

# 第15回日本毒科学会学術年会 講演要旨集

昭和63年8月4日(木), 5日(金)

仙台市民会館

1988 仙 台

# 第15回 日本毒科学会学術年会

期 日 昭和63年 8月4日(木)  
8月5日(金)

場 所 仙 台 市 民 会 館

会 長	池 田 正 之	(東北大・医・衛生)
組織委員会 委 員 長	小 倉 保 己	(東北大・歯・薬理)
委 員	渡 辺 民 朗	(東北大・抗研・癌化学)
	鈴 木 康 男	(東北大・薬・薬剂)
	佐々木 健 一	(東北薬科大・癌研)
	信 永 利 馬	(東北大・医・実験動物)
	石 原 信 夫	(東北労災病院・健診センター)
	山 本 玲 子	(尚綱短大)
	渡 辺 孝 男	(東北大・医・衛生)
	中 塚 晴 夫	(東北大・医・衛生)
大 橋 まり子	(東北大・医・衛生)	

#### 事 務 局

〒980 仙台市星陵町 2-1

東北大学医学部衛生学教室

電 (022) 272-5827

FAX (022) 272-5827

## 目 次

日程および座長一覧	2
お知らせとお願い	4
会場案内	6

### プログラム

特別講演	9
教育講演	9
シンポジウムⅠ	10
シンポジウムⅡ	11
一般演題	12

### 要 旨

特別講演	21
教育講演	23
シンポジウムⅠ	25
シンポジウムⅡ	29
一般演題	35

## 日程及び座長一覧

月 日	時 刻	A会場(小ホール)	B会場(展示室)
8 月 4 日 木	9:00	開会の辞	開会の辞
	9:00	一般演題 (A01~A11)  座長: A01~A06 加藤 隆一 山中 康光  A07~A11 高仲 正晃 遠藤 正晃	一般演題 (B01~B11)  座長: B01~B06 井村 伸正 佐藤 洋  B07~B11 菅野 盛夫 信永 利馬
	11:15	教育講演 司会: 大森 義仁	
	12:15	評議員会 (B会場)	
	13:20	一般演題 (A12~A22)  座長: A12~A17 伊藤 忠信 高橋 和明  A18~A22 福田 英臣 小野寺 威	一般演題 (B12~B22)  座長: B12~B17 高島 英伍 和田 攻  B18~B22 白須 泰彦 柳田 知可
	15:45	シンポジウム I  司会: 池田 正之 佐々木健一  (S-I-1~S-I-4)	
	18:45		
	19:00	懇親会 (ニューシティホテル)	
	21:00		

月 日	時 刻	A会場(小ホール)	B会場(展示室)
8 月 5 日 (金)	9:00	<p>一 般 演 題 ( A23~A39 )</p> <p>座長：A23~A27 黒川 雄二 秋本 健</p> <p>A28~A33 宇高 奎二 福島 昭治</p> <p>A34~A39 坂口 孝 伊東 信行</p>	<p>一 般 演 題 ( B23~B39 )</p> <p>座長：B23~B28 山本 郁男 黒岩 幸雄</p> <p>B29~B33 佐藤 哲男 矢ヶ崎 修</p> <p>B34~B39 遠藤 仁康 山添 康</p>
	12:25	( 昼 食 )	
	13:15	総 会	
	14:00	<p>特 別 講 演 司会：小倉 保己</p>	
	15:15	<p>シンポジウムⅡ</p> <p>司会：渡辺 民朗 鈴木 康男</p> <p>( S-II-1~S-II-5 )</p>	
	18:15	閉 会 の 辞	

## お知らせとお願い

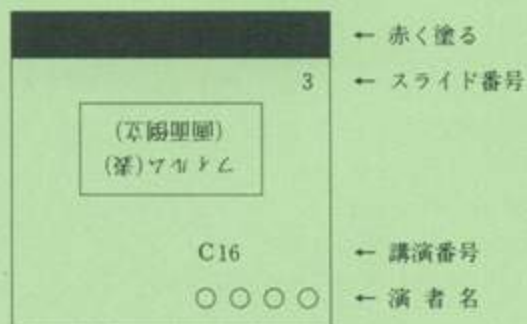
### I. 年会参加者の皆様へ

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、氏名をご記入ください。
2. 「参加章（ネームカード）」をお忘れの方又は紛失された方は、総合受付へお申出ください。
3. 当日参加の方は、受付に備え付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円）をお支払いの上、「参加章（ネームカード）」と「講演要旨集」をお受取りください。
4. 学会受付は午前8時30分から行ないます。
5. 会場への入場の際は、必ず「参加章（ネームカード）」を胸に着用してください。胸ポケットのない方は、総合受付でピン付の名札入れをお受取りください。
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なされて下さい。
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. 口演中のストロボ撮影は固くお断り致します。
9. 懇親会（会費5,000円）は、当日の申込も受け付けます。準備の都合上、なるべく早目に総合受付で御予約ください。

### 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用意下さい。
- 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) スライドは発表予定時刻の30分前（早期は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) 口演者は、座長の指示に従って下さい。

### 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（早期は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

8月4日（木）12:15より、B会場（展示室）にて開催致します。

### Ⅴ. 総会について

8月5日（金）13:15より、A会場（小ホール）にて開催致します。

### Ⅵ. 懇親会について

8月4日（木）19:00より、ニューシティホテルにて開催致します。

ホテルは学会場よりケヤキ並木の定禅寺通りを一番町に向って徒歩7～10分の所にあります。



# 学会場案内

(仙台市中心部略図)

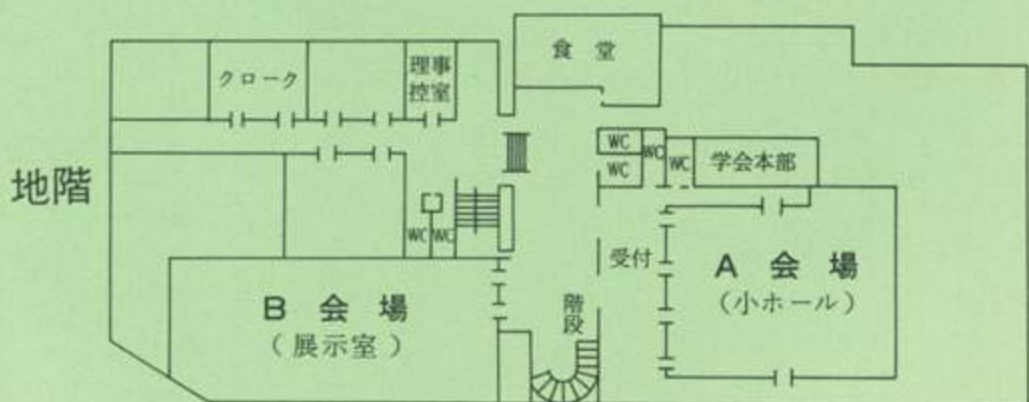
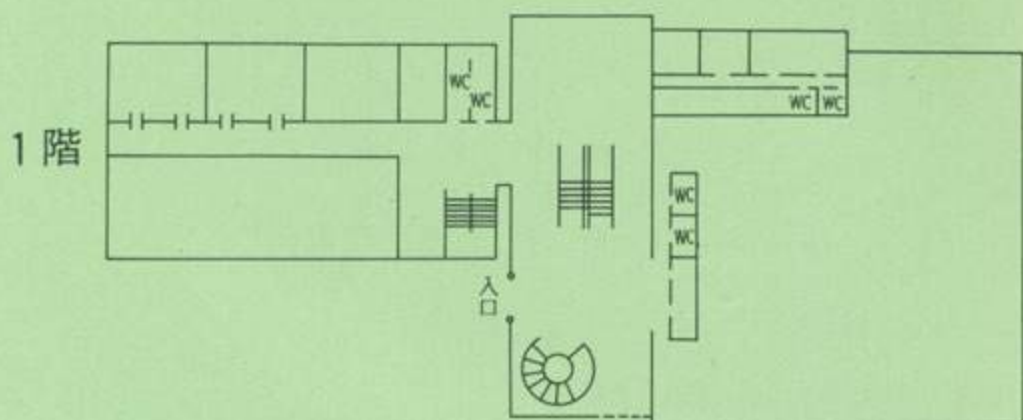
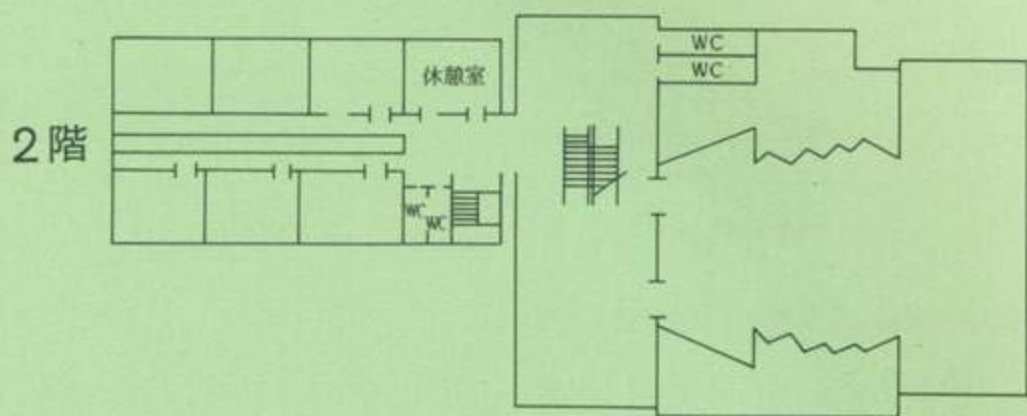
**学会場：**  
 仙台市民会館  
 仙台市桜ヶ岡公園 4-1  
 電 022-224-5044  
 仙台駅よりタクシーで  
 約10分、800円程度です。  
 会場には駐車場の余裕は  
 ほとんどありませんので  
 御留意下さい。

**懇親会場：**  
 ニューシティホテル  
 仙台市国分町2丁目14-13  
 電 022-263-4191



- |             |                   |
|-------------|-------------------|
| ① 仙台ホテル     | ⑧ 仙台ワシントンホテル (第1) |
| ② ホテル仙台ブラザ  | (第2)              |
| ③ 江陽グランドホテル | ⑨ ホテルニューモリスエ      |
| ④ 仙台東急ホテル   | ⑩ 東京第一ホテル仙台       |
| ⑤ 三井アーバンホテル | ⑪ ホテルサンルート仙台      |
| ⑥ 仙台シティホテル  | ⑫ ホテル法華クラブ仙台店     |
| ⑦ ホテルリッチ仙台  | ⑬ 民衆会館            |

学会場：仙台市民会館



## 特 別 講 演

8月5日(金), 14:00~15:00

A会場(小ホール)

司会:小倉 保己(東北大・歯・薬理)

化学物質の安全性確保と代謝・分解研究

宮本 純之(住友化学・宝塚総合研究所)

## 教 育 講 演

8月4日(木), 11:15~12:05

A会場(小ホール)

司会:大森 義仁(慈恵医大・薬理)

発癌物質の安全性評価

林 裕造(国立衛試・安全性生物研・病理)

## シンポジウム I

8月4日(木), 15:45~18:45

A会場(小ホール)

司会: 池田 正之(東北大・医・衛生)

佐々木健一(東北薬科大・癌研)

### 「許容量」概念の社会への適用

S-I-1 労働衛生分野における許容濃度

桜井 治彦 (慶応大・医・衛生)

S-I-2 大気汚染質の環境基準

吉田 克己(京都工場保健会; 前 三重大・医)

S-I-3 食品添加物に対する許容量

戸部満寿夫 (国立衛試・安全性生物研・毒性)

S-I-4 農業資材の食品中残留許容濃度

吐山 豊秋 (東京農工大・農・家畜薬理)

## シンポジウムⅡ

8月5日(金), 15:15~18:15

A会場(小ホール)

司会: 渡辺 民朗(東北大・抗研・癌化学)

鈴木 康男(東北大・薬・薬剤)

### バイオテクノロジーと毒科学の接点

S-II-1 遺伝子工学の現状と将来

帯刀 益夫 (東北大・抗研・細胞生物)

S-II-2 哺乳類の発生工学

菅原 七郎 (東北大・農・実畜繁殖)

S-II-3 トランスジェニックマウスによる生体機能の解析

勝木 元也 (東海大・医・DNA生物/実中研)

S-II-4 毒物代謝における蛋白質工学

今井 嘉郎 (阪大・蛋白研・生理機能)

S-II-5 細胞工学による医薬品開発

小林 茂保 (バイオマテリアル研)

# 一般演題

第1日 午前

A会場(小ホール)

- 9:00~10:12 加藤隆一 (慶応大・医・薬理)  
山中康光 (大分医大・薬理)
- 9:00 A01. 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・衛生)
- 9:12 A02. X線照射による肝臓, 腎臓のメタロチオネイン誘導  
○白石則之, 青野 要 (岡山大・医・放射線医学)
- 9:24 A03. 胆汁酸を用いた肝毒性診断についての基礎的検討  
○前田好正, 松本一彦, 小林洋四郎, 山本 宏 (東洋醸造・リサーチセンター・安全性研)
- 9:36 A04. 初代培養肝細胞における薬物代謝酵素系の変動に対するメチラポンの効果  
○広田晃一, 川西 徹, 藤内桃子, 大野泰雄, 高仲 正, 加藤隆一\* (国立衛試・安全性生物研・薬理, \*慶大・医・薬理)
- 9:48 A05. 抗ラットチトクロームP-450抗体による病理学的研究  
○小島 隆, 宮田昌明, 谷上真寿美, 佐藤優子, 田村 茂, 武知雅人, 吉川邦衛 (三菱化成・安全性研)
- 10:00 A06. 肝毒物 Allyl Formate 投与による複数 Monoamine Oxidase の逸脱  
○小畑俊男, 江頭 享, 山中康光 (大分医大・薬理)
- 10:12~11:12 高仲 正 (国立衛試・安全性生物研・薬理)  
遠藤 晃 (山形大・医・衛生)
- 10:12 A07. ラットの長期毒性試験に対する各種媒体の及ぼす影響  
野村 護, ○神藤敏正, 手嶋典子, 高橋裕詞 (第一製薬・中央研・安全性研)
- 10:24 A08. 生殖毒性試験における至適交配時間の検討  
○渡辺敏明, 遠藤 晃 (山形大・医・衛生)
- 10:36 A09. 生殖毒性試験の代替法に関する研究(第二報)  
ラット全胚培養の培養液についての検討  
○秋田正治, 横山 篤, 江藤一洋 (東京医歯大・歯・顎研発生)
- 10:48 A10. 毒性試験における経時的超音波診断に関する検討 — 四塩化炭素慢性肝障害犬における肝臓の超音波診断 —  
○山本恭之, 豊岡正好, 中館 豊, 林 克好, 樋口高裕\* (三菱化成・安全性研, \*津村順天堂・津村薬理研)
- 11:00 A11. Fischer 344 ラットの肝臓に見られた泡沫細胞 — 加齢に伴う出現頻度の変化とその形態学的特徴 —  
○松本悦嗣, 矢本 敬, 五十嵐功, 高岡雅哉, 柳井徳磨, 真鍋 淳, 増田 裕 (三共・安全性研)

第1日 午後

A会場(小ホール)

13:20~14:32

伊藤忠信 (岩手医科大・歯・薬理)  
高橋和明 (日本獣医科大・実験動物)

- 13:20 A12. フッ化ピリミジン系薬物の下痢誘発作用の機序とその評価  
○堀井郁夫, 桑原明彦, 渡辺満利, 宇高奎二  
(日本ロッセ研・毒性病理部)
- 13:32 A13. Muramyl dipeptide 誘導体MDP-Lys(L18)の関節毒性の解析  
○菅原正喜, 赤羽浩一, 加藤道幸  
(第一製薬・中央研)
- 13:44 A14. BALB/c マウスにおける15-deoxyspergualinの亜急性毒性  
1. 血液学的検討  
○真崎義彦, 井上慶一, 鎌田貢寿, 大久保充人, 平美也子, 原理恵子  
(北里大・医・実験動物, 内科, 総合臨床)
- 13:56 A15. BALB/c マウスにおける15-deoxyspergualinの亜急性毒性  
2. 病理組織学的検討  
○井上慶一, 鎌田貢寿, 大久保充人, 真崎義彦, 原理恵子, 張 恵路  
(北里大・医・内科, 実験動物, 総合臨床, 病理)
- 14:08 A16. 抗癌剤のリンパ球機能に及ぼす影響  
○杉山奈緒美, 川音晴夫, 暮部 勝  
(明治製薬・薬理安全性研)
- 14:20 A17. 高麗人参の in vivo clastogenicity 抑制作用について  
○沈 点順, 金 容華, 盧 正久  
(韓国化学研究所)

14:32~15:32

福田英臣 (東京大・薬・毒性薬理)  
小野寺威 (第一製薬・中央研)

- 14:32 A18. ハロペリドール添加飼料を終生摂取させたラットの毒性試験  
○吉田 熙, 村井繁夫, 増田義勝, 齊藤弘子, 伊藤忠信  
(岩手医大・歯・薬理)
- 14:44 A19. Methylthiotetrazole の精巢内蛋白質に及ぼす影響  
○原田 寧, 高木英利, 山崎佳之, 猪俣訓一, 吉川泰雄  
(日本レダリー・生物研)
- 14:56 A20. 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)(MBEPP)のラット体重増加抑制作用について  
○高木篤也, 門馬純子, 会田喜崇, 吉本浜子, 佐井君江, 中路幸男, 黒川雄二, 戸部壽寿夫, 鈴木康雄\*  
(国立衛試・安全性生物研・毒性部, \*薬効開発研究会)
- 15:08 A21. 胎生期エタノール投与によるマウス胎仔大脳の急性障害-感受期の検討  
○星野 清, 福井義浩, 亀山義郎  
(名古屋大・環境医学研)
- 15:20 A22. 神経節における過酸化脂質の産生に対するキノホルムの効果について  
○堀真一郎, 大谷幸子, 杉浦弘子, 田邊 等\*  
(東京都神経研・神経生化学, \*東京都立神経病院)

## 第1日 午前

## B会場(展示室)

9:00~10:12

座長:井村伸正  
佐藤 洋(北里大・薬・公衆衛生)  
(北海道大・医・衛生)

- 9:00 B01. 鶏における塩化トリブチル錫の毒性および脳組織への移行  
○斉藤文也, 小林晴男, 湯山 章, 主浜幸俊\*  
(岩手大・農・家畜薬理, \*小岩井農場)
- 9:12 B02. 脳組織 Cholinergic system におよぼす有機錫の in vitro での影響  
斉藤文也, ○小林晴男, 湯山 章, 主浜幸俊\*  
(岩手大・農・家畜薬理, \*小岩井農場)
- 9:24 B03. ヒトにおけるベンゼンの代謝  
○井上 修, 清治和則, 中塚晴夫\*, 渡辺孝男\*, 池田正之\*  
(東北労災病院健診センター, \*東北大・医・衛生)
- 9:36 B04. 肝カルボキシルエステラーゼの種差に関する研究(Ⅶ)  
— TSO, 3MC および PCB による誘導の種差, 系統差 —  
○酒江基泰, 細川正清, 佐藤哲男\*  
(東京薬大・第一薬理, \*千葉大・薬・薬物)
- 9:48 B05. Trimethylarsine oxide の代謝と排泄  
○山内 博, 貝瀬利一\*, 高橋啓子, 山村行夫  
(聖マリアンナ医大・公衆衛生, \*神奈川衛研)
- 10:00 B06. 有機燐化合物 Leptophos の静脈内投与後の神経系  
および筋組織中濃度の動態  
○山内 徹, 加藤清司, 紺野信弘, 福島匡昭  
(福島医大・公衆衛生)

10:12~11:12

菅野盛夫  
信永利馬(北海道大・医・第2薬理)  
(東北大・医・動物実験施設)

- 10:12 B07. ウサギにおける Paraquat 毒性 — 皮膚新鮮創と Paraquat 中毒 —  
○新井成之, 赤堀文昭, 政岡俊夫, 鈴木立雄\*  
(麻布大・獣医・薬理, 同・\*二外)
- 10:24 B08. トリブロモメタン, シブロモクロロメタン, ブロモジクロロメタンの  
慢性毒性に関する研究  
○会田喜崇, 高田幸一, 小林和雄\*, 内田雄幸, 安原加寿雄,  
鈴木康雄\*\*, 吉本浜子, 門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二,  
戸部満寿夫  
(国立衛試・安全性生物研・毒性部,  
\*食品農薬医薬品安評センター, \*\*薬効開発研究会)
- 10:36 B09. p-sec-Butylphenol の毒性に関する研究  
○川崎 靖, 関田清司, 松本清司, 落合敏秋, 内田雄幸,  
中路幸男, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫  
(国立衛試・安全性生物研・毒性部)
- 10:48 B10. 芳香族ニトロ, アミノ化合物投与によるラット尿中酵素活性の上昇  
○吉田宗弘, 原 一郎  
(関西医大・公衆衛生)
- 11:00 B11. 胎生期スチレン暴露による次世代影響 — 行動奇形学による検討  
○岸 玲子, 陳 炳脚, 片倉洋子, 池田聰子, 三宅浩次  
(札幌医大・公衆衛生)



13:20~14:32

高島英伍  
和田 攻(摂南大・薬・毒性学)  
(東京大・医・衛生)

- 13:20 B12. Acrylamide と関連物質のNeurofilament (NF)代謝への影響  
○谷井秀治, 林 正男, 橋本和夫  
(金沢大・医・衛生)
- 13:32 B13. 細胞の鉄代謝に及ぼす鉛の影響  
○河野比良夫, 徳永力雄  
(関西医大・衛生)
- 13:44 B14. 鉛投与マウス, ラットにおけるホルフィリン代謝関連物質の変動  
○友国勝磨, 市場正良  
(佐賀医大・地域保健科学)
- 13:56 B15. 無機水銀およびメチル水銀の腸管吸収に関するレンチンの効果  
○夏木令子, 亀井宜男, 高島英伍  
(摂南大・薬・毒性学)
- 14:08 B16. 妊娠後期モルモット胎仔における子宮内水銀蒸気曝露後の水銀の代謝  
○佐藤 洋, 吉田 稔\*  
(北大・医・衛生, \*聖マリアンナ医大・公衆衛生)
- 14:20 B17. マウスにおける亜セレン酸の毒性に対する軽度のリボフラビン欠乏の影響  
○小林香苗, 鈴木継美  
(東大・医・人類生態)

14:32~15:32

白須泰彦  
柳田知司(残留農業研究所・毒性部)  
(実験動物中央研・前臨床医学研)

- 14:32 B18. 亜鉛存在下の運動神経伝達物質の放出について  
○西村昌教  
(大阪府立大・農・家畜薬理)
- 14:44 B19. 亜リン酸トリフェニルの遅発性神経毒性(第2報)  
— ニワトリにおける体内分布 —  
○紺野信弘, 加藤清司, 山内 徹, 福島匡昭  
(福島医大・公衆衛生)
- 14:56 B20. 肺気腫の発生と炭粉沈着症との関係について  
○大島 晋, 高浜素秀  
(埼玉医大・二病)
- 15:08 B21. フェンチオンの吸入毒性に対する粒子サイズの影響  
○吉田 稔, 村尾紀子, 岩崎 真, 津田修治, 白須泰彦  
(残留農業研・毒性部)
- 15:20 B22. リン酸塩長期投与マウスの肝・腎・筋・骨所見  
および血清・尿・糞中無機元素量  
○大本美彌子, 今井常彦, 茂手木三男\*, 原田 孝\*,  
金城弘明\*\*, 金子次雄\*\*  
(東邦大・医・衛生, \*同・整外, \*\*江東徹研)

## 第2日 午前

## A会場(小ホール)

- 9:00~10:00 黒川雄二 (国立衛試・安全性生物研・毒性)  
秋元 健 (第一製薬)
- 9:00 A23. 臭素酸カリウム投与によるラット腎近位尿細管の eosinophilic body 発現における性差について  
谷川廣行, ○三井雅之, 島崎一郎, 前川昭彦\*, 小野寺博志\*, 黒川雄二\*\*  
(森下製薬・薬理研, \*国立衛試・病理, \*\*国立衛試・毒性)
- 9:12 A24. ラットにおけるメチルセルロース投与の腎糸球体障害の比較  
○山本博昭, 藤本光一, 山本一郎  
(河野臨床医学研・病理, 北里大・衛生・病理)
- 9:24 A25. 中性リン酸緩衝液によるラット腎糸球体の病理学的変化  
○寺嶋昭夫, 奥田敏明, 北川 登, 齊藤勝弘, 吉中一郎  
(科研製薬・安全性研)
- 9:36 A26. アミノ配糖体系抗生物質の in vivo 及び in vitro における腎毒性比較試験  
○松本一彦, 山本 宏, P. Tulkens\*  
(東洋醸造・リサーチセンター安全性研, \*Univ. Catholique De Louvain)
- 9:48 A27. Kanamycin を用いたラットの尿沈渣と腎の組織学検査の関連  
○松浦哲郎, 前田 博, 萬野賢児, 中島裕夫, 栗尾和佐子, 川路尚徳  
(摂南大・薬物安全科学研)
- 10:00~11:12 宇高奎二 (日本ロシェ研・毒性病理部)  
福島昭治 (名古屋市大・医・第一病理)
- 10:00 A28. 毒性試験におけるラット甲状腺重量測定時の問題点についての検討  
○永江祐輔, 高橋昌三, 高橋宏幸, 山本 滋, 出口二郎, 佐藤真理, 原田多恵子, 平石麻美, 小林清隆  
(日本チバガイギー・薬剤安全性研究室)
- 10:12 A29. カナマイシン投与によるイヌの聴覚障害(電気生理学的手法による検索)  
○久世 博, 和田 功, 堀 正樹, 岡庭 梓  
(田辺製薬・安全性研)
- 10:24 A30. 抗がん性白金錯体の骨髄毒性モデルとしてのマウスの有用性  
○東山 昇, 森山哲郎, 藤島昇一, 村岡義博  
(塩野義製薬研・神奈川分室)
- 10:36 A31. 骨髄塗抹標本作成上の問題点  
○諏訪浩一, 金津赫生\*  
(ボゾリサーチセンター, \*筑波大・医療技術短大)
- 10:48 A32. ラットの骨髄検査法の検討  
○島田晴美, 赤羽浩一, 古濱和久, 加藤道幸  
(第一製薬・中央研)
- 11:00 A33. 走査電子顕微鏡によるらせん器聴毛の観察 — カナマイシン投与による聴器障害 —  
○打屋尚章, 内田英一, 堀井郁夫, 宇高奎二  
(日本ロシェ研・毒性病理部)

