性、および薬物依存性などがある。

## 2. 長期毒性評価の方法論

長期毒性検索の意義は、いずれの化学物質の場合でも究極的にはそれによってヒトにおける安全性を確認し、または予測することにある。最終的に知りたいことは、1)ヒトでは安全か否か、2)もし安

全とすれば摂取量や期間など、どのような条件下で安全といえるか、3)もし危険とすればどのような条件下でどのような危険が考えられるか、4)その危険は生命にかかわったり不治であったりしないか、5)どのような点に注意すれば危険が起こった場合の早期発見が可能か、というような点である。これらに答える情報としては、a)動物でみられる毒性の種類および投薬条件と発現の有無強弱、b)その投薬条件における化学物質の動物体内動態とくに血中濃度、半減期、および主要代謝物、c)これらの毒性および体内動態に関する既知化学物質との比較、d)これらに関する動物種差、などがの情報が必要とされ、これに基づいてヒトへの外挿が行われる。

### 3. 現行長期毒性試験の問題点

ヒトへの外挿という観点に立って現行の長期毒性試験を省みると、十分な点と無駄な点が指摘できる。不十分な点としては、毒性発現条件と体内動態の関係および種差に関する情報の不足が挙げられる。無駄な点としては、毒性試験の形骸化が指摘出来よう。必要とされる試験の種類が、個々の化学物質の毒性学的特性とは無関係に定められているために、明らかに不要と思われる試験も行わなければならないことがある。例えば、生物活性が非常に低い物質で亜急性毒性試験でなんらの毒性もみられないような場合の慢性毒性試験などがこれに該当しよう。発癌性試験をマウスとラットの両方で行うこともヒトとの種差の大きさを考えればあまり意味があるとはいえない。今日では亜急性、慢性、生殖などの各試験で詳細な観察や検査が必要とされているが、被験物質の毒性学的特性によってはこのような観察や検査は全く無意味な場合が少なくない。これは研究者が個々の化学物質にとってどのような情報が必要かをよく判断できる力を備えていれば省くことができる。しかし、現行のカイドラインでは研究者の判断に委ねられる余地は少ない。これは世界的にいえる傾向で、それだけ未だ毒性学のレベルが低く、研究者が少なく、あるいは毒性学従事者が信頼されていない証であろう。専門家の養成が世界的に急務とされているゆえんである。

高 仲 正

国立衛試・安全性生物研・薬理

諸化学物質を長期間にわたって投与し、生体に与える有害作用を生理学的、生化学的、病理組織学的手法を用いて、形態および機能面から調べ、さらにその作用機序を解明するには、非常に広範囲にわたった検討が必要である。この過程を現状に合せて考えるとガイドラインに従った毒性試験とその結果を基にした毒性学的研究に分けられる。

毒性試験： 化学構造およびその作用が全く異なる種々の化学物質について、機能面および形態面からみて多種多様に発現する可能性がある毒性の種類と強さを、全て明らかにし得るような試験項目を網羅した試験法を規定することは困難である。従って、諸化学物質に対して基本的に必要な共通性のある検索方法が毒性試験法ガイドラインとしてまとめられており、毒性を解明する上ではスクリーニング試験として位置付けられている。

医薬品、食品添加物、農薬、飼料添加物、化審法による化学物質について、その毒性試験法ガイドラインをみると、長期毒性に関する試験は各ガイドラインともほぼ同様な検索項目が示されている。この検索項目を生理学的、生化学的および病理組織学的検索に分けてみると、類似の方法で広範な変化に対応しうる病理組織学的検索に重点が置かれていることが分かる。一例を医薬品のガイドラインにとると、その慢性毒性および重急性毒性試験における検索方法には、血液生化学的試験を除くと生理、生化学的手法を用いる検索は少なく、機能上の障害に関連するものとしては「一般状態を毎日観察」「必要があればその他の臨床検査を行う」等少ない。これはラット、

マウス等試験中の動物から検査のための影響を与えない状態で採取出来るサンプル量は限られるため、生化学的諸検査を多項目にわたってある頻度で行うことは難しい。また、生理学的検査についても、長期試験では動物を長期間にわたってより良い状態で飼育することに重点がおかれている結果、バリヤーシステムの導入等により、研究者と動物との接触を出来るだけ少なくする方向で進められている。そのため一般症状の観察および体重、摂餌・摂水量の測定以外は、動物の屠殺時又は数カ月の間隔で測定する程度に定められており、従って種々の測定機器を用いて生理学的手法によりその影響を調べるような試験は組み込み難い面がある。しかしながら、長期毒性試験の結果からより多くの情報を得るためには、試験に当って類縁化合物の化学構造や作用機序から推定して予測される作用、殊に機能上の障害を検出し得る生理学的、生化学的検索項目を追加して行うことが肝要である。また、長期毒性を評価する上で有用な継続投与による吸収、分布、蓄積、代謝、排泄に関する資料を入手し得るような計画を立案することも考えられる。

毒性研究： ガイドラインに従った毒性試験でも勿論毒性発現の機序まで推測し得る結果が得られる場合もあるが、一般的には前述のごとくスクリーニング試験としての要素が強い。従って、認められた有害作用についてその発現機序を解明するため、さらに研究を行う必要がある。また、現行のガイドラインを考えると、ヒトにおける中毒事例にみられる障害の種類、部位、程度等を動物実験で得られた結果と比較した場合、長期毒性における機能障害を有効に検出するための種々の検索方法を確立して行く必要がある。これにはラット、マウス等の小動物を用いた試験に組み入れ得る方法の確立やイヌ、サル等の中動物を用いる試験は小動物とは異った扱いをし、研究者との接触をより密にして、機能障害の検索を中心としたより詳細な試験に用いることも考えられる。



長期毒性 —— その考え方と評価  
「病理学的立場から」

伊東信行

名古屋市立大学医学部第一病理

環境中に存在する化合物、特に医薬品、農薬、食品添加物などのヒトにおよぼす毒性を評価するためには主としてラット、マウス、ハムスターなどのげっ歯類を用いた長期毒性試験が不可欠である。そして、その化合物の毒性は発癌性を含めて最終的に病理組織学的検索によって判定されている。今回、長期毒性試験に際しての問題点とそれに対する我々の対応について述べてみたい。

第1には動物の種による変化の差異であろう。例えば、毒性変化の比較的出現しやすい腎では、ラットの場合蛋白様円柱、糸球体硬化、色素沈着等がよくみられるのに対し、マウスではこれらの変化は少なく、逆に尿細管の空胞変性がよくみられるようになる。腫瘍性病変は精巣の間質細胞腫瘍がラットでは高頻度にみられるのに対し、マウスではほとんどみられないなど動物種による差がかなり認められる。さらに同様の変化は動物の系によっても著しく異なることが知られている。このことは長期毒性試験や発癌性試験の際動物種や系の選択が重要であることを意味している。特に発癌性試験の場合、異なった2種以上の種—例えばラットとマウス—に発癌性が証明されているかどうかはその物質の発癌性評価の際、非常に重要視されている点である。また、げっ歯類のほか猿、犬などの非げっ歯類を用いることも場合によっては必要となる。

第2は用量の設定についてである。用量相関作用をみる必要のある場合、対照群を含めて3用量群は必要とされている。最高用量群の設定として、一般的には著しい生命への影響が無く、毒性兆候を現す量で、検体を飼料に混じる場合は栄養成分を除いて検体含量が

5%を越えない量とされている。その他、最大耐量(Maximum Tolerable Dose:MTD)を用いる場合もある。これらの実験期間についてはげっ歯類の場合1年、2年、24~30カ月とするものから、対照群の生存が20%に達した時期とするものまであり、統一された見解が得られていない。

第3は、動物による長期毒性試験、特に発癌性試験の成果が国際的に評価されるための条件であろう。これは次のような条件が満たされていることが要求されている。即ち、1)行われた試験が国際的に確立された長期試験法の指針に依っていること。2)発癌性陽性とするには次の4つのうち少なくとも1つが満たされていること。(a)対照群にみられないタイプの癌が実験群に認められる場合。(b)対照群にもみられる癌であるが、実験群でははるかに高率に認められる場合。(c)対照群にみられるより多くの臓器や組織に癌が発生する場合。(d)実験群における癌の発生時期が明らかに早い場合。3)さらに次の基準のいずれかが充分であることも要求される。(a)複数の動物種で認められること。(b)複数の系の動物において認められること。(c)複数の実験において認められること、などである。また、発癌性試験を評価する場合に、それを量的に評価する方法としてTD<sub>50</sub>を用いることがある。これは検索物質を2年間与え続け、50%の動物にその病変を発生させた場合の一日の摂取量のことである。さらに、より正確にその化合物の毒性を評価するにはVSD (Virtually Safe Dose) が用いられている。これは10万分の1あるいは100万分の1の危険度というきわめて低率での発癌の可能性のある量を意味し、その化合物の危険性を量的に評価する1つの指針として用いられている。VSDをもとに算出すると、例えば、強い肝発癌物質として知られているAflatoxin B<sub>1</sub>の発癌性はSodium Saccharinの1億倍の強さを示すことになる。

最後に、長期毒性について問題となるのは、被検物質相互間に認められる加算効果や相乗効果が認められることであり、これらの作用は多くの物質で証明されており、被検物質の毒性や発癌性を評価

する場合、忘れてはならない点であると言えよう。また、動物の加齢により被検物質に対する感受性が大きくことなることも観察されている。従って、実験に用いられている動物の宿主側の条件についても十分に検討する必要がある。

以上、長期毒性、特に発癌性の評価に際しての問題点を述べてきたが、長期にみられるこれらの変化を早期に推測する方法の開発が各方面からの要望となってきた。我々もラット肝の前癌病変を指標とする方法、膀胱や各種臓器の変化を指標とする方法など被検物質の発癌性を早期に推定する方法を開発し、すでに多くのdataを得ており、その結果は長期発癌性試験の結果とよく一致することを確認している。これら長期毒性試験の評価を早期に判定し得る新しい検索法の各種の利点についても紹介したい。

# 長期毒性—その考之方と評価—(臨床)の立場から

上田 豊史

九州大学医学部泌尿器科

一般臨床の中で、とくに泌尿器科領域においては、尿毒症発症に  
おける抗生剤使用による肝障害、腎障害、また尿路上皮腫瘍にお  
ける抗癌剤使用による骨髄障害、腎障害などが毒性として問題とさ  
れている。薬剤による患者の治療と、その毒性による副作用の発生  
は表裏一体であるが、臨床的立場になると、患者の生命を守るとい  
う重大な使命があり、長期毒性の出現においては、社会的面からも  
細心の注意を払って回避しているのが現状であり、臨床に、問題と  
なるのは、ほとんどが可逆性や短期毒性であり、この点に関しては、  
薬の効果がなされている。このように、中々中々臨床医が日常使用  
している薬剤による長期毒性に関して、臨床的立場から示している文  
献は持ち合わせていない。

一方、発癌物質を取り扱う職場における癌多発の問題は、内外で  
すでに広く論じられ、その因果関係について言及した論文も多く報  
告されている。その中でもかかわらず、その社会的判断の大きさのた  
めに、治療機関による職業性尿路上皮癌の発生状況、長期飲薬、治  
療の詳細な報告はいまのところ少ない。今回、長期毒性の泌尿器科的臨床  
の立場よりみたテーマとして、産業化学物質による尿路上皮癌に関  
し、臨床的評価を加えてみた。一化学工場において芳香族アミン化  
合物を用いる染料中间体等に従事した労働者430名中に膀胱腫瘍  
を中心とした尿路上皮腫瘍の発生がみられ、われわれは職場の健康  
管理システムと連携を保ちながら当該患者の診断、治療を行ってま  
いた。これら430名中、症候的、病理組織学的に尿路上皮腫瘍と診  
断し、治療を施行した57名について、臨床的立場より、発癌率、

発症年齢、発症部位、潜伏期間、潜伏期間、診断法、治療法、再発率、予後等について長期観察を行なった。

現在までのところから推定では、尿管上段尿管癌の発症率は12.3%であり、発症年齢は平均44.7歳である。事物曝露期間別での発症率は5年未満の間に比べて、5年以上の方が有意に発症率が高く、潜伏期間は平均19.9年と長い期間を要していた。発症部位としては、膀胱が最も多いが、57例中14例には、上部尿管にも発症し、このうち57例が両側上部尿管であり、尿管全体に発生しうる結果であった。診断法としては、上部尿管に対しては腎盂造影を中心とし、膀胱に対しては膀胱鏡、尿管膀胱鏡を施行し、膀胱鏡所見により発症と診断された症例のうち56例(85%)は尿管膀胱鏡所見と一致し、再発例では77.5%のみ一致しており、非侵襲性のスクリーニング検査としての尿管膀胱鏡の有用性が示唆された。治療法としては、上部尿管にも膀胱癌発生が合併しやすいという事実より従来の上部尿管切除を目的とした治療であるTURを施行し、多発性、びまん性発症で頻回再発性、または浸潤性発症例に対しては膀胱全摘と施行し、尿管変更術を行なった。一方上部尿管尿管癌発生例に対しては、片側のみの場合には腎、尿管全摘術、両側性の場合には摘出を目的として、腸を用いた尿管再建を中心とした保存的治療を行なった場合の再発率は70.2%と非常に高いが、5年生存率は88.7%と良好な結果を得ており、保存的治療の妥当性がうかがえる。しかしながら、患者にとりて何日も手術を受ける苦痛はかわいひ医師には計りしれないものがあると思える。このように長期にわたる発症という危険を背負った患者の生活の質の向上が、わがわれ病友医にかせらるべき大きな課題であろう。

以上、長期専任の1つの症例として、青年化事物曝露による尿管上段尿管癌の発生という事実を検討してきなが、現在では、予後についてはあるが、新鮮例の発症をみしており、尿管癌科における治療的長期専任の重要性を課題として、今後治療に観察し、その症例を明らかにしていく必要を痛感している。

児玉 泰

産業医科大学 衛生学

労働の場における化学物質の中には生活環境では通常遭遇しないようなものが存在し、また、ばくろ濃度やばくろ期間も一般環境とは異なる場合も少なくない。そのため、産業界における化学物質へのばくろ濃度を定めるに当たって、生体影響の中でもとくに長期毒性が重要視されている。すなわち、ヒトの中毒事例および動物による実験的研究、産業界における経験などから量-影響関係、量-反応関係を明らかにするとともに、労働者が有害物質に1日8時間繰り返しばくろを受けても当該物質の空气中濃度がその数値以下ならばほとんど全ての労働者に健康上の悪影響が認められないと判断される濃度を許容濃度として用いている。ここでは動物を用いた毒性試験によって得られる無作用量に安全率を考慮し、ヒトへの外挿が行われるが、これは化学物質による生体影響に動物とヒトの間に多くの共通点が見られることに基づいている。しかし、各種の要因が作用しているヒト集団に発生する化学物質の影響が、限定された条件下における動物での長期毒性試験成績と必ずしも一致しない場合も起こり得ると思われる。とくに低濃度長期ばくろ影響に認められるヒトと動物間の差に対する解釈、実験方法の検討は極めて重要であるにもかかわらず、多くの困難な問題を抱えている。産業医大衛生学教室では、ビーグル犬を用いたカドミウム（以下Cd）の長期経口投与実験を7年間にわたり継続しているが、その成績についてここに報告する。Cdは産業界において広く用いられている金属の1つであるが、急性および慢性中毒の報告事例があり、とくに慢性中毒では肺気腫、腎障害、低分子蛋白の尿中排出等がいわれている。わが国

では、神通川流域住民に骨変化を伴う患者の発生があり、当地区ではCdによる汚染もあったことから、行政的に公害病として認定された。以来、Cdの長期毒性影響は注目されているところであるが、演者らはヒトの米からの摂取量（ヒトおよび動物間の安全係数 = 10）を考慮し、Table 1 に示すような投与量を決定した。この実験ではTable 2 に示す検査項目について定期的に検査を行っているが、体重および外観は高濃度Cd投与犬以外の犬ではコントロール犬と差が認められていない。血中Cd量、尿中Cd量は投与量に対応した差が認められており（Fig. 1, 2）、50mg/day、100mg/day投与犬では100週目頃より尿中Cdの急激な増加と血中・尿中の亜鉛および銅量の増加が見られた。また、血中Cdが60  $\mu$ g/dl程度以上で尿中Cdの急激な増加が認められた（Fig. 3）。その他これら高濃度投与犬では、100 - 120 週頃より尿量の増加が認められ、ほぼ同時期から尿蛋白陽性反応が認められ、尿中 $\beta_2$  マイクログロブリンは雄では130 週目、雌では90週目頃より検出されている（Fig. 4）。また、高濃度投与犬において一日尿中総蛋白排泄量、血清クレアチン濃度、BUN 濃度などが対照群より高く、%TRP、クレアチニンクリアランス値の低下が認められることは、腎障害を疑わせるものである。しかし、5 部位（上、下肢部、頭部、腰椎部、骨盤部）の骨のX線撮影では、Cd投与犬と対照犬との間に骨変化の顕著な差は認められていない。Cdが発症に何等かのかかわりを有するのではないかと疑われているイタイイタイ病患者に認められる骨変化が、塩化カドミウム単独で、低濃度から高濃度まで、しかも7年という長年月にわたりビーグル犬に投与した実験では認められなかった。産業現場において、二三の例外はあるとしても、腎性骨軟化症は容易には発症せず、Cdによって骨変化がおこる場合はその他の要因が重要な役割を果たすと考えられる。しかし、産業現場で用いられる化学物質の安全性評価は動物の長期毒性試験に依存している所が大きく、多くの場合それが十分な役割を果たしているけれども、用いる動物種、種差、化学型、投与期間、観察項目さらにヒトへの外挿法等産業医学的立場からも

長期毒性試験に当って検討すべき点は少なくない。

Table 1 Method

Animal	14 beagle dogs	
Chemical form	CdCl <sub>2</sub>	
Route	Oral administration	
Period	7 years	
Dose		
	Cd intake	Cd Concentration*
No. 1	1 mg/day	→ 3 ppm
No. 2	3 mg/day	→ 10 ppm
No. 3	10 mg/day	→ 33 ppm
No. 4	50 mg/day	→ 165 ppm
No. 5	100 mg/day	→ 333 ppm

\* Food consumption: 300 g/day

Table 2 Observation

General	External appearance(Daily), Body weight(weekly)
Biochemical assay (every 4 week)	
Blood	Hb, HCT, RBC, WBC
Serum	Enzyme(GOT, GPT, ALP, LAP, $\gamma$ -GTP, LDH etc.)
	TP, Alb, A/G, ZTT, TTT, Glu, Tch, TG, $\beta$ -LIP, BUN, CRM
	Uric, Na, K, Ca, P etc.
Urine	Volume, Specific gravity
	PR, Glu, Protein etc.(qualitative)
	TP, Low molecular protein, $\beta_2$ -MG
	P(-STRP), CRM(-Ccr)
Feces	Cd concentration
Metal	Cd, Zn, Cu concentration in blood and urine
Final observation	
	Cd, Zn, Cu concentration in organ
	Histopathological observation etc.

