

第24回 日本毒科学会学術年会

プログラム・要旨集

平成9年7月23日(水)～25日(金)

北里大学薬学部

1997 東京

# 一目瞭然!!

～生細胞と死細胞を蛍光で染め分け～

## - Cellstain - Double Staining Kit

生細胞



Calcein-AM

死細胞



Propidium Iodide

### 試薬単品も新発売!

生細胞染色用蛍光色素

- ・ Cellstain - Calcein - AM
- ・ Cellstain - CFSE
- ・ Cellstain - BCECF - AM
- ・ Cellstain - FDA

死細胞染色用蛍光色素

- ・ Cellstain - PI
- ・ Cellstain - EB
- ・ Cellstain - DAPI

死細胞染色用色素

- ・ Cellstain - Trypan Blue

### 関連商品案内

生細胞数測定キット

### Cell Counting Kit

資料及びDojindo総合カタログ無料配布中です。  
ご請求ください。

**BTJ** バイオのことなら何でもわかる情報サイト  
**BIOTECHNOLOGY JAPAN**  
<http://www.nikkeibp.co.jp/BIO/BIO.html>

製品の最新情報は弊社ホームページ What' Newを  
ご覧ください。

URL: <http://www.dojindo.co.jp/>

E-mail: [info@dojindo.co.jp](mailto:info@dojindo.co.jp)

フリーファックス 0120-021557

フリーダイヤル 0120-489548

**DOJINDO**  
Reagents

Dojindo 試薬製造元  
株式会社 同仁化学研究所  
熊本県上益城郡益城町田原2025-5  
熊本テクノ・リサーチパーク 〒861-22  
Tel. 096-286-1515(代表) Fax. 096-286-1525  
ドージン・イースト(東京)  
Tel. 03-3578-9651(代表) Fax. 03-3578-9650

ドータイト試薬発売元  
和光純薬工業株式会社  
本社 大阪市中央区通修町3丁目1番2号 〒541  
Tel. 06-203-3741(代表)  
東京支店 東京都中央区日本橋本町4丁目5番13号 〒103  
Tel. 03-3270-8571(代表)  
出張所 福岡・広島・名古屋・横浜・大宮・筑波・仙台・札幌

---

# 第24回日本毒科学会学術年会

---

会期：平成9年7月23日(水)～25日(金)

会場：ザ・ガーデンホール(恵比寿ガーデンプレイス)

東京都目黒区三田1-13-2

北里大学薬学部

東京都港区白金5-9-1

会 長 井村 伸正

第24回日本毒科学会学術年会組織委員会

井村 伸正	北里大学薬学部
遠藤 仁	杏林大学医学部
菊池 康基	(株)ラビトン研究所
高橋 道人	国立衛生試験所
長尾 拓	東京大学薬学部
藤井 儔子	帝京大学医学部
堀井 郁夫	日本ロシュ(株)研究所
渡部 烈	東京薬科大学

事務局：姫野誠一郎、奥田祐子

事務局住所：〒108 東京都港区白金5-9-1

北里大学薬学部公衆衛生学教室

電話：03-3444-6161 内線3382

FAX：03-3442-4146

E-mail：tox97@pharm.kitasato-u.ac.jp

## ごあいさつ

日本毒科学会も会員数が2,000名に近付き、年会の演題数も100題を越え、年会参加者数も増加しつつあり、学会が更に飛躍を図る為には極めて重要な時期にさしかかっていると考えております。

本24回学術年会では、ここ数年、年会の前日に年会会長が主催して行っていた「サテライトシンポジウム」を開催しない代わりに、年会の期日を3日間といたしました。これは「サテライト」として行う意義が余り明確ではないと判断した為であります。しかし、形はともかく、内容としては従来の「サテライト」に匹敵する大型のワークショップを2つ第1日に置き、最近開発され新名所となった恵比寿ガーデンプレイス内のガーデンホールで開くことに致しました。「Biotechnology-derived Productsの毒性試験の現状と将来の展望」は、従来の年会ではほぼ継続的に取り扱われてきたこの問題に一つの区切りを付けるためのワークショップと言ってよろしいでしょう。もう一つのワークショップでは本学会で初めて「ヒトへのFirst Trialについて」を取り上げることになりました。このワークショップに先立って米国FDAのDr. J. Farrellyにこの問題について欧米での状況について解説していただく特別講演を予定しています。この他、「神経毒性試験をめぐる諸問題と今後の展望」及び「重金属の毒性発現の分子機構」と題する2つのシンポジウムを企画し、後者ではもう一人の特別講演者としてトロント大学のDr. D. M. Templetonに重金属の生理活性発現についての分子レベルでの研究の新しい展開を紹介していただくことになっています。