11:12~12:24

坂口 孝  
伊東信行(万有製薬開発研)  
(名古屋市大・医・第一病理)

- 11:12 A34. 毒性試験における自発行動及び飲水行動量測定の有用性の検討  
(1)Streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラットにおける検討  
○安原吉高, 山本慎治, 佐藤秀蔵, 千葉祐広  
(武田薬品・中央研)
- 11:24 A35. ラット多重癌モデルによる各種臓器発癌物質の中期検出法についての検討  
○宇和川賢, 津田洋幸, 今井田克己, 高橋 智, 伊東信行  
(名古屋市大・医・一病)
- 11:36 A36. Biel water maze と海馬  
○赤池雅司, 大野広子, 小林孝好, 坂口 孝  
(ヘキストジャパン・医薬研・生物研究部)
- 11:48 A37. 薬物誘発性脂質症検出に用いられる酸ヘマティン法の検討  
○梶原摩耶, 杉本哲朗, 土屋陽子, 鈴木繁生  
(中外製薬・開発研)
- 12:00 A38. 嘔吐のモデル動物 Ferret を用いた抗癌剤誘起性嘔吐に関する基礎的研究  
○南 勝, 門間芳夫, 遠藤 泰, 斉藤秀哉\*, 年光芳信\*\*  
(東日本学園大・薬・薬理,  
\*北大医・第一薬理, \*\*新日本実業・薬理研)
- 12:12 A39. 膀胱発癌物質の早期検出の試み  
○務台 衛, 朝元誠人, Joao de Camargo, 小木曾正,  
福島昭治  
(名古屋市大・医・一病)

## 第2日 午前

## B会場(展示室)

- 9:00~10:12  
 山本郁男 (北陸大・薬・衛生化学)  
 黒岩幸雄 (昭和大学・薬・毒物学)
- 9:00 B23. 脳機能改善薬 Bifemelane の肝細胞に対する効果  
 ○永井敬之, 高野律子, 金馬義平, 江藤 享, 山中康光  
 (大分医大・薬理)
- 9:12 B24. 薬物投与による肝の常在性チトクローム P-450 の減少とその作用機序  
 ○山添 康, 島田美樹, 村山典恵, 加藤隆一  
 (慶応大・医・薬理)
- 9:24 B25. TOCP のラットにおける肝毒性  
 ○真坂敏三, 乾 公正, 白須泰彦  
 (残留農業研)
- 9:36 B26. 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  
 ○渡部浩治, 吉田俊夫, 花田貴宜, 三木寿雄  
 (山之内製薬・開発研・安全性研)
- 9:48 B27. ラット胎仔の器官形成期における黄芩投与試験について  
 ○金 成勲, 金 容華, 韓 相爰, 盧 正久  
 (韓国化学研究所)
- 10:00 B28. GSH低下肝細胞を用いた間充織組み込み型培養法における薬剤の影響  
 ○高木史朗, 鈴木則男, 高山 敏  
 (第一製薬・中央研・安全性研)
- 10:12~11:12  
 佐藤哲男 (千葉大・薬・薬物学)  
 矢ヶ崎修 (大阪府立大・農・家畜薬理)
- 10:12 B29. 毒キノコ水性抽出物および $\alpha$ -アマンチンのラット遊離肝細胞に  
 およぼす影響  
 ○川地晶子, 夏木令子, 曾根知道, 高島英伍, 山浦由郎\*  
 (摂南大・薬・毒性学, \*長野県衛生公害研)
- 10:24 B30. Aflatoxin B<sub>1</sub> のラット遊離肝細胞に対する毒性  
 ○曾根知道, 川地晶子, 夏木令子, 磯部正和, 高島英伍  
 (摂南大・薬・毒性学)
- 10:36 B31. ラット肝前癌病変を指標とした中期発癌検索法による高麗人参抽出物,  
 酸化防止剤, 高脂血症治療剤及び染料の発癌修飾作用の検索  
 ○中村 厚, 山口修司, 務台 衛, 津田洋幸, 今井田克己,  
 伊東信行, 李 榮純\*  
 (名市大・医・一病, \*ソウル大・獣医学科)
- 10:48 B32. ラット肝ミトコンドリアに対するブレドニゾロン $\alpha$ の影響  
 ○岡崎修三, 星谷 達, 堀口浩資, 宮岸昌子, 鈴木武士,  
 沼田弘明  
 (ボソリサーチセンター・御殿場研)
- 11:00 B33. ナトリウム透過性促進薬とウワバイン共存下の攣縮反応および酸素消費  
 ○栗野秀人, 大谷裕也, 西村昌数, 矢ヶ崎修  
 (大阪府立大・農・家畜薬理)

11:12~12:24

遠藤 仁 (東京大・医・薬理)  
山添 康 (慶応大・医・薬理)

- 11:12 B34. 培養腎上皮細胞(NRK-52E)におけるシスプラチンの細胞毒性  
○福石信之, 玄番宗一 (大阪薬大・薬理)
- 11:24 B35. セファロリジンによる腎毒性発現機序:特に酸素ラジカル消去系の酵素の変動について  
○鈴木義裕, 須藤純一 (東日本学園大・薬・毒理)
- 11:36 B36. 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  
(5). アミノグリコシド系抗生物質による脂質代謝異常  
○清宮健一, 松下直子, 川村研治, 暮部 勝 (明治製菓・薬理安全性研)
- 11:48 B37. ラット単離ネフロン分節内ATP代謝回転に及ぼすOchratoxin Aの影響  
○鄭 圭銘, 内田信一, 遠藤 仁 (東京大・医・薬理)
- 12:00 B38. p-Dichlorobenzene(p-DCB)によるラット腎毒性発現の性差に関する研究  
○梅村隆志, 高田幸一, 佐井君江, 河村葉子\*, 内山貞夫\*, 鎌田栄一, 小川幸男, 若菜雅美, 鈴木幸子, 金子豊蔵, 黒川雄二 (国立衛試・安全性生物研・毒性部, \*食品部)
- 12:12 B39. 有機化合物の化学構造とウサギ眼一次刺激性との相関性解析  
○菅井象一郎, 村田共治 (クミアイ化学工業・生物科学研)

## 特別講演

司会：小倉 保己（東北大・歯・薬理）

## 化学物質の安全性確保と代謝・分解研究

宮本 純之（住友化学・宝塚総合研究所）

宮本純之

住友化学工業（株）宝塚総合研究所

医薬品のようないくつかの例を除けば多くの化学物質は環境に放出され、その物理化学的性状に応じて各環境要素に分配されるとともに種々の生物的、非生物的要因によって分解され、また特定の生物に濃縮される。環境内の各要素への分布は化合物の蒸気圧、水溶性、水・オクタノール分配係数（Pow）、土壌への吸脱着性などによって大きく支配されるであろう。またヒトへの到達経路は吸入による直接的経路など以外にはいわゆる食物連鎖経路によるが、これに関与する各生物種（微生物、植物、魚介類、鳥類、反芻動物など）における代謝・分解パターンが同一かどうか十分吟味する必要がある。また一定の大きさ以上のPowを有しかつ代謝を受けにくい化合物では生物濃縮の可能性が高まる。自然環境における分解のうち看過できないのは光分解であって、酸素や自然界に含まれる光増感物質、雰囲気（大気、土壌、水など）如何によって酸化、異性化、転位、脱ハロゲン化など生物には見られない分解経路を辿り、これらが新たに食物連鎖の中に組込まれていくこともある。

このように環境化学物質のヒトに及ぼす影響を考量するにあたっては、環境を経由してヒトに到達する分子種とりわけ毒性を考慮すべきいわゆる活性代謝物の生成とそれらの量とを明らかにしなければならないが、複雑な物理化学的要因と多種類の生物の絡み合いの中でのこのような変化の追求は決して容易ではない。可能な限り簡単な実験系の考究とそこで得られた結論の環境における的確な検証が必要である。コンピュータ等の利用による分子軌道の計算に基づく変化を蒙りやすい構造部分の推定の試みなどもその一環として有

用であろう。いくつかの数量モデルが提案されているが、その精密化には未だ実験データの積み重ねが必要と思われる。

ヒトに対する化学物質の影響は通常実験動物における毒性データの外挿によって推定されるが、その妥当性を保証する前提の一つは吸収、分布、代謝、排泄を含む化合物の体内動態の類似性である。哺乳動物における代謝研究は同位元素の広範な利用と分離同定手法の進歩によってますます精密化しており、少量の短寿命活性体の同定とその分子レベルにおける作用機作が明らかにされつつあるが、毒性発現との関連で重要なのは毒物動力的考慮(toxicokinetics)であろう。量-反応関係は必ずしも直線的でなくある代謝経路の飽和が他の代謝経路による異なった代謝物を与えることはよく知られている。したがってこのような代謝物に起因する毒性はヒトにおける低レベル被曝時の毒性指標となり難い。

実用に供されている化学物質のうちには分子内活性中心の存在からいくつかの異性体が含まれるものもあるが、これらの異性体間に認められる著しい毒性の差がおおのこの体内移行、代謝、レセプターとの相互作用などの相違に帰せられる場合も多い。したがってこのような光学異性体ごとに体内動態と生理作用を解明することが必要となる。

ヒトにおける化学物質の代謝に関する知見は現在のところ偶然的被曝時ないしごく限られたモニタリングによってしか得られないため極めて乏しく、動物における詳細な代謝研究の成果が有効に利用できないでいる。したがってヒトの培養組織や酵素標品による *in vitro* 研究や構造と代謝部位に関する理論的追求の重要性がもっと強調されなければならないが、それにも増して重要なのは十分な動物実験に基づき、よく統御された条件下倫理的観点に慎重に配慮しつつヒトにおける代謝研究を実施することである。これはヒトを無限定的に実験動物化することではなく種差を無視した動物実験結果の外挿に従ってヒトの被曝を認めている現行の安全性評価の欠陥に対する有効な解決策の一つであると考えられるからである。以上



## 教育講演

司会：大森 義仁（慈恵医大・薬理）

## 発癌物質の安全性評価

林 裕 造（国立衛試・安全生物研・病理）

## 発癌物質の安全性評価

林 裕造

国立衛生試験所病理部

### 何故いま発癌物質か？

疾患の原因には内因と外因があり、外因は生物的要因（ウイルス、細菌、寄生虫等）、物理的要因（光、熱、気圧等）及び化学的要因に分けられる。近年、癌の発生原因として、化学物質（発癌物質）の意義が重視されつつあるが、この風潮は下記の科学的根拠による。

根拠の1（疫学的知見）：人癌の大半が環境化学物質への曝露に関連があると推定される。

根拠の2（疫学的知見）：生活習慣、特に食習慣を変えると、発癌率、発癌スペクトラムが変わる。

根拠の3（実験的事実）：人にみられる多彩な癌が化学物質の投与によって動物に誘発される。

根拠の4（実験的事実）：環境中に多数の変異原物質が存在する。

この考えはショックではあるが、見方を変えると、問題となる発癌物質を見出し、それとの接触を避けさえすれば、大半の人癌は予防しうる事を意味している。発癌物質の探索と評価に関する研究が、国際的に大規模に実施されている所以である。

### 発癌物質とは何か？

癌化は体細胞突然変異によるとみなされている。では、発癌物質は細胞の遺伝子を直接変化させて癌化に導く性質を有する物質なのか？確かに、今世紀の中頃までは見出された発癌物質の大半はこの概念に当てはまる。一方、WHO(1968)の定義によると、動物に対し、耐容しうる最大量を生涯の大半に亙って投与する事により、その発癌率を高めたり、発癌時期を早めたりする物質は、すべて発癌物質

に分類される。このような実験で発癌性があるとみなされた物質の中には直接的な遺伝子障害性の認められない物質がかなり多い。更に、投与量と腫瘍発生率との関係を指標として、発癌性の程度を比較してみると、作用の極めて強い発癌物質と極めて弱い発癌物質の間には作用強度に1000万倍もの開きがある。従って、発癌物質は生体内に存在する細胞を癌化させる物質であるとしても、作用機序と作用強度は極めて多様であるという事になる。

#### リスクをいかに評価するか？

安全性評価はリスクが伴はない投与条件を決定する事である。発癌性リスクは問題とする化学物質によって癌が発生するProbabilityを意味し、次の手順で評価される(risk assessment)。先ず、作用機序、代謝等の知見をふまえて、その物質の人に対する発癌性potentialの有無を判断する(hazard identification)。直接的な遺伝子障害を介する発癌物質か否かを見極める事が重要である。次に、用量と発癌率との関係から発癌性の強度を調べる(dose-response assessment)。閾値の推定が望ましいが、現在、実質的に安全とみなされる用量(VSD)の算定が行われる。第三に、その物質の人への曝露量を調査する(exposure assessment)。医薬品や食品添加物等ではこの調査は比較的容易である。最後に上記データを総合して、その物質の人に対するリスクを判定する(risk characterization)。

#### 科学的データをいかに役立てるか？

研究によって得られた知見はそのまま直ちに癌予防に役立つわけではない。癌予防の達成は、生活環境の改善と個人の努力によるライフスタイルの修正が前提となる。従って、リスク評価に関する新しい研究知見を不特定多数の個人、個人集団及び関連行政機関に正しく伝達する事(risk communication)が研究者にとって最も重要な課題である。

## シンポジウム I

司会：池田 正之（東北大・医・衛生）

佐々木健一（東北薬科大・癌研）

### 「許容量」概念の社会への適用

#### S-1-1 労働衛生分野における許容濃度

桜井 治彦（慶応大・医・衛生）

#### S-1-2 大気汚染質の環境基準

吉田 克己（京都工場保健会；前 三重大・医）

#### S-1-3 食品添加物に対する許容量

戸部満寿夫（国立衛試・安全生物研・毒性）

#### S-1-4 農業資材の食品中残留許容濃度

吐山 豊秋（東京農工大）

桜井 治彦

慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室

労働環境は、一般生活環境に比して、人の健康に対しより厳しい負担を与えてきた。従って労働者の健康を保護するための各種曝露限界値は、必要にせまられて、比較的早くから設定され用いられてきた。その過程においては、まず第一に労働環境の改善に対して実効性のある数値であることが求められたといえる。現在、労働衛生上の許容濃度が持っている特徴として (1) 比較的多数の化学物質に対して許容濃度を設定している、(2) 非政府組織である科学者の集団が勧告の主体である、(3) 安全率を系統的には導入せず、許容濃度以下の曝露であっても、作業者の健康のモニタリングを不要とはしていない、などがあげられるが、いずれも、上述の許容濃度の発生過程からみて当然の性格といえよう。閾値の存在は多くの化学物質に対して想定しているが、閾値そのものの定量的な推定はあえて行わず、許容濃度の数値の決定は、実際的かつ半定量的に行ってきたといえる。この際どのような根拠にもとづいて数値が選択されたかを各物質について検討、総括して、許容濃度における閾値概念の意義を考察する。なお、発癌物質については、許容濃度の数値が勧告されているものと、単に発癌物質として表示のみされているものとあるが、これにからむ問題点も閾値概念との関連において考察したい。

吉田 克己

京都工場保健会（前：三重大・医・衛生）

大気汚染質の環境基準は、法手的には中央公害対策審議会で行きまとめが行われることになっている。具体的には、対象汚染質ごとに審議会に設置される専門委員会において具体的な論議が行われ、その設定理由書とも言うべきクライテリア・ドキュメントが各汚染質毎に発行されるのが慣習化するようになってきている。

大気環境基準の設定に当たっては、先づ3つの領域（動物曝露実験、人体負荷実験、疫学研究）での研究レポートが収集され、これらの個別的な評価、全体についての総合的な評価によって具体的な数値にしばり込まれるわけであるが、当然それに当たってのいくつかの問題点がある。基本的な問題として、大気は1日24時間の総てにわたって終生その曝露を受け、人体に取り込まれて大気量は重量で1日13kg以上に達し、外部よりの取り込み量としては、水、食品などのいづれよりも大きく、かつ含有汚染質の大部分はその体内とり込み率（吸収・沈着率）は90%以上に達するので通常であり、又、その対象者は病人、老人、小児等を含んでいると言うことがある。

一方、大量の排出汚染質の完全な除去がかかえている技術的、経済的問題点の制約からくる余裕ないしは安全率の設定の難しさがこの論議をきびしいものに行っていることも事実であり、しばしば社会問題化して来た。

このような諸条件をふまえた上で、上記の3分野における諸知見の集約化に当たっての考え方、例えば疫学的知見の評価、安全性の考え方、高感受性者の問題、生化学知見の評価などの論議点について、日米での事例を含めて報告したい。

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

1957年、国連のFAO/WHO合同食品添加物専門家委員会は、安全性確保の立場から、ヒトにおける食品添加物の許容量として、次式を提示した。

$$ADI = MID \times 1/100$$

ADI (Acceptable Daily Intake for Man)

MID (Maximum Ineffective Dose)

1967年、同委員会はこの最大無影響量に関連して、ヒトの摂取量に外挿するためには有害な影響を生じない最大量を採用すべきではあるが、その影響が有害か否かを知ることの困難さのために、現象の質を度外視することの妥当性を論じている。

この食品添加物評価の基本姿勢は現在もこの委員会や加盟諸国における食品添加物評価の方式として使われているが、この方式が永く採用されている底流には、食品添加物の毒性に一種の閾値概念が想定され、かつそれが一般に容認されているからに外ならない。

Paracelsus(1493-1541)は、全てのもものは毒物である。ただ、量によって毒になったりならなかったりするだけである、としている。この量の正確さを探求することが、われわれの目下の目標であろう。

吐 山 豊 秋

東京農工大・農・家畜薬理

農業資材として用いられる化学物質は農薬と飼料添加物・動物用医薬品であり、何れも残留して非意図的食品添加物になる可能性がある。

### 1. 発癌性のない物質の許容濃度

農薬では毒性試験の結果からADIをもとめ、その値から各作物に許容濃度を割り当てている。飼料添加物・医薬品では実質無残留になるように、休薬期間を設定している。

### 2. 発癌性物質の実質安全濃度

米国の食品医薬品化粧品法には発癌性物質を動物用医薬品・飼料添加物として用いることを許容する規定(DES但し書)がある。この使用では由来食品での無残留が条件になるので、その裏付けを求める施行規則(SOM規則)が必要になるが、その内容をめぐって過去25年にわたる論争が続いている。FDAは87年12月31日に3回目の最終規則を発表したので、その内容を略記する。

1. 発癌性の疑いのある物質は2動物種で長期毒性試験を実施する。
2. 発癌性が認められたら、そのデータから発癌確率が $10^{-6}$ になる飼料中濃度( $S_0$ )を求める。この計算では最も低い推定値の出るモデルを用いる。
3. 牛乳では $S_0$ を、肉・卵では $3 \times S_0$ を許容濃度とする。
4. 対象動物での薬物動態試験の結果から標的残留物・標的臓器を決定する。
5. 残留検出法を確立し、残留性試験の結果から休薬期間を設定する。

SOM規則は次の2つの考え方に立脚している。①発癌性には域値がないとの主張に反論しない。② $10^{-6}$ という確率は社会的同意の得られるレベルである。



## シンポジウム II

司会：渡辺 民朗（東北大・抗研・癌化学）

鈴木 康男（東北大・薬・薬剤）

### バイオテクノロジーと毒科学の接点

S-II-1 遺伝子工学の現状と将来

帯刀 益夫（東北大・抗研・細胞生物）

S-II-2 哺乳類の発生工学

菅原 七郎（東北大・農・畜産）

S-II-3 トランスジェニックマウスによる生体機能の解析

勝木 元也（東海大・医・実中研）

S-II-4 毒物代謝における蛋白質工学

今井 嘉郎（阪大・蛋白研）

S-II-5 細胞工学による医薬品開発

小林 茂保（バイオマテリアル研）

帯月益夫

東北大学 抗酸菌病研究所 細胞生物

遺伝子工学的手法の発展は、それまで有効な解析手段が無かったヒトを始めとする高等生物の遺伝子の構造を直接明らかにする上で、飛躍的な貢献をした。この手法は、目的とする遺伝子をクローニングし、その構造を解析するだけでなく、動物が産生するホルモンをはじめとする微量有効成分（ペプチド、タンパク質）を、大腸菌、酵母など微生物を宿主として工業的に大量生産できる道を拓いた。最近では、動植物個体へ遺伝子を移植し、物質生産を行う研究も盛んにおこなわれている。

また、この手法により、癌遺伝子の働きや、先天性代謝病の病因となる遺伝子の働きが明らかになりつつある。そしてヒトの遺伝子疾患の診断、「DNA指紋」と呼ばれる個人識別などに利用され、さらには、幹細胞や体細胞に遺伝子移植することにより、遺伝病の治療を目指すなど、ヒトに関わる操作としての方向性も出てきており、臨床医学の面からも重要な手法となってきている。

このように、遺伝子工学研究は、当初予想された以上の広がりをもって発展しつつあるが、その現状と将来について、具体的事例を含めて紹介したい。

菅原 七郎

東北大学農学部家畜繁殖学教室

発生工学の手法による『生命科学』の研究は急速なテンポで発展し、画期的な成果をあげている。現在、ニューバイオテクノロジーとして各研究分野で利用され始めている。

ここでは哺乳類の発生工学に関し、まず、その概念、研究領域と研究手法について関連科学との比較で概説し、次いで畜産領域における応用例、および将来の展望について述べる。

I 発生工学とその手法

発生工学は、両性配偶子、または初期胚を人為的に種々実験操作を施して、個体、系統発生での遺伝子操作を目的としたもので、その技術の開発、応用化とそれに関連した事象を研究する分野である。

発生工学の手法は幾つかの技術を組合せた複合技術の上に成立し、その操作手順から3つの基本技術（配偶子の操作法、操作胚の培養法、操作胚の移植法）と関連技術（多排卵処理、性周期の同期化法、導入遺伝子の生産）に分けられる。

II 畜産領域における応用

畜産領域における発生工学の応用は1974年代から家畜受精卵子移植の応用化と共に行なわれ始めた。例えば、①卵子の割断による双子生産、②性の支配、③キメラ個体の生産、④クローン個体の生産などが牛、ヒツジ、ブタなどで行なわれている。

III 生命科学研究への応用と将来

発生工学的手法による発生機構の解明、特に遺伝子の発現や疾患モデル動物の作出とその利用による医学、畜産領域での遺伝病の解明とその治療法の開発や研究目的、産業的に必要とする個体、系統の作出に応用できる。

勝木 元也

東海大学・医学部・DNA生物学／実験動物中央研究所

バイオテクノロジーの進歩によって、数々の遺伝子がクローン化され、生体の機能が、DNAレベルで解析されてきた。遺伝子の構造や、cDNAの塩基配列から、遺伝子発現の調節機構やタンパク質の一次構造が推定され、生物学に新しい進展をもたらした。しかし、ヒト遺伝子DNAの全塩基配列が現実の研究課題として解明されようとする現在にあっても、生体での機能を解明するためには適当な測定系を必要としている。その測定系の1つは、培養細胞や初代培養細胞へのDNAの導入による細胞の活性を測定する方法である。この場合は、体外にとり出された細胞は取り扱い易いが、正常の染色体数や、本来の生体での性質を失っている場合が多く、且つ個体にまで発生することはない。したがって、測定系としての限界が狭い範囲となる。第2の測定系として、授精卵へのDNA導入がある。マウス授精卵の前核期の雄性前核に、ガラスの微小ピペットでDNAを注入すると、染色体の一部に組み込まれ、外来遺伝子を導入されたマウス個体（トランスジェニックマウス）が得られる。このマウスは導入遺伝子を子孫へメンデルの法則にしたがって伝達するから、導入した遺伝子の生体での機能を、個体発生、成長および老化を通して測定できることになる。その実例をがん遺伝子、リンフォカイン、神経系の蛋白質にとって報告する。