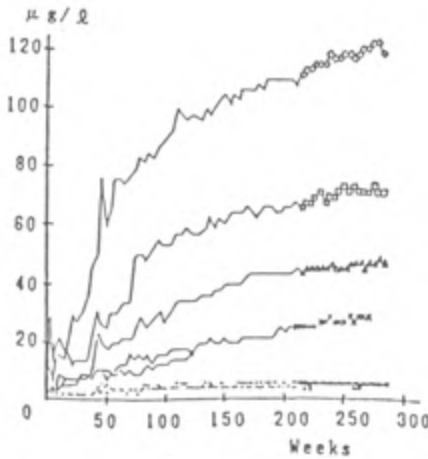


Fig. 1 Cd-B (♂)

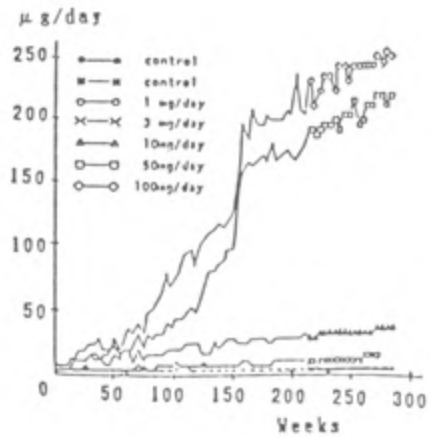


Fig. 2 Cd-U (♂)

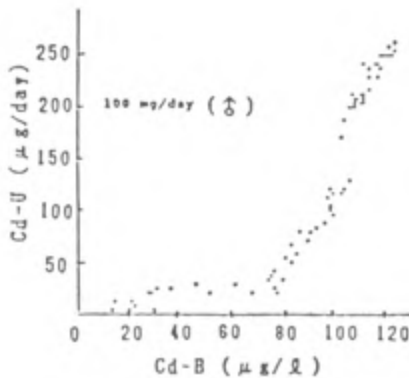


Fig. 3 Cd-B : Cd-U

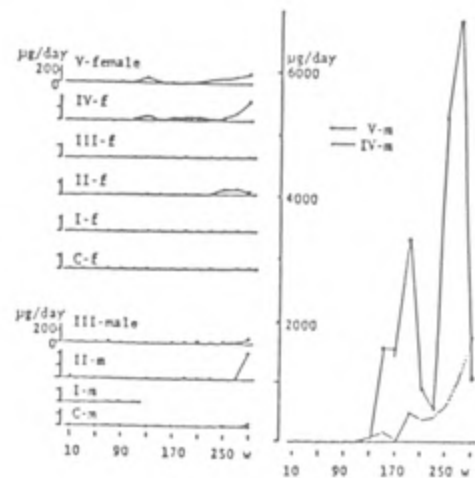


Fig. 4  $\beta_2$ -MG



高 垣 善 男

中外製薬株式会社 開発研究所

長期毒性といえば、長期間にわたる繰返し投与によって生ずるものということで、慢性毒性およびがん原性などが、これに該当する。

まず初めに、長期とはどのくらいの期間をいうかについて、その考えを明確にしておく必要がある。動物種の寿命に近い期間にも及ぶということで長いとする考え方と、一般的に繰返し投与される期間が長いことから単に長期とする考え方とがある。マウス、ラットおよびハムスター類を用いて行われるがん原性試験はさしづめ前者の例であって、寿命と関連づけて期間が設定されている。各動物種を用いて行われる慢性毒性試験は、6、12あるいは16ヵ月など、いわゆる繰返し投与される期間を決めて行われるもので、単に長いという後者の事例といえよう。

長期毒性実験は期間が長いだけに、その完璧な実験は難しく、また再実験されることも稀である。とくに成績評価に当たっては配慮すべき事項が多く、簡単にはできない。たとえば、長期間にわたって試験が行われることになれば、短期間であれば可能な実験諸条件の設定および維持もなかなか計画どおりにはいかない。そのほか、マウスやラットは1.5または2年齢に達すると、自然発癌など、加齢や老化にともなう異常が現れるので、それらと投与による変化との区別がつかず、見誤る事もある。そして、感染により動物が死亡したり、しないまでも、感染の影響がデータに及び、読みとりを誤る心配がある。長期間にわたって自然感染を防御するのは非常に困難であり、長ければ感染する機会も多くなり、老齢だと感染しやすいともいわれる。試験が長期間に及べば及ぶ

ほど、その他のトラブルも発生し易いわけであり、ときに実験操作および飼育管理に不手際が生じたり、被験物質の保証、管理が適正に行われなかったりするなどいろいろである。なお、その長期飼育条件での動物に関する諸データが収集、掌握されたうえでなくては、適正な評価は行えない。

医薬品、農薬などの製造または登録の許認可等に係わる安全性検討として、長期毒性の評価を行う場合には、毒性ガイドラインあるいはG L P基準などの規制をうけるのはいうまでもない。しかし、その評価、検討を科学的に行うのにはメーカーだからということで、とくに考慮せねばならないことはない。むしろ、一部のG L P非対象の実験においては、対象試験で求められている基本的考え方および手法などを積極的にとりいれて然るべきと考える。以下に適正実施するために留意すべき主要事項を述べる。①綿密な実験計画を立て、その内容を実験関係者に対して周知徹底したうえで、それに従って実施する。②感染防御体制の整った施設、設備（バリア施設）に、厳格な検疫を行った上で、動物の導入をはかり、非感染状態での供試につとめる。できればS P F動物の導入をはかる。③なお、期間中に他からの感染がなかったことを保証し、もし万一感染したとき迅速に対応するために、微生物モニタリングを実施する。④高度技術を有する飼育技術者によって、適正な飼育管理を行う。⑤指定どおりの投薬、処理を行う。⑥観察、検査は指定どおり、適切な方法により実施する。⑦各種記録、標本類を適切に保管する。

長期動物実験は適格に実施できる条件がととのったうえでなくては実験を開始すべきではない。長期間飼育が可能であることがまず前提となるが、それを可能にしたのは、とくに動物のS P F化とバリア施設の設定によるといわれている。しかし、感染防御策はある程度講じられたものの、動物を老齢まで適正に飼育するための栄養学的検討（飼料成分と給与基準など）、飼育管理方法の改良（群飼または単飼、ケージ、運動負荷など）までは、まだ十分手がつくされていない。

長期間に及ぶとなると、簡単に実施できるわけではなく、それ相応の経費と手間がかかり、それに見合う成果が求められる。慢性毒性の評価のためには、はたして長ければ長いだけ本当によいといえるのか、見直しが必要である。1ヵ月投与での亜急性毒性試験で、検出されなかった毒性指標が、3ヵ月投与あるいはそれ以上の期間の投与でとらえられるケースは比較的多い。しかし、6ヵ月と12ヵ月あるいは16ヵ月との差（新たな指標の発現、確認）がはたしてどの程度あるかについては疑問が残る。ただ繰返し投与の回数が多くなるに従って、反応が進行するのか、その反応のあらわれる投与量が漸次低量に移行するのか、などを観察する意義はあろう。それにしても、もう少し短い期間ですむ場合が少なくないを考える。

最近では、バイオ関連物質など、高分子化合物についての長期毒性をいかにして評価するかが話題となっており、その可能性を含めて、その実施に当たっての問題点がいくつか抱えられている。そのほかにも、たとえば刺激性のある物質のように、投与時の刺激による二次反応のために、維持投与を困難にしたり、それらにまどわされて本来の毒性発現を見誤ることもよく経験される。

長期間にわたる経口投与は通常、飼料に被験物質を混合して摂取させる方法によって行われているが、1年以上に及ぶ慢性毒性試験または発癌試験でも最近、強制経口投与によって行われるようになってきている。技術レベルが低いと投与失宜が起きやすく、死亡するケースもときにみられる。これらは技術の開発ならびに技術の熟達により解決がはからねばならない。

# ワークショップ

真板 敬三

(財) 残留農業研究所

長期毒性試験は、人間が長期間連続的に暴露される薬物における慢性毒性および発癌性を検索する目的で実施される。しかし、薬物固有の慢性毒性を評価するのであれば、その試験期間は毒性変化が加齢性病変の修飾を受ける以前に設定すべきであり、今回とりあげたF344/DuCrj ラットおよびCrj:CD-1 (ICR) マウスにおいては52週間程度が妥当な期間であろう。この点では、腫瘍という広い意味での加齢性病変について、発生頻度を対照群と投与群間で比較する発癌性試験とは根本的に試験期間の考え方が異なるべきである。しかし一方では、薬物を人間の内的・外的環境における環境毒物の一つであると考えれば、それによる長期暴露の影響を非腫瘍性の加齢性病変についても検索すべきであろう。これまでは、医薬を除く農業、食品添加物、飼料添加物等において後者の考え方が一般的であったが、最近では医薬における発癌性試験でも、非腫瘍性病変の質と頻度に関心がもたれつつある。今回は前記の系統のマウス・ラットにおける、104週間慢性・発癌性試験の対照群に認められた非腫瘍性加齢性病変について報告する。試験開始時において、マウスは4匹、ラットは5匹の群飼育とした。基礎飼料は粉末状で、100g中に水分7.0g、粗蛋白24.0g、粗脂肪5.1g、粗灰分6.2g、粗繊維3.2g、可溶性無窒素物54.5gを含んでいた。以下に認められた主な病変を記載する。

循環器系：マウス；〔心臓〕心筋萎縮・線維化－雄に好発，心耳血栓－左心耳，雄に多い，〔動脈〕全身性動脈炎－心・胸腺・脾・腎・膀胱・精巣・卵巣・子宮・胸・腹腔内動脈・頭部動脈に好発

ラット；〔心臓〕心筋萎縮・線維化－雄に好発，心耳血栓－左心耳

造血器・リンパ系：マウス；〔骨髄〕造血亢進－皮膚疾患に付随，〔胸腺〕リンパ球系細胞過形成－雌に好発，〔リンパ節〕リンパ球系細胞過形成，髓外造血亢進－皮膚疾患に付随，雄に好発，〔脾〕リンパ球系細胞過形成，髓外造血亢進，褐色色素沈着増加

ラット；〔骨髄〕造血亢進，〔胸腺〕上皮系細胞過形成，〔リンパ節〕

形質細胞過形成，髓外造血亢進，褐色色素沈着増加

呼吸器系：マウス；泡沫細胞（組織球系細胞）肺胞内浸潤，

ラット；肺動脈壁鉍質沈着—雄に好発

消化器系：マウス；〔唾液腺〕小胞細胞萎縮，〔腺胃〕粘膜上皮過形成，

〔肝〕肝細胞脂肪化，肝細胞腫大—雄に好発，巣状・塊状肝細胞壊死，肝細胞過形成—雄に好発，星細胞褐色色素沈着増加，小肉芽腫，髓外造血亢進

ラット；〔食道〕拡張症—鼻腔・副鼻腔・中耳・肺に化膿性炎，〔腺胃〕粘膜上皮腸上皮化生—雄に好発，〔肝〕肝細胞脂肪化，肝細胞小増殖巣—好塩

基性が多い，Spongiosis hepatitis，小肉芽腫，褐色色素沈着増加，胆管過形成，間質線維増生，髓外造血亢進，〔脾〕小胞細胞萎縮，島細胞過形成

泌尿器系：マウス；〔腎〕糸球体薄膜肥厚，糸球体硬化症（慢性糸球体腎炎），

のう胞形成（ボーマンのう拡張），尿細管萎縮，腎盂拡張（排尿不全）—雄に好発，〔膀胱〕腔拡張（排尿不全）—雄に好発

ラット；〔腎〕慢性腎症—雄に好発し病変も高度，近位尿細管上皮褐色色素沈着増加，皮髄境界部鉍質沈着—雌に好発

生殖器系：マウス；〔精巣〕精細管萎縮，〔精のう・凝固腺〕分泌物うっ滞—

膀胱腔拡張（排尿不全）に付随，化膿性炎，〔卵巣〕萎縮，のう内水腫・血腫，〔子宮〕子宮腺のう胞状拡張（過形成）

ラット；〔精巣〕精細管萎縮，〔前立腺〕化膿性炎，〔卵巣〕萎縮，〔子宮〕腔拡張，子宮腺のう胞状過形成

内分泌器系：マウス；〔甲状腺〕小胞拡張，〔副腎〕被膜下細胞増生

ラット；〔下垂体〕前葉過形成，ラトケのう遺残，〔甲状腺〕C-cell過形成，

〔副腎〕皮質脂肪化，皮質過形成，Adrenal peliosis，髓質過形成

神経系：マウス；〔脳〕脳幹部鉍質沈着—雄に好発，延髄薄束核 Spheroid

body，〔末梢神経〕脊髄神経根神経線維変性，坐骨神経神経線維変性

感覚器系：マウス；〔眼〕白内障，〔ハーダー腺〕小胞細胞過形成

ラット；〔眼〕白内障，網膜変性萎縮，〔耳〕中耳炎

皮膚・付属器：マウス；〔皮膚〕皮膚炎／びらん／潰瘍，〔乳腺〕小胞過形成

ラット；〔皮膚〕毛のう炎，〔乳腺〕小胞過形成

全身性アミロイド症：マウス；1979年以前は雌雄とも 47 / 274 (17.2%)，

以後は雄 3 / 492 (0.6%)，雌 15 / 492 (3.0%)に減少

## 佐藤 哲 男

東京薬科大学第一薬理学教室

はじめに

一般に、異物が生体に取り込まれた場合、主として肝臓において処理された後、排泄される。しかし連続投与の場合はその事情がかなり異なり、予測しない結果をもたらすことが少なくない。たとえば、薬物療法において同一薬物が長期連続投与されたとき、薬効が次第に減弱することがある。その原因としては、当該薬物の作用部位における感受性の低下と末梢における薬物代謝酵素活性の増加による代謝促進が考えられる。

一方、薬物によっては薬物代謝酵素活性を増加せず逆に阻害するものもある。さらには、投与経路・用量・期間などにより、同一薬物でも薬物代謝酵素活性を増加(induction)したり、阻害(inhibition)したりすることがある。本ワークショップでは連続投与時にみられる酵素誘導および酵素阻害について毒性学の立場から述べる。

## 1. 酵素誘導

薬物を連続投与することにより、薬物代謝酵素活性が投与量や投与期間に依存して増加することがある。一般に酵素誘導能を知る場合の目安としては、最終投与後24時間以上経過してから酵素活性を測定した

方がよい。その理由は、体内に残存している薬物による酵素の競合的抑制がみられることがあるからである。誘導能の有無と化学構造との間には特に相関はない。唯一の共通点は生理的 pH の下で脂溶性であることである。また、一般に代謝をうけにくく、半減期の長い薬物ほど誘導能が高い。しかし、速やかに代謝をうけ排泄される薬物でも繰り返し投与すれば酵素誘導をおこすことがある。