今井嘉郎

阪大・蛋白研・生理機能

薬剤、発癌性化学物質、環境汚染物質などが生体内で解毒・代謝的活性化を受ける上でチトクロムP-450を含む酸素添加酵素系による反応は重要な位置を占めている。P-450は肝ミクロソーム膜に結合しているためその研究は1960年代にはミクロソーム・レベルを出なかったが、1970年代には可溶化、精製が成功し、蛋白レベルに進み、1980年代になるとcDNAや遺伝子のクローニングが行われ、現在までに70種を越すP-450の一次構造が決定相互比較され、機能部位の推測が試みられている。また、薬物誘導の機構に関わる遺伝子発現調節領域の解析も行われている。さらに、最近、cDNAを発現ベクターにつなぎ酵母や培養細胞でP-450を合成できるようになり異種P-450間のキメラや人工的 point mutation を利用して機能領域の解析が進み始めた。今後は基質特異性の改変なども試みられるであろう。現況の具体例としてP-450( $\omega$ -1)に関するわれわれの研究を挙げる。P-450( $\omega$ -1)とP-450(16 $\alpha$ )とは一次構造上約80%の相同性を持つが基質特異性は全く異なる。両者とそのキメラ数種を形質転換させた酵母で合成、精製して性質を調べた。P-450( $\omega$ -1)、P-450(16 $\alpha$ )間のアミノ酸置換は約半数が三つの領域に集中しているがその内分子の中程にあるものが基質の結合に必須である。しかし水酸化活性にはN末端に近いもう一つの領域も必要であった。C末端近くの置換に富む部分は活性にはあまり影響しない。一方分子の中央部よりやや後にありほとんどのP-450で保存されている特定の残基が基質の結合に重要な役割を果たしていることが point mutation によるアミノ酸置換から判った。

## 細胞工学による医薬品開発

—ヒト $\beta$ 型インターフェロンを例にして—

小林 茂保

バイオマテリアル研究所

約30年前に、抗ウィルス物質として発見されたインターフェロン（IFN）が、現在では、抗腫瘍作用や各種の免疫調節作用などをも持ち合わせていることが知られ、各種ウィルス病や悪性腫瘍の治療薬として脚光を浴びるに至っている。

現時点では、大別して、三種類のヒトIFNが知られており、それぞれ、 $\alpha$ 型、 $\beta$ 型、 $\gamma$ 型と呼ばれている。ヒト細胞が作り出すIFNは天然型と呼ばれ、遺伝子組換え技術によってヒトIFN遺伝子が挿入された微生物などが作り出すIFNは組換え型と呼ばれており、この新技術によってヒトIFNの量産は三種類とも極めて容易となった。事実、天然型IFNと同様に、これら組換え型IFNも医薬品としての開発が活発に行われている。

演者らは、十数年以前から、ヒト正常二倍体細胞（線維芽細胞）が産生する天然型の $\beta$ 型IFNの開発に取り組んできた。本シンポジウムでは、演者らの行ってきたIFNの開発経過を、産生細胞の育成、大量培養システムの開発、高力価IFNの産生条件の確立、分離・精製を含むIFN量産化技術の開発、臨床応用化への道程、そして最後に、将来への展望、という順で述べさせていただき、与えられた課題を終えたい。

一般演題

A会場

A01-A22: 8月4日(木)

A23-A39: 8月5日(金)

○笠巻 明子、 浦沢 正三

札幌医科大学衛生学教室

我々は先に、食品添加物 allylisothiocyanate (AI) と aspartame (AS) が *in vitro* における人正常二倍体細胞 HAIN-55 の細胞寿命を著しく短縮し、その過程で細胞老化の指標である細胞飽和密度 (SD) およびコロニー形成率 (PE) の低下と易熱性のグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PDH) 分画の増大を誘起することを観察した。変異原性を示さない AS が著しい細胞老化、特に G6PDH 活性に影響をおよぼす原因として、AS のアミノ酸 analogue としての作用が考えられることから、植物性食品成分である non-protein amino acids による細胞老化、特に G6PDH 活性におよぼす影響を中心に検討を行なった。

HAIN-55 (CPDs 21,32)細胞を用い、その対数増殖期に AI、AS、2-aminoisobutylic acid (AIB) および canavanine (CV)の至適濃度一回あるいは低濃度頻回処理を行なった細胞について検討を行なった結果、AS、AIB による低濃度頻回処理細胞においては、処理開始時の CPDs 数に関係なく、処理後23 - 25 CPDs を経た後に細胞変性に至り、これに先行して SD、PEの低下および易熱性 G6PDH 分画の増大が観察された。また易熱性分画の増大に伴い基質特異性の変化 (2-deoxyglucose-6-phosphate) との反応性が認められ、アミノ酸 analogue の取り込みによる酵素蛋白の異常による可能性を示唆する結果を得た。なお G6PDH遺伝子座が存在する X 染色体長腕末端部の異常については high-resolution Giemsa banding method による解析により検討を行なっている。



白石則之、青野要

岡山大学、医学部、放射線医学

序論：ZnやCuあるいはCdを多量に結合した蛋白として知られているメタロチオネイン (MT) は重金属、ステロイドホルモン、インターロイキン 1、インターフェロン等の他に多くの生理的、あるいは物理的刺激により誘導合成されることが知られている。我々はX線全身照射によりこの蛋白が肝臓や腎臓で増加することについて報告してきたが(1,2)、その誘導機構や生理学的役割については依然不明の点が多い。X線照射によるMTの増加の機構を明らかにするためMT-mRNAレベルの変動に注目し実験を行い若干の結果を得たので報告する。方法：材料としてはWistar系雄ラットを用いた。X線の全身照射を行い経時的に屠殺し肝臓と腎臓を摘出した。組織からのRNAの調製はChirgwinら(3)のGITを用いる方法で行った。組織をGIT溶液中で破碎後、塩化セシウム密度勾配遠心法によりRNAを単離した。Poly(A)<sup>+</sup>RNAの調製はWreschner & Herzberg (4)のmessenger affinity paper(mAP)を用いる方法で行った。これらの全RNAあるいはPoly(A)<sup>+</sup>RNAを試料としてRNAプローブを用いてノーザンブロット法により分析した。RNAプローブはヒトMT-II<sub>A</sub> DNA断片(5)(Karin & Richards)をPAM19ベクターに挿入しSP6RNAポリメラーゼにより作製した。

結果と考察：肝臓のmRNAレベルは20Gy照射18,48,72時間後対照群に比較して顕著に増加していた。腎臓のmRNAレベルは20Gy照射18,48時間後では対照群に比較して僅かに増加しているだけであったが、72時間後は顕著に増加していた。これらの結果からX線照射による肝臓、腎臓でのMTの増加にはmRNAの増加を伴うことが、また肝臓と腎臓ではその変動に時間的な違いがあることが明らかになった。

文献：(1)Shiraishi et al.,(1983) Radiat. Res. 95, 298.

(2)Shiraishi et al.,(1986) Toxicol. Appl. Pharmacol. 85,

128. (3)Chirgwin et al.,(1979) Biochemistry 18, 5294. (4)

Wreschner & Herzberg (1984) Nucleic Acids Res. 12, 1349. (5)

Karin & Richards (1982) Nucleic Acids Res. 10, 3165.

前田好正、松本一彦、小林洋四郎、山本宏

東洋醸造(株)リサーチセンター-安全性研究所

生体内成分を用いた毒性診断を目的とする検査は、血中や尿中の主な成分において既に行なわれているが、まだ測定法が確立されず、検査に利用されていない成分も少なくない。胆汁酸は脂質ならびに脂溶性ビタミンなどの消化吸収を助ける重要な生体成分であるが、肝胆道疾患において本来閉鎖的である腸管循環を逸脱し、血中や尿中で増加する。しかし測定法の煩雑さから十分検査に利用されているとはいえない。そこで我々は動物を用いた胆汁酸による毒性診断の検討を目的とし、イヌ、ラット、マウスにおける胆汁酸組成をHPLCを用いて比較検討した。Bile pak II (JASCO)column を用い各胆汁酸を分離した後、固定化酵素  $3\alpha$ -HSD(JASCO)column による基質  $\beta$ -NADと胆汁酸の反応から生じた  $\beta$ -NADH<sup>+</sup>の蛍光強度を測定し、各胆汁酸の組成を求めた。特にイヌでは解剖時に胆のうから胆汁を多量に、また容易に採取できるため、胆汁酸動態の検討には適しているといえよう。イヌではヒトと異なる胆汁酸は見られなかったが、ラット、マウスではヒトには存在しないムリコール酸が見られた。したがって臨床使用を目的とした薬剤の毒性スクリーニング実験にはイヌの方が適当であった。しかしイヌ胆汁中胆汁酸組成はCDCAが70%を占め、CDCAとCAがほぼ同率で存在するヒトとは異なった結果が得られた。また抱合形態においてもイヌではタウリン抱合型が99%を占めてグリシン抱合型の多いヒト胆汁酸組成とは異なった値を示した。なお、イヌ、ラットにおける薬物障害モデルを作成し、その胆汁酸動態を検討した結果を併せて報告する。

A 04 初代培養肝細胞における薬物代謝酵素系の変動に対する  
メチラボンの効果

○広田晃一，川西徹，籾内桃子，大野泰雄，高仲正，  
加藤隆一<sup>1)</sup>

国立衛生試験所・安全生物研・薬理，<sup>1)</sup>慶大・医・薬理

〔目的〕初代培養肝細胞では一般的に薬物代謝活性やチトクローム P450 含量の急激な低下を生じることが報告されている。従って培養肝細胞を用いて化学物質等の毒性的影響を検討する場合には，培養時におけるその挙動を予め十分に検討しておく必要がある。今回演者らは，培養肝細胞におけるいくつかの薬物代謝酵素活性及び P450 分子種の変動と，それらに対するメチラボン等薬物の影響について検討した。

〔方法〕S/D 系雄性ラットから調製した肝細胞を用い，10%胎仔血清を添加した Williams'E 培地で培養を行った。薬物代謝活性は benzo(a)pyrene (BP)，estradiol (ED) の水酸化，methoxycoumarine (MC)，ethoxycoumarine (EC)，propoxycoumarine (PC) の O-脱アルキル化，及び aminopyrine (AP) の N-脱メチル化を測定した。また P450 分子種の変動はウェスタン・ブロットを用いて免疫学的に調べた。

〔結果〕蛋白含量，薬物代謝活性は共に経時的な低下傾向が見られた。しかしメチラボン添加により明らかに BP 水酸化及び EC, PC の O-脱アルキル化活性の良好な維持・増加が観察され，同時にメチルコラントレンで誘導されるタイプの P450 分子種の誘導が観察された。一方 MC の O-脱アルキル化，ED 水酸化，及び AP の N-脱メチル化活性に対しては著明な効果は観察されず，またフェノバルビタールで誘導されるタイプの P450 分子種の誘導は観察されなかった。以上の結果からメチラボンは薬物代謝酵素の低下を抑制する効果があるが，全ての酵素活性に対してではなくまた P450 分子種の構成も *in vivo* とはかなり変化することが示唆された。

○小島 隆, 宮田 昌明, 谷上 真寿美, 佐藤 優子  
田村 茂, 武知 雅人, 吉川 邦衛

三菱化成株式会社 安全性研究所

薬物の毒性試験において肝細胞の腫大がよくみられる。そして電顕的には滑面小胞体の増生としてみられる場合がある。これらの変化は、一般的に薬物代謝酵素誘導に伴う変化と考えられ、ミクロゾーム中の薬物代謝酵素であるチトクローム P-450 含量の上昇としてとらえてきた。今回、我々はその変化を病理学的に把握する手段として、抗ラットチトクローム P-450 b 抗体（以下 P-450 b 抗体）を用いフェノバルビタールを始めとする各種の薬剤投与後の肝臓のパラフィン切片で検討した。またフェノバルビタールや他の薬剤を連続投与することで出現する Finger-print についても同様の抗体で検討した。

<方法> 成熟ラットにフェノバルビタール、アミトリプチリン、イミプラミン、クロルプロマジン、スピロラクトン、 $\beta$ -ナフトフラボンを各々投与し屠殺した。またフェノバルビタールにおいてはビーグル犬および成熟マウスにも投与し屠殺した。摘出した肝臓は通常のパラフィン切片作製後、P-450 b 抗体で免疫組織化学的に検索した。また一部の薬剤についてはミクロゾーム中の P-450 含量を測定した。

<結果> パラフィン切片上、P-450 b 抗体は、正常肝においてはいずれの動物においても反応は観察されなかった。フェノバルビタールを投与した肝臓においてはラット、マウスのものが反応した。さらに各種薬剤を投与した肝臓においてはアミトリプチリン、イミプラミン、クロルプロマジンに著明な反応が示された。Finger-print についてはパラフィン切片において反応は認められていないが、現在免疫電顕的検査を実施している。

A06 肝毒物 Allyl Formate 投与による複数 Monoamine Oxidase の逸脱

○小畑 俊男, 江頭 亨, 山中 康光

大分医大, 薬理

肝毒物により肝細胞壊死が起り組織学的にも異常がみられ血漿中へ GOT や GPT など多数の酵素が逸脱することはよく知られている。前回の第14回日本毒科学会学術年会において我々はWistar系ラットに四塩化炭素およびAllyl Formate を投与すると血漿中へ Monoamine Oxidase (MAO) が選択的に逸脱することを報告した。今回、その中で血漿中へのMAOの逸脱が顕著であった肝小葉末梢性壊死をもたらすAllyl Formate についてさらに詳細な検討を行った。この血漿中の逸脱MAOは、特異的MAO阻害剤では完全に阻害されなかったが、低濃度の、semicarbazide およびphenelzineで阻害されたことより数種MAOの存在が示唆された。この血漿中のMAOのBz基質のKm値は $2.7 \mu\text{M}$  および  $60 \mu\text{M}$  で2つのKm値が得られた。一方Allyl Formate 投与ラットの肝臓ミトコンドリアとマイクロソームおよびその上清について検討したところKm値はすべて $60 \mu\text{M}$ のみで血漿の場合とは異なった。次に血漿サンプルを硫酸分画を行い濃縮精製しSepharose 6Bによりゲル濾過を行った。各フラクションを $10 \mu\text{M}$   $\beta$ -PEAおよび $1 \mu\text{M}$  Bzを基質として活性を測定したところ異なった2つのピークが得られた。またMAOの阻害剤で前処置した後 $10 \mu\text{M}$   $\beta$ -PEAで活性を測定したところ新たなピークが現れた。以上の実験結果によりAllyl Formate 投与により肝臓およびそれ以外の臓器から少なくとも3種のアミン酸化酵素が同時に血漿中に逸脱されるものと思われる。

野村 護、○神藤 敏正、手嶋 典子、高橋 裕詞

第一製薬株式会社 中央研究所 安全性研究センター

毒性試験領域における被験物質投与の際に用いられる媒体として、セルコース系などの溶媒、界面活性剤などの乳化剤が一般的に使用されており、これらの媒体の実験動物に対する影響については古くから研究が行われている。一方、厚生省から医薬品のための毒性試験法ガイドラインが制定され、『対照群として媒体のみを与える群と、無処置対照群を置くことが望ましい』とされている。しかし、最近の毒性試験の考え方では世界的に不要な動物実験を極力減少させる方向にある。

これらの背景を考え、現在常用されている各種溶媒を用いて4週間亜急性毒性を無処置対照群と比較検討した。実験には6週令のSlc:SD系ラットを1群10匹使用し、無処置対照群、生理食塩液静注群(生食)、および1%メチルセルコース(MC)、0.5%カルボキシメチルセルコース(CMC)、0.2%Tween 80、オリーブ油(Oil)の経口投与群を設定した。検査はガイドラインに記載されている検査項目に加えて、体温、網膜電図、心電図、血圧を測定した。その結果、一般観察では、体重増加抑制が生食群に、飼料効率の増加がOil群にみられた。臨床検査では生食群にERGのa波潜時の短縮、軽度の貧血、A/G比低下が、Oil群にECGのQRS時間短縮、GOT、GPT、UNの低値が認められた以外対照群と顕著な差を認めなかった。病理学的検査では生食群に脾重量の増加が、Oil群に胸腺重量の増加と肝細胞の脂肪滴増加がみられた。

以上のように、各種溶媒投与時の毒性試験パラメータに対する影響は、静脈内投与あるいはオリーブ油などの乳化剤の経口投与によって出現するが、最近の新しい科学的評価による検査においても無処置対照群との間に有意な変動が少ないことが判明した。したがって、未知の媒体を使用するような場合以外には無処置対照群を特に設ける必要はなく溶媒対照のみで十分に評価できると結論された。

## A08 生殖毒性試験における至適交配時間の検討

渡辺敏明、遠藤 晃

山形大学医学部衛生学教室

ゲッ歯動物を用いた生殖毒性試験において、通常の雌雄一晚交配では受精のタイミングが個体間で10時間以上も異なる場合のあることが考えられる。そこで、交配時間の違いが胎子の発育や分化のばらつき（分散）にどのような影響を及ぼすか検討した。

使用した動物はICR系成熟雌マウスで、雄マウスと短時間（早朝2時間）、長時間（一晚）あるいは連続（昼夜）交配によって妊娠動物を得た。受精栓確認日正午を妊娠0.5日とし、妊娠中期（12.0日）あるいは出産直前（17.5日）に開腹した。胎子体重（12.0日および17.5日）および分化状態の指標として指放線間隙数（12.0日）を検索し、これらを母獣間、母獣内および雌雄間で比較検討した。

妊娠12.0日開腹および17.5日開腹ともに、母獣ごとにみた胎子体重の分散は、長時間あるいは連続交配群に比べ、短時間交配群で小さい傾向にあった。また、12.0日開腹では、母獣内分散も雌胎子で長時間交配群（変異係数=10.1%）に比べ、短時間交配群（7.5%）で有意に小さかった。なお、いずれの交配群とも、ほとんどすべての母獣で雄胎子の平均体重が雌胎子より上回っており、指芽の分化も雄胎子でより進行していた。これらの結果は、ゲッ歯動物を用いて生殖毒性試験を行う場合、形態形成の臨界期を均一にし、かつ検定の感度を上げるためには、短時間交配で雌雄別にデータを分析する必要があることを示唆する。

A09 生殖毒性試験の代替法に関する研究（第二報）  
ラット全胚培養の培養液についての検討

○秋田 正治，横山 篤，江藤 一洋

東京医科歯科大学・歯・顎研 研究生

（目的）我々は、前回の第14回日本毒科学会において食用のPigの血清を用いた全胚培養法を発表し、生殖毒性試験における実験動物の過剰の消費を抑えられることを示唆した。しかし、Pig血清のみでの条件でラット胎子を正常な状態で培養することは不可能であった。ラットの胎子を培養するには、やはりラット血清が最適であることは当研究室およびその他の報告により明かである。そこで今回我々は、一度採取したラットの血清をフィルターを利用して再生（蘇生）させて、再度全胚培養に用いる方法を試みた。

（方法）ラット胎子を胎齢11日より48時間培養した培養液を、0.8および0.45μmのポアサイズのフィルターにとおしたものを1回再生血清（1 Filtrated serum: 1FSと略す）、更にもう一度同条件で培養した後再生した血清を2回再生血清（2FS）とし、対照群の培養液にはin vivoより採取したての新鮮なラット血清（Fresh rat serum: FRSと略す）を用いてそれぞれ培養を行った。

（結果）胎子の生理指標である卵黄嚢の血液循環は、FRS群に対して1FS群は差がなかったが2FS群は培養24時間で低下した。また、胎子成長指標としての胎子総蛋白量と頂殿長についても2FS群のみ有意に低下した。組織分化の指標としての胎子総体節数は1FS群は若干の減少を示したが胎子の異常は低く、一方2FS群は体節数は約30%の減少を示し、かつ催奇形率は100%であった。以上の結果から、フィルター処理により老廃物を取り除く操作のみで、消費されたと考えられる栄養物の供給のない2FSを使用するの胎子の培養は不可能であり、また長期間培養すると1FS群の胎子の成長にもバラツキがあることから、48時間培養に限定して代替が可能であると考えられた。



A10 毒性試験における経時的超音波診断に関する検討  
—四塩化炭素慢性肝障害犬における肝臓の超音波診断—

○山本恭之、豊岡正好、中綿 豊、林 克好、樋口高裕\*

三菱化成工業(株) 総合研究所 安全性研究所  
\* 現 (株)津村順天堂 津村薬理研究所

医薬品等の一般毒性試験において、毒性を早期にかつ適確に把握するためには、一般臨床検査(血液・尿検査等)や機能検査(心電図・血圧検査等)だけでなく、病理形態検査をも経時的に実施することが望ましい。今回、我々は四塩化炭素による肝障害犬を作製し、非侵襲的かつ経時的病理形態検査の一手段として超音波診断を試み、穿刺生検による病理組織学的所見との比較検討を、肝臓について行った。

〔方法〕 7～8ヵ月齢のビーグル犬に3ヵ月間にわたり四塩化炭素(in olive oil)を週3回経口投与し、毎月1回血液学・血液生化学検査を実施するとともに、肝の超音波診断および肝穿刺生検による病理組織学的検査を行った。

〔結果および考察〕 血液学・血液生化学検査では投与1ヵ月より血中GOT、GPT活性の著高、血中ビリルビンの漸増等が見られ、投与2ヵ月以降黄疸や腹壁静脈怒張といった肝障害による症状を呈する例も認められた。肝穿刺生検では投与1ヵ月から慢性肝細胞脂肪変性、壊死および線維化が認められ、これらの病変は投与を重ねるとともに進行した。超音波診断では、投与1ヵ月から慢性にエコーレベルの上昇が観察され、黄疸や腹壁静脈怒張を呈した重症例では肝実質内部構造の不明瞭、表面不整および実質小結節様構造も認められた。以上、超音波診断では軽微な病理組織学的変化については捉えることはできなかったが、穿刺生検による病理組織変化とほぼ平行した大略な経時変化は把握可能であった。

松本悦嗣 矢本 敬 五十嵐功 高岡雅哉 柳井徳磨

真鍋 淳 増田 裕

三共株式会社安全性研究所

Fischer 344ラットを用いた長期投与試験で 32週齢以降肝臓に泡沫様細胞（以下、肝泡沫様細胞）の出現を認めた。肺にみられる泡沫細胞については SD 系ラットや Fischer 344ラットで既に報告されているが、自然発生性の肝泡沫様細胞については報告がない。そこで今回、肝泡沫様細胞について形態的特徴と加齢に伴う出現頻度の変化について検索したので報告する。

Fischer 344 ラットを 4週齢で購入し 6週齢あるいは 7週齢で安全性試験に供した。顕微鏡観察には 13, 26, 52, および 78 週間投与試験（それぞれ 20, 32, 58, 84週齢）の対照群雌雄各 10匹を用い H-E 染色を施した。そして、H-E標本上でグリソン氏鞘と類洞内の肝泡沫様細胞の出現頻度と大きさを求めた。58週齢の雌 3例については ズダンⅢ、ベルリン青、アルシアン青、PASの特殊染色を施した。顕微鏡観察には40週齢の雄 2例を用いた。

肝泡沫様細胞は加齢に伴い出現頻度と細胞の平均面積値が増加し、雌の方が出現頻度、面積値の両者で高い値を示した。グリソン氏鞘内と類洞内の出現頻度を比較するとグリソン氏鞘内の方が高かった。特殊染色ではズダンⅢが陽性、ベルリン青が陰性あるいは弱陽性、アルシアン青が陰性、PASが陽性を示した。顕微鏡観察では二次水解小体内にコレステリンと思われる均質無構造な針状結晶を含んでいた。

以上の結果から肝泡沫様細胞は異物貪食能を有するマクロファージ系細胞がコレステロールを主とする種々の脂質を貪食しこれらを水解小体内に貯留した結果生じ加齢と共に増加するものと思われる。

A12      フッ化ピリミジン系薬物の下痢誘発作用の  
機序とその評価

○堀井郁夫、柴原明彦、渡辺満利、宇高奎二

日本ロシュ研究所 毒性病理部

フッ化ピリミジン系抗悪性腫瘍剤投薬により造血系障害、免疫系障害などの毒作用が誘発されるが、ヒトではこれらの毒作用の他に下痢誘発作用が認められている。今回、種々実験動物を用い、フッ化ピリミジン系薬物の2週間経口投与毒性試験を実施し、一般的毒作用を検討するとともに、下痢誘発作用を中心にその機序および評価法について検討したのでその結果を報告する。

〔材料および方法〕実験動物はマウス(ICR, BDF1)、ラット(SD)、イヌ(ビーグル)、サル(カニクイザル)を用いた。フッ化ピリミジン系薬物の投与量は、臨床用量の2～20倍の間の用量を設定し、2～4週間連続経口投与した。投与期間中、軟便・下痢誘発作用を中心に一般症状、便性状、体重・摂餌状態を観察し、投薬終了時には血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を実施するとともに剖検、病理組織学的検索に供した。

〔結果〕マウス、ラット、イヌでは著明な下痢誘発作用は再現されず、造血系障害などが認められたのみであった。サルでは、嘔吐、体重減少、摂餌抑制、白血球減少が認められるとともに、強度の下痢誘発作用がみられた。病理組織学的検索では下痢誘発例の腸管に粘膜萎縮と当該部位での上皮再生像が多くみられ、一部は炎症性細胞浸潤が認められた。これらの変化は小腸より大腸に強くみられた。

このようなフッ化ピリミジン系薬物による下痢誘発作用はサルでよく再現されるが、その作用は小腸での二糖類分解酵素の阻害を介した消化不良と大腸における水とNa等の吸収障害によると想定された。

○菅原 正喜, 赤羽 浩一, 加藤・道幸

第一製薬 中央研究所

MDP-Lys(L18)は末梢白血球増多作用を示すMuramyl dipeptide (MDP) 誘導体の一つである。MDP はアジュバント活性を持つ細菌細胞壁成分ペプチドグリカンの最小活性単位であり、ラットにおいてFreund's complete adjuvant(FCA) 型の関節炎を惹起することが報告されている。今回我々はMDP-Lys(L18)の皮下投与によりラットに関節炎を誘発させ毒性学的に検討した結果、以下の成績を得た。

MDP-Lys(L18)はFCA と異なり単回投与では一過性に足関節の軽度の腫脹を起こすのみであった。しかし、2mg/kg以上を皮下に連続投与することにより、約10日後から足関節の腫脹がみられた。なお他の関節には明らかな腫脹は認められず、多発性関節炎を伴うFCAとは発症様式が異なっていた。また投与期間中体重増加の抑制、肝重量の減少がみられた。血清生化学的検査では、A/G 比およびトリグリセライドの減少がみられた。さらに投与開始直後からフィブリノーゲン量の増加と血沈の亢進がみられ急性炎症が惹起されていることが示唆された。次いで関節炎の発症機序を検討するために、炎症担当細胞の一つであるマクロファージをラット腹腔より採取し、MDP-Lys(L18)を添加して培養した。その結果培養上清中にはIL-1様活性が認められた。

以上の成績から、MDP-Lys(L18)はMDP と同様にラット足関節に関節炎を惹起させることが示された。その発現には連続投与が必要であり、FCA とは異なっていた。従って、薬剤が血中あるいは関節局所に持続的に存在することにより、滑膜でのIL-1等の産生が亢進して関節炎が惹起されるものと推察された。

## A 14 BALB/cマウスにおける15-deoxyspergualinの亜急性毒性

### : 1. 血液学的検討

○真崎義彦、井上慶一、鎌田貢寿、大久保充人、平美也子、原理恵子

北里大学医学部実験動物、内科、総合臨床

15-deoxyspergualin(dsp) の効果について、われわれはNewZealand Black/White F1マウスを用いて、dsp のもつ強い免疫抑制効果を確認し、またマウス甲状腺移植で、dsp による移植片生着延長を認めた。しかし、マウスにおける亜急性毒性については報告がないので、今回BALB/cマウスを用いて検討した。「方法」：生後6週令のメスBALB/cマウスにPBS, dsp 0.5 mg/kg, 2.5mg または5mg を週6日間皮下投与し、2-3ヶ月間続けた。その間、臨床観察と2週間に一度の体重測定を施行し、試験開始後2ヶ月と3ヶ月で屠殺して、血液を採取した。白血球数、赤血球数Ht, Hb, 血小板数をオートアナライザーで、白血球分画をギムザ染色標本で算定した。「結果」：体重に対する各doseのdspの影響を検討した。

投与開始時の体重は各群約18gでさを認めなかった。dsp 0.5mg 群は全観察時間を通じて対照と差がなかった。一方、2.5mg 群の投与開始後4週と8週で対照に比較し有意の体重減少を認めた。5mg 群では2-5週で進行性体重減少を呈したため、実験開始後6週で屠殺した。血液学的データについては、0.5mg 群では開始後第57日で軽度の白血球減少を認めた以外は、対照と差がなかった。2.5mg 群では第57日と第93日でいずれも有意の白血球減少を認め、第57日では軽度血小板増多も認められた。赤血球系については、対照に比べ差を認めなかった。5mg 群では、白血球減少と貧血が明らかで、血小板増多も著明であった。白血球百分率にかんしては、dsp 投与により、対照に比べ一定の変化は認められなかった。好中球/リンパ球比に変化なく、選択的な顆粒球減少は認められなかった。

A 15 BALB/cマウスにおける15-deoxyspergualinの亜急性毒性  
: 2. 病理組織学的検討

○井上慶一、鎌田貢寿、大久保充人、真崎義彦、原理恵子、張恵銘

北里大学医学部内科、実験動物、総合臨床、病理

15-deoxyspergualin (dsp) には明らかな免疫抑制効果が認められるが、ヒトにおける臨床応用を考えると、副作用の有無と安全性について十分な検討がなされていなければならない。今回は、マウスにおけるdspの亜急性毒性にかんして、病理組織学的に検討した。〔方法〕: 6週令BALB/cマウスを用いて、第1報で述べた方法に従い、dsp 0.5-5mgを投与し、対照群、0.5mg群、2.5mgは実験開始後、第57日と第93日で屠殺、5mg群は第23日と第38日で屠殺した。直ちに、心、肺、肝、脾、腎、腸管および胸骨を摘出した。各臓器の重量を測定後、組織を一部10%中性ホルマリン液で固定し、HEおよびPAS染色後、光学顕微鏡的に検索した。〔結果〕: 臓器重量に及ぼすdspの影響について、0.5mg-5mg投与は、心、肺、肝、腎重量に有意の変化を与えなかった。一方、脾重量は0.5mg群第57日と2.5mg群第93日で軽度減少、5mg第23日と第38日で明らかな減少を呈した。病理組織像についても、dsp 0.5-5mg投与は、心、肺、肝および腎に著明な変化を来たさなかった。それに対して5mg群脾では、対象群に比べ、脾小体の萎縮、赤色髄における細胞数減少、間質線維化が認められた。5mg群骨髄では細胞数減少や静脈洞の拡張が目立った。また、腸管の変化はdsp 0.5-5mg投与で用量依存性にその程度が強くなり、主な変化として、粘膜表層細胞の変性や脱落、および炎症性細胞浸潤などが認められた。さらに5mg群の一部に偽膜形成を認めた。

病理組織学的変化が、脾、腸管、骨髄などのリンパ、造血臓器に限局しているのはその免疫抑制作用と密接な関連が想定された。

杉山 奈緒美、川音 晴夫、暮部 勝

明治製菓株式会社 薬理安全性研究所

制癌剤は重篤な毒性の一つとして造血器障害を惹起し、白血球数を顕著に減少することが一般によく知られている。今回は adriamycin (ADM) 及び cisplatin (CDDP) のリンパ球機能に対する影響を二、三検討したので報告する。

1) ラットに ADM 及び CDDP を投与し、末梢血リンパ球を採取してリンパ球の PHA 及び LPS による幼若化反応を測定したところ、血中リンパ球数を抑制しない用量でも T cell 及び B cell の幼若化反応を抑制した。また、その時のラット血漿中濃度以下の *in vitro* 濃度で ADM 及び CDDP を培養リンパ球に添加したところ PHA 及び LPS による幼若化反応を抑制した。このような結果から *in vivo* 投与の影響は *in vitro* でも評価可能と考え、以下では培養末梢血リンパ球に対する ADM 及び CDDP の *in vitro* 添加の影響を調べた。2) ヒト、ラット、マウスの培養末梢血リンパ球に ADM 及び CDDP を添加し、PHA と LPS による幼若化反応への影響を調べたところ、顕著な抑制が認められた。ヒト、ラット、マウスのリンパ球でそれら制癌剤の抑制率に種差は認められなかった。

以上の結果から *in vivo* での制癌剤によるリンパ球幼若化反応抑制はリンパ球数減少よりも高い感受性のある毒性パラメーターと考えられる。リンパ球幼若化反応は *in vivo* 投与と同様に培養リンパ球を用いて *in vitro* 添加でも同様の結果が得られ、また、ヒトと動物の培養リンパ球で制癌剤に対する感受性に種差がないことから、ヒトにおいて血中濃度が ADM で  $0.1 \mu\text{M}$ 、CDDP で  $3.3 \mu\text{M}$  になれば免疫毒性が発現すると外挿される。

沈点順，金容華，盧正久

韓国化学研究所

今回演者らは今までに使用している発癌物質により誘発される遺伝的な傷害に対する高麗人蔘の効果及び最適処置期間を調べる目的で本試験を行った。

実験方法としてはマウスの骨髓細胞を用いた小核試験で、発癌物質処理後 24 時間に多染性赤血球に表われる小核の増加及び減少により高麗人蔘の効果を観察した。高麗人蔘（水分量35%の紅蔘エキスを水で2倍希釈）の最適処置期間としてはCyclophosphamide (40 mg/10ml/kg b.w) を処置する3日前から7回連続処置した場合であった。しかし、Cyclophosphamide処置2時間前と処置時に2回連続処置した場合にもわずかな差はあったものの殆ど同じ効果が表われたので、高麗人蔘エキスをCyclophosphamide及びEMS処理2時間前及び処理時に2回連続経口投与した結果、最高濃度で各々45.9%、19.3%の小核生成が抑制された。



## A18 ハロペリドール添加飼料を終生摂取させたラットの毒性試験

○吉田 熙，村井繁夫，増田義勝，斉藤弘子，伊藤忠信

岩手医大・歯・薬理

〔目的〕抗精神病薬であるhaloperidol (HPL)は精神科領域でよく使用されているが，ヒトにおける生涯服用に匹敵するような長期間にわたる毒性研究は行われていない。今回，我々はラットに HPLを終生投与した場合の一般状態や自発運動量 (Animex使用) について検討した。

〔方法〕実験には5週齢のJcl-SD雌雄ラットを用いた。HPL は1.0 mg/kg/day の割合で摂取されるように飼料に添加 (HPL 添加固形飼料) して用いた。

〔結果〕HPL 投与群の雌雄ラットの死亡曲線は対照群との間に有意差は認められなく，また平均生存週数も対照群と同程度であった。眼瞼炎が HPL投与群の雄に 7.7%，雌に 100%発症した。しかしながら，いずれも全投与期間の後半には自然消滅した。雌雄ラットの胸腹部皮下に腫瘤が発症したが，その発症率は HPL投与群の雌では対照群よりも有意に低下した。HPL投与群の体重は雄では全投与期間を通じて増加の抑制が，雌では全投与期間の前半に増加が，中半以降に増加の抑制が認められた。摂餌量は雌雄とも全投与期間を通じて対照群と同程度であったが，摂水量は雌雄とも対照群よりも抑制された。自発運動量は HPL投与群では雌雄とも有意に低下したが，全測定期間を通じて耐性は発現しなかった。

〔要約〕今回用いた HPLの用量では，ラットの生存率や寿命に対して強い影響は認められなかった。しかしながら，体重増加の抑制や眼瞼炎の発症に性差が認められたことから，これらの症状の発現に注意が必要であることが示された。

原田 寧、高木英利、山崎佳之、猪俣訓一、古川泰雄

日本レタリー株式会社生物研究所

Methylthiotetrazole 基 (MTT) を3位の側鎖として持つセフェム系抗生物質において幼若動物における精巣毒性が報告されている。

我々はMTTを用いて幼若動物における精細管上皮細胞の分化におよぼす影響について病理組織学的研究を行ってきたが、血液精巣関門 (BTB) の形成が阻害されることを見出した。その阻害の機序を検討するため、今回生化学的研究を行った。

SD雄ラットにMTTを300mg/kg、生後7日齢から28日間皮下投与した。精巣を摘出して0.32Mのショ糖でホモジナイズし、1,000g、10分間遠心分離後、上清を更に10,000gで20分間冷却遠心分離し、上清を採取した。この上清を精細管内腔液および精細胞の細胞質分画を表すものとして10%SDSPAGEで分析し、蛋白質の分布パターンを対照動物と比較した。また、SH化合物として作用を及ぼしている可能性を考慮し、血清中のFeおよびCuの濃度を測定した。

MTT投与動物の精巣上清においては分子量約4万、6万および8万の蛋白質が著明に減少した。分子量8万の分画はMTTのBTB形成阻害作用から、おそらくアンドロゲン結合性蛋白質 (ABP) と考えられた。分子量4万の分画はABPのサブユニットと考えられたが、分子量6万の分画については現在のところ不明である。血清中のFeおよびCuの濃度はMTT投与と群でいずれもやや、高い値が認められ、SH化合物としてのキレート作用は無いものと考えられた。

A20 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)  
(MBEBP)のラット体重増加抑制作用について

○高木篤也、門馬純子、会田喜崇、吉本浜子、佐井君江、  
中路幸男、黒川雄二、戸部満寿夫、鈴木康雄<sup>1)</sup>

国立衛試 安全性生物試験研究センター毒性部、薬効開発研究会<sup>1)</sup>

合成ゴム、プラスチックの抗酸化剤であるMBEBPをラットに混餌投与すると血清及び肝のT-GLYの減少と体重の増加抑制が認められ、体重増加抑制は雄の高用量群(5%群)より中用量群(1%群)で顕著に認められた(第14回本学会発表)。今回、これらの機序を調べるため若干の検討を行ったので報告する。

方法:1)slc:Wistarラット雄(5週齢)にMBEBPを0,0.2,1.0及び5.0%の各濃度で飼料に混ぜて1カ月間自由に摂取させ、体重、肝臓のチオバルビツール酸値(TBA値)、グルタチオン(GSH)及びアスコルビン酸(AsA)含量を測定し、各臓器中のMBEBP量をHPLCで測定した。2)ラット肝ミクロソーム(Ms)をMBEBP、ADP、FeCl<sub>3</sub>及びNADPH産生系とインキュベーションしてTBA値を測定した。3)ラット肝ミトコンドリア(Mt)におけるMBEBP添加時の酸素消費量をガルバニ電極を用いて連続的に記録した。

結果:MBEBP投与により体重増加抑制がみられ、とくに1%群で顕著であった。肝のTBA値は1%群で増加した。肝GSHは1.0及び5.0%群で減少し、AsAは0.2及び5.0%群で増加した。肝MsとMBEBPをインキュベーションしてもTBA値は増加せず、高濃度ではTBA値は減少した。肝Mtに対してMBEBPは過剰の酸素消費を惹起し、脱共役作用を示した。臓器中のMBEBP量は脂肪、肝では1.0%群が5.0%群より多く、腸管では5.0%群が1.0%群より多く、腎、精巣では1.0%群と5.0%群でほぼ同量であった。以上、5%群より1%群で体重増加抑制の強い理由としてMBEBPの組織移行量が関与しており、1%群での肝TBA値の増加はGSHとAsA量の変化によると考えられた。また、体重及び脂質低下の原因として生体のミトコンドリアへの脱共役作用が推察された。

A21 胎生期エタノール投与によるマウス胎仔大脳の急性障害  
—— 感受期の検討

星野 清, 福井義浩, 亀山義郎

名古屋大学環境医学研究所

我々は放射線の胎生期被曝による小頭の成立について、マウス・ラットを用いた実験的研究により、大脳皮質組織発生の開始時期に一致して最高感受期が存在することを明らかにした。被曝後の急性障害もこの時期の処理で最も強くあらわれ、マウスでは胎生12~13日、ラットでは胎生14~15日に相当する。一方、胎生期エタノール投与によるマウスの小頭については、胎生末期および生後観察によって、大脳皮質組織発生開始時期よりも早い胎生10日処理の場合に影響が最も強いことを観察した。しかし、妊娠マウスにエタノールの急性大量投与を行うと、母獣への毒性が強いために胎仔死亡率が高く、胎仔大脳への急性障害の感受期を検討することが困難であった。今回、エタノール投与後に母体を保温することにより胎仔死亡率を減少させ、急性障害の観察が容易となったので感受期の検討を行った。

C57BL/6系マウスの妊娠10日又は13日に25%エタノール3.97g/kgを4時間間隔で2回腹腔内に注射した。投与後は約27℃のインキベーター中で母体の保温を行った。2回目のエタノール投与後、経時的に母獣を屠殺して胎仔を採取した。胎仔大脳の前額断連続切片にH.E.染色を施し、大脳外套における核濃縮像の出現経過を顕微鏡にて観察した。核濃縮像の頻度は胎生10日処理群の方が13日処理群よりも高く、エタノール投与による胎仔大脳未分化神経系細胞の急性障害は胎生10日処理群で強いことが確認出来た。

A 22 神経節における過酸化脂質の産生に対するキノホルムの効果について。

堀 眞一郎\*、大谷 幸子\*、杉浦 弘子\*、田邊 等\*\*

\* (財)東京都神経研, 神経生化、\*\* 東京都立神経病院

〔目的〕キノホルム(以下Cfと略す)による神経障害の発現機構として、重金属-Cf錯体による脂質の過酸化が提唱されている。一方、交感神経節において神経成長因子(以下NGFと略す)によるRNA生合成の促進をCfが特異的に抑制した。そこで、Cfによる過酸化脂質の産生とCfによるNGFの作用の阻害効果とが関連あるのか否か検討した。

〔方法〕生後1-3日のWistar系ラットの上頸神経節および迷走神経節を摘出し、培養液中に浮遊し、95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>下で、37℃、20時間器官培養した。神経節におけるRNAの生合成量は<sup>3</sup>H-uridineの5%TCA不溶分画に取り込まれた量から算出した。神経節中の過酸化脂質の定量はチオバルビツル酸(TBA)法によった。

〔結果及び考察〕神経節1個当りの過酸化脂質量は上頸神経節で11.6pmoles、迷走神経節で18.6pmolesであった。NGFの効果を阻害するに十分なCfあるいは8-hydroxyquinoline(以下8HQと略す)濃度では、0.1mMFe<sup>3+</sup>の存在下でも、神経節の過酸化脂質量は変化しなかったが、早川らが報告した過酸化脂質を産生する条件である、0.2mM8HQ-0.2mMFeCl<sub>3</sub>混合液では過酸化脂質は著しく産生された。また、この混合液は交感神経節および副交感神経節のRNA生合成をほぼ完全に抑制した。これらの結果は、過酸化脂質が細胞の機能に有害であり、過酸化脂質を著しく産生する条件下では、あらゆる細胞の機能が非特異的に抑制されるが、NGFとCfとの相互作用は重金属-Cf錯体による脂質の過酸化作用とは異なる機構であると思われる。そこで、Cf中毒に際して、Cfのもついわゆる細胞毒性と系統的に神経細胞を障害する神経毒性との差異を決めている機構が問題となる。

A 23 臭素酸カリウム投与によるラット腎近位尿細管の  
eosinophilic body 発現における性差について

谷川 廣行<sup>1)</sup>、○三井 雅之<sup>1)</sup>、島崎 一郎<sup>1)</sup>、  
前川 昭彦<sup>2)</sup>、小野寺 博志<sup>2)</sup>、黒川 雄二<sup>3)</sup>

1) 森下製薬・薬理研究所、2) 国立衛試・病理、  
3) 国立衛試・毒性

〔目的〕我々は臭素酸カリウム（臭力）投与により雄ラットの腎近位尿細管上皮内にエオジン好染、PAS陰性、アザン及びヘモグロビン染色陽性である eosinophilic body (EB) が出現することをすでに報告した。しかしながら、EB出現には性差がある事が知られているものの、その発現機序についてはいまだ明らかではない。今回、演者らは臭力投与によるEB出現の機序について若干の検討を加えたので報告する。

〔方法および結果〕Crj: CD系雌雄ラットに600 ppmの臭力を4週間飲水投与条件で種々の処置を行い、腎近位尿細管を組織学的及び画像解析装置を用いて検索し以下の結果を得た。①精巣摘出によりEBの出現が減少した。②卵巣摘出後10 mg/kgテストステロンの週3回皮下投与で、軽度ながらEBの出現を認めた。③雌ラットでも臭力の900または1200 ppmの4週間飲水投与によりEBの出現を認めた。④雄ラットにおいて2または5%システインの混餌投与により、用量相関を持ってEBの出現が減少した。

〔考察〕電顕的にEBはライソソームであり、その染色態度より蛋白様物質の腎近位尿細管上皮への蓄積像と考えられている。本実験の結果より臭力投与によるEB出現の性差は性ホルモンが関与する蛋白様物質の変動に起因するものと考えられ、臭力はこの物質の近位尿細管での吸収または異化に何等かの影響を及ぼすものと推察された。また、システイン投与により臭力の作用が抑制されたことから、その作用機序にはグルタチオンの関与も伺えた。

山本博昭、藤代光一、山本一郎

豊河野臨床医学研究所・病理、北里大・衛生・病理

高分子のコロイド物質であるメチルセルロースをラットに投与すると腎傷害が起こる。今回、ラットに対して種々の投与経路よりメチルセルロースを与えた場合の糸球体傷害の程度を生理学、生化学および病理学的に比較したのでその結果について報告する。

実験は生後7週令の雄Wistarラットに対して所定のメチルセルロースをPO(1.5%), SC(0.5%), IP(0.1%)およびIV(0.05%)内に0.5ml/100g量を20日間1日1回の割合で連続的に投与した。検査項目としては血圧、尿(量、蛋白、潜血)、血液(RBC, WBC, Ht, Hb, THC)、血清(Ca, Na, K, Cl, IP, BUN, ALP, T-Pro., T-Cho., CRE)を行った。病理学的検索としてはエーテル麻酔下で屠殺後剖検を行い、その後、顕微鏡的および電顕的に観察した。

その結果、メチルセルロースの投与によるラットの体重はIPおよびIV群において減少したが、腎重量は増加した。血圧への影響はIPないしIV群では投与後15日頃より、SC群では30日頃より上昇して、35日目ころにはその上昇も最高に達した。血液学的検査ではIPないしIV群で極めて顕著な貧血を示唆する所見が認められた。また、血清生化学的検査ではIP, IV群を中心として、ALB, BUN, T-pro., T-Cho, CRE, Na, ClおよびIP等に顕著な変化がみられ、これらの所見は腎機能傷害を示唆していた。

一方、病理学的所見では剖検的肉眼所見では腎臓のうっ血、退色、腫脹および表面の粗造化等がIV, IPおよびSC群にみられた。顕微鏡的には糸球体の傷害が著しく、特に代表的な所見としては泡沫様細胞の浸潤とヒアリン様変性等であった。また、電顕的にもこれらの変化を反映しており、特に空胞様変性は顕著であった。

○ 寺嶋昭夫, 奥田敏明, 北川 登, 斎藤勝弘, 吉中一郎

科研製薬(株), 安全性研究所

【目 的】リン酸塩は、ラット腎に病理学的変化を惹起させることが幾つか報告されている。しかし、病変の種類や初期変化の発現部位は、実験方法により異なることが示唆されている。今回、演者らは中性リン酸緩衝液をラットに連続静注して主に糸球体の初期変化を形態学的に検討した。

【方 法】動物は10週齢のJcl:Wistar系雄性ラットを用いた。0.5Mリン酸緩衝液(pH 7.4)を5ml/kgの容量で1群5匹の動物に1, 3, 7, 10および14日間尾静脈内に投与した。各投与終了の翌日に動物をエーテル麻酔下で放血屠殺後、腎臓を摘出して光顕及び電顕的観察を行った。また、糸球体の変化と機能との関連性を検討する目的で、各投与時点での尿中蛋白量を測定した。

【結果・考察】光顕的には、糸球体糸脚及びボウマン嚢壁側葉部にCa沈着が3日間投与から認められた。この沈着像は7日間以上の投与で著明となり、近位尿細管にも軽度に出現した。また、糸球体における基底膜の肥厚及び上皮細胞の腫大、近位尿細管の硝子滴や硝子円柱が7日間投与より認められた。電顕的には、1回投与でCa沈着は認められなかったが、糸球体上皮細胞の水腫や足突起の部分融合が観察された。3日間投与よりCa沈着が糸球体の基底膜、上皮細胞、メサングウム細胞、ボウマン嚢の腔や上皮及び基底膜に認められた。尿中蛋白量は1回投与で軽度に増加し、7日間投与より著明に認められた。以上の結果から、リン酸塩投与による腎障害は、尿細管を主体とした初期変化が従来報告されていたが、本実験条件下では糸球体に初期病変の生ずることが明らかとなった。



A26 アミノ配糖体系抗生物質の *in vivo* 及び *in vitro* に  
おける腎毒性比較試験

松本一彦\*、山本 宏\*、P. Tulkens\*\*

\*東洋醸造㈱、\*\*Univ. Catholique De Louvain(ICP)

アミノ配糖体系抗生物質(AGS)は潜在的に腎毒性を有するが、その包括的な像を知るためには低投与量における *in vivo* 試験並びに *in vitro* 試験を実施する必要がある。今回、弊社ならびに日本エッセクスで共同開発した新規AGS、イセパミシン(ISP)の毒性をアミカシン(AMK)及びトブラマイシン(TOB)と比較検討した。

方法; *in vivo* 試験: 1)動物: SDラット雌(210-270g), 1群5匹。  
2)薬物: TOB(4, 10, 20, 40mg/kg), AMK及びISP(15, 40, 80, 160mg/kg)。  
3)投与方法: i.p., 1日2回、4日及び10日間。4)検査項目:  
(1)腎重量、(2)血清: BUN, (3)腎皮質: a) Sphingomyelinase活性、  
b)総リン脂質、c)光顕、電顕的検査、d)DNAへの $[^3\text{H}]$ Thymidineの取り込み試験、e)薬剤の蓄積(HPLC)、(4)尿: a)総リン脂質、b)リン脂質分画。 *in vitro* 試験: 1)平衡透析(リボソームへの結合)、  
2)phospholipase A1, A2活性阻害。 結果; 腎重量及びBUNはいずれのAGSの最高投与量においても大きな変化は見られなかった。腎皮質のsphingomyelinase活性はAGS投与で低下し、リン脂質は反対に増加した。その程度はTOBが最も強く、AMKとISPはほぼ等しかった。 $[^3\text{H}]$ Thymidineの取り込み試験及び尿中リン脂質(総量と分画)測定でISPはAMKの約1/2の値であり、さらに、平衡透析試験でISPのKd値は24 $\mu\text{M}$ でAMK(10 $\mu\text{M}$ )の2倍TOB(7 $\mu\text{M}$ )の約3倍であり、TOB及びAMKと比べ低毒性であることが確認された。