### 1) 薬物代謝酵素の誘導と細胞機能

酵素誘導は環境の変化に対する細胞の適応現象の一つであり、細胞の正常な機能が異物の受け入れによって大きく攪乱されないような方向へ細胞機能を変化させるものである。もし酵素誘導によって高まった薬物代謝活性が肝細胞内の常在成分の代謝と直接の関係がなく、薬物代謝により生成した中間体あるいは最終生成物が細胞の機能に何等影響を与えないのであれば、薬物代謝酵素の誘導は細胞に有害な影響を及ぼすことはない。しかし、実際には薬物代謝酵素の誘導は肝細胞の正常な代謝にまで影響を与える可能性があるし、その上薬物の活性代謝物が細胞毒性を示すことも少なくない。そのような細胞への影響が、結果として個体レベルでの薬物の毒性として現れることとなる。

### 2) 誘導機構

酵素誘導は主として肝小胞体の異常発達に関連し、また、活性化アミノ酸から蛋白質への真の *de novo* 合成の促進を意味している。誘導において最初の 2~3 時間は核内の RNA ポリメラーゼ活性がかなり増加する結果、転写が亢進し、より多くの細胞内 RNA が生成され



る。誘導時には小胞体膜に存在するリボヌクレアーゼ活性が著しく減少する。これはmRNAの分解の阻止を説明するものであり、同時に蛋白合成の亢進に寄与することを意味している。チトクロームP-450(以下P-450と略)の生合成は誘導剤により促進され、蛋白合成阻害剤であるエチオニンにより抑制される。

誘導能を有する物質は200種以上知られており、長期投与により他の化合物の代謝を促進するのみならずそれ自身の代謝をも亢進する結果、薬効・毒性に影響を及ぼすものもある。代表的な物質としては、①フェノバルビタール、②多環芳香族炭化水素、③塩素含有化合物、④アルコール、⑤その他、などがある。

## 2. 酵素阻害

薬物代謝反応は基質特異性の低い酵素反応であるため、複数の薬物を同時あるいは時間を前後して与えると、相互に阻害することにより単独投与の時よりも代謝が阻害されることがある。

### 1) 阻害機構

代謝反応にはP-450と基質との結合が必要であるので、結合部位における競合が考えられる。P-450には疎水性結合部位とヘム鉄部位の2種があるとされているので、当然のことながら親和性の大きい基質は小さい基質を追い出すことにより結果的に親和性の小さい基質は代謝が遅れることになる。また、P-450依存性薬物代謝系においては電子伝達系の阻害やフラビン酵素( $fp_1, fp_2$ )の活性低下による代謝阻害が考えられる。さらに、P-450に基質あるいはその代謝物が共有結合するために、P-450が修飾され活性低下や分解を生ず

ることがある。さらには、ヘム並びにアポ蛋白の合成阻害や分解促進が考えられる。ヘム量の増減は直接的に体内のヘムのプールの動態を変えるため P-450や b<sub>5</sub> 量に影響する。

従来知られている多くの阻害剤は上記のいずれかに分類されると考えられ、薬物を長期に投与した場合これらの機構により阻害が現れることが多い。よく知られている代謝酵素阻害剤としては、① SKF 525-A, ② metyrapone, ③ imidazole類, ④ methylenedioxy-benzeneとその誘導体, ⑤ 蛋白合成阻害剤などがある。  
おわりに

以上述べた様に、薬物の長期毒性はその物質の代謝に深く関わっている。したがって、薬物代謝酵素でみられる種差の問題も当然考慮されねばならず、本ワークショップにおいてはこの点についてもふれたい。

石館 基・祖父尼俊雄

国立衛生試験所・安全性生物試験研究センター・変異原性部

微生物を用いる遺伝子突然変異試験、特にサルモネラ菌をもちいる復帰変異試験（Ames テスト）が、環境中に存在する発がん性物質の短期検索法の1つとして重要視されてから久しくなる。この間、被験物質の処理法、代謝活性化法、あるいは、菌種の改良などが加えられ、試験法自身の感受性もかなり高まってきた。既知発がん性物質に対する検出感度（感受性）は、その報告者がどの様な物質を取り扱ったかによって大きく左右される。Purchase らは58種類の発がん性物質の91%が陽性、長尾と杉村は160種類中85%が陽性、また、Rinkus と Legatorによれば、発がん性の疑われる271化合物のうち、77%が陽性となるという。これらの結果を総合すると、発がん性の知られている物質のうちの約20%のものは現行のAmes テストでは検出できないことになる。

1978年、米国および英国の主権により、発がん性物質の短期検出法に関する国際協力事業が発足した（IPESTTC）。ここでは合計42種類の化合物が各国約50名の研究者に配布され、およそ35種類の試験が行われた。この結果、Ames テストの有用性は間違いないが、いずれの試験でも単独では、いくつかの化合物を見落す恐れのあることが解った。

1982年、WHO/IPC S（国際化学物質安全性計画）は、上記の問題に着目し、特に *in vitro* 試験法を中心とする第2段目の国際協力事業を開始した（CSSTT）。ここでは、発がん性が疑われているにかかわら

ず、従来のAmes テストでは検出しにくい化合物、合計10種類（このうち2種類は発がん性はない）について、Ames テスト以外の試験を分担する。これには15ヶ国合計60余名の研究者が参加している。この結果、Ames テストを補足し得る試験系として、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験が極めて有望であることが指摘された。本試験は、ヒトリンパ球あるいはチャイニーズ・ハムスター由来株細胞などを用いて、染色体の構造的あるいは数的異常の誘発性を観察する。Ames テストがprokaryoteにおける遺伝子突然変異を指標としているのに対し、染色体異常試験は、eukaryoteにおける染色体レベルの変化である。両者にまたがる遺伝学的指標を用いる必要性はOECDによる遺伝毒性ガイドラインにも触れられている。

1984年、同計画は、引続き*in vivo* 試験法に関する事業を開始した。ここでは、2-AAFと4-AAF（アセトアミノフルオレン）およびベンツピレンとピレン合計4種類の化合物にしぼり、約100名の研究者が実験を担当した。その結果、マウスを用いる小核試験の有用性が指摘された。小核試験では通常マウスに被験物質を投与（腹腔あるいは経口）し、骨髓標本を作製した後、小核を有する多染性赤血球の出現頻度を計測する。もしも被験物質が骨髓に到達しない場合、あるいは、被験物質の標的臓器が別に存在するような場合には、本試験では、陰性に終る可能性はある。従って、英国のAshbyらは、小核試験で陰性となった場合には肝臓組織を用いる不定期DNA合成（UDS）法を追加するよう推奨している。

生活関連諸物質の中から、発がん性あるいは遺伝毒性の疑わしい物質を早期に検出するために、変異原性試験は極めて有力な手段である。しかしながら、変異原性試験はいわばがんの集団検診に相当する。疑わしい物質を拾い上げることはできても、それによって、発がん性を実証することはできない。殆ど全ての発がん性物質は変異原であるが、逆に、変異原に発

がん性があるとは限らない。事実、昭和50年より実施された厚生省がん研究班の実績を見ると、変異原性のあった化合物の約2～3割のものだけが、動物を用いる発がん性試験で陽性となった。例えば、鎮痛剤フェナセチンは、通常のAmes テストではかかりにくいが、ラット肝の代りにハムスター肝S9を用いると陽性となり、また、培養細胞に対して染色体異常を誘発する。その後、本剤に弱いながら発がん性のあることが解った。食品添加物である臭素酸カリウムあるいは過酸化水素もまた同様の経過をとり、最終的には使用上に関する行政的指導がなされた。

変異原性があるといっても、その活性値は物質によって大差がある。例えば、アフラトキシンとカラメルとの間では、 $10^6$  倍以上の差があることを忘れてはならない。まず、感受性の高い *in vitro* 試験系で、その活性を比較し、活性の高いものから動物実験に廻すという工夫が必要であろう。

現在、種々の動物実験を代行し得るような *in vitro* 試験系の開発が望まれている。しかしながら、*in vitro* 試験で得られる情報には自ら限界がある。短期試験によって、長期毒性の結果を予測することは難しいが、今後、長期毒性試験を必要とする物質を選別する努力は必要である。さらに長期毒性試験で得られた事象について、その機構を解明するためにも、重要な役割を演ずるものと思われる。

#### (参考資料)

1. 石館 基：変異原性試験のがん研究分野における役割  
Oncologia, 6 : 76-87 (1983).
2. 石館 基：変異原性試験法ガイドラインに関する国内外の動向 季刊  
化学品安全、2 (4) : 1-11 (1984).

3. Ashby, J., F. J. de Serres, M. Draper, M. Ishidate, Jr., B. H. Margolin, B. E. Matter and M. D. Shelby: Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens. Elsevier Science Publisher (1985)
4. Ishidate, M. Jr., M. C. Harnois and T. Sofuni: A comparative analysis of data on the clastogenicity of 951 chemical substances tested in mammalian cell cultures. *Mutat. Res.*, Submitted for publication (1987)

藤井 儔子

(帝京大・医・薬理)

薬物の胎仔（児）機能毒性を次世代、あるいはさらに継代した群について評価するに際し、①多くの研究者が手軽に行なえる方法、②再現性のよい方法、③評価用の材料が入手しやすい、等に注意し、大きくは次のA、Bの2項目にわけ、ラット用いて行なってきた。我々は日常ケージの交換、体重測定等に際しても行動上何ら異常を示さない場合も不顕性機能異常の存在を推測し、その発見のため薬物への反応性を利用した。

## 評価法

## A. 生理的発達

## 1. 体重

## 備考

頻回測定の影響をさけるため週1回、  
新生仔期の保温に注意。

生後3日目に1腹の胎仔数を揃える  
(12~14匹、可能な限り雌雄同数)。  
必要な場合は里親。

## 2. 開眼、腔開口

動物の系統、飼育条件を一定にすると  
再現性が良い。

## 3. 自発運動量\*

自動記録装置を必要。

## 4. 行動\*: play fighting

4~5週令でスコアが高い。

open-field

乳仔期から経時的観察が可能の場合は  
特定の行動の発達過程が評価出来る。

\*飼育室内での人との接触頻度の影響が  
現われる。馴れの現象があるので初

回反応か、くり返し観察かに注意。

## 5. 基礎体温

性差発現時期（7～8週令、雌>雄）の観察も役立つ。ラットは日内変動が大で午後は低体温であることに注意。

## 6. 血圧（無麻酔）

心拍数（麻酔下 ECG）無麻酔下での測定可能な機器もある。

## 7. 血中ホルモンレベル

特定の代謝物質の生理的レベル（Ca, グルコース等）も参考。

## 8. 臓器重量

必ず同時期のコントロール群必要。

## B. 薬物反応評価

1. Pentobarbital (30 mg/kg, i.p.)
2. オープンフィールドテストにおける diazepam (1～2 mg/kg, i.p.) の抑制効果
3. Chlorpromazine (5 mg/kg, i.p.)による体温下降（異常は体温上昇）
4. Thyrotropin Releasing Hormone (TRH, 10 mg/kg, i.p.)による体温上昇
5. Apomorphine (0.3～1 mg/kg, s.c.)後の常同行動
6.  $\beta$ -Adrenaline (50  $\mu$ g/kg, s.c.) or enkephalin (100  $\mu$ g/kg, s.c.) の昇圧作用、心搏数
7. Kainic acid (15 mg/kg, i.p.)投与後の wet-dog shakes、けいれん発現頻度
8. Picrotoxin or pentylenetetrazol けいれん閾値
9. 毒性テスト薬物自体の薬理作用の観察（例、抗けいれん作用）
10. LH-RH あるいは TRH刺激に対するホルモン分泌反応（中枢-視床下部-性腺系、中枢-視床下部-甲状腺系、等の機能評価）

## 応用例

1. 抗精神病薬: Haloperidol (HAL) 0.1 mg/kg (臨床高用量)



- /kg 比 1 ), Chlorpromazine ( CPZ ) 1 mg/kg ( 比 1 )
2. 抗うつ薬: Imipramine ( IMI ) 5 mg/kg ( 比 2 )
3. 抗てんかん薬: Carbamazepine ( CBZ ) 10 mg/kg ( 治療量は経口 ~ 1000 mg/日 ), Ethosuximide ( ESM ) 10 mg/kg ( 治療量は経口 ~ 1000 mg/日 )

HAL, CPZ, IMI はラットに妊娠 1 ~ 21 日 ( 分娩予定前日 ) の間、1 日 1 回皮下注射。CPZ, ESM は妊娠 5 ~ 21 日の間同様に注射。F<sub>0</sub> 世代は同一薬物群につき 3 ~ 4 匹ずつとし、時期を異にして 2 ~ 3 回くり返し実験を行なった。HAL, CPZ, IMI 投与群の継世代は同腹仔内の兄妹交配を雄 1 : 雌 2 で行なった。抗てんかん薬の実験での継世代は、異なる腹の雄、雌の組み合わせ交配によった。

F<sub>1</sub> ~ F<sub>2</sub> 世代の薬物反応性のテストは原則として、1 腹 1 回のみとした。

## 成績

表 F<sub>1</sub> ~ F<sub>2</sub> 世代の評価成績

Sex	HAL			CPZ			IMI			CBZ		ESM	
	M	F	F	M	F	F	M	F	F	M	F	M	F
Generation	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2	1 2	1 2	1 2
Growth rate													
Eye opening													
Vaginal opening													
Locomotor activity													
Rearing activity													
Play fighting													
Basal body temperature													
Responses to drugs													
Pentobarbital (Sleeping time)													
Diazepam (Locomotion)													
Chlorpromazine (Body temperature)													
Kainic acid (Wet dog shakes, Seizure onset)													

□ Significantly different from controls; P < 0.05 or P < 0.01

▨ Showed some changes but not statistically significant

一 般 演 題

## 血液透析患者における透析前後の血中モノアミン濃度の変動

○斉藤秀哉<sup>1)</sup>、南 勝<sup>2)</sup>、遠藤 泰<sup>2)</sup>、松本真知子<sup>1)</sup>  
河口道夫<sup>3)</sup>

1) 北大医・薬理1、2) 東日本学園大・薬・薬理  
3) 河口内科

(目的) 長期間(平均80カ月)透析膜を使用して尿素窒素、クレアチニンならびにカリウムなどの排泄を計っている慢性腎不全患者の血中モノアミン(セロトニン、カテコールアミン)の透析による変動と意義について検討した。

(結果) 維持透析患者群は 年齢と性を一致させた健常対照群に比し心拍数と血圧は有意な高値を示し交感神経活性の亢進が伺われた。

しかし遊離型の血漿ノルエピネフリン濃度(NE)については、両群間に有意な差異はみられなかった。同様に遊離型のドーパミン(DA)濃度にも有意な差意はみられなかった。Sulfatase(VI type)を用いて水解し、総カテコールアミン濃度をHPLC-ECD法により測定した。硫酸抱合型のNEおよびDAは正常者に比し透析患者は著明に増加していた( $p < 0.001$ )。硫酸抱合型NEおよびDAは、一回の透析によっては完全には透析されなかった。なお遊離型NEは透析によっては不変であった。HPLC-ECD法により測定した血漿セロトニン(5-HT)濃度は透析によって減少傾向を示した。なお5-HTの主要代謝産物である5-HIAAは透析によって約50%減少した( $p < 0.001$ )。

(まとめ) 透析膜は尿素窒素、クレアチニンならびにカリウムなどの排泄解毒膜としての作用のほか、セロトニンやカテコールアミンなどのモノアミンの変動にも関わりがあることが示唆された。

## 赤血球の化学的分断現象について

○金津 赫生, 小林 勇二郎

筑波大学医療技術短期大学部

ラット洗浄赤血球は $2.5 \text{ mM Ca}^{++}$ 加生理食塩水中で分断現象を生じ、溶血するが、マウス洗浄赤血球では、 $2.5 \text{ mM} \sim 10 \text{ mM Ca}^{++}$ 加生理食塩水中で、分断現象はほとんど認められず、溶血はかえって抑制される。一方、マウス洗浄赤血球は $\text{pH } 5.7$ のリン酸緩衝生理食塩水中や、 $0.4 \text{ mM EDTA}$ 加生理食塩水中で著明な分断現象と溶血がみられる。同種血清の添加では $40 \sim 80$ 倍まで分断現象の抑制がみられる。 $2.5 \text{ mM EDTA}$ 加生理食塩水中ではラット赤血球も、 $10 \text{ mM EDTA}$ 加生理食塩水中ではヒト赤血球も分断現象が惹起される。

$\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{pH}$ ,  $\text{EDTA}$ と分断現象の関連につき、マウス、ラット、ヒト赤血球を用いて比較検討する。 $\text{EDTA}$ 塩は検査時、抗凝固剤として広く用いられるものの、検査値への影響についても検討を加えた。