○松浦哲郎、前田博、萬野賢児、中島裕夫、栗尾和佐子、  
川路尚徳

摂南大学薬物安全科学研究所

〔目的〕毒性試験における尿沈渣鏡検はルーチンの検査項目であり、腎機能の障害を予知する上で重要な指標である。しかし、その検査時期が組織学的検査と隣接していることもあり最終判断は腎組織の結果に委ねられる場合も多い。そこで今回我々は、この両者の関連性について既知の腎毒性物質を用い比較検討したので報告する。

〔方法〕動物はS.D.系ラットを用いkanamycin(KM)を最高投与量1000mg/kg/日、14日間、またHgCl<sub>2</sub>を最高5mg/kg、1回筋肉内投与した。投薬24時間後、3時間代謝ケージにより採尿し、尿定性検査を行った後、尿沈渣鏡検を実施した。組織学的検査についてはKM群は投薬1,3,5,7,14回後に動物を屠殺し、腎臓の病理学的検査を実施した。またKM群およびHgCl<sub>2</sub>群の沈渣浮遊細胞について電顕的検索を実施した。

〔結果〕KM投薬群においては経時的に肉眼的な腎の褪色が進行し、組織学的には皮質表層の近位尿細管曲部が空胞変性像から広範な変性壊死像に移行した。一方、尿沈渣においては投薬初期に比較的健全な尿細管上皮の脱落がピークに達し、それ以降は核の不明瞭な変性の激しい上皮が脱落するという傾向が示され、その脱落した細胞数は経時的に減少する傾向を示した。またKM群とHgCl<sub>2</sub>群の沈渣浮遊細胞については光顕的にも電顕的にもその形態が異なる傾向が示された。

〔考察〕以上の結果より、尿沈渣鏡検での細胞脱落数と腎の組織学的検査はパラレルなものではなく出現する細胞の状態、検査時期をその薬物に応じ検討することにより、沈渣の情報がより有用なものになると考えられる。

- 永江祐輔、高橋昌三、高橋宏幸、山本滋、出口二郎、  
佐藤真理、原田多恵子、平石麻美、小林清隆

日本チバガイギー・薬剤安全性研究室

毒性試験におけるラットの臓器採取時の artifact の問題については古くから検討がなされ、固定後に重量を測定する方法等が解決策として採用されている。一方では、固定による重量変動も示唆されている。今回、我々は固定後の重量変動が、薬剤の甲状腺重量増加作用を検出する感度に影響を及ぼすか否かについて検討したので報告する。

(1) 2.5 % グルタルアルデヒド液 (GA 液)、中性緩衝ホルマリン液 (F 液)、GA と F 液の混液 (GA+F 液) の 3 種類の固定液に各 8 匹の SD 系ラット甲状腺を固定後、経時的に重量を測定した。その結果、GA 液では明らかな重量変動はみられなかったのに対して、F 液および (GA+F) 液では固定後 30 分から増加し始め、4 時間まで直線的に増加し、その後 7 日目まで増加したままの重量 (固定前の 10 % 増加) を維持した。

(2) 次に、各群 20 匹の SD 系ラットに 0、20、40 および 80 mg/kg の Methylthiouracil (MTU) を 10 日間連続経口投与した後、各群 10 匹は固定前に、残り各 10 匹は固定 (F 液) 後に気管から剝離し各々重量を測定した。その結果、固定後の重量測定は 0 mg/kg を含めて全群の重量を増加させたものの、MTU の持つ甲状腺重量増加作用に関しては、固定前の測定と同程度の用量相関性で検出することができた。

(3) (2) で採取した甲状腺について組織切片を作製し鏡検した結果、固定前重量測定群では、artifact による組織の損傷が、程度の差はあるものの全切片にみられたのに対して、固定後測定群では損傷はほとんどみられなかった。

以上のことから、ラットを用いた毒性試験に際して甲状腺重量の測定が必要な場合には、一旦固定後気管から剝離し重量を測定することが、組織の artifact を防ぐ上で推奨され、しかも固定による重量変動は、薬剤の甲状腺重量増加作用の検出感度に影響を及ぼさないことがわかった。

カナマイシン投与によるイヌの聴覚障害  
(電気生理学的手法による検索)

○ 久世博 和田功 堀正樹・岡庭梓

田辺製薬 安全性研究所

アミノ配糖体系の抗生物質は人や動物において聴覚障害を起こすことが知られている。今回、我々はカナマイシンをイヌに投与し、聴覚障害を惹起させ、聴性脳幹反応(ABR)の変化を指標としてその病変の進行過程について検索したので報告する。

カナマイシンを250および500mg/kgの投与量で4カ月齢の雄ビーグル犬各1頭に週5回計13~26回皮下投与し、経時的にABRを記録した。ABRの測定は、静かな暗室において無麻酔下で行い、頭頂部に導出電極を、耳下に基準電極を、対側耳下にアースを鱈口クリップを用いて装着した。刺激音としてクリック音を使用し、刺激音圧は0~80 dBHLとして8, 4, 2, 1および0.5kHzの刺激周波数を用いた。刺激条件を20Hzとし1000回の加算を行った。記録には電気・光・音刺激装置(日本光電, SMP-3100), 多用途誘発反応記録装置(MEB-3102)および誘発反応加算装置(DAT-3102)を用いた。

500mg/kg投与例では、13回投与後ABRは全て消失し、8日間の休薬後も波形は回復しなかった。この例では、耳介反射はみられず血液検査で腎臓、肝臓障害を示唆する所見が得られた。また、同時に削瘦がみられ、性質も変り臆病となった。250mg/kg投与例では、18回投与後から右耳のABRで電位の低下および頂点潜時の延長が認められた。20回投与後、12日間の休薬を行うと左耳においても同様な電位の低下および潜時の延長が現れた。その後、6回投与を重ね12日間の休薬を置いたが、休薬期間中も電位の低下および潜時の延長は続き、最終的には右耳のABRは完全に消失した。ABRの記録により聴覚障害の進行を詳細に確認することが可能であると思われた。

東山 昇，森山哲郎，藤島昇一，村岡義博

塩野義製薬研究所・神崎川分室

抗がん性白金錯体のマウス骨髄抑制は，末梢白血球数に反映されにくいとされている。骨髄毒性スクリーニングにマウス大腿骨の骨髄有核細胞数(NBMC)を指標にすることを検討した。

NBMC測定法として，スクリーニングの目的に沿って多数のマウスを処理できる簡便法を設定した。縦切断した大腿骨を溶液中で超音波処理することにより骨髄細胞が溶液中に完全に遊出することを利用したものである。

CDF<sub>1</sub>雄マウスに白金錯体であるシスプラチン(CDDP)，カルボプラチン(CBDCA)，イプロプラチン(CHIP)，オキサリプラチン(1-OHP)，254-S及び237-SのそれぞれLD<sub>10</sub>，1/2LD<sub>10</sub>，1/4LD<sub>10</sub>を単回静脈内投与した。NBMC及び末梢血中の好中球数を投与2，4，7及び14日目に測定した。

NBMCはいずれの検体とも，どの測定時点においても用量依存性に減少した。最低値は2～4日目であり，14日目には明らかな回復傾向がみられた。従って，NBMCを指標にしたとき，測定時点を少なくしても骨髄毒性評価が大きく変わることはなかった。しかし，好中球数は1-OHP及び237-S投与群において4日目と7日目に減少したのみであった。他の錯体は明らかな好中球減少を示さず，NBMCの減少を反映しなかった。また，好中球数は，減少する場合でも，その減少時点が限られており，254-S，CDDPでは時点によっては逆に増加を示した。

以上の如く，抗がん性白金錯体の骨髄抑制評価の指標として，マウスNBMCは信頼性が高く，測定が簡便で，多数例処理が可能である。

## A31 骨髄塗抹標本作成上の問題点

諏訪浩一<sup>1</sup>，金津赫生<sup>2</sup>

1. ボゾリサーチセンター
2. 筑波大学医療技術短期大学部

骨髄毒性の病理学的評価にあたっては、一般に組織標本が用いられているが、細胞学的検索を行うには塗抹標本の作成が必要である。小動物では穿刺液でなく、骨髄組織そのものを取り出し、同種血清などにはぐして塗抹されるが、必然的に血管内皮細胞や、類洞支持細胞の破損が招来される。さらに塗抹面での細胞分布の部位誤差に偏りが無いか否かも問題となる。今回、ラットおよびマウスを用いて、これらの基礎的問題を検討した。

屠殺直後に骨髄細胞中のニグロシン可染細胞を算定したところ、10～15%であった。この数値は、屠殺後の経過時間に伴って増加した。一方、塗抹標本作成後、ライト・ギムザ染色を施し、引き始めと引き終りそれぞれ500コの細胞を分類比較したところ、雌雄とも引き始めに有意に高い百分率を示したのはリンパ球および移行細胞であり、引き終りに高百分率を示したのは破損細胞、マクロファージ、巨核球であった。リンパ球の引き始めと引き終りの百分率の差と破損細胞の引き終りと引き始めとの百分率の差との間には相関がみられ、引き始めでニグロシン可染細胞とほぼ等しい百分率を示したことより、塗抹操作で、主としてリンパ球（様細胞）が破損されるのではないかと推測された。塗抹前に、細胞を軽く固定することにより、破損が防止出来ないかどうか、さらに検討して報告する。

○島田 晴美, 赤羽 浩一, 古濱 和久, 加藤 道幸

第一製薬 中央研究所

実験動物における骨髓検査方法として顆粒球系細胞数/赤芽球系細胞数(M/E比)は日常的に測定されている。しかし、骨髓低形成時などにはM/E比の他に各骨髓細胞分画の実数の変動を調べることが重要である。また小動物では骨髓細胞の鑑別が比較的難しい。そこで骨髓細胞密度を容易に測定する方法およびエステラーゼ染色とベンチジン染色による細胞鑑別の改良法について検討した。実験には5~7週齢のSD系ラットの大腿骨骨髓を用いた。まずエーテル麻酔下に放血屠殺し、骨髓組織を採取して秤量した。骨髓を血清を含む培養液に入れ、22Gさらに25Gの注射針を装着した注射筒を用いて単細胞浮遊液に調製した。続いて細胞浮遊液を濾過し、自動血球計数装置により有核細胞数を測定した。骨髓重量と細胞数から骨髓細胞密度を算出した。次に細胞液の一部を遠心して塗抹標本を作製し、固定、乾燥後にAS-D Clエステラーゼ染色を施して顆粒球系細胞を染色した。また、溶血剤処理後の細胞液にベンチジン溶液を添加し、遠心して塗抹標本を作製した。

正常ラットの骨髓細胞密度は  $253.5 \pm 3.4$  細胞/mg 骨髓であり、骨髓採取必要量は15mg以上であった。AS-D Clエステラーゼ染色では20~30%が陽性に、ベンチジン染色では10~30%が陽性に染色され、両者の比率はライト・ギムザ染色でのM/E比に較べ、わずかに高値を示した。

今回検討したラットにおける骨髓細胞密度の定量法および細胞染色法は薬剤等による骨髓毒性を評価するために有用であると考えられた。また、操作が簡便であることから、日常の検査項目として応用できるものと考えられた。

A33 走査電子顕微鏡によるらせん器聴毛の観察  
—カナマイシン投与による聴器障害—

○打屋尚章 内田英一 堀井郁夫 宇高奎二

日本ロシュ研究所 毒性病理部

アミノ配糖体系抗生物質など一部の薬物による聴器毒性が、主として、らせん器の有毛細胞障害に起因する事はよく知られている。今回、我々は、モルモットにカナマイシンを投与し、聴覚機能検査を実施するとともに走査電子顕微鏡を用いて、らせん器表面構造、特に内外有毛細胞の聴毛の変化について検索したので報告する。

[材料および方法] 動物は10週齢ハートレー系モルモットを使用し、カナマイシン500mg/kg/dayを2週間連続筋肉内投与した。投薬終了後、オーディオメーター(周波数域;200~2000Hz, 出力域;32,46,60 db)を用いて耳介反射測定を行った。解剖時の蝸牛摘出に際しては、カルノスキーの固定液にて灌流固定し、骨胞骨壁を除去し蝸牛を露出、実体顕微鏡下でアブミ骨、正円窓膜を除去し、蝸牛頂部に小孔を開け固定液を注入し再固定した。その後、常法にて走査電子顕微鏡用試料を作製し検鏡に供した。

[結果] 耳介反射測定: カナマイシン投与群では、いずれの周波数域、出力域においても全く耳介反射は認められなかった。

走査電顕による観察: カナマイシン投与群の外有毛細胞の聴毛は1, 2, 3回転全ての1, 2, 3列、4回転目の1, 2列で変形もしくは消失し、ダイテルス細胞の指節板上に聴毛の変性した破片がみられた。内有毛細胞は、1, 2, 3回転全部と4回転目の一部に聴毛の変形・消失がみられた。

以上、カナマイシン投与モルモットのらせん器有毛細胞には、聴毛の変形・消失および変性した破片が観察され、オーディオメーターを用いた耳介反射測定と平行した聴覚障害が検知された。



## A 34 毒性試験における自発行動及び飲水行動量測定の有用性の検討

### (1) Streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラットにおける検討

○安原吉高, 山本慎治, 佐藤秀蔵, 千葉祐広

武田薬品・中央研究所

ラット及びマウスの毒性試験において自発行動及び飲水行動を連続的に観察することは、薬剤の動物の行動に及ぼす影響を知るために有用であると考えられる。我々は、ケージ内に取り付けた赤外線ホトセンサー及びドリコンメーターを用いて、動物の自発行動及び飲水行動量を測定し、マイクロコンピュータを用いて両者の回数を集計する連続監視装置を試作した。本装置は同時に12匹の動物を個々に計測、集計することが可能で、他の装置に比べ簡易かつ安価である。本研究では本装置の毒性試験での有用性確認を目的としてSTZ糖尿病ラットの自発行動及び飲水行動量について観察した。

方法： 13週齢のJcl:Wistar雄ラットに、STZ 50mg/kgを単回静脈内投与し、実験的糖尿病ラットを作出した。その後5週間明暗周期12時間の条件下で自発行動及び飲水行動量の変化を連続記録し、生理食塩液を単回静注した対照ラットと比較した。

結果： 対照ラットでは飲水行動及び自発行動共に夜行性動物特有の行動パターンを示した。STZ糖尿病ラットでは、1日の総飲水行動量は著明に増加し、STZ投与後31～35日目のそれは、対照ラットの約8倍であった。しかし、明期・暗期の飲水行動量の比率及びそのリズムに変化はなかった。自発行動では1日の総行動量及びそのリズムのいずれにも変化を認めなかった。

以上の結果から、STZ糖尿病ラットでは、自発行動量及びその行動リズムに変化ないが、飲水行動量は著明に増加することを確認した。また、本装置を用いた行動観察は、毒性試験に利用し得る有用な方法であると考えられた。

ラット多重癌モデルによる各種臓器発癌物質の中期  
検出法についての検討

宇和川賢、津田洋幸、今井田克己、高橋 智、伊東信行、

名古屋市立大学・医学部・第一病理学教室

(目的) 多臓器を標的とした中期発癌実験法として、3種類の発癌物質を短期間投与後に、13種の異なった標的性を持つ発癌物質を投与し、それらの標的臓器における発癌促進作用の発現とその程度について検討した。

(方法) 6週令のF344雄ラット、275匹を用い、DHPN(N-bis-(2-hydroxypropyl)nitrosamine)(1000mg/kg i.p. 2/week), EHEN(N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine)(1500mg/kg i.g. 2/week), DMAB(3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl)(75mg/kg s.c. 2/week)を3週間、順次投与した後、2-AAF(0.01%), 3'-Me-DAB(0.06%), Phenobarbital(PB)(0.05%), Ethionine(0.25%), B(a)P(0.02%), BHA(1%), 3-MC(0.02%), DMBA(0.01%), DDPM(0.1%), Clofibrate(1.0%)およびCatechol(0.8%)(以上混餌), BBN(0.1%)およびMNNG(0.005%)(以上飲料水中)を各12週間投与し、全経過16週で屠殺後、前癌病変および腫瘍の発生を全臓器レベルで検索した。

(結果) 2-AAF, 3'-Me-DAB, Ethionine, DMBAでは肝臓、PB, DDPMでは肝臓、甲状腺、3-MCでは肺、肝臓、BHA, Catecholでは前胃、BBNでは膀胱において、前癌病変あるいは腫瘍の発生増加を認めた。他方、MNNG, Clofibrateでは肝臓において前癌病変発生の抑制作用を認めた。

(結論) 多臓器に発生した発癌起始細胞は、第2段階で投与された化学物質の増殖促進又は抑制作用に対して高感受性であり、16週間の短期間で標的臓器における腫瘍性病変発生の促進、抑制作用の検索が可能であることが示された。

赤池雅司、大野広子、小林孝好、坂口 孝

ヘキストジャパン(株) 医薬研 生物研究部

医薬品開発の際、生殖試験では各研究施設により様々な学習行動試験が行われている。なかでも安価であり、試験方法も簡単であることからBiel water maze(Path A)が汎用されている。この試験ではゴールまでのエラー数および遊泳時間が評価対象であるが、これらに差が生じても障害部位を推定することは困難である。その一因として障害部位を限定し、Path Aを行った報告がないためと思われる。今回、海馬の障害を誘発しPath A、Mirror image maze(MIM)と逆転学習(Path B)を行った。[方法] 6週令のSDラットを用いた。1日4試行を3日間、水温 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の条件下で行った。対照群(5例)は無処置とし、10例にTrimethyltin(TMT)9mg/kgを経口投与した。投与後4hr、1,3,5,6,7,8,11日目、3週間の休止後に再度Path Aを行った。さらに、MIMとPath Bを行った。いずれも試行時間は最大3分間で終わった。[結果] Path A開始3日目以降はエラー数が1回以下となり、3週間の試行休止後においてもエラー数の増加は見られなかった。MIMおよびPath Bでは1日目にエラー数が増加したが、試行とともに減少しいずれも3日目にはエラー数が1回以下となった。TMT群は投与後3日目以降にはエラー数の増加および遊泳時間の延長が観られ、試行にともなった学習効果はみられたもののエラー数は対照群に比べ多かった。3週間の休止後もエラー数は増加しなかった。MIMおよびPath B試験においても対照群と差がみられた。これらの動物の海馬CA3,CA4では錐体細胞が消失していた。[総括] 記憶保持の検討が可能であり、MIMおよびPath Bも有用と思われた。また、TMT誘発海馬障害に基づく学習障害を検出できたことから、同様の障害による学習障害の検出が可能と思われた。

○梶原摩耶 杉本哲朗 土屋陽子 鈴木繁生

中外製薬(株) 開発研究所

薬物誘発性脂質症は、諸臓器に電子顕微鏡的に特徴的な層板状構造をもつ細胞質内封入体を形成する毒性障害としてよく知られ、封入体の本態はライソソーム内に形成された薬物-脂質複合体であるとされている。脂質症の検出法として、光学顕微鏡的にはリン脂質の証明法の一つである酸ヘマティン法が一般に用いられている。しかし、酸ヘマティン法にはいくつかの方法があり、染色結果にどのような違いがあるかは明らかではない。そこで、今回、Baker法(1946)、Hori変法(1963)およびAFIP変法(1968)の3種類の方法について比較検討した。また、ホルマリン固定材料から経時的に標本作製し、脂質症の検出が可能なホルマリン固定期間の限界についてもあわせて検討を行った。

〈材料および方法〉動物は7週齢のSD系雄ラットを用い、脂質症を誘発することが知られている4,4-Diethylethoxy-hexestrol (コラルジル)を7日間経口投与した。投与量は50および200 mg/kgの2用量を設け、各群に2匹を充当した。対照群には、溶媒(蒸留水)を投与した。試験期間中、飼料(CE-2)と水は自由に摂取させた。エーテル麻酔下で放血殺後、肝臓を採取し、各方法の手順に従って標本作製を行った。すなわち、5×5×2mmの小片にしてフォルモール・カルシウム固定を施した後、Hori変法およびAFIP変法については凍結包埋ブロックを作製し、Baker法についてはさらに重クロム酸カルシウム液(室温および60℃)にいれた後、凍結包埋ブロックを作製した。また、ホルマリン固定期間の限界に関する検討は、剖検時に肝臓を20%中性緩衝ホルマリンに固定し、1、2と3カ月後に同様に標本作製した。

〈結果および考察〉Baker法では、200 mg/kgの肝細胞およびクッパー細胞の細胞質に極めて鮮明に顆粒状に濃青色の反応物が観察され、病変が軽度であった50 mg/kgにおいてもクッパー細胞における反応物は的確に検出できた。これらの反応物はビリジン抽出試験で陰性を示し、リン脂質であることが確認された。一方、Hori変法およびAFIP変法では、細胞質全体がび漫性に濃青色を呈したにすぎず、またミトコンドリアの共染も強く、満足すべき結果は得られなかった。凍結包埋ブロック作製前の重クロム酸カルシウム液操作は、脂質の保持に極めて重要な過程であると考えられた。また、Baker法では、3カ月間ホルマリン固定された材料においても、濃青色の反応物は顆粒状に明瞭に保持され、定型的な毒性試験のホルマリン固定材料から脂質症検出の必要が生じた場合でも充分適切な結果が得られると思われた。現在さらに固定期間を延長しており、Oil-red O、Sudan Black Bの脂肪染色の結果も含め報告する。

○南 勝<sup>1)</sup>、門間芳夫<sup>1)</sup>、遠藤泰<sup>1)</sup>、斎藤秀哉<sup>2)</sup>  
年光芳信<sup>3)</sup>

東日本学園大・薬・薬理<sup>1)</sup>、北大医・第一薬理  
新日本実業・薬理研<sup>3)</sup>

抗癌剤投与時に発現する副作用として、最も頻発するのが嘔気および嘔吐である。嘔吐は、癌患者を苦しめ抗癌剤のコンプライアンスをも悪化させる。したがって、この嘔吐の防御策が解決されると癌の化学療法はより進歩するものと考えられている。催吐薬によって特異的に且つ再現性をもって嘔吐を惹起する動物を探すことは、制吐薬開発のために最も重要なことの一つである。ラットやモルモットが嘔吐を起こさないのは衆知の事実である。また、薬物によって一度嘔吐を起こしたことのあるネコ、イヌおよびサルは学習効果を獲得し制吐薬によっても嘔吐を起こすので、制吐薬開発研究のための動物としては適当ではないと考えられる。

われわれは、嘔吐を起こすモデル動物として Marshall 社 (NY) より購入した体重 1~1.5 kg の雄性 Ferret (*Mustela putorius furo*) を用いて基礎的検討を行なった。

抗癌剤シスプラチン (7~10.0 mg/kg, i.p.) ならびにシクロホスファミド (200 mg/kg, i.p.) の投与によって殆どの Ferret が嘔吐を起こした。しかしながら、東大薬学部斎藤洋教授らの発見した *Suncus* (食虫目; ジャコウネズミ) と同様に、催吐薬として知られているアボモルヒネによっては典型的な嘔吐が惹起されなかった。体の長軸に平行あるいは真横からの動揺刺激には抵抗性があるが、回転刺激によっては嘔吐を起こすことが見出された。

イタチの一種である Ferret は、飼育管理ならびに扱いに若干難がある。しかし、嘔吐のしぐさがヒトのそれに類似し Retching ならびに Vomiting を起こすので嘔吐の状態を分析するのに適している。

務台 衛, 朝元誠人, Joao de Camargo, 小木曾 正, 福島昭治

名 市 大 ・ 医 ・ 一 病

2段階発癌法を用い, 膀胱発癌物質の早期検出を可能にするため, 発癌の第2段階にuracilで発生する膀胱結石による膀胱上皮細胞増殖作用を利用するモデルを試みたので報告する.

方法: 6週令のF344/DuCrj雄ラット 180匹を用い, 以下の11群を設けた. 第1~5群にはイニシエーターとして N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine(BBN) を 0.05%の濃度で4週間混水投与後, 下記の5種類の検索物質を5週間投与し, 次の3週間uracilを3%の濃度で混餌投与した後, 再び検索物質を8週間投与した. 第6群はBBN とuracilのみの対照群, 第7~11群はBBN を投与しない対照群とした. 実験開始後20週で全動物を屠殺・剖検し, 膀胱を病理組織学的に検索した. 検索物質(用量・経路)としては, 既に膀胱発癌物質として知られている3,3'-Dichlorobenzidine(0.3%, 混餌), Orthophnylphenol-Na(OPP-Na, 2%, 混餌), Saccharin-Na(5%, 混餌), Dibutylnitrosamine(0.05%, 混水), および多臓器発癌物質であるN-Methylnitrosourea(50mg/kg b.w., 1/week i.p.)を用いた.

結果: 前癌病変である膀胱上皮のPN過形成および乳頭腫の発生を膀胱基底膜1cmあたりの出現数で見た場合, PN過形成は対照群である第6群の0.84個に対し, 第1~5群では1.98~4.84個と有意に増加し, また乳頭腫の発生も第6群の0.04個に対し, 第1~5群のうちOPP-NaおよびSaccharin-Na群ではそれぞれ0.49, 0.30個と有意に増加した.