(○)相良 奈美、古濱 和久、野村 護、小野寺 威

第一製薬(株)中央研究所安全性研究センター

近年 biological response modifiers(BRM) と称する薬剤の開発が盛んであり、その毒性学的評価には各種リンパ球の動態把握が重視されている。末梢リンパ球の subpopulation の同定には、従来より簡便な方法として  $\alpha$ -naphthyl acetate esterase(以下ANAEと略す)染色が繁用されてきたが、最近になって各種 monoclonal 抗体の作製が可能となりフローサイトメトリーあるいは免疫組織化学的手法が注目されている。そこで今回、フローサイトメトリーを用いて末梢血リンパ球の subpopulation の同定を行い、ANAE染色及び avidin-biotin peroxidase complex(ABC) 染色と比較した。

実験には雌のカニクイザル(体重2.5~3.5 kg)を用いた。採血はヘパリン(25 U/ml) 加注射筒で大腿静脈より行った。採取した血液を遠心・洗浄後 percoll溶液を用いて単核白血球を分離し、これを試料とした。フローサイトメトリーによる分析には FITC ラベルヒト抗マウス $T_H$ 、 $T_H1$  及びサル抗IgG血清を用い、Epics751J(Coulter社)で測定した。ANAE 染色は Knowles ら(1978)の方法を、また ABC 染色は Hsu ら(1981)の方法を一部修正して行った。なお実験はヒト抗体とカニクイザルリンパ球とが交差反応を有することを確認後実施した。その結果、フローサイトメトリーによる末梢リンパ球の比率はT細胞( $T_H1$ )が60~72%、B細胞が10~37%であり、ANAE 染色でのT細胞40~72%、B細胞10~32% とほぼ良好な相関を示した。一方、ABC 染色でもT細胞比率はフローサイトメトリーとほぼ同様の傾向にあった。

更にフローサイトメトリーを用いて2~3の薬剤の末梢リンパ球の subpopulation に対する影響を調べたので、これらも合わせて報告する。

Myeloperoxidase を用いた顆粒球減少症の  
in vitro 検出法

○角 明美、松本一彦、山本 宏

東洋醸造株式会社 リサーチセンター 安全性研究所

ヒトの臨床において、薬物中毒による顆粒球減少症は比較的高頻度で発症する副作用であるが、ラットではヒトに比べて顆粒球が極めて少ないため一般毒性試験ではとらえ難い毒性である。

そこで、アズール顆粒に含まれる酵素Myeloperoxidase(MPO)を利用したin vitroにおける顆粒球減少症評価法を検討した。本法はラットの骨髓細胞から抽出したMPOに対する医薬品の50%活性阻害濃度(IC<sub>50</sub>)を求める方法であり、本試験においては免疫抑制剤:6-mercaptopurin(6-MP), bredinin, 免疫調整剤:levamisole, 抗甲状腺剤:propylthiouracil(PTU)の顆粒球MPOに対する影響について検討した。その結果, bredinin, 6-MP, PTUのIC<sub>50</sub>は, 各々, 677 μM, 91 μM, 32 μMであった。

一方, levamisole原体は1mMの濃度においてもMPO阻害作用を示さず, S9 mixを作用させたlevamisoleもMPO阻害作用を示さなかつた。しかし, levamisoleにglyoxalを作用させて得られる活性代謝物質2-oxo-3-(2-mercaptoethyl)-5-phenylimidazolidine(OMPI)は強力なMPO阻害作用を示し, IC<sub>50</sub>は10 μMであった。このOMPIのMPO阻害作用は, PTUと同様に基質のguaiacolに対して競合拮抗であった。

顆粒球減少症とMPO活性の関連に関しては, ラットでPTUを惹起薬とした実験報告<sup>1)</sup>があるが, levamisoleも活性代謝物のOMPIにより顆粒球減少症を誘発する可能性が示唆された。

1) Kariya, K., Lee, E. and Hirouchi, M. (1984) Jap. J. Pharmacol. 36, 217~222.

諸種動物及びヒト肝ミクロゾームによるT-2トキシンの  
 の脱アセチル化反応

○柳 在泉\* 佐藤 哲男\*\* 上野 芳夫\*

\* 東理大・薬・毒性 \*\*東京薬大・薬・第一薬理

T-2トキシソ( T-2 )は、フサリウム属のカビによって生産されるトリコテセン系マイコトキシソの一種である。今回、T-2の代謝をより詳細に解析することを目的とし、諸動物及びヒトの肝ミクロゾームを用い、i n v i t r o系で代謝反応を行ない、生成物をガスクロマトグラフィで定量した。

その結果、T-2は肝ミクロゾームにより4位のアセチル基が特異的に加水分解され、より毒性の低いHT-2のみが主代謝物として得られた。また、この加水分解に関与する酵素活性は、エセリンなどによって阻害されたことから、本水解反応に、ミクロゾーム由来の非特異的エステラーゼ( E. C. 3. 1. 1. 1 )が関与している事が示唆された。また、ウサギのミクロゾーム画分は他種の肝ミクロゾームと比して活性が著しく高く、HT-2を効率良く得るのに有効な手段である事がわかった。尚、マウスやラットにおいては、この代謝活性に著しい系統差や年齢差を認めなかった。ヒトの場合、3例について調べたところラットに近い活性を示したが、個体差が著しい。

ラット卵巣内カルボニル還元酵素の局在性と  
卵巣機能における意義

○稲津教久、岩田修永、稲葉二郎、石原一寿、佐藤哲男

東京薬科大学・第一薬理学教室

【目的】演者らは既にラット卵巣内 prostaglandin (PG) 代謝酵素の一つとしてカルボニル還元酵素 (CR) の存在を報告している。CR は NADPH 依存性の SH 酵素であり、カルボニル基を有する PG やステロイドを還元することから、生殖器系において重要な役割を演じていることが推察される。今回、本酵素の卵巣内局在性およびその生理的役割について検討すると共に、抗エストロゲン剤の投与による本酵素活性の変動についても究明した。【方法】本実験では、正常の4日周期を示す Wistar-KY 系雌性ラットを使用した。摘出した卵巣は 10 mM phosphate buffer (pH 6.5) でホモジナイズした後、常法に従って 105,000 xg 上清画分を得た。これを粗酵素標品とし卵巣内 CR の活性および含量を測定した。【結果および考察】ラット性周期内における CR の活性と含量を比較検討したところ、発情前期午後8時から活性の著明な上昇が認められ、発情期の午前中に最大値を示した。さらに、酵素含量は発情間期2日目から上昇し、発情前期に最大に達した。これらの推移から明らかな様に、CR 活性の上昇と含量の増加との間に相関関係は認められなかった。一方、卵巣内 CR 活性は抗エストロゲン剤投与により著明に低下し同時に排卵阻害が観察された。また、この活性抑制作用は発情前期午後3時に hCG あるいは LH-RH を投与することにより回復した。以上の結果から、本酵素は LH 依存性の性質を有することから性腺刺激ホルモン分泌に影響を及ぼす薬物の指標酵素として応用できるものと結論した。



ラット肝カルボキシルエステラーゼアイソザイムRL1およびRH1  
の肝、腎における分布と誘導に関する免疫組織化学的検討

○石原一寿、真木多賀子、細川正清、佐藤哲男

東京薬科大学・第一薬理学教室

カルボキシルエステラーゼ (EC 3.1.1.1) は、種々の薬物の加水分解ならびに化学物質の解毒及び毒性発現機構に深く関与している。本酵素の組織内分布については組織化学的に活性染色法を用いて検討した結果、主として肝臓、腎臓および腸管に存在することが確認されている。しかし、アイソザイムレベルで比較検討した報告は未だない。そこで演者らは当研究室において作製した精製ラット肝カルボキシルエステラーゼアイソザイムRL1およびRH1に対する抗体を用い、免疫組織化学的手法によりそれぞれの肝および腎臓における分布及び誘導剤の影響を検討した。

A B C法による酵素抗体法で局在性を検討した結果正常ラット肝臓ではRL1およびRH1ともに中心静脈付近への局在が認められ、腎臓ではRH1は糸球体にRL1は尿細管に主として存在することが示された。また、RL1およびRH1の誘導剤としてアミノピリンおよびフェノバルビタールをラットに投与してそれらの肝臓および腎臓での本酵素の局在を調べた所、基本的には対照群との間で大差はみられなかったが、肝小葉の拡大に伴った陽性染色範囲の拡大が認められこれは生化学的データと一致した。さらに四塩化炭素障害ラット肝では、中心静脈を中心とした肝細胞障害に伴う陽性細胞の脱落を認めた。

イソニアジド肝毒性の発現ならびに  
リファンピシン併用による増強機構○野田敦子<sup>1</sup> 野田浩司<sup>2</sup>九大・薬学部<sup>1</sup> 産業医大・病院薬剤部<sup>2</sup>

【目的】ヒドラジノ基を有する結核治療薬イソニアジド(INH)については、リファンピシン(RMP)併用による肝毒性の増強が報告されているが、その原因究明のため生化学的アプローチを試みた。

【実験方法】動物実験には白色雄性家兎ならびにWistar系雄性ラットを使用した。代謝物などの定量にはGC-MSを用い、また酵素反応系で生成した不安定ラジカルはphenyl-t-butyl nitron(PBN)で捕捉後、ESRならびにMASSスペクトルにより構造を解析した。摘出した臓器切片は、HE染色後光学顕微鏡で観察し病理組織学的に検討した。変異原性試験は大腸菌WP2 uvrA株を用いるAmes法によった。

【結果と考察】INH単独投与時ならびにRMP併用時に生じるINH代謝物の中でとくにヒドラジン(H<sub>2</sub>)とモノアセチル-H<sub>2</sub>(AcH<sub>2</sub>)に注目し、体内動態の解析、活性代謝中間体の検索、病理組織学的検査、遊離肝細胞系での毒性試験、変異原性試験などを行った。その結果、INHの毒性発現本体はINH代謝物H<sub>2</sub>から生成する $\dot{\text{N}}\text{H}\text{N}\text{H}_2$ や $\text{H}\text{N}=\text{N}\text{H}$ などであり、とくに $\dot{\text{N}}\text{H}\text{N}\text{H}_2$ の生成にはNADPH-チトクロムP-450還元酵素(fp<sub>2</sub>)が単独で関与していること、さらに肝のfp<sub>2</sub>活性はRMP投与により短時間内に増強される事実を確認した。このことはRMP併用時におけるINH肝障害の増強(劇症肝炎など)との密接な関連性を示唆しており、極めて重要な新知見である。またINHおよびその安定代謝物から $\dot{\text{N}}\text{H}\text{N}\text{H}_2$ 以外の不安定ラジカルが生成することも確認したが、INH毒性発現機構との関連で興味深く、これらを加えて今後さらに定量的な検討を行う必要がある。

2, 3 肝毒物による血清中の逸脱 Monoamine  
Oxidase (MAO)

○小畑 俊男 , 江頭 亨

大分医科大学 薬理学教室

急性肝障害および薬物による肝細胞の変性壊死により血清中への酵素の逸脱が起こり、特に GOT および GPT の変動がよく知られている。しかし、これら肝障害と血清酵素活性の変動との関係については種々の問題点がある。そこで今回、種々薬物による肝細胞壊死と肝臓ミトコンドリア中に含まれる Monoamine Oxidase(MAO) 活性との関係および血清中への逸脱について検討した。薬物として肝細胞の小葉中心層性壊死をもたらす四塩化炭素および Thioacetamide と小葉末梢性壊死をもたらす Allyl formate を用いた。これらの薬物を6週令の Wistar 系ラットに投与し、24時間または36時間後における血清中の MAO および肝臓の MAO 活性について検討した。雄性ラットに Allyl formate 0.05 ml/kg を腹腔内に投与した場合、血清中の MAO 活性はB型 MAOの基質である  $\beta$ -phenylethylamine ( $\beta$ -PEA)では control に比べて高い活性が得られたのに対し、A型 MAOの基質である 5-hydroxytryptamine(5-HT)では有意な変化は得られなかった。四塩化炭素 1.2 ml/kg を腹腔内に投与した場合は、 $\beta$ -PEA および 5-HT のいずれの基質を用いても血清中に高い MAO 活性が得られた。一方、肝臓ミトコンドリア MAO については顕著な活性変化は認められなかった。雌性ラットについても全く同様の結果が得られた。すなわち、肝臓の小葉中心層性壊死をもたらす四塩化炭素処理ではA型およびB型 MAO が血清中に逸脱するのに対して小葉末梢性壊死をもたらす Allyl formate ではB型 MAO が有意に血清中に逸脱した。これらの相違は肝細胞中においてA型およびB型 MAO の局在性によるものか、又はこれら薬物によって選択的にAおよびB型 MAO が逸脱されるかのいずれかであろう。

○ 堺 俊治，岡宮 英明，三木 壽雄

山之内製薬（株）開発研究所 安全性研究所

薬物の毒性試験においてその成因が複雑な病変に遭遇することがある。「肝細胞壊死」もそのうちの一つで、これにはいくつかの原因が考えられる。その多くは、薬物の肝への直接作用によるもので、多くの化合物が知られている。投与された化合物が造血系に毒性をもたらし、その結果として生ずる貧血も原因の一つとして知られている。後者の場合、化合物の影響と貧血の影響を区別することは困難である。

そこで我々は、今回、2週間に亘ってほとんど毎日、ラット眼窩静脈叢より合計20～45ml採血し、ヘマトクリット値が10～20%にまで減少して強い貧血状態となった動物の肝を病理組織学的に観察した。その結果、ヘマトクリット値が20%以下になると小葉中心性に肝細胞壊死が生じ、15%以下になると、その範囲が広くなることが判った。このように、単に貧血といっても、ヘマトクリット値でみる限りは、極度の貧血状態にならないと肝細胞壊死には到らない、ということが示唆された。

本試験において得られた、その他二、三の知見についても報告する。

○村岡義博, 渡辺弘, 松井信志, 矢原功, 奈良博, 笠井久司, 青山定夫

塩野義製薬(株)研究所・神崎川分室

Ifosfamide (Z4942) の毒性の一つに膀胱障害があり, 実験動物, ヒトで報告されている。主としてラットを用いてZ4942による膀胱障害を検討した。Z4942 50mg/kg以上1回 i v 投与により, 膀胱壁の水肿, 粘膜出血, 膀胱重量増加(水分含量増加)で示される膀胱障害が発生した。障害は投与3時間後に明らかで, 1, 2日後をピークとした。この間は組織学的に急性膀胱炎の像であり, それ以後は, 上皮の再生・増殖を特徴とした。骨髓有核細胞の減少で示される血液障害は, 膀胱障害より遅れて現われ, 投与1~3日後に最低値となった。輸尿管を結紮したラットにZ4942を投与しても膀胱障害は現われなかった。また, 2匹1組のラットの輸尿管を交叉して片方のラットにZ4942を投与すると, Z4942を投与したラットには膀胱障害が発生せず, 投与したラットの尿が導入する投与しなかったラットの膀胱に障害が発生した。このことは膀胱障害が全身毒性から分離される局所毒性であり尿行性に発生することを示す。Z4942 10mgを膀胱内注入しても障害は発生しなかったが, 代謝物acrolein, chloroacetaldehydeでは, それぞれ, 14  $\mu$ g, 78  $\mu$ g以上で発生した。これら2代謝物は障害発生に関与していることが示された。Z4942による膀胱障害はMesna, dimecaptosuccinic acid (DMS), isoniazid, semicarbazide, furosemide, trichloromethiazide等のSH化合物, aldehyde捕捉剤, 利尿剤で抑制された。Mesna, DMSはZ4942の抗腫瘍作用を激弱しなかった。

A12 シスプラチンによるラット尿中酵素活性の変動に対する  
抗酸化剤の影響

○玄番 宗一，福石 信之，中野 さち子

大阪薬大・薬理

シスプラチンによる血中尿素窒素の上昇や近位尿細管上皮の電子顕微鏡的障害像が、抗酸化剤 *N-N'*-diphenyl-*p*-phenylenediamine (DPPD)をラットに前投与することにより軽減されることをすでに報告した(1, 2)。今回、腎毒性の他の評価法である尿中酵素活性を対象としシスプラチンの効果とDPPD前投与の影響について検討した。

S.D.系雄性ラットにシスプラチン (5 mg/kg, i. p.)を投与すると血漿中尿素窒素(BUN)及びクレアチニン濃度は3日後に上昇したが、尿中N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase活性は、すでに2日目から上昇した。尿中 $\alpha$ -glutamyltranspeptidase 活性も2日後に増大したが、4日目には正常値に回復した。しかし、尿中 alkaline phosphatase 活性はシスプラチン投与により影響されなかった。これら酵素の尿中活性の増大はシスプラチン投与の24時間前に抗酸化剤DPPDを処置することにより軽減された。

シスプラチンによる尿中酵素活性の増大は血液像(BUNやクレアチニンレベル)の変動よりも早期に認められ、その増大にフリーラジカルが関与すると思われる。

- 1) Sugihara, K. and Gemba, H. (1986) : Modification of cisplatin toxicity by antioxidants. *Japan. J. Pharmacol.*, **40**, 353-355.
- 2) Sugihara, K., Nakano, S., Koda, M., Tanaka, k. Fukuishi, N. and Gemba, H. (1987): Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Japan. J. Pharmacol.*, **43**, 247-252.