以上, 本法を用い, 前癌病変の発生を指標とすることにより, 膀胱発癌物質の早期検出が可能であることが示された.

一般演題

B会場

B01-B22: 8月4日(木)

B23-B39: 8月5日(金)

○齊藤文也, 小林晴男, 湯山章, 主浜幸俊\*

岩手大・農・家畜薬理学, \*小岩井農場

前演題において, 塩化トリブチル錫(TMT)および塩化トリメチル錫(TMT)は *in vitro* で鶏脳組織 cholinergic system に対して強く影響すること, そしてその作用はTBTがTMTより大であることが示された。TBTの鶏に対する毒性, 脳組織への移行および代謝を知る目的で, LD<sub>50</sub>, 脳および血液中の分布と代謝並びに定量法を検討した。

雄白色レグホン(9-10W齢)におけるTBTの経口LD<sub>50</sub>は125 mg/kgであった。LD<sub>50</sub>の約1/3(40 mg/kg=12.29 mmol/kg)を投与後, 5日目まで経日的に脳および血液を採取した。TBTおよび代謝物の測定は岩井ら(1981), 余ら(1984)および無機錫(Sn)のキレート化法を組合せて, 高速液体クロマトグラフで定量する方法を考案した。TBT, ジブチル錫(DBT), モノブチル錫(MBT)およびSnの検出限界はいずれも0.05 μg/ml, 添加回収率は72-79%であった。脳組織におけるTBT含量は1日目 $1.69 \times 10^{-5}$  mmol/g脳 で最も高く, 以後減少を続けた。DBTは全体的に低かった。MBTおよびSnは経日的に増加して, 前者は5日目に, 後者は3日目に $1.52 \times 10^{-5}$  および $1.54 \times 10^{-5}$  mmol/g脳 に達した。TBTの生物学的半減期(T<sub>1/2</sub>)は1.4日であった。一方, 血液のTBT含量は2日目に $0.66 \times 10^{-5}$  /g血液 を示したのち減少した。DBT, MBTおよびSnは全期間を通じて低い値( $0.25 \times 10^{-5}$  /g血液以下)であった。

TBTは *in vitro* の実験において,  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  M で cholinergic system を強く阻害した。今回, 脳組織の最高濃度は, 大略 $1.5 \times 10^{-5}$  M に相当することから, TBTは *in vivo* においても脳組織 cholinergic system に影響を及ぼす可能性が考えられる。



齊藤文也, ○小林晴男, 湯山章, 主浜幸俊\*

岩手大・農・家畜薬理学, \*小岩井農場

有機錫化合物は農薬や漁網の防藻剤として用いられている。有機金属化合物は一般に脂溶性が高く、中枢神経系に影響を及ぼすことが考えられる。今回、塩化トリメチル錫 (TMT) および塩化トリブチル錫 (TBT) の鶏脳組織 cholinergic system に及ぼす影響を *in vitro* で検討した。

脳 homogenate の acetylcholinesterase (AChE) 活性に対して両有機錫は  $10^{-4}$  M 以下ではほとんど影響しなかった。choline acetyltransferase (ChAT) 標本の活性に対して TMT は  $1.50 \times 10^{-5}$  および TBT は  $0.99 \times 10^{-5}$  M の  $K_i$  値でいずれも noncompetitive に阻害した。阻害作用は cysteine 存在下で影響されなかった。粗シナプトソーム画分の高親和性コリン取り込み (HACHT) に対して TMT は  $3.50 \times 10^{-5}$  および TBT は  $2.50 \times 10^{-6}$  M の  $K_i$  値でいずれも noncompetitive に阻害した。阻害作用は cysteine 存在下で影響されなかった。低親和性コリン取込に対する TMT および TBT の作用は弱く、 $2.60 \times 10^{-4}$  および  $1.25 \times 10^{-4}$  M であった。脳切片を 30 mM KCl-Krebs Ringer に浮遊し (100 mg/ml)、有機錫存在下で 38°C、30 分間 incubate した。両有機錫は  $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  M において ACh 遊離を dose-dependent に抑制した。ACh 合成に対し、TMT は影響しなかったが TBT は  $10^{-4}$  M で約 40% 阻害した。[<sup>3</sup>H]QNB の結合を指標として muscarinic ACh receptor に対する影響を検討した。TMT は  $10^{-4}$  M 以下では影響しなかったが、TBT は  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  M で強く抑制した。

以上の結果より、TMT および TBT は cholinergic system の伝達系を抑制的に作用することが考えられる。

○井上修<sup>1 2</sup> 清治和則<sup>1 2</sup> 中塚晴夫<sup>2</sup> 渡辺孝男<sup>2</sup> 池田正之<sup>2</sup>

1 東北労災病院健診センター 2 東北大 医 衛生

ベンゼンに曝露された工場労働者についてその気中平均濃度を測定し、また労働終了時の尿中に排泄された代謝物を定量して、両者の間の関係を調べた。ベンゼン曝露濃度については労働者の衿に拡散型個人サンプラーを装着し、ベンゼン吸着量から曝露時間中の平均値を求めた。ベンゼン、フェノールはFID-GC法、カテコール、キノール、1,2,4-ベンゼントリオール、*t*,*t*-ムンコン酸はHPLC法で定量した。尿中代謝物である、フェノール、カテコール、キノール、1,2,4-ベンゼントリオール および *t*,*t*-ムンコン酸は どれもベンゼン曝露濃度と有意な直線的相関関係を示し ( $p < 0.01$ )、得られた回帰直線式から、約8時間労働作業終了時の、ベンゼン代謝の出納関係として、体内に摂取されたベンゼンは (吸収率50%呼吸量15Lと想定) 尿中に (尿の排泄量1mLと想定) フェノールとして13.2%、キノール10.2%、カテコール1.6%、*t*,*t*-ムンコン酸1.9%、1,2,4-ベンゼントリオールとして 0.47%排泄されることを算出し得た。これらの比率はC<sup>14</sup>-ベンゼンのウサギ経口投与時の所見と良く一致した。1,2,4-ベンゼントリオールの生成経路を明らかにするため Wistar系ラットにフェノール、カテコール、キノールをそれぞれ50mg/kg腹腔内投与し、尿中代謝物を定量したところ、1,2,4-ベンゼントリオールは フェノール、キノール投与動物の尿より検出され、カテコール投与動物の尿からは検出されなかった。またキノールはフェノール投与動物の尿から検出されたが、カテコール投与動物の尿からは、検出されなかった。したがって、ベンゼンからはフェノール、カテコール、*t*,*t*-ムンコン酸が生成し、フェノールの一部はキノールを経て1,2,4-ベンゼントリオールとなると推定される。

B04 肝カルボキシエステラーゼの種差に関する研究 (VII)  
- TS0, 3MC および PCB による誘導の種差、系統差 -

○酒江基泰<sup>1)</sup>、細川正清<sup>1)</sup>、佐藤哲男<sup>2)</sup>

東京薬大・第一薬理<sup>1)</sup>、千葉大・薬・薬物<sup>2)</sup>

【目的】 演者らは、既に近交系のラットおよびマウスを用いて、肝カルボキシエステラーゼ (CEase) の種々の誘導剤に対するアイソザイム間での応答の差異について報告している。今回は新たに3種の誘導剤を2系統のラットおよびマウスに投与し、CEaseの誘導における種差および系統差について検討した。

【方法】 動物としては、ラットでは F344および LEW系、マウスでは C57BL および DBA系マウスを用いた。また、誘導剤としては trans-Stilbene oxide (TS0), 3-Methylcholanthrene (3MC) および Kanechlor 500 (PCB) の3種を使用した。CEaseの基質としては、p-Nitrophenyl acetate (PNPA), Isocarboxazid (ISOC) Butanilicaine (BUTA), Malathion (MAL) および Acetanilide (ACET) の5種を用い、相互に比較検討した。

【結果・考察】 ラットでは、TS0投与により両系統で ISOC および ACET水解活性の誘導が認められ、その上、F344系では3MC投与により ACET水解活性が、LEW系では PCB投与により ISOC水解活性が誘導された。一方、マウスでは両系統ともに PCB投与により ISOC, BUTA, PNPA, MALの水解活性が誘導され、また、TS0投与では ISOC水解活性の誘導が認められた。さらに、C57BL系では3MC投与により ISOC水解活性の誘導が、DBA系ではTS0投与により BUTA および MAL水解活性の誘導がそれぞれ認められた。一方、誘導剤による CEaseアイソザイムパターンの変化を PAGE-Esterase活性染色法により検討した結果、今回用いた2系統のラットでは既に報告している SD系ラットの RL2に相当する染色バンドが TS0および PCBを誘導剤に用いた場合に増強された。このことから、phenobarbital等の他の誘導剤と同様に、F344および LEW系ラットでは RL2類似のアイソザイムがこれらの誘導剤により誘導される可能性が示唆された。また、マウスにおいては両系統共に PCB投与ですべての染色バンドが増強され、3MC投与においては C57BLの一部の染色バンドの増強が認められたが、DBAではみられなかった。以上の結果より、近交系を用いることによりラット、マウス共に誘導剤に対する肝CEaseアイソザイムの応答性の種差、系統差を一層明確にすることが出来た。

○山内 博<sup>1)</sup>、貝瀬利一<sup>2)</sup>、高橋啓子<sup>1)</sup>、山村行夫<sup>1)</sup>

聖マリアンナ医大、公衆衛生学<sup>1)</sup>、神奈川衛研<sup>2)</sup>

Trimethylarsine oxide (TMAO) は trimethylarsenic compounds (TMA) の一つであるが、その存在および生体内動態に関してはほとんど知られていない。TMAO は猛毒の trimethylarsine と毒性の低い arsenobetaine の中間体的な物質であることから、その毒性学的な解明が必要と考えられている。本研究は、動物実験での TMAO の代謝と排泄パターンについて検討した。

ハムスターに TMAO 10mg/kg body weight 一回経口投与した後、24時間目までの尿中ヒ素排泄率は  $86.9 \pm 11.1\%$ 、そして120時間では  $89.0 \pm 9.61\%$  であり、TMAO は極めて排泄の速いヒ素化合物であった。TMAO 投与後の尿中から検出したヒ素は TMA のみであり、GC/MS での測定から TMAO そのものであることが確認された。すなわち、TMAO は体内で脱メチル化されない、そして、arsenobetaine にも変換しないことが明らかとなった。投与後120時間目までの糞便中ヒ素 (TMA) 排泄率は  $0.56 \pm 0.44\%$  と微量であった。

TMAO 投与後の肝臓と血液中からは TMA のみが検出され、それぞれの最高値は1時間目に示され、その後は急速に減少して120時間目には検出されなかった。

TMAO をハムスターに 50mg/kg body weight 一回経口および腹腔内投与した結果、約十数分後の動物の呼気中からニンニク臭が感知された。GC/MS での測定から trimethylarsine であることが確認され、このことから TMAO は体内でその一部分は還元され呼気中排泄されることが明らかとなった。

マウスでの TMAO の LD<sub>50</sub> (経口) は約 8g/kg であり、TMAO はヒ素化合物のうちでは毒性は低く、arsenobetaine の毒性に極めて類似していた。

B 06 有機燐化合物Leptophosの静脈内投与後の神経系-および筋組織中濃度の動態

山内 徹、加藤 清司、紺野 信弘、福島 匡昭

福島医大・公衆衛生

ヒトを含むいくつかの種の動物に遅発性神経毒性を示めす有機燐化合物 Leptophos; 0-(4-bromo-2,5-dichlorophenyl)-0-methyl phenylphosphonothioate; 30 mg/kgを、ニワトリの静脈内に一回投与し、投与後1, 3, 6, 24時間目の神経組織(大脳、小脳、腰髄、坐骨神経)、前後肢の各筋組織、心筋および砂嚢壁中の Leptophos濃度を測定した。

神経組織については、投与後時間と共に濃度が漸増する坐骨神経を除いては、小脳、大脳では比較的速やかに濃度が減少したが、腰髄では緩徐であった。これは、演者等がこれまで報告してきた所見に一致するものであった。筋組織については、一般に後肢の各筋には前肢の筋よりも高濃度の Leptophosが残留する傾向を示した。また、筋組織の中では、赤筋/白筋など各々の筋の性状によると思われる濃度差が見られた。また、横紋筋である心筋や、平滑筋層が発達している砂嚢(筋胃)の筋層についても経時的に濃度を測定した。

これらの結果からLeptophosの示す遅発性神経毒性と神経系-および筋組織中のLeptophos濃度との関係を検討したので報告する。

○新井成之，赤堀文昭，政岡俊夫，鈴木立雄\*

麻布大学獣医学部薬理学教室，\*外科学第Ⅱ教室

ウサギに皮膚新鮮創を作成した後、Paraquat(PQ)を投与し、創傷部位におけるコラーゲンの増生が亢進するか、また、皮膚新鮮創がPQウサギにどのような影響を及ぼすかについて検討した。

方法：ウサギ(JW-NIBS，♀，10ヵ月齢，2.0～3.0kg)70匹を無作為に生食投与群(I群，10匹)，皮膚切皮+生食投与群(II群，20匹)，皮膚切皮+PQ投与群(III群，20匹)，PQ投与群(IV群，20匹)に割り付けた。皮膚新鮮創は、背部4ヵ所に作成し、切皮30分後にPQ25mg/kgまたは生食2.5ml/kgを2日間連続皮下注射した。初回PQ投与日を0日とし、3,5,10,20および32日目に麻酔下にて頸動脈より放血して、血液試料および肺を採材した。

成績：III群の10匹，IV群の14匹が実験途中で斃死した。

血清セルロプラスミン：II群はI群に比べ有意差はないものやや高い値を示して推移した。III群では3日目ならびに5日目に対照群に比べ有意に上昇した。しかし、PQ投与のみのIV群では3日目に上昇したものの5日目も同様の値であった。

血漿フィブロンネクチン：I、II群はほぼ同じ推移を示した。またIII、IV群はいずれも対照群に比べ3日目に高値を示し、5日目にはさらに上昇した。

肺ハイドロキシプロリン：PQ投与により急性死した例はいずれも対照例より低い値を示していた。しかし、屠殺例ではいずれの群も対照群との間に差は認められなかった。

皮膚ハイドロキシプロリン：現在、測定中である。

B 08 トリブロモメタン、ジブロモクロロメタン、プロモジクロロメタンの慢性毒性に関する研究

○会田喜崇<sup>1</sup> 高田幸一<sup>1</sup> 小林和雄<sup>2</sup> 内田雄幸<sup>1</sup> 安原加寿雄<sup>1</sup>  
鈴木康雄<sup>3</sup> 吉本浜子<sup>1</sup> 門馬純子<sup>1</sup> 中路幸男<sup>1</sup> 黒川雄二<sup>1</sup>  
戸部満寿夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立衛生試験所毒性部 <sup>2</sup>食品農薬医薬品安評センター  
<sup>3</sup>薬効開発研究会

水道水の塩素処理に伴って生成するトリハロメタン (THM) は、肝障害又は発癌性に関する知見の集積とともに、新たな環境汚染化合物として注目をあびている。我々は既にトリブロモメタン (TBM)、ジブロモクロロメタン (DBCM)、プロモジクロロメタン (BDCM) の急性毒性、マイクロカプセル化、1 か月間連続投与の成績を本学会に報告した。今回は上記3検体の慢性毒性、発癌性について報告する。

各検体をマイクロカプセルに封入し、表に示した濃度に粉末飼料に混合した後、1群40匹のWistarラットに摂取させた。途中6、12、18か月目に一部の動物を、24か月目には全ての生存動物を解剖し各種検査を実施した。途中死亡動物については肉眼所見を記録の後、可能なものについては組織病理学的検査を実施した。

Compound	Concentration (%)			その結果、生存率及び血液学的検査で 各検体とも変化は見られなかった。
	L	M	H	
TBM	0.04	0.16	0.65	TBMとDBCMはH群、M群で、BDCMはH群で体重増加抑制が見られた。血清生化学検査では各検体ともにT-GLYの減少、CHE活性の低下が見られ、肉眼所見では肝の黄色化、表面粗造が用量に相関して見られた。組織学的検査では肝に脂肪化、巣状壊死、小肉芽巣、胆管増殖、胆管繊維症等が各検体に共通して認められ、さらに、BDCMでは肝の結節性増殖、肝細胞癌、胆管肉腫、胆管線維腫などが対照群に比べ有意に増加し、発癌性が認められた。
DBCM	0.022	0.088	0.35	
BDCM	0.014	0.055	0.22	

○川崎 娟、関田清司、松本清司、落合敏秋、内田雄幸、  
中路幸男、降矢 強、黒川雄二、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

〔目的〕 フェノール樹脂および塗料などの原料として用いられている既存化学物質の1つである p-sec-Butylphenol (以下BPと略す) の毒性を調べる目的でラットによる慢性毒性試験を行ったので、その成績について報告する。〔方法〕 5週齢のSlc:Wistarラット1群雌雄各々40匹からなる5群を設け、0、1000、3000、10000および30000 ppmの濃度のBP混合飼料を24ヵ月間自由に摂取させ、6、12、18および24ヵ月目に血液学的、血液生化学的および病理組織学的検査を行った。〔結果〕 一般状態では、雌雄共に30000 ppm群で投与1週間目より下痢が見られ、日数の経過と共に発症数が増加した。また、6週間目から下腹部の脱毛が数例に見られた。体重では、雌雄共に10000 ppm以上の群で投与開始直後より抑制が認められた。血液生化学的検査では、6ヵ月目より雌雄共に各投与群で終始BUNの増加が見られた。臓器重量では、6ヵ月目より30000 ppm群で雌雄共に腎臓重量の増加が見られた。組織学的検査では6ヵ月目より10000 ppm以上の群で雌雄共に食道および胃で粘膜上皮の過形成、角化症および過角化症が、12ヵ月目より10000 ppm以上の群で腎臓の近位尿細管、集合管および腎盂部に変性が見られ、尿細管の拡張、膨化、石灰化、壊死を伴う変性、分泌物を伴う上皮の脱落、腎炎(腎盂炎を含む)、線維症、嚢胞および多発性嚢胞腎が認められた。糸球体およびポーマン嚢には著明な変化を認めなかった。

以上の結果から、本条件下におけるBP投与による影響として、食道、胃および腎臓に障害が認められた。



B10 芳香族ニトロ、アミノ化合物投与によるラット尿中  
酵素活性の上昇

○吉田宗弘、原 一郎

関西医大公衆衛生

【目的】芳香族ニトロ、アミノ (ANA) 化合物は血液障害を惹起することで知られているほか、一部 (p-Aminophenol (PAP)、p-Acetylaminophenol (PAAP)) には腎毒性も知られている。一方、われわれは ANA 化合物を取り扱う作業員では、腎障害の指標となるいくつかの尿中酵素の活性の上昇していることを認め<sup>1)</sup>。本報告は、ラットに何種類かの ANA 化合物を投与して、尿中酵素活性の変化を観察し、その腎毒性の程度を比較検討したものである。

【方法】7週齢のFischer 344 雄ラットに ANA 化合物を腹腔内投与 (1.0mmol/kg) した。投与した化合物は PAP、PAAP、Aniline、p-Anisidine (PAN)、p-Nitrophenol、p-Chloroaniline (PCA)、p-Nitrochlorobenzene (PNCB)、p-Nitroaniline (PNA)、の 8 種類である。投与後 48 時間の尿を採取し N-Acetyl- $\beta$ -D-galactosaminidase (NAG)、 $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GTP) 活性を測定した。

【結果】PAP を投与した群の尿中 NAG と  $\gamma$ -GTP 活性は、投与後 0~24 時間に対照群の 10 倍以上の値を示した。投与後 24~48 時間の PAP 投与群の尿中 NAG 活性は対照群よりも数倍高かったが、 $\gamma$ -GTP 活性は対照群との間に差がなかった。NAG の上昇は  $\gamma$ -GTP よりも長期間継続すると考えられる。PAN、PCA、PNCB、PNA 投与群では、投与 0~24 時間後の尿中酵素活性が対照群よりも若干増加していたが、PAAP を投与した群では尿中酵素活性の上昇は認められなかった。尿中酵素活性の上昇からみる限り、PAN、PCA、PNCB、PNA には PAAP を上回る腎毒性があると考えられる。<sup>1)</sup> 吉田、須永、原、勝又、南：第 61 回産業衛生学会講演集、p 279 (1988)

## B11 胎生期スチレン暴露による次世代影響——行動奇形学による検討

○岸 玲子、陳 炳卿、片倉洋子、池田 聡子、三宅浩次

(札幌医大・公衆衛生)

[目的] 催腫瘍性や胎児毒性および催奇形性の疑われている有機溶剤・スチレン暴露による次世代影響を行動奇形学の手法を用いて評価する。機能的に影響をとらえるために、仔動物の発育、生理運動機能の発達、知覚、情動性、平衡機能、活動性、学習能力、薬物への感受性等の諸指標について生後1日から成熟年齢に達するまで観察を継続しあわせて神経系各部位の Neurotransmitter の測定を行って、胎生期スチレン暴露が仔のどのような機能に影響を与えているかを検討する。

[方法] Wistar系ラットを交配し、妊娠7-21日目にスチレン 50 ppm、300 ppm 暴露を行った。生後発育は体重、歯牙萌出、開眼、腔開口を調べ、生理運動機能(棒把持力、断崖落下回避反応、ピボッテング、背地走性テスト、立ち直り反射)と知覚(聴覚反射、嗅覚リエンティン・テスト)は生後21日まで観察した。情動性(Open Field Test)、平衡機能テスト(Rota Rod Treadmill)、活動性(Automexによる24時間リズム)、学習行動(CRF、DRL12秒の獲得過程)の各テスト・バッテリーは生後各年齢に応じて観察を続けた。

[結果と考察] 生下時体重は300ppm(♂)が最も低く、差が見られた。生後発達の指標では、歯牙出現、立ち直り反射、聴覚反射、棒把持力は、50 ppm 暴露群でもコントロール群に比べて遅れが見られた。開眼の時期、背地走性、ピボッテイングは 300 ppm 群のみ有意の差が認められた。Open field test における情動性も300ppm(♂♀)50ppm(♀)に差が見られた。特に暴露群では Ambulation、Rearing の 回数が多かった。平衡機能は300 ppm 群のみ影響が認められた。24時間の自発行動は暗期、および新奇場面での活動性が300 ppm群で有意に高かった。オペラント学習ではCRF獲得過程のみ 50ppm、300ppm の両群ともコントロール群に比較して劣ったが、DRLでは差が認められなかった。胎生期スチレン暴露は許容濃度に近い比較的低濃度でも仔の発達に Dose dependent な影響を与えているものと考えられる。

B12 Acrylamide と関連物質の Neurofilament (NF) 代謝  
への影響

○谷井秀治, 林正男, 橋本和夫

(金沢大・医・衛生)

Acrylamide中毒でみられるNFの蓄積と軸索輸送障害の機序を明らかにするため、本物質及び関連物質で処理したラットの神経系でのNFの分解を調べて以下の結果を得た。1. 坐骨神経ではNF68Kの分解が5つの神経障害性化合物(acrylamide, N-hydroxymethylacrylamide, N-isopropylacrylamide, methacrylamide, 2,5-hexanedione)で抑制されたが、非障害性のdeacetone acrylamideには抑制作用がみられなかった。2. イミュノプロット分析により対照とacrylamide処理ラットでの坐骨神経NF68Kの分解パターンに違いが認められた。3. Acrylamide処理ラットの脊髄ではNFの3つのサブユニットのいずれの分解も対照に比べて阻害されていた。

本研究でみられたNF分解抑制の詳細な機序は明らかではないが、acrylamideと関連障害性物質はCa<sup>2+</sup>-activated neutral proteaseに作用することによりNF分解を抑制し、その結果中毒動物でみられるNFの蓄積や軸索輸送の阻害が現れると考えられた。

○河野 比良夫 徳永 力雄

関西医大 衛生

〔目的〕 鉛がヘム代謝系に影響しヘム代謝障害をもたらすことは広く知られているが、ヘム合成に関連する細胞の鉄代謝への影響に関しては十分に解明されたとは言い難い。本研究は細胞レベルにおける鉄代謝に及ぼす鉛の影響を明らかにすることを目的とし、今回は細胞に鉄を供給する役割を果たしているトランスフェリン受容体について検討したので報告する。

〔方法〕 ヒト赤芽球系白血病細胞（K562株）は10%の牛胎児血清を含むRPMI1640培地を用いて培養した。ヒト血清トランスフェリンは $[^3\text{H}]\text{NaBH}_4$  および $^{59}\text{Fe}$ -クエン酸を用いて標識した。細胞に存在するトランスフェリン受容体量は、Burnetteの方法を用いたウエスタン・ブロッティング法によって定量した。