## アロブリンオール投与によるラット腎臓過酸化脂質の増加について

〇 鈴木 義裕、 須藤 純一

東日本学園大学 薬学部 毒理学講座

〔目的〕 アロブリンオールによる副作用の一つとして腎毒性が発現することが知られているが、その発現機序は実験動物においてでさえ明らかでない。我々は腎毒性発現に対する酸素ラジカルの関与について検討したところ若干の知見を得たのでここに報告する。

〔方法〕 アロブリンオールは生理食塩液に100mg/4ml/kgになるように懸濁し、1日1回3日間ラットに皮下投与した。投与開始後、1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10日目に血漿及び、腎を採取し、血漿クレアチニン、尿素窒素濃度と腎過酸化脂質量を測定した。さらに、酸素ラジカル産生系および、消去系の酵素である腎キサンチン オキシダーゼ、スーパーオキシド ディスムターゼ、カタラーゼ活性について調べた。

〔結果〕 アロブリンオール投与によって、血漿クレアチニン、尿素窒素の増加、腎マロンアルデヒド、キサンチン、ヒポキサンチン量とキサンチン オキシダーゼ活性の増加、腎スーパーオキシド ディスムターゼ、カタラーゼ活性の減少が観察された。これらの変化のピークは全て投与開始後3日目であった。

〔考察〕 以上の結果からアロブリンオールによる腎毒性発現には酸素ラジカルの産生能の増加と消去能の減少の両者に起因する脂質過酸化の増加が関与することが考えられた。

アミノグリコシド系抗生物質の腎毒性機序に関する研究  
(3) 培養腎上皮細胞への影響

○清宮 健一、 松下 直子、 暮部 勝

明治製菓株式会社 薬理安全性研究所

演者らは、ゲンタミシン(GM)、アミカシン(AMK)、またはストレプトマイシン(SM)をラットに連続投与すると、カルシウム、グルコース、蛋白、刷子縁膜酵素、細胞質酵素およびライソソーム酵素などの尿中排泄が増加し、これらの現象は主に近位尿細管上皮細胞の障害によるものである事を報告した。

今回は、これらアミノグリコシド系抗生物質の腎毒性機序を検討するために、ブタの近位尿細管上皮細胞由来株であるLLC-PK<sub>1</sub>細胞への影響を検討し、以下のような結果を得た。

- 1) 培養液中に 1mM の GM、AMK、SMをそれぞれ添加し培養すると刷子縁膜 (alkaline phosphatase,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase)、細胞質 (lactate dehydrogenase)、およびライソソーム (N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase) から各種の酵素遊離が惹起された。
- 2) 細胞の刷子縁膜、ライソソーム酵素はアミノグリコシドの添加により減少し、また、細胞質酵素はむしろ増加した。
- 3) 細胞の酸不溶性分画への <sup>3</sup>H-thymidine の取り込みはアミノグリコシドの添加により増加した。
- 4) 細胞内リン脂質含量はアミノグリコシドの添加により増加した。
- 5) <sup>45</sup>Ca の細胞内への取り込みはアミノグリコシドの添加により抑制された。
- 6) 以上の結果は *in vivo* のものとはほぼ同様であり、また、各アミノグリコシドの作用強度も一致した。これらの事から、LLC-PK<sub>1</sub>細胞を用いたアミノグリコシドの腎毒性評価は *in vivo* に代わる簡便な且つ、その機序の解明にも有用な方法であると考えられる。



腎由来培養細胞により再形成された単層上皮による  
毒性評価

○小沢和子, 森末裕行, 桑井康宏, 佐藤温重,\*丸茂文昭

東京医科歯科大・歯・第二理工, \*北里大・医・内科

犬腎由来培養細胞 (MDC K 株) から再形成される単層膜を用い腎特定酵素の放出を指標とする新しい毒性解析法について既に報告した (SATO, OZAWA and KUMEI, 1983)。今回は単層膜の短絡電流 (SCC) の変化及び単層培養細胞上に形成されるドーム数の変化を指標とした腎毒性の評価について報告する。

「方法」: 径 1.0 cm のプラスチックリングにはったメンブランフィルターにコラーゲンを塗布し, この上に MDC K 細胞を播種し 10% 牛胎仔血清 (Flow) 添加イーグル MEM 培地を用い 37°C 5% CO<sub>2</sub>, 95% 空気気相中で培養した。細胞が confluent になった後メンブランフィルターをチャンバーに装着し, Ussing と Zerahn の方法で Keithley の電圧計を用いて SCC 及び膜内外電位差 (PD) を測定した。

「結果と考察」: メンブランフィルター上に増殖した MDC K 細胞は培養 2~3 週間後に一層の膜を形成した。PD はフィルター側 (漿膜側) を + として  $0.69 \pm 0.16$  mV ( $n = 15$ ), SCC は  $13.3 \pm 5.09$   $\mu$ A であった。漿膜側への CdCl<sub>2</sub>  $2 \times 10^{-4}$  M 投与直後から SCC は著しく低下した。Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>  $2 \times 10^{-3}$  M 投与では SCC は変動しながら徐々に低下した。Folic acid  $1.3 \times 10^{-4}$  M 投与では SCC は投与後 6 分間は変化なく, その後徐々に低下した。

MDC K 細胞は極性を生じ, また細胞間に tight junction が形成され, 経上皮輸送が行われることによりドーム及び SCC, PD が出現する。本法は上皮輸送に対する腎毒物及びその他の化学物質の影響を評価する方法として有用と考えられる。

○松本一彦、藤井博子、山本 宏

東洋醸造株式会社 リサーチセンター 安全性研究所

従来、骨髄に対する毒性は血液検査並びに病理組織学的検査から診断されているが、骨髄機能の障害性をみるためには骨髄中の造血幹細胞への影響を調べる必要がある。今回、Azathioprine (AZ) と Bredinin (BR) ならびに Levamisole (LV) を用いて CFU-C, CFU-S, L-5/78Y 細胞への影響を検討した。

1. *in vitro* 実験: 1) マウスの CFU-C に対し AZ と BR はコロニー形成を用量依存的に抑制したが LV は影響しなかつた。BR の 50% 阻害濃度は  $0.22 \mu\text{g/ml}$  で AZ の約  $1/50$  の毒性であつた。

2) L-5/78Y 細胞に対し AZ と BR は細胞増殖を用量依存的に抑制したが、LV はほとんど影響しなかつた。BR の 50% 増殖阻害濃度は  $0.57 \mu\text{g/ml}$  で AZ の約  $1/4$  の毒性であつた。

2. *in vivo* 実験: 薬剤を Crj; B6C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> マウスに 4 日間経口投与し血液検査、骨髄有核細胞数、CFU-C 及び CFU-S に対する影響を調べた。

1) 血液検査; AZ で RBC, Ht, Hb の軽度な低下がみられた以外、いずれの投与群においても変化はみられなかつた。

2) 骨髄有核細胞数及び CFU-C に対する影響; AZ, BR ともに細胞数の有意な減少を示したが、LV では変化はみられなかつた。AZ は有核細胞数の減少に伴い CFU-C を用量依存的に減少させたが、BR では反対に増加させた。

3) 脾重量及び CFU-S に対する影響; AZ は脾重量、CFU-S 共に用量依存的に減少を示したが、BR はいずれも増加を示した。LV にはいずれも変化はみられなかつた。

○笠巻明子・浦沢正三

札幌医大、医、衛生

我々はこれまで食品化学物質の遺伝毒性について検討してきた過程で、ハムスター細胞に対して形質転換能を示す物質が人二倍体細胞に対しては細胞変性による寿命短縮現象を示すことを観察している。老化は一面において細胞の変性による現象といわれ、また一方、化学発癌物質の多くは老化過程に見られる細胞内変化を誘起することが知られていることから、食品化学物質の人細胞に対する細胞老化作用について検討をおこなった。

〔方法〕人正常二倍体核型を保持する HAIN-55 細胞 (29 CPDs) を用い、その対数増殖期に各至適濃度の食品化学物質 (allyl isothiocyanate: AI, cinnamaldehyde: CA, aspartame: AS, butylhydroxytoluene: BHT, zealarenone: ZE) で約16時間処理後、その細胞の継代過程を追って細胞老化の指標とされる諸性質 (単層培養における細胞飽和密度《SD》とコロニー形成能《PE》の低下、耐熱性グルコース-6-磷酸脱水素酵素《GGPD》活性の低下および多倍数染色体細胞頻度の増加) を検討するとともに細胞寿命短縮について無処理対照細胞との比較により検討をおこなった。

〔結果〕試みた 5種類の化学物質のうち、AI, CA および AS処理細胞で無処理細胞に比べ有意に早期に細胞変性死に到ることが観察された (対照: 62 CPDs, AI-tr: 52 CPDs, CA-tr, AS-tr: 54 CPDs)。この過程で上記処理細胞において対照細胞より早期に SD, PE の低下および、多倍数染色体をもつ細胞頻度の上昇を示した。また耐熱性 GGPD 活性は、すべての細胞で SD や PE の低下が起こる以前の段階ですでに低下を示したが、処理細胞では対照細胞に比べ、より早期から活性低下を示すことが観察され、細胞内代謝の細胞老化過程における重要性が示唆された。

## 生殖毒性試験の代替法に関する研究（第一報） ラット全胚培養法による方法について

○横山 篤，須田 宏\*，大滝義博\*，古橋忠和\*，仲吉 洋\*，  
江藤一洋

東京医科歯科大・歯・顎研，発生 \*野村生科研

（目的）現在医薬品の各種毒性試験においては，必要以上の実験動物の消費と実験期間の長期化が問題となっている。そこで，*in vitro*の実験系を用いた各種代替法実験が開発されているが，未だに発生毒性および生殖毒性試験分野における代替法の確立は完成していない。我々が今回報告する方法は器官形成期の胎仔を体外に取り出して，試験管内で培養する Whole Embryo Cultureを用いたものである。しかし，この Whole Embryo Culture Systemは，大量のRat血清を使用する為に実験動物の消費を減らすという点については代替法にならない。また人工培地では胎仔が正常に発育しないなどの諸問題をかかえている。

そこで今回の実験においては，このRat血清の消費を減らすために，食用に用いられるPigより必要量の血清を採取し，Rat血清の代用に使えるかどうかを検討した。（方法）胎齢11および12日目のラット胎仔を体外に取り出し48時間の間培養した。検討した培養液の種類は以下の通りである。A：100% Rat Serum（対照群），B：100% Pig Serum，C：50% Pig + 50% Rat。

（結果）<1>胎齢11日より培養した結果；胎仔の成長に関しては，体節数，Crown-rump lengthおよび胎仔総蛋白量はAに対してBの処理では有意に低下したが，Cの処理では差がなかった。培養24時間で処理Bで死亡例が多発したがCの処理では認められなかった。血液循環や心拍数も処理Cでは，対照群とかわりなくPig血清50%混合法は良好な結果を得た。

<2>胎齢12日より培養した結果；最初から卵黄嚢を開放する12日目からの培養の結果，処理B，C両群において胎仔は24時間以内で死亡した。

（考察）以上の結果より，卵黄嚢を最初から開放してPig血清に直に胎仔を暴露すると死亡率が高かった。しかし卵黄嚢無開放の実験系ではPig50% Rat50%血清で対照群と同様の結果を得て，代替の可能性が示された。

## ラット上頸部交感神経節の蛋白質合成能におよぼすメチル水銀の影響

○堀真一郎<sup>1</sup> 杉浦弘子<sup>1</sup> 大谷幸子<sup>1</sup> 平林民雄<sup>2</sup>  
椿 忠雄<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東京都神経研、<sup>2</sup>筑波大学、<sup>3</sup>都立神経病院

〔目的〕 有機水銀中毒に際し、神経系の蛋白質合成能の低下が知られている。この蛋白質合成の抑制様式を詳細に検索するため、有機水銀および諸種の中毒性神経毒による、病理学的障害の好発部位の一つである交感神経節をもちいて蛋白質合成能について研究したところ、メチル水銀には神経節の蛋白質合成能に対し、特異的作用があることを見いだした。

〔方法〕 神経節における蛋白質合成能は、摘出した神経節をL-[4,5-<sup>3</sup>H]-leucineを含むBGJb-培養液(leucine含量0.5 $\mu$ M)中で、95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>下で 37°C、24時間培養した後、[<sup>3</sup>H]でラベルされたpeptideについて、液シンで放射能活性を測定、あるいは二次元電気泳動で分離し、autoradiographyにより検出することにより比較検討した。

〔結果及び考案〕 神経節に取り込まれたleucine量の75%-80%は酸不溶性画分に回収された。なお、0.9%食塩水で可溶性画分への回収は38%、不溶性画分への回収は62%であるのに対し、メチル水銀(50  $\mu$ M)で処理した神経節では可溶性画分への回収は17%、不溶性画分への回収は83%で、可溶性蛋白質の合成にたいする抑制の方がより強いことを示している。SDS-ポリアクリルアミドゲルの二次元電気泳動では、分子量5.5-4.5万及び3.5万付近の蛋白質が強く抑制され、6.8万付近の蛋白質は逆に促進された。しかし、二次元電気泳動で分離して検討したところ、約600個のスポットが検出され、その内殆どのスポットについては合成が抑制されていることを示したが、数個のスポットについては逆に合成が促進されていることが分かった。現在までメチル水銀により合成が促進される蛋白質についての報告はない。この蛋白質がいかなる意味をもっているのか今後検討を要する。

## ラット胚細胞培養と全胚培養系による 胎仔毒性物質の検索

○土屋利江, 高橋 惇,\*朝田総一郎,\*高又保文恵,\*江藤一洋

国立衛生試験所. 医化学部. \*東京医科歯科大学. 歯学部

第27回日本先天異常学会で, 農薬の代謝物である Ethylene thiourea (ETU) による催奇形性発現の直接作用を *in vitro* 系で明らかにした。今回は, ETU の胚細胞, おもに肢芽細胞等に及ぼす効果を検索し, 全胚培養系での ETU の胎仔毒性効果と比較したので報告する。

Wistar-imamichi 妊娠 11 日 (腔栓日 = 0 日) および 12 日の胎仔由来の Limb bud cell および Midbrain cell を Flint の方法により調製し, Ham F12 培地中で micromass culture した。Limb bud cell は chondrocyte に分化した foci を alcian blue 染色し, Midbrain cell は neuronal cell に分化した foci を haematoxylin 染色し, cell island 中の foci をそれぞれ数え, ETU による阻害効果を調べた。妊娠 12 日の胎仔由来の Limb bud cell culture では, 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  まで ETU を加えても顕著な阻害作用は認められなかった。しかし, 11 日胎仔由来の Limb bud cell では ETU 30 ~ 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の間で添加濃度に応じて chondrocyte の foci の数が減少した。Midbrain cell では 12 日および 11 日胎仔由来の cell 共に, ETU により neuronal cell foci の数が減少し, いずれも Limb bud cell よりも, より低濃度で阻害される傾向が認められた。

全胚培養では, 11 日胎仔を ETU 添加 rat 血清で, 48 hr 培養し, 対照群と比較した。その結果, ETU 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ですでに頭部の異常および尾の異常が認められた。ETU 150 および 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  では, 頭部および尾の異常が高頻度に誘発されるとともに四肢の異常も認められた。

以上より, 胚細胞および全胚の両系において, 胎仔の組織により ETU の作用効果の違いが認められた。また, 肢芽細胞においては, 胎仔の発生段階により ETU の作用効果の違いが顕著であった。

ラット胎仔培養法における薬物代謝酵素系の導入  
に関する基礎的検討

○小出浩美、上野光一、石野章博、大森 栄、  
五十嵐 隆、北川晴雄

千葉大学薬学部薬効・安全性学講座薬物学研究室

「目的」N-acetylaminofluorene (AAF) が胎齢10.5日のラット胎仔培養において代謝的活性化により毒性を発現することは、Faustman-Wattsらにより報告されているが、異なる胎齢での毒性発現についての報告は未だ無い。そこで、胎齢11.5日のラット胎仔を用い、検討した。

「方法」Wistar-今道系ラットを用い、妊娠11日目 (plug day=0) の母獣より得た胎仔を、Newの方法に従いAAFおよび3-methylcholanthrene (MC)誘導S-9を添加し、24時間培養した。培養した胎仔は、CRLおよび頭長を計測し、外表奇形を観察した後、タンパク量を測定した。

「結果および考察」AAFおよびMC S-9併用群と対照群との差は認められなかった。10.5日の胎仔で報告された奇形部位は11.5日の培養開始時には十分発達しているため、異常が認められなかった可能性も考えられた。従って、10.5日の胎仔を用いた培養方法について検討中であるので、併せて考察する薬物代謝酵素系をwhole embryo culture systemに導入することは、様々なenzyme sourceを用いることにより、薬物の活性代謝物による奇形の発現機序や、胎仔毒性における母体の影響などの解明に有効な手段となることが期待される。

マウス横隔膜神経筋標本においてネオスチグミンにより  
増強される単収縮におよぼす薬物の影響

○大谷 裕也・西村 昌数・矢ヶ崎 修

大阪府立大・農学部・家畜薬理

〔目的〕マウスの横隔膜神経筋標本において間接刺激による単収縮はネオスチグミン (NTG) の存在下で増強される。この増強に対する薬物の影響を調べた。

〔方法〕マウスから横隔膜神経筋標本を作成し、36°C の Krebs-Ringer 液中において、70  $\mu$ sec、120% 超最大刺激電圧、0.1 Hz の矩形波で神経を刺激し、発現する単収縮 (IT) を等尺性に記録した。

〔結果〕IT はクラレー (dTc) で完全に遮断された。200 nM の NTG は IT を増強し、プラトーに達した IT は少なくとも 3 時間維持された。NTG の存在下の IT は dTc に対して高感受性を示した。ヘキサメトニウム ( $C_6$ ) は NTG 不在下の IT に影響せず、NTG 存在下の IT を一部抑制した。5  $\mu$ M のウアバイン (OUA) は NTG 不在下の IT を抑制せず、NTG 存在下の IT を部分的に抑制した。NTG の作用はカリウム除去液 (K-free soln) 中でも発現した。OUA は K-free soln 中では NTG の作用を抑制しなかった。NTG を含む K-free soln 中での IT は 2.5 mM の KCl の添加によりさらに増強され、OUA 感受性を回復した。K-free soln 中での IT は 2.5 mM の KCl の添加により増強されなかった。

〔結論〕マウス横隔膜神経筋標本において神経刺激により誘起される IT は、NTG の存在下と不在下で薬物感受性が異なることを示した。その存在下では IT が増強されるが、増強された IT は  $C_6$  および OUA 感受性を顕在化した。OUA 感受性の発現には  $Na^+K^+$ -ATPase が関与する可能性がある。



○西村 昌数・小崎 俊司\*・阪口 玄二\*

大阪府立大・農学部・家畜薬理、獣医公衆衛生\*

〔目的〕試験管内においてボツリヌスA型毒素により遮断された運動神経伝達物質の自発性放出が亜鉛の添加により回復することを見出した。本実験では、その拮抗作用を各種条件下で調べた。

〔方法〕生後 12-14 週令の ddy 系雄マウスから左側横隔膜筋標本を作成した。常法に従い細胞内電極法により Krebs-Ringer 液中で微小終板電位 (MEPPs) を測定し、その頻度を自発性伝達物質放出の指標とした。

〔成績〕亜鉛は、10-100  $\mu\text{M}$  の濃度範囲において、濃度依存性に MEPPs の頻度を増加させた。この作用は Ca を除去した栄養液中でも認められた。終濃度 50 ng/ml のボツリヌスA型毒素は、Krebs-Ringer 液中でも、またCa除去栄養液中でも、その添加 30 分以内に MEPPs の発生を完全に遮断した。標準栄養液中でも Ca 除去栄養液中でも、本毒素の作用が完成した神経筋接合部において、100  $\mu\text{M}$  の亜鉛は MEPPs を回復させ、その頻度を一過性に上昇させた。Ca 除去栄養液中で本毒素の作用に拮抗する亜鉛の作用は、栄養液中の KCl の濃度を上昇させることにより低下した。

〔結論〕ボツリヌスA型毒素の作用は、運動神経終末の脱分極により促進されると考えられる。栄養液中の Ca の有無にかかわらず、終末膜の脱分極は伝達物質放出のための独自の機序である可能性がある。その機序は、本毒素の作用に必須であると思われる。(本研究の一部は文部省科学研究費 No. 60560333 の補助による)。

○今井良悦 神子田武 鈴木祥太 佐藤秀蔵 千葉祐広

武田薬品・中央研究所

ネコの網膜電図 (ERG: electroretinogram) 及び視覚誘発電位 (VEP: visual evoked potential) を無麻酔・無拘束下に記録する方法を確立し、更に、nalidixic acid (NA) による影響について検討した。

ERGは強膜内に、VEPは大脳皮質上にそれぞれ埋め込んだ慢性電極を介して導出した。15分間の暗順応後、光刺激強度2ジュール、刺激間隔10秒の条件で20回の反応を加算平均することにより安定したERG及びVEPを同時に記録できることを確認した。

ERG波形は光刺激直後に生ずるa波とそれに続くb波とからなり、b波の上行脚には3～4個の律動様小波が認められた。VEP波形には始めに陽性波 (P1波) とそれに続く陰性波 (N1波) が認められた。本記録条件下でNAを静脈内投与し、ERG及びVEPに及ぼす影響を経時的に観察した。その結果、ERG b波には可逆的ではあるが、振幅の減弱及び頂点潜時の延長が認められた。

VEPにはERGの変化と対応したP1及びN1頂点潜時の延長が認められたのみであり、NAがネコの網膜機能に影響を及ぼすことを確認した。

以上の結果から、本記録法は無麻酔・無拘束下にネコのERG及びVEPを容易に記録することが可能であり、視覚毒性試験法の一つとして利用し得る有用な方法であることを確認した。

柳 在泉\* ○山村 久\* 大坪 浩一郎\*\* 上野 芳夫\*

\*東理大・薬・毒性 \*\*東京都老人研・第一臨床病理

我々は、フザリウム属のカビにより生産されるトリコテセン系マイコトキシンの一種であるニバレノール(NIV)が、食品や穀物を汚染していることを報告してきた。

汚染食品の長期摂取による障害発生を予知する事を目的とし、今回、SPFのマウスを用いて、NIVの慢性毒性実験を行なった。マウスはC57BL/6(雌)を用い、コントロール、6ppm、12ppm、30ppmのNIV含有飼料を1年間にわたり摂取させ、それぞれ体重変化、食餌効率、臓器重量変化および血液学的・病理学的検索を行なった。

その結果、体重増加および食餌効率はNIVの濃度に依存して低下を示した。臓器重量もNIVの濃度依存的に変化を示し、実質重量(mg)はNIVの濃度の増加に伴い減少、相対重量(mg/g体重)は増加の傾向が見られた。しかし、病理学的検索では、対照群と比較して差異を認めなかった。また、電顕による骨髄の検索でも著しい変化を認めなかった。一方、白血球数が6ヶ月投与後では30ppmNIV群で、投与後1年では6ppm、12ppm、30ppmの全群において顕著な減少を示した。他に、血液学的変化は見られなかった。

これらの知見から、マウスにNIVを1年間投与した際の最大無作用量は6ppm未満であると示唆される。

尚、本実験は、発ガン性の検索もふくめさらに継続中である。

○松本清司、落合敏秋、関田清司、川崎靖、安原加寿雄、中路幸男、  
降矢強、戸部満寿夫

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

我々は、既にマーモセットに4-dimethylaminoazobenzeneを15日間投与する実験を行い、一部の毒性指標がラットに比べ、鋭敏に反応することを報告した（第12回本学会講演要旨集p62）。今回、制癌剤であるMitomycin C(MMC)を6か月間経口投与する実験を行った。実験方法：24頭の雄コモンマーモセット（15～20か月齢）を1群6頭よりなる4群すなはちC、L、MおよびH群（0、0.02、0.80、3.20 mg/kg/day）に分けた。検体としてMMC（協和発酵社製、純度97%）を注射用蒸留水で0～2%に調整しバナナに塗布し、1週間に5回、6か月間いずれも給餌前に与えた。試験開始後1、3及び6か月目に大腿静脈より採血を行い、血液形態学的及び血清生化学的検査を行った。試験終了時（H群は3か月目）に骨髄及び組織学的検査を実施した。実験結果及び考察：検体投与量に依存し、体重が減少した。M以下の群では特異な症状の発現は見られなかったが、H群では2か月目以降、体重減少が著明で3例に嘔吐が見られ、4か月以降の投与が困難となった。血液形態学的検査では、L及びM群ともに、いずれの時期でも明らかな変化は見られなかったが、H群ではRBC、Hb、PCV、Plt及びWBCの著明な減少、並びにMCHCの増加が見られた。血清生化学的検査では、血液形態学的検査結果と同様、H群の3か月目で有意な変化（T-Pro, PL, T-Gly, LAP及びCaの減少、CRN及びCh-Eの増加）が見られた。臓器重量では、M群の精巣、H群の脾臓、精巣及び胸腺がそれぞれ有意に減少した。骨髄検査では、M群及びH群で骨髄細胞数の減少が見られ、細胞分別では、総赤芽球の減少並びにリンパ球及び単球の相対的増加が見られた。

ラットに1mg/kg/dayのMMCを6か月間投与しても、骨髄細胞数及び精巣重量に変化が見られない（未発表）ことから、MMCのこれら臓器に及ぼす影響という点で本動物はラットに比べ鋭敏に反応すると思われた。なお、組織学的検査については現在検討中である。

2-Mercaptoimidazoline (2-M I Z) の毒性に関する研究  
(第4報) 慢性毒性試験

○金子豊蔵、安原加寿雄、池田康和、鈴木幸子、鎌田栄一、  
小川幸男、戸部満寿夫

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

2-M I Zの急性および亜急性毒性試験については、池田が第8回および第9回の毒科学会で報告した。今回は慢性毒性試験の結果について報告する。

方法：5週齢のSlc: ddYマウス・雌雄それぞれ1群50匹よりなる4群を設け、工業用の2-M I Z（住友化学、純度99.8%以上）を0, 0.005, 0.04, 0.32%の割合で飼料に添加して21ヶ月間自由に摂取させた。実験開始後6, 12, 18および21ヶ月目に血液学的検査、血清生化学的検査および病理学的検査を行った。

結果：最高用量の0.32%群では、著しい体重抑制、赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値の減少、血清蛋白量・アルブミン量・A/G比・コレステロール量の増加が、いずれも雌雄に認められた。また、血中サイロキシン量（T4）の減少および減少傾向が0.04%および0.32%群で認められた。組織学的検査では、0.32%群で下垂体に前葉の腺腫が、雄で有効動物数43例中33例、雌で有効動物数42例中24例に、また、甲状腺に濾胞状腺腫が雄で16例、雌で14例に、さらに濾胞状腺癌が雄で3例、雌で5例に見られた。肝臓では、0.32%群の雄で腫瘍性結節が有効動物数46例中23例、雌で有効動物数43例中16例に、また、肝細胞癌が雄で7例、雌で1例に見られ、さらに0.04%群でも腫瘍性結節が、雄で有効動物数49例中14例、雌で有効動物数40例中6例に、肝細胞癌が雄で10例、雌で4例に認められた。

2-M I Zをマウスに21ヶ月間自由に摂取させ、慢性毒性試験を実施したところ、下垂体、甲状腺および肝臓に催腫瘍性を示すことが明らかとなった。

○小木曾正、倉田靖、田川義章、近藤光、伊東信行

名市大・医・第一病理

Vitamin P (Methyl hesperidin)は、ジュース類に Vitamin C と併用しての強化剤、着色料、苦味料とし、食品添加剤として用いられている。今回、Vitamin P をマウスに投与した場合の毒性を知る目的で、13週間の亜慢性毒性試験を実施したので報告する。

動物は、6週齢のB6C3F<sub>1</sub>系マウス（日本チャールス・リバー）を用い、雌雄各10匹を1群とし、Vitamin P を 5.0, 2.5, 1.25, 0.6 及び 0.3% の各濃度で粉末基礎飼料（オリエンタル酵母、MF）に混じり13週間投与し、また、対照群には基礎飼料のみを与え、13週経過後全動物を屠殺剖検し、病理組織学的検索を行った。尚、屠殺時に眼窩より採血を行い、血液学的検査および血液生化学的検査を実施した。

投与期間中、雄の群においてのみ、検体投与群が対照群に比し多少の体重増加抑制傾向をみたが、用量相関性や有意差は示さず、飼料の摂取量も検体投与群と対照群との間に差はみられなかった。しかし、9週目の 1.25%投与群雄に1例、13週目の0.3%投与群雄に1例の死亡を認めた。

屠殺時の血液学的検査および血液生化学的検査結果は、雌の投与群の血糖値に用量相関性を持った減少傾向を認め、5%及び2.5%検体投与群が対照群に比し有意差を示した。他の項目では検体投与による差異はみられなかった。臓器重量、病理組織学的検査においては著変はみられなかった。現在、雌雄とも 5.0及び 1.25%の濃度を用いて Vitamin P (Methyl hesperidin)の慢性毒性試験を実施中である。

○倉田靖、広瀬雅雄、福島昭治、山田真弓、伊東信行

名市大・医・第一病理

Captafol (Difolatan)は、農産物の殺菌剤として広く使用されている。しかし最近、B6C3F<sub>1</sub>マウスを用いた発癌性試験において発癌性のあることが見いだされた。そこでラットを用いた発癌性試験の投与濃度を決定するために亜慢性毒性試験を実施した。

方法：6週令のF344系ラット（日本チャールス・リバー）を雌雄の計100匹を用いた。各群10匹としCaptafolを0, 0.075, 0.15, 0.3および0.6%の濃度でオリエンタルM粉末飼料中に混じり3週間投与した。全生存動物について各種臨床検査及び病理学的検査を実施した。

その結果、雌雄とも検体の投与濃度に相関した体重の増加抑制を認めなかった。しかし、飼料摂取量では検体投与群と対照群間に差異はなく、また全期間を通じて死亡例も認めなかった。臓器重量では、検体投与群雌の肝および雌雄の腎重量に増加傾向を認めた。臨床検査では血液生化学的に検体投与群雌のGPT, ALP, 雌雄のA/G比の上昇及び雌雄の総コレステロール、総蛋白の減少を用量相関をもって認めた。尿検査では投与群雌雄の尿pHに低下を認めたが、その他の項目に対照群と差異を認めなかった。病理学的検査では、肉眼的に諸臓器に変化がみられなかったが、病理組織学的に雌の0.3及び0.6%群に胆管の増生を各々60と100%に認め、また両群において腎の主に近位尿細管上皮細胞の変性ないし肥大が雌雄とも100%に観察された。

以上の結果に基づきCaptafolのF344ラットを用いた発癌性試験の投与量を雌雄とも0.075および0.15%と決定した。

○会田喜崇 高田幸一 門馬純子 齊藤 実 安原加寿雄  
 内田雄幸 小林和雄  
 国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

水道水の塩素処理により生成されるトリハロメタンの毒性について検討した。検体はトリブロモメタン (TBM)、ジブロモクロロメタン (DBCM) 及びブロモジクロロメタン (BDCM) でWistarラットを用い、急性及び一か月の連続投与による毒性試験を実施した。急性毒性試験では各検体をオリーブ油に溶解し、単回強制経口投与を行った。各検体のLD<sub>50</sub>値 (mg/kg) はTBM雄2040、雌2440、DBCM雄370、雌760、BDCM雄430、雌510で、各検体とも中枢抑制の徴候が見られたが、その強さはブロムの分子数と相関しTBM>DBCM>BDCMの順であった。一か月連続投与試験では各検体をマイクロカプセルに封入して粉末飼料に混合し、自由に摂取させた。表は各検体の飼料中への混合濃度を示す。各検体で共通した変化は、高用量群で体重増加抑制、肝の脂肪化、血清トリグリセライドの減少、CHE活性の低下、G6PDH活性の上昇である。さらにTBMでは肝重量の増加、血清グルコースの減少が見られる。DBCMでは肝細胞の壊死、血清ALP活性の低下、γ-GTP活性の上昇が見られる。以上の変化は中用量群では軽度であった。今回の投与量および期間では、各検体とも腎への影響は明らかでなかった。

compound	sex	concentration			では各検体をマイクロカプセルに封入して粉末飼料に混合し、自由に摂取させた。表は各検体の飼料中への混合濃度を示す。各検体で共通した変化は、高用量群で体重増加抑制、
		L	M	H	
T B M	male	0.068	0.204	0.612	肝の脂肪化、血清トリグリセライドの減少、CHE活性の低下、G6PDH活性の上昇である。さらにTBMでは肝重量の増加、血清グルコースの減少が見られる。DBCMでは肝細胞の壊死、血清ALP活性の低下、γ-GTP活性の上昇が見られる。以上の変化は中用量群では軽度であった。今回の投与量および期間では、各検体とも腎への影響は明らかでなかった。
	female	0.072	0.217	0.651	
D B C M	male	0.024	0.062	0.185	肝の脂肪化、血清トリグリセライドの減少、CHE活性の低下、G6PDH活性の上昇である。さらにTBMでは肝重量の増加、血清グルコースの減少が見られる。DBCMでは肝細胞の壊死、血清ALP活性の低下、γ-GTP活性の上昇が見られる。以上の変化は中用量群では軽度であった。今回の投与量および期間では、各検体とも腎への影響は明らかでなかった。
	female	0.038	0.113	0.338	
B D C M	male	0.024	0.072	0.215	肝の脂肪化、血清トリグリセライドの減少、CHE活性の低下、G6PDH活性の上昇である。さらにTBMでは肝重量の増加、血清グルコースの減少が見られる。DBCMでは肝細胞の壊死、血清ALP活性の低下、γ-GTP活性の上昇が見られる。以上の変化は中用量群では軽度であった。今回の投与量および期間では、各検体とも腎への影響は明らかでなかった。
	female	0.024	0.076	0.227	