〔結果および考察〕 鉛（50および100 $\mu\text{M}$ ）を含む培地中で48時間培養したK562細胞を用いて細胞によるトランスフェリン鉄の取りこみ量を測定し、鉛無添加の細胞と比較した。鉛を添加した細胞においては、添加した鉛量に依存したトランスフェリン鉄の取りこみ量の低下が認められた。次に、鉛を添加して培養したK562細胞の細胞表面トランスフェリン受容体量を測定した。鉛を添加して培養したK562細胞への $^3\text{H}$ 標識トランスフェリンの特異的結合量は、鉛無添加の細胞に比べて低値を示し、低下の程度は添加鉛量に依存していた。また、Scatchardプロットから、トランスフェリン受容体のトランスフェリンに対する親和性に、鉛添加による顕著な影響は認められなかった。以上の結果から、鉛添加によってK562細胞の細胞表面トランスフェリン受容体量が低下し、それに伴いトランスフェリン鉄の取りこみ量も低下することが示された。細胞に存在するトランスフェリン受容体量をウエスタン・ブロッティング法を用いて定量したところ、K562細胞のトランスフェリン受容体の総量に鉛添加による顕著な変化は認められず、細胞表面のトランスフェリン受容体量の低下が受容体の細胞内分布の変動に起因することが示唆された。

B14 鉛投与マウス、ラットにおけるポルフィリン代謝関連  
物質の変動

友国勝麿 市場正良

佐賀医科大学 地域保健科学教室

最近私共は、微量の尿サンプルを用いて $\delta$ -アミノレブリン酸（ALA）及びコプロポルフィリン（CP）を高感度に分析することの出来る蛍光HPLC法を確立した。本研究では、これらの分析法を用いて、鉛を投与したマウス、ラットにおける尿中ALA及びCPの排泄動態を明らかにすると共に、赤血球ALA-D活性並びに赤血球プロトポルフィリン（FEP）の変動も調べ、これらの成績を比較検討した。

およそ16週令の雄性、ddYマウス及びWistarラットに、鉛として200又は500ppmになるように酢酸鉛を溶かした飲水を2週間自由に与えた。投与終了後に末梢血及びスポット尿を集め分析に供した。鉛投与マウスの尿中ALA排泄量は、200ppm投与群では投与前の約3倍に、500ppm投与群では約10倍に増加したが、尿中CPは両投与群とも有意な排泄増加を示さなかった。一方、鉛投与ラットの尿中ALA及びCP排泄量は、500ppm投与群において、いずれも投与前の約3倍となり、有意な排泄増加が認められた。赤血球FEPについては、鉛を投与したラット、マウス共に有意な蓄積は見られなかった。

これらの結果より、鉛投与マウスにおける尿中ALA及びCPの排泄動態に顕著な差が認められる一方、ラットとマウスの間においてもポルフィリン代謝異常発現の程度に動物種差が認められた。

B 15 無機水銀およびメチル水銀の腸管吸収に対する  
レシチンの効果

○夏木令子, 亀井宣男, 高島英伍

摂南大学薬学部毒性学

【目的】レシチン(PC)はインドメタシンなどの薬物の経皮または腸管吸収を促進することを明らかにしてきたが, 水銀のような毒物の吸収に対する効果とその機構を解明するために二三の実験を行なった。

【材料と方法】検液として,  $\text{HgCl}_2$  または  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  の 20%エタノール懸濁液とこれにPC(2mg/ml)を添加したものを調製した。雄Wistar系ラット(180-200g)の小腸をとり, 2.5cm ずつ(約0.5g)に切り, 一端を結紮して検液30ul( $\text{Hg}$  36nmol含有)を注入して他端を結紮し, 5mlのRinger液(pH 7.5, 95% $\text{O}_2$ -5% $\text{CO}_2$ 飽和)中 37°Cでインキュベートした。一定時間後に外液へ移行した量をジチゾン法で, また遊離SHをDTNB法でそれぞれ測定した。また, 除毛したラット背部皮膚に検液20ul( $\text{Hg}$  24nmol)を塗布し30分後にその部分を $\text{HgCl}_2$ では50%エタノール,  $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ではベンゼンでふきとり残存量を求めた。

【結果と考察】 $\text{HgCl}_2$  の場合, 3時間後に腸管外へ移行した量は注入量の0.60%であったが, PC添加によって0.93%と有意に増加した。 $\text{CH}_3\text{HgCl}$ の場合は, 対照群の2.90%に対しPC添加によって5.16%と高かった。ラット背部皮膚での残存量は, $\text{HgCl}_2$ の場合38.9%であったが, PC添加によって21.7%,  $\text{CH}_3\text{HgCl}$ の場合は対照群の55.8%に対しPC添加によって25.9%と有意に減少した。小腸から遊離したSHはいずれも経時的に増加したが, PC添加で $\text{CH}_3\text{HgCl}$ によるSHの遊離増加を抑制した。これらの結果から, 水銀化合物の毒性を評価するにあたって, PCのような界面活性剤の共存に留意しなければならないことが示唆された。

## 水銀蒸気曝露後の水銀の代謝

○佐藤 洋<sup>1</sup> 吉田 稔<sup>2</sup>北大・医・衛生<sup>1</sup> 聖マリアンナ医大・公衆衛生<sup>2</sup>

水銀蒸気は、肺から吸入された後酸化されてイオン化水銀となる。このイオン化水銀は、胎盤透過性が低いが、一部酸化されずに残っている水銀蒸気は、容易に胎盤を透過して胎仔側に移行する。胎盤関門を越えて胎仔側に移行した水銀が、どのように代謝されるのか、また標的臓器にどのように蓄積するのかを、妊娠期間が長く子宮内での発育の進んでいるモルモットで検討した。妊娠後期のモルモットに、出産まで繰り返し水銀蒸気を曝露すると、母親の臓器だけでなく、出生した仔の臓器においても水銀濃度が上昇した。新生仔の水銀の体内分布は母親とは異なり、肝臓での水銀濃度の上昇が目立ち、脳の水銀濃度は、母親ほど上昇を示さなかった。高濃度の水銀蒸気に1回曝露した後も、胎仔の臓器中水銀濃度の上昇は、繰り返し曝露の場合と同様な傾向であった。この胎仔の肝臓上清をゲル濾過したところ、メタロチオネインと思われる分画に、多くの水銀が認められた。しかし母親の肝臓では、メタロチオネイン分画の水銀量は、はるかに少量であった。母親と胎仔の肝臓中のメタロチオネインを測定したところ、その濃度は胎仔の方が高かった。水銀蒸気の酸化を抑制することが知られているエタノールを投与した後、水銀蒸気に曝露したところ、胎仔の脳の水銀濃度が、エタノールを投与しない場合と同じように低い胎仔と、親の濃度に近くなる胎仔の2群に分別される傾向が見られた。同一腹の胎仔は、高低いずれにしても同一の傾向を示した。これらの胎仔の肝臓中の水銀濃度は、脳の水銀濃度の高い胎仔では低く、脳の水銀濃度の低い胎仔では高かった。胎仔肝臓の水銀濃度の高い群では、メタロチオネイン濃度が高かった。メタロチオネインは、出生前の胎仔の肝臓では濃度が高く、亜鉛や銅の代謝に関与していると考えられている。メタロチオネインは、必須元素の代謝だけでなく、胎盤関門を透過した水銀蒸気が酸化されて生成した水銀の代謝とも深く関わっていることが示唆された。

B17 マウスにおける亜セレン酸の毒性に対する  
軽度のリボフラビン欠乏の影響

小林香苗 鈴木継美

東大・医・人類生態

〔はじめに〕 飼料中のリボフラビンを欠乏させることにより、フラビン酵素であるグルタチオンリダクターゼ（GR）の活性を低下させることができる。GRの活性低下により亜セレン酸の代謝が進まず、セレノジグルタチオン（GSSeSG）が蓄積する可能性がある。この物質は、等モルの亜セレン酸（SS）より毒性が強いと報告されている（米元ら；1984）。本研究ではマウスを用い、リボフラビンの欠乏によりGRの活性低下を起こした時、SSの毒性がどのように修飾されるかを検討した。

〔方法〕 マウス（ICR系、雄）に4週齢よりリボフラビン（VB<sub>2</sub>）欠乏食を2週間給餌した後、頸静脈より採血し、赤血球中のGR活性および、フラビンアデニンジヌクレオチド（FAD）添加時のGR活性を測定した。VB<sub>2</sub>欠乏食の給餌2週間後にSSを30または60  $\mu\text{mol/kg}$ 、及び、給餌3週間後に70  $\mu\text{mol/kg}$  皮下注射し、体重変化率、死亡率をコントロール群（ベアフィーディングによる）と比較した。血漿中の酵素活性値（GOT、GPT、LDH、CK）を、SSの投与1週間後に測定した。

〔結果・考察〕 1) VB<sub>2</sub>欠乏群のマウスはコントロール群に比べGR活性が有意に低くなった。FADを添加した場合、欠乏群のGR活性は回復が見られた。2) SS投与による体重減少は、低い投与量時（30  $\mu\text{mol/kg}$ ）に欠乏群のマウスで有意に大きかった。欠乏群の死亡率（70  $\mu\text{mol/kg}$  投与時）は、有意に高かった。3) 欠乏群の血漿酵素（特にCK）活性値は、SSの投与1週間の時点で著しく高値であった。以上の結果からリボフラビン欠乏によるGRの活性低下は、SSの毒性を増強すると判断された。



西村 昌数

大阪府立大学・農学部・家畜薬理

【目的】亜鉛( $Zn^{2+}$ )はinositol 1,4,5-triphosphate (ins P3) 5-phosphataseを阻害する(Storey et al., 1984). 本酵素の阻害は, ins P3を蓄積させると予想される. Ins P3は細胞内において小胞体からの $Ca^{2+}$ の放出を促進すると考えられている(Berridge, 1984). 神経におけるそのような作用は伝達物質の放出を促進する可能性があり, 本実験ではその可能性を調べた.

【方法】Krebs-Ringer液中のddY系雄マウスの横隔膜筋標本において, 常法により細胞内電極を介して微小終板電位(MEPPs)を測定した. 脱分極液として10mM NaClを等モルのKClで置換した液(10mM K液)を用意した. また, KClをすべてNaClで置換したK除去液も用意した.

【成績】 $Zn^{2+}$  (10-100 $\mu$ M)は, 静止電位を変えずにMEPPsの頻度を上昇させた. この作用は一過性であり, 時間-, および濃度-依存性であったが,  $[Ca^{2+}]$ , および $[K^+]$ 依存性ではなかった. 低温下(24 $^{\circ}$ C)でその作用の頂値は抑制され, 潜伏期は延長された. 一過性作用の下降期には,  $Ca^{2+}$ 添加によるMEPPs刺激作用が消失した. dantrolene sodium (20 $\mu$ M)およびneomycin (200 $\mu$ M)は $Zn^{2+}$ 促進作用を部分的に抑制した. 両薬物は, 脱分極液に $Ca^{2+}$ を添加した時のMEPPsの頻度の上昇も部分的に抑制した. cadmium (5-50 $\mu$ M)および2,3-bisphosphoglycerate (100-200 $\mu$ M)も $[Ca^{2+}]$ に依存せずMEPPsの頻度を上昇させた.

【結論】 $Zn^{2+}$ の伝達物質遊離促進作用には神経内貯蔵 $Ca^{2+}$ が利用され, その遊離にはinositol代謝が一部関与する可能性がある.

## B19 亜リン酸トリフェニルの 遅発性神経毒性 (第2報)

— ニワトリにおける体内分布 —

○紺野 信弘、 加藤 清司、 山内 徹、 福島 匡昭

福島医大 公衆衛生

〔目的〕 亜リン酸トリフェニル (Triphenyl phosphite, TPPI と略記) はプラスチック用酸化防止剤、安定剤等として広く使用されている有機リン化合物である。最近我々はTPPIがニワトリに対してTOCP類似の遅発性神経毒性 (Delayed neurotoxicity) を惹起することを証明し報告した (日衛誌、43巻、207、1988)。今回はTPPIのニワトリ体内分布について検討したので報告する。

〔方法〕 成鶏 (24月齢) の翼下静脈内にTPPIを投与し、血液及び組織中TPPI濃度の減衰を検討した。静注液はTPPI (市販品) をDMSO, Tween80, 生理食塩水に順次溶解し調製した。血漿及び組織中TPPI濃度は前処理後FPD-GCで定量した。

〔結果及び考察〕 未変化体TPPIは血漿中より急速に減衰し、生物学的半減期は60分以下であった。坐骨神経と脚の筋肉に残留性が認められた。またTPPIは脂肪組織に溶解易く、長期間残留することがわかった。さらに、組織中濃度は投与量にほぼ並行して増大するが25と100mg/kg投与群とを比較した場合は、後者の各組織中濃度は前者の約10倍であった。また筋肉中濃度を赤筋と白筋に区別して測定した結果、赤筋のTPPI濃度は白筋に比べ平均値で約7倍も高値を示した。

〔まとめ〕 TPPIは坐骨神経と脂肪組織に残留性を示した。筋肉組織では白筋よりも赤筋にTPPIが高濃度に検出され、取り込みに明らかな組織選択性が認められた。神経毒性との関連では、特に筋肉組織中TPPIの動態が注目される。

○大島晋、高浜素秀

埼玉医大第二病理

ヒトの小葉中心性肺気腫は、加齢に伴って発生する慢性呼吸器疾患であるが、その発生には、加齢、喫煙習慣の他に、肺組織における汚染物質の沈着（炭粉沈着症）が関与していると言われている。本研究では、病理解剖例における小葉中心性肺気腫の強度と、年齢、喫煙歴、汚染物質の沈着および汚染物質中に含まれる元素量との関係について検討したので報告する。

《方法》 埼玉医科大学における病理解剖例97例（♂65、♀32）のホルマリン注入固定肺について、肺門部を通る最大断面の全分割組織標本を作成し、小葉中心性肺気腫の強度を左上葉の各プレパラートについて4段階（0～3）に判定し、各症例ごとの平均値（EM-Score）を算出した。又、同一症例の左上葉の一部をアルカリで溶解後、沈着粉塵を遠心分離し、波長分散型蛍光X線装置を用いて汚染物質中に含まれる元素の定量分析を行なった。肺気腫の強度と年齢、喫煙歴、炭粉沈着症との間の相関関係を統計的に解析した。

《結果》 小葉中心性肺気腫の強度と、年齢、喫煙指数、組織内汚染物質濃度のいずれとの間にも統計的に有意な相関関係が認められたが、汚染物質濃度との間の相関係数が最も大きかった（年齢； $n=97$ ,  $R=0.40$ 、喫煙指数； $n=76$ ,  $R=0.39$ 、汚染物質濃度； $n=91$ ,  $R=0.49$ 、いずれも  $P=0.01$ ）。肺気腫と汚染物質中元素との関係では、Si、Al、Fe、Cr、Mnの組織内濃度との間に有意な相関係数が得られた（ $R=0.33$ [Cr]～ $0.39$ [Fe]、いずれも  $P=0.01$ ）。これらの元素は、大気中浮遊粉塵、或いは喫煙粒子等に由来するものと思われる。

吉田 稔, 村尾紀子, 岩崎 真, 津田修治, 白須泰彦

(財) 残留農薬研究所, 毒性部

P=S型有機燐殺虫剤フェンチオン(MPP)ミストの吸入毒性に対する粒子サイズの影響を調べた。我々の研究室で開発した整粒装置付きミスト用鼻部暴露型チャンバーを用いて、フィッシャー(F-344)のSPF雄性ラット(8週令)に大粒子(MMAD  $6\mu\text{m}$ ,  $\sigma_g$  2.1)と小粒子(MMAD  $1\mu\text{m}$ ,  $\sigma_g$  1.4)のMPPミストを6時間暴露した。大粒子と小粒子のLC50はそれぞれ0.9mg/lと2.8mg/lであり、大粒子の方が小粒子より約3倍強い急性吸入毒性を示した。両者の中毒症状には質的な差はほとんどなかったが、大粒子の方が小粒子より長く持続した。死亡もまた同様な傾向を示した。同一濃度(0.6mg/l)で大粒子と小粒子をラットに6時間暴露したところ、暴露中の赤血球アセチルコリンエステラーゼ(AChE)活性の阻害は両者とも同程度であったが、大粒子の方が小粒子より長く持続した。脳のAChE活性の阻害もまた同様な傾向を示した。暴露中及びその後18時間における血漿中MPP濃度-時間曲線下面積は、小粒子の方が大粒子より1.3倍大きかった。血漿中MPP濃度は、60mg/kgの用量で経口投与した時の方が20mg/kgの用量で静注した時より非常に低かったが、赤血球AChE活性の阻害は経口投与の方が静注より強くかつ長く持続した。

以上の結果から次のような結論を得た。MPPミストの大粒子は吸入後鼻咽頭領域に沈着し、経口投与の場合と同様に、全身循環系に入る前に活性型の物質へ優先的に代謝され、強くかつ持続的なAChE活性の阻害を生じる。一方、小粒子は肺領域に沈着し、直接的に肺から全身循環系へ入る。

○大本美彌子, 今井常彦, 茂手木三男\*, 原田 孝\*, 金城弘明\*\*, 金子次雄\*\*

(東邦大・医・衛生, 同 整外\*, 江東微研\*\*)

1950年代以来リン酸塩の腎障害性の指摘があるが, リン酸塩の多様な化学性から近年極めて多目的広範囲に使用されている。予防医学的見地より長期的観察の必要性を重んじ1984年より観察を開始した。実験方法: 市販マウス飼料CE-7(日本クレア)にメタリン酸, ポリリン酸, ピロリン酸の各Na塩を混合比7:1.5:1.5にて0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0%の割合で添加しICR系雌マウス100例を各群に分け生後28日齢時より飼育。0, 1.0, 5.0%群は450日齢時, 0, 0.5, 2.0%群は680日齢時にて飼育終了。終了時点で血清中, 尿中Na, K, Cl, P, Ca, Fe, UA, CRE,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , 糞中Fe, Ca, 後肢ひらめ筋線維径, 肝, 腎, 筋, 膝関節部顕微鏡観察および脛骨軟X線写真観察 実験結果①血清中無機元素濃度: P以外は対照群と同値レベル, Pはリン酸塩添加濃度に比例して有意に高値, 尿中: P, Na, Feが有意に高値, Cl, Caは有意に低値でこれらの変化程度は添加濃度依存的。糞中: Fe, Ca共に高値傾向。血清中 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ : 添加群に有意に高値。脛骨軟X線像: 骨皮質菲薄, 骨梁菲薄, 骨多孔, アキレス腱石灰沈着, 骨棘形成, 変形性関節症様変化。膝関節軟骨部顕微鏡所見: 表層細胞の菲薄, 細胞数減少・喪失, 軟骨下骨への軟骨侵入, 骨棘形成, 多孔様変化。ひらめ筋線維径: I型, II型共に縮小。同組織顕微鏡所見: 筋萎縮, 筋線維大小不同, 中心核線維, 間質増生。肝組織: 核融解, 2核細胞, 核大小不同, 核濃縮, 壊死, 細胞浸潤, ヘモジデリン沈着, クッパー細胞活動活発。腎組織: 糸球体腫張・萎縮, 基底膜肥厚, PAS陽性顆粒沈着, メサングウム細胞増殖, 尿細管上皮細胞腫張・菲薄・脱落, 細胞浸潤, 尿円柱等 以上の諸所見はリン酸塩添加濃度に比例して強度化し, リン酸塩の影響は累積摂取量依存的に観察された。

文献 Datta, P.K. et al: J. Sci. Food. Agric. 13, 556 ('62), Dymysza, H.A. et al: J. Nut. 69, 419 ('59),

OMOTO, M. et al: Toxicology letters 31, suppl. 57 ('86),

大本他: 日衛誌42, 249~251('87), 日衛誌43, 500~501('88)

○永井 敬之, 高野 律子, 金馬 義平, 江頭 亨

山中 康光

大分医大, 薬理

Bifemelane は、脳血管障害後遺症に有効性を示す薬物として、抗アノキシア作用、脳虚血改善作用、記憶障害改善作用、自発脳波の覚醒作用を有することが明らかにされており、臨床的には脳血管障害患者の自発運動低下、感情障害、知的機能低下に有効であると報告されている。また最近 Bifemelane には活性酸素発生阻害作用、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> 活性阻害作用があることが明らかにされつつある。これらの作用は細胞膜の脂質過酸化を抑え細胞の障害を阻止することが推測される。そこで今回、我々は Bifemelane の肝細胞に対する効果を肝ミクロゾーム薬物代謝酵素、酵素依存性脂質過酸化反応について検討した。

7週令の Wistar 系雄性ラットに Bifemelane 100 mg/kg を3日間連続経口投与した。その後、肝臓を摘出し常法により microsome を調製した。この microsome を用いて、生食投与群と比較検討した。その結果 Bifemelane 投与により cytochrome P-450 含量、NADPH cytochrome P-450 reductase および aminopyrine N-demethylase 活性はわずかに上昇した。しかし、cytochrome b<sub>5</sub> 含量には殆ど影響なかった。一方、NADPH 依存型脂質過酸化反応は生食群に比較して抑制された。また、in vitro の実験でも NADPH 依存型脂質過酸化反応は低濃度の Bifemelane で抑制された。

NADPH 依存型脂質過酸化反応が抑制されることは、肝組織中の過酸化脂質も抑制される可能性が考えられ、現在このメカニズムについて検討中である。

B 24 薬物投与による肝の常在性チトクロームP-450 の  
減少とその作用機序

山添康、島田美樹、村山典恵、加藤隆一

慶応大・医学部 薬理

目的・肝の薬物代謝酵素活性は種々の薬物投与によって変動する。薬物代謝活性が増加する現象は酵素誘導として良く知られており、その作用機序も比較的詳しく研究されている。しかしながら薬物投与により特定の薬物代謝活性が低下する機構については不明の点が多い。最近、我々は肝の常在性チトクローム P-450(P-450) が内分泌ホルモン、殊に成長ホルモンによって調節されていることを明らかにした。これらの結果は薬物が直接肝に作用するだけでなく、視床下部・下垂体系に作用することによっても肝P-450 分子種の含量変化を起こしている可能性を示唆した。そこで正常ならびに下垂体摘除ラットを用いて薬物投与による肝P-450-male含量低下の作用機序について検討を行った。

結果／考察・雄ラット肝における主P-450 分子種のP-450-maleはフェノバルビタール、3-メチルコランスレン、デキサメサゾン等の薬物を投与することによって無処置対照の30～70%程度にまで減少した。下垂体摘除ラットに同様の処置を行ったところ、デキサメサゾン(100mg/kg) 投与によってもP-450-male含量の低下が認められたが、フェノバルビタールや3-メチルコランスレン投与によってはP-450-male含量が低下しなかった。これらの結果からフェノバルビタールや3-メチルコランスレンは下垂体ホルモン、おそらくは成長ホルモンのレベルを変動させることによってP-450 レベルを変化させていることが示唆された。

○真板敬三, 乾 公正, 白須泰彦

残留農薬研究所

TOCP (tri-ortho-cresyl phosphate) は合成ゴム, プラスチック製品の可塑剤として用いられるとともに, 農薬における遅発性神経毒性試験の陽性対照物質としてもよく知られている。本剤の肝毒性は, 神経毒性の研究者の間では一般的に知られているが, その詳細を検索した報告は少ない。今回は, F344雄性ラットにおける1回投与後の変化について報告する。

(方法) : 1群4~6匹を用い, 一晚絶食後TOCP 1,000 mg/kg (LD<sub>50</sub>値の1/3) を経口投与し, 6, 24, 72時間後に無麻酔下で断頭殺し肝を採取した。秤量後約0.5gを25% HPO<sub>3</sub>・0.1Mリン酸・EDTA緩衝液中に採取し, 約2.5gを1.15% KCl・EDTA液中に浸漬した。それぞれをGSH, チトクロームP-450 およびたん白質の測定に供した。残りの肝を用いて光学顕微鏡および電子顕微鏡的観察を行った。

(結果) : 1. GSH ( $\mu\text{g/g} \cdot \text{liver}$ )は6時間後より増加し, 24, 72時間後も高値を持続した。2. チトクロームP-450 ( $\text{nmol/mg} \cdot \text{prot.}$ )は6時間後より減少傾向を示し, 24時間後に対照群の55%に低下したが, 72時間後には回復していた。3. 組織学的には, 小胞体の拡張が初期の超微的变化であった。時間の経過とともに肝小葉周辺帯細胞の腫大, 壊死が顕著になった。



B26 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

渡部浩治 吉田俊夫 花田貴宣 三木寿雄

山之内製薬株式会社 開発研究所 安全性研究所

毒性試験においてしばしば遭遇する肝臓肥大は、肝薬物代謝酵素誘導との関連からも注目すべき所見である。しかし、病理組織所見を待たずに毒性試験における通常の測定からこの変化を的確に捕えることは容易ではない。

前回、我々は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血漿生化学検査値の変化を予備的に観察した。今回は、静脈内投与したアンチピリンの血漿中からの消失(Antipyrine test)を主な指標として、フェノバルビタール投与期間中の肝薬物代謝酵素誘導能の変化を調べ、その他の生化学的変化との関連に関する若干の知見を得たので報告する。

各群雌雄各2匹のビーグル犬にフェノバルビタールをそれぞれ0, 5, 20, 60 mg/kg/day経口投与した。

アンチピリン静注後の血漿中濃度の変化をHPLC法にて測定し、このデータにpharmacokineticsによる解析を加えた。その結果、20および60 mg/kg/day投与群で投与2週後から半減期の短縮およびクリアランス値の増加に代表される代謝能の亢進が認められ26週まではほぼ同じ代謝能を維持した。また、投与したフェノバルビタール自体の代謝も亢進していることを示すデータが得られた。すなわち、20および60 mg/kg/day投与群で、投与開始時には投与2～4時間後に最高血漿中濃度に達しその濃度を24時間後まで維持したが、投与13週後には最高血漿中濃度に達した後減少し24時間後には投与時のレベルに復帰した。