本間 健資

産業医学総合研究所

臭化メチル(メチルプロマイド:MB)は、主にくん蒸剤として幅広く使用されている。MB暴露により、軽度の中毒では目まい、悪心、頭痛等、重度の中毒では、嘔吐、視力障害、運動失調等がみられ、言語障害、四肢マヒ、痙攣、幻覚妄想等も観察される。MBはこのような神経毒性を有する事が特徴的であるが、その毒性の機構は明らかではない。そこでラットにMBを吸入させて神経毒性を検討した。雄ラットを31-250ppmのMBに8時間一回曝露した後種々の検討をおこなった。MB曝露により、自発運動の減少、体温下降、摂食行動抑制、バルビタール麻酔の増強などがみられた。これらの症状は曝露濃度に応じて強くなったが、曝露終了後徐々に回復し1日後にはほぼ対照ラット程度となった。このとき脂肪などの組織中のMB濃度は、曝露終了直後は半減期約30分で減少した。一方ブロム濃度の半減期は約5日であった。曝露後の脳内モノアミン濃度、チロシン水酸化酵素(TH)活性を調べた。MB曝露濃度に応じた脳内NEとDAの減少が認められた。一方代謝物であるMHPGとHVA濃度は増加した。セロトニンと5HIAAの変化は小さかった。カテコラミン合成酵素であるTH活性はMB曝露により、*in vitro*, *in vivo* のいずれも減少した。Apomorphine投与によるラットのstereotypyと自発運動量の変化をみるとMB曝露ラットではApomorphineに対する感受性が高まっていた。以上の事から、MB曝露を受けたラットは、カテコラミンニューロンの活性が低下し、ドパミン受容体の感受性が上昇しているものと考えられた。

○中島信明、真板敬三、小坂忠司、白須泰彦

(勸残留農業研究所)

演者等は、農業と他の生活関連物質との同時投与による毒性を検索しつつあるが、その一つとして、現在、アルコール投与がある種の農業の毒性に及ぼす影響について検討している。すでに第3回毒性病理研究会で、アルコール5%含有液体飼料の3週間投与1日絶食後にLD<sub>50</sub>の1/4相当量を単回強制経口投与した場合、MO (2,4,6-trichlorophenyl 4'-nitrophenyl ether) の肝毒性が増強され、TOCP (tri-ortho-cresyl phosphate) の肝毒性は減弱されることが血液生化学的検査および病理組織学的検査によって確認されたことを報告した。

今回は、農業の亜急性毒性に及ぼすアルコールの影響を検討する目的で、アルコール5%含有液体飼料2週間給与による前処置後、2週間にわたって、5%アルコール水と共に、MO (200 ppm, 2000 ppm) あるいは MCP (4-chloro-o-tolyloxyacetic acid; 400 ppm, 4000 ppm) を粉末飼料中に混入して自由摂取させた。

試験の結果、MO-2000 ppmあるいはMCP-4000 ppm 単独投与群では、軽度な飼料摂取量の低下、体重増加抑制および肝比体重値の上昇が観察され、単独アルコール処置群においても飼料摂取量、飲水量の低下および体重増加抑制が認められた。また、試験終了時の血液生化学的検査 (AIP, GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP, BUN) では、これらの単独投与群において変動は認められなかった。一方、アルコールとMOあるいはMCPを同時に投与した群には、飼料摂取量、体重変化に相加的な変動がみられた。しかし、単独投与群を上回る肝相対重量の増加や血液生化学的検査項目の変動は認められなかった。

従って、少なくとも今回の試験で用いた投与用量、投与期間によって生ずるMO、MCPの亜急性毒性に対して、アルコール投与の影響はないものと考えられた。

p-Dichlorbenzene(p-DCB)の毒性に関する吸入と経口投与による差異について

○梅村隆志、高田幸一、中路幸男、若菜雅美、小川幸男  
鎌田栄一、金子豊蔵、戸部満寿夫

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター 毒性部

吸入毒性試験は、設備、暴露方法、安全性等様々な問題で実施することが困難な事が多い。今回、呼吸器系より暴露を受ける物質の安全性を経口投与により推測し得るかどうか、p-DCBを用いて、吸入と経口投与による臓器内分布と毒性の差異について検討した。

方法：雄のF-344ラットに全身暴露装置を用いて $125.2 \pm 16.1$ ppm(L群),  $528.7 \pm 24.9$ ppm(H群)のp-DCBを6,12,24時間暴露し、それぞれの暴露直後及び24時間暴露後3,6,12,24,48時間目の血清、肝、腎及び脂肪におけるp-DCB量とその代謝物p-Dichlorophenol(p-DCP)量を測定し、血清及び肝臓と腎臓の生化学的検査、病理組織学的検査を実施した。またp-DCBをコーン油に溶かし300mg/kgを強制経口投与(P0群)し、投与後3,6,12,24,48時間後に同様の検査を実施し吸入による結果と比較した。さらに血清中のp-DCB量に対する各臓器中の量(レベル比)を比較検討した。

結果：P-DCB量は各臓器とも血清レベルの増減に伴い変化したが、L, H群はP0群と比べレベル比が高く、特に腎臓において大きな差が見られた。p-DCPは、H, P0群の肝、腎でp-DCBに伴いやや遅れて認められた。血清生学的検査ではT-CHO及びBUNに、臓器生化学的検査では肝のGOT及びGPTに変化が認められ、p-DCBの血清及び臓器中の量とそれらの変化の程度が一致していた。組織学的には、腎の尿細管上皮細胞の膨化、脱落、細胞質内の好酸性小体の出現などがH群では中等度に、L及びP0群では軽度に認められ、P-DCB量に相関していた。以上の様に、p-DCBは経口投与より吸入における変化が強く、投与経路の相違による毒性の差が示唆された。

B10 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-*tert*-ブチルフェノール)  
の毒性に関する研究(その1)

○高木篤也、門馬純子、会田喜崇、吉本浜子、鈴木幸子、  
高田幸一、内藤克司、大野泰雄<sup>1)</sup>、中路幸男、黒川雄二、  
戸部満寿夫

国立衛試 安全性生物試験研究センター 毒性部 <sup>1)</sup>薬理部

合成ゴムおよび合成樹脂の抗酸化剤として用いられている2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-*tert*-ブチルフェノール)(MBEBPと略す)の急性および亜急性毒性試験を行ったので報告する。

方法：試験系にはSlc:Wistarラット雌雄(5週齢)を用いた。急性毒性試験では、検体をオリーブ油に懸濁して、経口(一夜絶食)および腹腔内投与を行い、対照群にはオリーブ油を投与した。亜急性毒性試験では、検体を0,0.2,1.0および5.0%の各濃度で飼料に混ぜ、3カ月間自由摂取させ(1群10匹)、1および3カ月目に血液学的検査、血液生化学的検査、病理組織学的検査および肝臓の脂質の分析を行った。また、雄の1カ月目の肝臓でペルオキシゾーム系酵素活性およびミクロゾームの薬物代謝酵素活性を測定した。

結果：急性毒性試験では、LD<sub>50</sub>値は雌雄とも10g/kg以上(経口および腹腔内投与)で、死亡例は認められなかった。亜急性毒性試験では、雌雄とも一般状態に変化は認めず、死亡も認められなかった。雌雄ともに認められた変化は体重増加抑制、血清TGおよびCHEの減少、AMYの増加、肝重量の増加であった。肝臓の脂質分析では、雌の3カ月目の0.2および1.0%群でTGが増加した以外は雌雄ともTGおよびNEFAは減少または減少傾向を認め、T-CHOおよびF-CHOは、雌の1カ月目の1.0および5.0%群、雄の3カ月目の1.0%群で減少した。ペルオキシゾーム系酵素活性の誘導は見られなかったが、薬物代謝酵素活性の誘導は認められた。以上の結果から、MBEBPは血清TGを低下させるが、ペルオキシゾームの関与はないと思われた。

古瀬陽子・赤堀文昭<sup>○</sup>・新井成之・政岡俊夫・坂口和子\*

麻布大獣医学部<sup>○</sup>、\*環境保健学部

Toritoqualine (TRQ: (3RS)-7-amino-4,5,6-triethoxy-3-[(5RS)-5,6,7,8-tetrahydro-4-methoxy-6-methyl-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5-yl]phthalide) のラット paraquat (PQ) 中毒に対する治療的効果について検討した。

実験方法 1) 動物: 126匹のDonryu雄ラット(6週令、体重190-210g)をPQ投与群(110匹)又は生食投与群(16匹)へ無作為に割り付けた。

2) 投与方法: 予備実験の結果から、PQ 4mg/kgを2日毎に11回皮下投与し、その後、PQ投与21日目より体重の増加抑制を指標として6-7日間連続投与した。体重増加の抑制された個体をPQ-TRQ群とPQ-ゴマ油群とに無作為に割り付けた。TRQ (50mg/kg、100mg/kg、200mg/kgの3群) 又はゴマ油 (5ml/kg) は29日目より14日間経口投与した。

結果 1) PQ処置ラット110匹のうち、PQ投与期間中(0-28日目)体重の減少を示し、死亡したもの5匹(4.5%)、体重減少のみられなかったもの27匹(24.5%)、体重増加の抑制された個体78匹(70.9%)であった。

2) 血清 Ceruloplasmin: PQ処置により28日目の時点では体重増加抑制ラット約1.8倍、体重増加ラット約1.3倍と有意に上昇した。35, 42, 49日目でも各PQ-TRQ群、PQ-ゴマ油群とも対照群より高値を示していた。3) 血漿 Fibronectin: PQ処置により上昇、とくに35日目には各PQ-TRQ群、PQ-ゴマ油群とも対照群に比べ有意に上昇した。

4) 肺 Hydroxyproline: 49日目の時点で各PQ-TRQ群、PQ-ゴマ油群とも対照群より有意に高濃度を示した。5) TRQの投与はPQ毒性を効果的に抑制することはなかった。

B12                   パラチオン連続投与によるマウス継代的免疫毒性  
                          について

上野光一、○安河内泉、大森栄、五十嵐隆、  
北川晴雄

千葉大学薬学部薬効・安全性学講座薬物学研究室

「目的」近年、化学物質の免疫毒性に関し注目されるようになってきた。演者らは、化学物質による継代的免疫毒性についても興味をもち、今回、パラチオン（PT）マウス胎生期および新生仔期連続投与による仔の成熟後の免疫能の変動について検討した。

「方法」動物はICR系マウスを用い、9～10週齢で交配した。PTはcorn oilに溶かし、母獣に胃ゾンデにて強制経口投与した。投与量は、0、0.25、1および4 mg/kgとし、妊娠7日目の体重をもとに投与した。投与期間は、1) 妊娠7～15日まで（Exp. 1）2) 妊娠16日～離乳まで（Exp. 2）3) 妊娠10日～出生後10日まで（Exp. 3）までの三通りとした。いずれの実験群でも出生時に新生仔を肉眼的に観察した。仔は3週齢後半で離乳させ、通常飼育後11～13週齢で液性抗体産生能をplaque forming cells（PFC）assayにて測定した。脳内AChE活性はEllman-DTNB法で測定した。

「結果および考察」PTは、短期間投与により免疫毒性を示すことが、成熟マウスにおいて報告されている。今回の実験から、抗体産生能は対照群に比べ、Exp. 1の雄で抑制傾向が、Exp. 3の雌雄に増強傾向が認められた。一方、脳内AChE活性は、いずれの処理群においても対照群と同様であった。免疫毒性の継代的影響については、解決すべき問題は多いが、PTが投与時期によっては、本毒性を示す可能性が示唆された。

○岩崎 真, 吉田 稔, 池田孝則, 津田修治, 白須泰彦

(財) 残留農薬研

有機燐剤フェンチオン(MPP) ミストのラット(F344, ♂, 8w)における全身暴露と鼻部暴露による急性吸入毒性(4h)を比較した。鼻部暴露では動物をアニマルホルダーに収容して暴露した。LC50の比較で、全身暴露が鼻部暴露よりも約8倍毒性が強かった。死亡は、両暴露群とも暴露当日には起こらず、その後9日目までに見られた。

吸入以外の投与経路を用いて、ホルダーの拘束の影響について検討した。MPPを経口投与し、投与後4時間ホルダーに拘束すると死亡はその間に起こり、毒性が約2倍増強されたが、皮下投与では死亡は投与当日には起こらず、拘束の影響も見られなかった。従って、ホルダーによる拘束は、拘束中に動物が強い中毒症状を呈して死亡した場合にのみ毒性に影響を与えるものと考えられ、MPPの鼻部暴露におけるホルダーの影響は無視し得るものと考えられた。一方、全身暴露による吸入毒性は、暴露終了後に動物の被毛を刈り取ると軽減した。全身暴露群、鼻部暴露群、全身暴露後被毛刈り取り群の動物にそれぞれのLC50で4時間暴露すると、暴露後の全血のAChE活性の抑制率は、3群ともほぼ同様であった。この3群の動物に同一濃度(全身暴露のLC50)で暴露すると、全身暴露群が最も強くAChE活性が抑制され、鼻部暴露群が最も軽度であった。被毛刈り取り群はそれらの中間であった。

以上のことから、MPPの全身暴露による吸入毒性は鼻部暴露よりも約8倍強く、その差は吸入以外の経路から取り込まれたMPPによることが示唆された。

アルコール連続摂取による自発行動  
および摂食行動の変化について

○小坂忠司, 斎藤 徹, 真板敬三, 白須泰彦

(財)残留農薬研究所

アルコール摂取の諸行動に及ぼす影響については心理学的立場よりよく研究されている。しかし、近年、毒性学的見地よりアルコールの行動毒性についての研究も盛んになってきつつある。今回、演者らはアルコール混入液体飼料を用いアルコール摂取が自発行動および摂食行動に影響を与えるかどうかについて若干の検討を試みた。

動物はF344系雄性ラットを使用し、5週齢よりアルコール混入液体飼料(AI群)あるいは通常の液体飼料(Cont群)にて飼育した。自発行動量はアルコール摂取2週間目に2匹の動物について1日間測定した。摂食行動はアルコール摂取前10日間、摂取中2週間、そしてさらに通常の液体飼料に置換後4週間、個々の動物について連続して測定した。

1日の自発行動はCont群では夜間に集中していたが、AI群では昼間と夜間のそれには差はほとんど認められなかった。連続的に観察した摂食行動において、AI群では、アルコール摂取前でCont群と同様に各個体とも夜間の行動が1日の約70%前後であった。アルコール摂取期間中では、摂食行動が昼間と夜間に差がみられなかった。通常の液体飼料置換後では、アルコール摂取前の状態に回復する傾向を認めた。

これらのことより、アルコール混入飼料によるアルコール摂取はラット本来の夜間行動の生活パターンを狂わせる行動異常を誘起し、その作用は可逆性であろうと思われた。



○宮川宗之，佐藤光男，本間健資，長谷川弘道

労働省産業医学総合研究所

## 〔目的〕

恒常照明条件下での，ラットの一般活動性の概日リズムを指標にCO曝露による亜急性影響を調べるとともに，生化学的指標の測定とあわせて，毒性評価に用いる場合の問題点について検討した。

## 〔方法〕

活動性の測定にはオートメックスを用いた。曝露前の4日間LD 12:12条件で通常照明飼育時の活動性を記録した後，LL条件で5日間連続してCOの曝露を行い（0，200，300 ppm，各4匹），曝露中の1時間毎の活動量を120時間連続記録した。さらに曝露終了後には生化学的指標として，脳中のATP，Lactate，Glucose量の測定を行った。また，同時にLD条件通常飼育のラットを同数コントロールとして処理，測定した。周期性の解析は最小二乗法によるコサイン曲線の当てはめを中心として行った。

## 〔結果〕

活動性の概日変動に対応する近似コサイン曲線の各パラメーター（amplitude, mesor, period），原変動に対する周期性成分の寄与率，パワースペクトルの概日変動に対応したピーク高は，いずれも濃度依存的変化を示した。一方，生化学的指標には明確な変化は認められなかった。概日リズムに関連するパラメータ5項目に，曝露中の体重の増加率と生化学的指標3項目を加えた9項目を用いて主成分分析を行ったところ，概日リズムに関連する項目と相関のある第一主成分が得られ，この値を指標にすると，各項目を単独に用いた場合よりも，曝露による変化を明確に示す事ができた。生化学的指標3項目は相互の相関がいずれも高くなかった。以上の結果は，亜急性の生体影響の評価に，恒常照明条件下で測定される活動性リズムが有効な指標となることを示唆すると思われる。

○有藤平八郎、 鶴田 寛

労働省産業医学総合研究所

(緒言) シンナー嗜癖や有機溶剤取り扱いによるトルエン中毒症の患者は口渴感を訴えることが報告されている。トルエン蒸気暴露による口渴・飲水欲の発現機序を解明する目的で、我々はラットの飲水活動とトルエン暴露濃度と反覆暴露回数との関係およびラット血漿中電解質濃度や浸透圧との関係を調べた。

(方法) 動物: JCL-SD(♂)ラットを明暗交代条件(L:18.00-6.00)下で自由摂餌で飼育した。飲水行動の記録:動物をDrinkometer付き個別ケージに入れ、飲水活動を自動記録し、1、12時間値を算出した。吸入暴露:トルエン蒸気濃度が900 PPM又は2700 PPMの一定レベルに達した暴露箱の中へケージに入れたラットを8時間(10:00-18:00)挿入した。初回暴露後2日間において、反覆暴露(8hrs/day x 5 days/wk x 3 wks)を開始した。暴露箱内のトルエン濃度はFID-GCで監視した。清浄空気流に同期間暴露したラットの飲水活動を対照値として用いた。暴露期間中は餌と水を与えなかった。血液化学検査:900、2700 PPM又は清浄空気に単回又は3週間反覆暴露したラットを暴露終了4間後に屠殺し、血漿浸透圧や血漿Na, Glucose, 蛋白濃度を測定した。

(結果) 飲水行動:トルエン単回暴露直後の明期飲水活動12時間値は空気暴露の対照群よりも有意に低下した。900 PPMと2700 PPM反覆暴露では明期12時間値は暴露濃度と反覆回数に依存して増加する傾向を示した。両濃度のトルエン蒸気に3週間反覆暴露させた後の飲水活動は暴露直後3-4時間著しく亢進し、有意な亢進は2日間持続した。血液化学:3週間反覆暴露終了4時間後に屠殺したラットの血漿Na濃度と血漿浸透圧は暴露濃度とともに増加した。単回暴露終了後の血漿Na濃度と浸透圧および反覆暴露後の血漿蛋白とGlucose濃度はトルエン暴露の影響を受けなかった。

(考察) 本実験から、トルエン蒸気反覆暴露による飲水行動の亢進は血漿Na濃度と浸透圧の上昇に見られるように水・電解質ホメオスタシス制御機構の機能的な障害が背景に存在すると推察される。

○山本博昭<sup>1</sup> 藤代光一<sup>1</sup> 香山英一<sup>2</sup> 山本一郎<sup>3</sup> 杉山玉枝<sup>1</sup>

豊河野臨床医学研実験病理<sup>1</sup> 臨床化学<sup>2</sup> 北里大衛生病理<sup>3</sup>

マグネシウム(Mg)にはコレステロール(CHO)またはカルシウム(Ca)を抑制する作用のあることが知られている。我々は動脈硬化の発症に関する実験の中でCHO(脂質)とCa(石灰化)の増加を経験しているが今回このような高脂質および高石灰化に対してMgがいかに影響するかを実験的に検討した。

動物はSDの雄ラット(7週令)を用いた。実験構成はI群: CH+Vitamin D<sub>2</sub>(VD) II群: CH+Mg III群: VD+Mg IV群: CH+VD+Mg V群: 普通食(CE-2)+VD VI群: CH+CE-2 VII群: Mg+CE-2 VIII群: CE-2の計8群として、13週間継続した。実験終了後全動物は採血後屠殺して解剖をおこなった。血清検査として電解質と脂質を測定し、組織についてはCaの含有量を測定した。組織学的検査は主に心臓、肝臓、腎臓および大動脈についてH-E染色、石灰染色、脂肪染色、アザンマロリー染色等を施して光顕的に観察した。その結果、血清Ca量はVII群(対照)と比較すると、VI群以外は統べての群で上昇しており特にIV群においては高度であった。また大動脈組織中のCaの量では対照群に対しVIII群で低下を示した以外は統べての群で上昇しており特にV群においては高度であった。またMg投与群とMg未投与群とでCa量を比較すると血清Ca値ではIV群およびVIII群の血清Ca値が上昇したがII群とIV群では低下していた。一方、大動脈組織中のCa量はII群、IV群、VI群では低下、VIII群のみが上昇していた。特にIV群のCa量は血清と組織とでの高低は相反していた。組織学的には肝臓、腎臓および大動脈に著しい変化を認めた。その主な所見は肝臓で脂肪変性と小肉芽腫、腎臓で石灰沈着と痕痕形成および大動脈では石灰沈着を主とした硬化性変化が著明で、特に変化の程度はMg投与群とMg未投与群とではMg投与群の方が強い傾向にあり、Mgが促進的に働いた可能性が示唆された。以上の所見について報告する。

○柴田雅朗、玉野静光、増井恒夫、朝元誠人、福島昭治

名市大・医・第一病理

ラットにおけるNaHCO<sub>3</sub>投与は高pHおよび高Na<sup>+</sup>尿を、NaCl投与では高Na<sup>+</sup>尿のみをもたらし。そこで、これらの要因がラット膀胱発癌プロモーションに対して、いかなる影響を及ぼすかを検討した。

6週令F344系雄ラット120匹を用い、0.05% BBNを4週間投与後、1群；3% NaHCO<sub>3</sub>、2群；1% NaCl、3群；基本食を、BBN無処置の4～6群には前述と同様の飼料を32週間投与し、実験開始の36週経過後に屠殺し、発生した膀胱粘膜病変を病理組織学的に解析した。また、経時的に尿のpH、電解質、沈渣等について検討した。更に追加実験として、上記と同様の各検体のみを4週間投与した後、尿中のPGE<sub>2</sub>および膀胱粘膜上皮のDNA合成をBrduを用いて測定した。

その結果、NaHCO<sub>3</sub>投与の1群で、膀胱癌の発生頻度並びに個数は、対照群に比し、明らかに有意な増加を示し、PN過形成、乳頭腫においても同様であった。4群では、低頻度ながら単純性過形成の発生がみられた。NaCl投与の2群の各膀胱病変の発生は対照群との間に差異を認めなかった。尿所見では、1および4群でpHとNa<sup>+</sup>の上昇、浸透圧の低下を、2および5群ではNa<sup>+</sup>の上昇を認めた。追加実験での尿中PGE<sub>2</sub>濃度は、各群間に有意な変動を認めなかった。また、膀胱粘膜上皮のDNA合成はNaHCO<sub>3</sub>およびNaCl投与群で有意な上昇を示した。

以上、ラットBBN膀胱発癌の促進作用の発現には、高pHおよび高Na<sup>+</sup>尿という両条件の成立が極めて重要であり、これらの条件下ではBBN無処置においても膀胱上皮のDNA合成を亢進させ、上皮の単純性過形成を発生させる事が明らかとなった。

ラット肝を用いた発癌、発癌修飾物質の *in vivo* 早期検索法 (rapid bioassay) : 発癌抑制物質の検出

○ 宇和川賢、今井田克己、津田洋幸、香川雅孝、伊東信行

名古屋市大・医・第一病理

ラット肝の前癌病変である Glutathione S-transferase P型陽性細胞巢 (GST-P<sup>+</sup>) の発生を指標とした発癌、発癌修飾物質の *in vivo* 早期検索法を用いて種々の化学物質についてその作用を検索し、長期発癌試験及び変異原試験の結果との相関性について報告してきた。今回は本法による発癌抑制物質について検討を加え、その結果を報告する。

(方法) 6週令のF344雄ラットを用い、Diethylnitrosamine (DEN) 200mg/kg b. w. を 1回 *i. p.* 投与し、その後実験2週目より被検物質を経口投与 (粉末飼料、飲料水) 又は、週 1 回 *i. p.* あるいは *i. v.* 投与し、実験3週目に肝の2/3部分切除を行い、全経過8週で屠殺した。肝の GST-P<sup>+</sup> の単位面積当りの個数及び面積を画像処理装置を用いて測定し、それらの値が対照群より有意に増加した場合を促進、差無しを不変、減少を抑制効果と判定した。

(結果及び結論) 120種の被検物質を検索した結果、抑制作用を22種 (Antioxidantの 11/23種 (47.8%)、解熱鎮痛消炎剤の 3/12種 (25%)、Peroxisome proliferater の2/2種 (100%)、脂質過酸化産物の2/2種 (100%)、男性ホルモンの1/2種 (50%)、その他の3種) に認めた。Antioxidantは検索した23種のうち抑制作用を示した11種 (47.8%) の他、12種 (52.2%) では不変であった。また、Butylated hydroxyanisole、 $\alpha$ -tocopherolには用量反応関係を示す抑制作用も認められた。

以上より、本法は、発癌物質や発癌促進物質の検出だけでなく、発癌抑制物質の検出も可能とする検索法であり、環境中の発癌修飾物質の早期検索法として有用であると考えられた。

○後藤鋼星 稲津水穂 小林孝好 坂口 孝

ヘキストジャパン総合開発研究所

安全性試験の病理組織診断を行なう上で免疫組織化学検査が必要となる場合にしばしば直面する。しかし、免疫組織化学検査を行なうためには、目的に応じた試料の特殊処理が必要となるため通常の鏡検後検査を行なう必要が生じても十分に行なえない場合が多い。H u a n g S - N<sup>1)</sup>らは、ホルマリン固定後パラフィン包埋した切片をトリブシン消化することにより抗原性を賦活化し免疫組織化学検査を可能にする方法を報告している。

今回、安全性試験あるいは薬効試験で鏡検後免疫組織化学検査が必要となった場合にトリブシン消化により通常のホルマリン固定、パラフィン包埋された切片を用いて検索した例を報告すると共にトリブシン消化条件の検討と未固定凍結試料との比較について報告する。

#### 〔 結果 〕

1. 応用例：腎系球体内皮細胞の増殖、上皮細胞へのエオジン好性物質の沈着、基底膜の肥厚を示した腎臓では、ホルマリン固定のパラフィン切片を脱パラ後 0.025%トリブシン溶液にて1～2時間の消化で線状のI g Gの沈着を証明できた。又、上皮性腫瘍では、脱パラ後 0.025%トリブシン溶液にて 0.5～1時間の消化でケラチン線維の存在を証明できた。

2. トリブシン消化の検討：トリブシンは、S i g m a社 Type IIを用い0.025～0.1%溶液で37℃、0.5～2時間消化を行なった。トリブシンは、濃度が高いほど消化時間が短縮された。

3. 凍結試料との比較：ホルマリン固定後パラフィン包埋試料と未固定凍結試料の比較では、両者に良好な相関性が認められた。

1). L a b I n v e s t 35 : 383, 1976

○ 鈴木勉、F.R.George、R.A.Meisch

星葉大・応用薬理、NIDA・ARC、Minnesota大・精神

目的：行動遺伝学、薬理遺伝学の進歩により、依存形成薬物の遺伝学的検討が近年活発に行われている。この種の研究は近交系動物あるいは選択交配された動物を用いて行われている。演者らは、近交系ラット（Lewis (LEW)とFischer 344(F344))を用い、ethanolの経口自己投与を検討し、ethanolはLEWに対して強力な強化因子として働くが、F344に対しては弱い強化因子としてしか働かないことを先に明らかにした。今回は、強力な麻薬性鎮痛薬である etonitazene(ETZ)の経口自己投与を近交系ラットで検討した。方法：実験には雄性 LEW (約300g)とF344 (約200g)を80%体重としてそれぞれ4匹用いた。オペラント箱には2レバーと1ノズルを設けた。2レバーのうち一方の反応に対し、強化として20 licks (100ul)を与え(FR1)、他のレバーへの反応は行動活性の指標として測定した。実験は1日1セッションとして毎日行った。セッション開始30分後に餌をオペラント箱内で与え、90分間、餌誘発 ETZ 摂取行動を0 (水)、0.625, 1.25, 2.5 および 5 ug/ml で各7セッション記録した。その後、餌はセッション終了後 home cageで与えた。ETZ 5 ug/mlを用い、FR サイズ 1, 2, 4 および 8で各5セッション記録した。さらに、FR 8の条件下で ETZ の濃度を 0, 1.25, 2.5 および 5 ug/ml とし、それぞれ5セッション記録した。各条件の最終日のセッション終了後直ちにラットをopen fieldに入れ、3分間の行動活性を測定した。また、tail flick法を用い、ETZの鎮痛効果を LEW と F344 で比較した。結果・考察：餌誘発 ETZ 摂取行動は LEW で ETZ の濃度に依存して抑制された。この時の行動活性もまた ETZ の濃度依存的に抑制された。LEW はFRサイズの増加に従って著明な反応数の増加を示したが、F344 は反応数の増加がわずかであった。また、ETZ の摂取行動は LEW で逆U字型の濃度反応曲線を示し、F344 では平坦なものであった。一方、ETZの鎮痛効果 (ED<sub>50</sub>)は LEW で 0.064、F344 で 0.017 ug/kg, s. c.であった。以上より、ethanolの場合と同様に ETZ は LEW に対して、強力な強化因子として働くが、F344 に対しては弱い強化因子としてしか働かないことを明らかにした。したがって、ETZ のような麻薬性鎮痛薬や ethanolの自己投与実験に LEW が適していることが示唆できる。

ビーグル犬にフェノバルビタールを長期間投与したときの  
毒性学的変化（予備的検討）

○石川敦子　吉田俊夫　澤野芳範　花田貴宣　三木寿雄

山之内製薬株式会社(株) 開発研究所 安全性研究所

毒性試験に於てしばしば遭遇する所見の一つに肝臓肥大がある。その中でも肝薬物代謝酵素誘導性の変化と考えられる場合が多いが、病理組織所見を待たずに生前所見からその変化を予想することは通常の毒性試験では容易ではない。また、薬物代謝酵素誘導性の肝肥大が長期間持続した場合に、毒性試験で通常測定する検査項目にどのような変化をもたらすか必ずしも充分に把握されていないと考えられる。そこで我々は、モデルとしてフェノバルビタールを選びビーグル犬に長期間投与した場合の影響について予備的検討を行った。

まず、Litchfield, M. H. ら(1972)の報告を参考にして静脈内投与により実験を行った。雌雄各2匹の犬にフェノバルビタールを5 mg/kg/dayから漸次増量して30日後に50～60 mg/kg/dayを連日静脈内投与した。投与3週後より血漿アルカリホスファターゼが正常値上限の2～6倍に上昇した。その他にアルブミンの2 g/dl以下の低値、コレステロールの100 mg/dl低下の低値がみられ、更にはGPTの上昇例もみられた。

一方、フェノバルビタールの経口投与によっても同様の変化がみられるかどうか雌雄各1匹の犬を用いて検討した。維持量50～60 mg/kg/dayの投与量で投与2週よりアルカリホスファターゼの上昇、2～6週よりアルブミンの低下、10週以降GPTの上昇が認められた。今後、より長期間経口投与したときの影響を調べる予定である。



○宮川義史<sup>1</sup>，高橋道人<sup>2</sup>，林 裕造<sup>2</sup>

1 日本たばこ・生物実験センター 2 国立衛試・病理

マウスの体毛は、発育期 (G) と静止期 (R) を周期的に繰り返して成長し交代している。この hair cycle は皮膚での発癌物質に対する感受性や皮膚の可移植性に大きな影響を及ぼす要因となる。我々は、皮膚の厚さと hair cycle が相関することを利用し、5 系統のマウスの hair cycle につき検索した。

妊娠14日目の DBA/2, BALB/C, C57BL/6 を各6腹、ICR, Sencar を各10腹購入し、バリアシステム下で飼育した。出産後より背部皮膚を観察し、1回目の G (G1) の開始日を記録した。3日齢より肩甲骨間及び背部中央部の皮膚の厚さをノギスで計測した。計測は8日齢までは毎日、以後は3～4日に1回行い、140日齢まで行った。G2, G3 の開始日を検索するため、各系統の雌雄10例の背部皮膚を22日齢と52日齢時に剪毛した。ICR, Sencar については、同一コロニーの動物を経時的に屠殺し、皮膚の組織学的並びに組織計測学的検索を行った。hair cycle は多少のずれはあるものの、全系統で同様のパターンを示した。G1 は2日齢より開始し、皮膚の厚さは8日齢で最大値を示し、その後漸減し18～24日齢で最小値を示した (R1)。G2 の開始日は28～37日齢で、全系統で雌は雄より3～4日遅れて開始した。皮膚の厚さはR1で最小値を示した直後より漸増し、G2開始日の2～4日後にピークを示し再び漸減した。52日齢では全系統のマウスがR2であった。R2は比較的長期間持続したが、G3の開始日は系統、個体間で大きくばらつき、DBA/2, C57BL/6ではスポット状の発毛を示した。組織計測学的検索の結果は、ノギスによる計測結果とよく一致した。

---

第14回日本毒科学会学術年会  
プログラム・要旨集

---

発行 昭和62年7月1日  
発行人 土屋健三郎  
発行所 〒807 北九州市八幡西区医生ヶ丘1番1号  
産業医科大学 病院薬剤部内  
第14回日本毒科学会学術年会事務局  
TEL. (093) 603-1611 内線3034・3049