血漿生化学検査では、20および60 mg/kg/day投与群で前回と同様に3～7週後からアルカリホスファターゼの上昇およびアルブミンの低下が確認された。

## B 27 ラットにおける黄芩の胎仔器官形成期投与試験について

○金成勲，金容華，韓相爰，盧正久

韓国化学研究所

妊婦にも使われている漢方薬の黄芩 (*Scutellaria Radix*) が mutagen である事が明らかになっている。そこで、今回演者らは黄芩が teratogen になるかについて検討したので報告する。

(材料及び方法)

試料100gに蒸留水 1ℓを加え薬湯器内に入れ、2時間位煮沸した後ろ過ぎさせた。その後溶液を減圧濃縮させ試験に用いた。供試動物はS・Dラットを各群につき、妊娠動物30頭ずつ用いて対照群 (I群)，0.25g/kg/day (II群)，12.49g/kg/day (III群) 及び 24.98g/kg/day (IV群) に分けた。実験方法としては日本厚生省指針 (生殖試験, Seg II) にしたがった。

(結果)

骨格標本検査でExtra-ribの出現率が、対照群であるI群の13.2% (16/121頭) に比べ、II群15.03% (23/153)，III群21.68% (31/143)，及びIV群49.50% (49/99) であり、dose-responceが表われた。

内部臓器奇形では尿管拡張をはじめ心室中隔欠損などの奇形が表われたが、その比率はI群2.1%，II群4.4%，III群16.0%及びIV群15.2%であった。

その他、体重変化、飼料及び水の摂取量、再吸収、生存胎仔数、妊娠黄体数などは有意差を認めなかった。

## B28 GSII低下肝細胞を用いた間充織組み込み型培養法 における薬剤の影響

<sup>0</sup>高木 史朗、鈴木 則男、高山 敏

第一製薬(株) 中央研究所 安全性研究センター

薬剤の肝毒性をIn Vitroで評価する方法として初代培養肝細胞を用いた毒性試験法が広くもちられているが、肝毒性発現に重要な肝薬物代謝酵素であるチトクロームP-450(P-450)活性は培養中に急速に低下する。また P-450によって肝毒性を発現する薬剤を解毒する還元型グルタチオン(GSII)は培養肝細胞に多く含まれている。そこで我々は P-450を高く維持するために間充織組み込み型の培養法を開発し、本培養法にphoroneを前処置してGSIIを低下した肝細胞を用いてacetaminophen(AP)の細胞障害性を比較検討した。間充織としてSwiss albino mouse、contact-inhibited fibroblasts(3T3)のfeeder layerを96穴マイクロプレートに作製した。翌日、5週令のSlc:SD系雄ラットに phorone 250mg/kgを腹腔内投与し、2時間後にコラゲナーゼ還流法でGSII低下肝細胞を分離して3T3のfeeder layer上に蒔いた。播種3時間後に AP 0, 1, 4および16mMを溶解した培養液に交換し、18時間培養後に細胞障害の指標として細胞生存性をMTT法で比色定量した。肝細胞は間充織組み込み型培養法により P-450活性が肝細胞のみの培養法と比べ高く維持された。コラゲナーゼ還流前に phoroneを処置することによりGSIIが10%以下に、P-450が80%以上に維持された肝細胞を得ることができた。それぞれの培養系を用いてAPの細胞障害性を比較したところ、間充織のみおよび phoroneを前処置しない肝細胞のみではAPにより細胞生存率の低下は見られなかったが、両者の混合培養系ではAP16mMで生存率が低下した。また、GSII低下肝細胞と3T3の混合培養系ではAP 1mMから生存率が低下して最も強い毒性が観察された。

B29 毒キノコ水性抽出物および $\alpha$ -アマニチンの  
ラット遊離肝細胞におよぼす影響

○川地晶子, 夏木令子, 曾根知道, 高島英伍, 山浦由郎※

摂南大学薬学部毒性学, 長野県衛生公害研究所※

【目的】食中毒原因キノコの鑑別に利用するため, 毒キノコ水性抽出物のマウス肝臓・血液の諸成分・酵素に対する作用を検討してきたが, 今回はラット遊離肝細胞におよぼす影響を調べ, タマゴテングタケなどの毒成分である $\alpha$ -アマニチンについても検討した.

【材料と方法】アミガサタケ, ドクツルタケ, フクロツルタケ, カブテングタケ, タマシロオニタケに湿重量の3倍量の純水を加えて煮沸後のろ液を検液とした. 6週令雄SDラットからコラゲナーゼ灌流法で肝細胞を遊離し,  $2 \times 10^6$  cells/ml懸濁液を調製した(trypsin blue 染色法でviability 93%以上). 対照群のほか, 各キノコからの検液を1 or 5%添加, アマニチンを1 or 5 $\mu$ M添加しインキュベートした(37°C). 一定時間後にviability(LDH), GSH量, 細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度(Fura2/AM), phosphorylase活性, アマニチンについては細胞内への $^{45}Ca$  uptake,  $^3H$ -inositolと $^{14}C$ -cholineのphosphatidylinositol(PI)とphosphatidylcholine(PC)への取り込みも測定した.

【結果と考察】細胞viabilityにはいずれも影響が無かったが, GSHは5時間後に各キノコ検液とアマニチン群で有意に減少した. 細胞 $Ca^{2+}$ 濃度はマウスで肝毒性が強いドクツルタケ, タマシロオニタケとアマニチン群で低下した. アマニチンによる細胞内 $Ca^{2+}$ 減少と $^{45}Ca$  uptake低下は用量依存的で,  $Ca$ 遊離の促進が示唆された. またinositolのPIへの取り込みは変化しなかったがcholineのPCへの取り込みは低下した. これらの結果から, 遊離肝細胞への作用を毒キノコの試験に利用できる可能性が認められ, アマニチンは細胞内情報伝達物質に影響を与えることが示唆された.

○曾根知道, 川地晶子, 夏木令子, 磯部正和, 高畠英伍

摂南大学薬学部毒性学

【目的】近年, 遊離肝細胞は *in vivo*に近い実験系としてホルモン応答など生理機能の調節機構に関する研究のみならず, 生体異物の代謝ならびに毒性発現機構の解明など, 多方面の研究に用いられている。今回, 強力な発ガン物質であるAflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)の細胞機能に与える影響について, 遊離肝細胞を用いて検討した。

【材料と方法】6週令雄Wistarラットからコラゲナーゼ灌流法で肝細胞を遊離し,  $2 \times 10^6$  cells/ml 懸濁液を調製し, そのviabilityはtrypan blue exclusion test およびLDH latency testにより測定した。37°Cでインキュベートし, 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度はFura2/AM法, 細胞内へのCa uptakeは<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>を用いて測定した。

【結果と考察】細胞viabilityはインキュベーション5時間後でも対照群, AFB<sub>1</sub>群(0.1, 1, 10 μM)ともに高い値を維持していた。一方, 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度は経時的にAFB<sub>1</sub>の用量に依存して減少し, 5時間後で対照の50%以下まで低下した。また, 細胞内へのCa uptakeも用量依存的に促進された。これらの現象から, AFB<sub>1</sub>による細胞内Ca<sup>2+</sup>の放出または消費の増加が示唆される。また, AFB<sub>1</sub>の発ガン性に関連づけてラット肝プロテインキナーゼ活性の変動が報告されているが, 遊離肝細胞ではphosphorylase活性がAFB<sub>1</sub>により上昇される傾向が観察され, 細胞内Ca<sup>2+</sup>の動きがこれらの細胞内酵素活性の変動に関係しているものと推察された。

細胞機能の調節には細胞内の情報伝達物質が重要な役割を演じていることから, AFB<sub>1</sub>が細胞内Ca<sup>2+</sup>の動きに大きな影響を及ぼすことは, AFB<sub>1</sub>の毒性発現機構のなかで一つの要因と考えられる。

B 31 ラット肝前癌病変を指標とした中期発癌検索法による高麗人参抽出物、酸化防止剤、高脂血症治療剤及び染料の発癌修飾作用の検索

中村 厚<sup>1</sup>、山口 修司<sup>1</sup>、務台 衛<sup>1</sup>、津田 洋幸<sup>1</sup>、  
今井田 克己<sup>1</sup>、伊東 信行<sup>1</sup>、李 榮純<sup>2</sup>

1 名市大・医・1病, 2 ソウル大学・獣医学科

ラット肝の前癌病変である胎盤型 glutathione S-transferase陽性細胞巢(GST-P<sup>+</sup>)を指標とし、化学物質の発癌ならびに発癌修飾作用を8週間の短期間に判定できる中期検索法を開発した。この方法では既知の肝発癌物質の90%は陽性を示し、また、発癌抑制物質の検索も可能であることから、実際的に有用な検索法であることを示してきた。今回は、本法を用い高麗人参抽出物(Ginseng)、酸化防止剤であるcurcumin及びdihydroguaiaretic acid(DHGA)、高脂血症治療剤のprobucol、染料のHC blue No.1及びNo.2の検索を行った。方法：6週齢F344雄ラット287匹を用いdiethylnitrosamine(DEN) 200mg/kgを1回i.p.投与し、その後実験第2週から被験物質のGinseng(0.3, 1, 3%), curcumin(0.3, 1%), DHGA(0.3, 1%), probucol(1, 5%), HC blue No.1及びNo.2(0.06, 0.3%)を混餌投与(各15~16匹)し、実験第3週に2/3部分肝切除(PH)を行い、全経過8週で屠殺した。DEN(+PH)のみの群(15匹)を対照群とし、被験物質(+PH)のみの群(各5匹)も設けた。結果は肝のGST-P<sup>+</sup>個数/cm<sup>2</sup>及び面積(mm<sup>2</sup>)/cm<sup>2</sup>を計測し、それらの値を対照群と比較検討した。結果及び結論：対照群のGST-P<sup>+</sup>の個数、 $5.11 \pm 2.08/\text{cm}^2$ 、面積、 $0.39 \pm 0.18\text{mm}^2/\text{cm}^2$ に対し、0.3% HC blue No.1では個数( $7.15 \pm 2.11/\text{cm}^2$ )において有意な増加( $P < 0.05$ )が認められた。しかし、他の投与群では個数及び面積とも有意差は認められなかった。以上より、HC blue No.1は本法で陽性となり、長期発癌性試験と一致した結果が得られ、Ginseng, curcumin, DHGA, probucol及びHC blue No.2は発癌の促進・抑制いずれの作用も有しないと考えられた。

岡崎修三、星谷達、堀口浩資、宮岸昌子、鈴木武士、沼田弘明

(株)ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

プレドニゾロンを陽性対照として用いたラットの毒性試験において、肝ミトコンドリアの肥大がみられた。肝ミトコンドリアの巨大化は、特定の栄養素欠乏、アルコール、エチオニン、ヒドラジン等種々の薬物のほか、コーチゾン投与で発現することが知られている。今回、プレドニゾロンのラット肝ミトコンドリアに対する影響を検討したので報告する。15mg/kg/day のプレドニゾロンをSD系6週齢の雄ラットに2週間連続皮下投与し、約16時間の絶食後に肝を摘出し、光顕および電顕による検索に加え、さらにミトコンドリア分画を調製し、チトクロム含量の測定を行った。肝の体重比重量は対照群の約2倍であった。光顕ではグリコーゲンの蓄積が著明であり、この変化は小葉中間帯に特に強くみられた。また、限局性壊死が多数例にみられ、うち半数例では単細胞性壊死もみられた。電顕では、小葉全領域におけるグリコーゲン顆粒の著明な沈着とともに、ミトコンドリアの大型化および数の減少がみられた。大型ミトコンドリアでは、クリステの形状および配列に著変はみられなかったが、マトリックス電子密度の増加傾向がみられた。なお、結晶様封入体の出現はみられなかった。ミトコンドリア蛋白質（肝重量当り）は50%以上の減少、チトクロムc 含量は約30%の減少、一方チトクロムb 含量は約30%の増加がそれぞれみられ、形態変化とともに機能の異常も示唆された。

B33 ナトリウム透過性促進薬とウワバイン共存下の  
攣縮反応および酸素消費

栗野 秀人・大谷 裕也・西村 昌数・矢崎 修

大阪府立大学・農学部・家畜薬理

【目的】前回の本学会において、neostigmine存在下で神経刺激されたマウス横隔膜神経筋標本の攣縮は $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ の活性と共役する可能性を示した。本実験では、 $\text{Na}^+$ 透過性促進薬存在下の攣縮および酸素消費におよぼすouabain (OUA)および $[\text{K}^+]$ 除去の影響を調べた。

【方法】 $36^\circ\text{C}$ のKrebs-Ringer液( $10\mu\text{M}$  d-tubocurarine含有)中で、マウスの横隔膜筋を $100\mu\text{sec}$ , 120%最大上刺激電圧, 0.1-40Hzの矩形波で刺激し、張力および浴液中の酸素濃度を測定した。また単一筋線維を150-300 nAの外向き電流で刺激し活動電位を誘発した。

【成績】OUA ( $5\mu\text{M}$ )は単独で攣縮を抑制することはなかったが、veratridine (VRT, 300nM), aconitine (ACN,  $1\mu\text{M}$ )およびmonensin ( $30\mu\text{M}$ )存在下の攣縮を抑制した。VRT-OUA間の拮抗関係は $[\text{K}^+]$ に依存し、また $[\text{Ca}^{2+}]$ 。除去液中では促進された。caffeine (2 mM)は攣縮を増強したが、その作用はOUAの単独あるいはVRTとOUAの共存下でも抑制されなかった。VRT存在下のOUAの添加は、静止電位、活動電位およびovershoot電位を共に減少させ、活動電位のtime to peakとその持続を共に延長させた。高頻度(20Hz)刺激は酸素消費を促進したが、OUAは単独で、またACN共存下でもこれを抑制した。OUAの添加および $[\text{K}^+]$ 除去は、tetraethylammonium (10mM)あるいは4-aminopyridine ( $200\mu\text{M}$ )存在下の攣縮を抑制しなかった。

【結論】 $\text{Na}^+$ 透過性促進薬存在下の攣縮は $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ の活性と共役している可能性が高い。 $[\text{Na}^+]_i$ の蓄積は攣縮を抑制すると思われるが、その作用は膜の興奮過程で果たされる可能性がある。



B34 培養腎上皮細胞(NRK-52E)におけるシスプラチンの  
細胞毒性

○福石 信之、 玄番 宗一

大阪薬科大学 薬理

シスプラチンは、優れた抗悪性腫瘍作用をもつが、副作用として腎障害を引起す。ラットにおけるシスプラチン腎障害が、抗酸化剤により軽減されることが報告されている。

今回、我々は、ラット腎由来の培養腎上皮細胞(NRK-52E)を用い局在性が異なると考えられる酵素の培養液中への遊離を指標としてシスプラチンの細胞毒性を検討した。併せて、その毒性に対する抗酸化剤の影響についても検討を加えた。

NRK-52E は、5% 牛血清および1% MEM非必須アミノ酸を含むダルベッコ改変イーグルメディウムを用い、37℃、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター内で培養した。

NRK-52E 細胞の増殖は、培養開始48時間後からシスプラチンにより抑制された。シスプラチンは、N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG)、および $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP) の、培養液中への遊離を48時間後から、lactate dehydrogenase(LDH)の遊離を72時間後から増大した。

アスコルビン酸(250  $\mu$ M)は、シスプラチンによるNAG、およびLDHの培養液中への遊離を有意に抑制した。しかし、アスコルビン酸は、シスプラチンによる $\gamma$ -GTPの遊離や細胞増殖抑制には影響しなかった。

このように、アスコルビン酸による回復効果が異なるので、培養細胞におけるシスプラチンの毒性には、細胞内部位により異なった発現機序があると考えられる。他の抗酸化剤の結果についても報告する。

## B35 セファロリジンによる腎毒性発現機序：特に酸素ラジカル 消去系の酵素の変動について

鈴木義裕、 須藤純一

東日本学園大学、薬学部、毒理学講座

セファロリジン (CER) による腎障害の原因となる毒性とその防禦機構を解明するために、腎脂質過酸化と酸素ラジカル消去系の酵素であるスーパーオキシドディスムターゼ (SOD)、カタラーゼ (CAT)、グルタチオンパーオキシダーゼ (GSH-Px) 活性の変化について検討した。加えて、抗酸化物質の一つとして、グルタチオン (GSH) とその酸化還元サイクルの挙動について調査した。

雄性ウイスター系ラットに CER 500, 1,000 mg/kg を単回静脈内投与することによって、腎障害の指標である BUN は 1 日後から増加し、3 日後にピークを示した。しかしながら、脂質過酸化の指標であるマロンアルデヒド形成量は投与後数時間内に増加し、1 日以降その増加は更に著明に観察された。SOD 活性は 12 時間以降から、CER の投与量の増加に依存して活性の減少が観察された。CAT 活性は 1 日以降から減少し、3 日後にピークを示した。

GSH 酸化還元サイクルの酵素である GSH-Px, GSH リグクターゼは CAT の変化と類似していた。グルコース-6-リン酸脱水素酵素は上述の酵素とは全く逆の挙動を示し、12 時間後から有為な増加が観察された。一方、酸化型、還元型 GSH は CER 投与後数時間内に変化し、GSH 含量の減少と GSSG 含量の増加が認められた。CER 100 mg/kg 投与群ではいずれも測定した酵素に変化は認められなかった。

以上の結果から、CER 投与による腎障害発現の一因は、6 時間以内に起こる GSH に代表される抗酸化物質の減少と、12 時間以降に起こる酸素ラジカル消去系の酵素の減少によって引き起こされる腎脂質過酸化の増加であるものと推察された。

B36 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  
(5). アミノグリコシド系抗生物質による脂質代謝異常

清宮健一、松下直子、川村研治、暮部 勝

明治製菓株式会社 薬理安全性研究所

演者らは、近位尿細管の性質を保持しているとされているブタ腎由来の株化細胞(LLC-PK<sub>1</sub>細胞)を用い、アミノグリコシド系抗生物質(AG)によってミエリン様小体の形成、細胞内リン脂質(PL)含量、特に phosphatidylinositol (PI)含量の増加および PI-specific phospholipase C (PI-PLC)活性の抑制などが惹起されることを報告した。今回は、この LLC-PK<sub>1</sub>細胞に対するAGの腎毒性の性質をより明確にするために、AGの蓄積と脂質代謝との関連性について若干の検討を行い、以下のような結果を得た。

培養液中に1～5 mMのgentamicin(GM)を添加し、培養すると経時的にGMは細胞内に取り込まれた。GMは刷子縁膜(BBM)分画では細胞ホモジネートに比べ蛋白量当たり約2倍、ライソソーム(Lys)分画では約5～10倍の高い濃度で分布した。また、BBM分画のPL含量はGMの添加量に依存して増加した。Lys分画のPL含量はGM 1mMの添加の場合のみに増加し、さらに、蛋白含量の増加も認められた。このLysのPL含量の増加は電子顕微鏡観察でのdensebodyの出現率および出現の時期とはほぼ一致し、また、高濃度のGMで認められたミエリン様小体の出現率とPL含量の増加とは必ずしも一致しなかった。

以上の結果から、AGはPI-PLCなどのPL分解酵素を直接阻害することによりBBMやLysなどのPL含量の増加を惹起すると考えられる。Lysにおけるdensebodyの出現はPL含量増加と密接に関係しているために、PL代謝異常に基づくものと考えられるが、それ以後に出現するミエリン様小体形成はPL代謝異常のみならず他の要因も関与していることが示唆される。

○鄭圭銘、内田信一、遠藤仁

東京大学医学部薬理学教室

Aspergillus と Penicillium に属する各種真菌で産生された Ochratoxin A (OCTA) は自然環境に広く分布しており人間を含めた動物に障害を与える可能性を有している。この OCTA はヒトでの Balkan nephropathy を惹起させる物質とも考えられている。現在まで OCTA については酵素化学的、形態学的手法による研究が主として展開されており、生体内では強い腎毒性を発現させることが指摘されている。従って本研究ではラットの単離ネフロンを用いて *in vitro* の系で ATP 代謝回転に及ぼす OCTA の影響を検討した。体重 220 ~ 250g の雄性ラットを断頭直後に 0.1% collagenase で腎を灌流し、ネフロン構成分節を単離して実験材料とした。各種基質と OCTA 存在、非存在下に各分節を一定時間反応させ、細胞内 ATP 含量を Luciferin-luciferase bioluminescence 法で測定した。OCTA による細胞内 ATP 含量は  $10^{-7}$  M の低濃度の OCTA でも著しく低下し ( $P < 0.05$ ) 特に、このような反応は近位尿細管の中間部 (S2 部位) で顕著で、この低下は明らかな OCTA の用量依存性を示した。陰イオン性有機酸の輸送系抑制薬 Probenecid は 0.4mM で OCTA による ATP 低下作用を有意に抑制した。以上の結果は我々が既に報告した尿細管特異膜酵素の遊離を指標とした *in vivo* 及び *in vitro* の実験結果とよく一致していた。Probenecid による ATP 含量への作用は主に OCTA の Na 依存性細胞内移入の抑制を介して Na Pump (Na, K-ATPase) に消費される ATP の温存によるものと考えられるが、細胞内流入 OCTA による ATP 産生抑制の可能性も否定できない。ATP は細胞内環境の恒常性維持に不可欠の Primary energy source であり、細胞機能の良い indicator とも言える。従って化学物質の毒性を評価する実験において、標的臓器を構成する細胞内 ATP 代謝回転の測定は新しい鋭敏な方法に成り得るものと考えられる。

B 38 p-Dichlorobenzene (p-DCB)によるラット腎毒性発現の  
性差に関する研究

○梅村隆志、高田幸一、佐井君江、河村葉子\*、内山貞夫\*、鎌田栄一  
小川幸男、若菜雅美、鈴木幸子、金子豊蔵、黒川雄二

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター毒性部、\*食品部

演者らは、p-DCBをラットに吸入暴露すると、p-DCBの臓器内蓄積量、生化学的及び病理組織学的検索結果に性差の認められることを第4回毒性病理学会において報告した。その中で我々は、雄ラットの腎臓に、特徴的なEosinophilic bodyの著明な増加を認めた。このEosinophilic bodyについては最近盛んにその研究がなされ、性ホルモン依存性の雄ラット尿中主要蛋白との関連が示唆されている。

そこで今回、雌雄のF-344ラット8週令(8W♂、♀)、4週令(4W♂、♀)精巢(卵巣)摘出8週令(Cast, Ovx)にp-DCB300mg/kgを強制経口投与12時間後に再び同量を強制経口投与して、12時間後に解剖し、血清肝腎及び脂肪中のp-DCB量、病理組織学的検索、さらに4W♂、♀を除く動物について、血清及び肝臓中の生化学的検査を実施した。また、同様の動物を用意して、p-DCB500mg/kg単回強制経口投与し、投与後の24時間尿を採取し、尿中蛋白量を測定するとともにp-DCB投与による毒性発現の性差について検討を行った。

結果：p-DCB量では、卵巣摘出により肝臓、腎臓及び脂肪中の量が8W♀に比べて有意に増加したが、精巢摘出による有意な変化は認められなかった。また、4W♂は脂肪を除く各臓器中で8W♂に比べて4W♀は肝臓中で8W♀に比べて有意に低かった。生化学的検査では、8W♂で見られた血清Total cholesterol量の対照群に対する有意の減少は精巢(卵巣)摘出により逆に上昇した。しかし、血清および肝臓のGOT、GPT及びALPに見られた変化に対する精巢(卵巣)摘出の影響は認められなかった。病理組織学的には、Eosinophilic bodyが8W♂及びCastに認められた。尿中蛋白は、分子量15000~20000程度のものが雄の8週令投与群と対照群に認められ、その他の群にはほとんど認められなかった。以上の事より、p-DCB投与による毒性発現の性差に対する精巢摘出の影響は明らかではなかったが、精巢摘出ラットへのEosinophilic body出現等興味深い結果が得られた。

菅井象一郎、村田共治

クミアイ化学工業（株）生物科学研究所

ウサギ眼一次刺激性誘発に関与する化学構造検索のため、既知有機化合物70種のウサギ眼一次刺激性を調べ、化学構造との相関性を定量的に解析した。

化合物はサリチル酸誘導体11種、有機リン系化合物5種、プリン誘導体6種、アルコール類6種、アミノ酸5種、ベンゼン誘導体8種、その他29種を用いた。化合物の眼一次刺激性評価はDraize法に従った。眼粘膜障害度は障害の回復時間を基準に3等級に分類した。観察期間中、障害が軽度で処理後24時間以内に回復する化合物を等級1、3週間以内に回復する化合物を2、回復しない化合物を3とした。刺激性と化学構造の相関性は部分構造に関する35種の記述子を用い、適応最小二乗法（ALS）で解析した。

等級1、2および3の化合物数はそれぞれ16、34および20であった。ALS解析結果から、刺激性誘発に関与する部分構造が選択され、その相関係数は高く、良好な識別結果が得られた。

以上の結果から、有機化合物のウサギ眼一次刺激性予測に化合物の部分構造と等級刺激性データとの相関性解析が有用であると考察した。

---

第15回日本毒科学会学術年会  
講演要旨集

---

発行日 昭和63年7月6日

発行人 池田 正之

発行所 東北大学医学部衛生学教室

〒980 仙台市星陵町2の1

TEL 022 - 274 - 1111 EX 2183