本年会は、かねてより予告させていただきましたように「質素」を旨といたしております。第2日目以降は白金の北里大学薬学部の校舎を会場とし、懇親会も体育館をかねている北里ホールで行います。年会の運営にも北里大学薬学部の職員と学生が当たりますので、不慣れのため不行届きな点多いかと存じますが、御寛大な皆様方の御支援を頂戴して、上記の企画とそれに加えて104題からなる一般講演の内容と討論が豊かで実り多いものとなりますよう心から願っております。

井村伸正



## 目 次

会場案内	5
お知らせとお願い	8
集会日程	10
プログラム	13
ワークショップ1	37
ワークショップ2	43
シンポジウム1	51
シンポジウム2	57
一般演題	61
索引	165
賛助企業及び団体御芳名	175

## 会場案内図

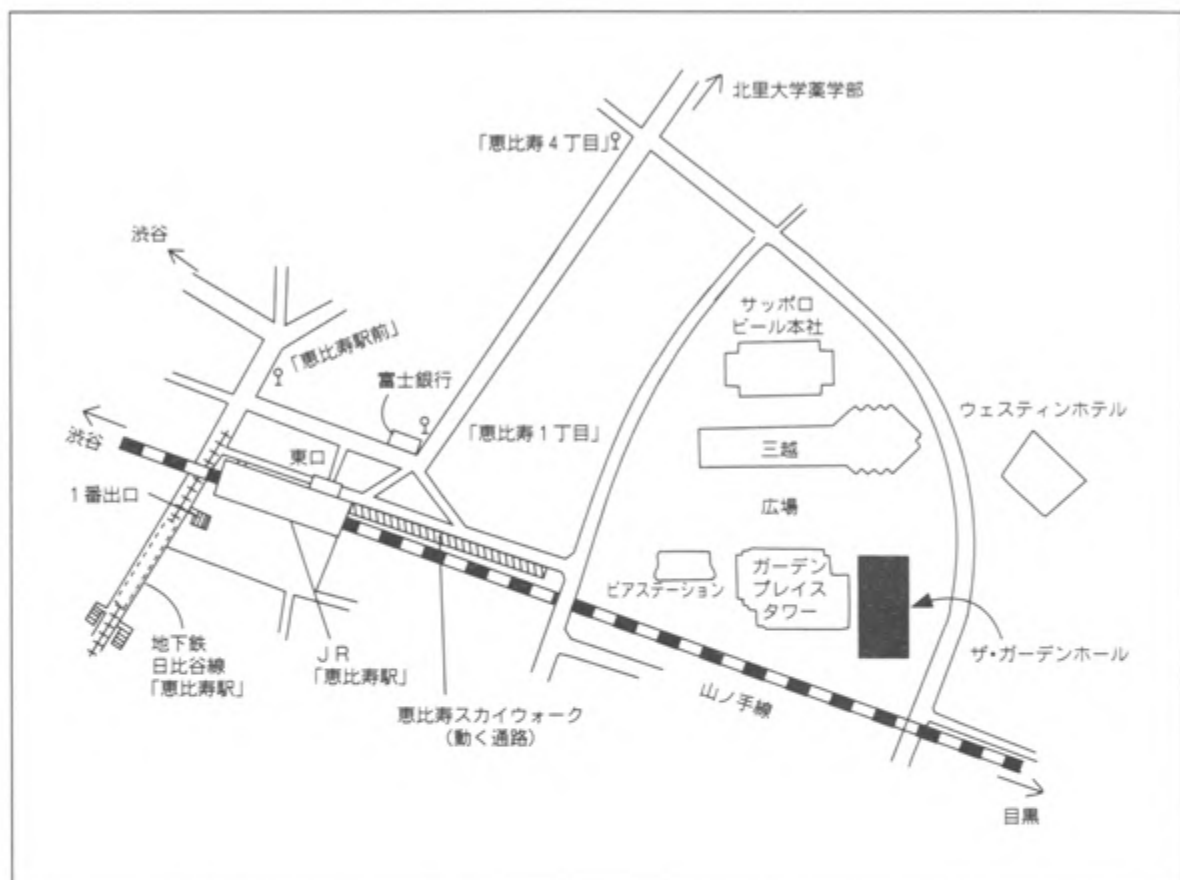


7月23日(水) ザ・ガーデンホール(恵比寿ガーデンプレイス内)  
恵比寿駅(JR、地下鉄日比谷線)下車 徒歩5分

7月24日(木)～25日(金) 北里大学薬学部

- A 渋谷駅(JR)東口下車 都バス「田87」系統 田町駅行20分  
北里研究所前下車
- B 恵比寿駅(JR、地下鉄日比谷線)東口下車 都バス「田87」系統  
田町駅行8分 北里研究所前下車
- C 田町駅(JR、都営地下鉄浅草線・三田線)三田口下車  
都バス「田87」系統 渋谷駅行15分 北里研究所前下車
- D 広尾駅(地下鉄日比谷線)天現寺橋方面(出口1、2番)下車  
徒歩10分

## ザ・ガーデンホール案内図〔7月23日(水)〕



### • JR山手線「恵比寿駅」下車

東口（ホームから階段を昇る）

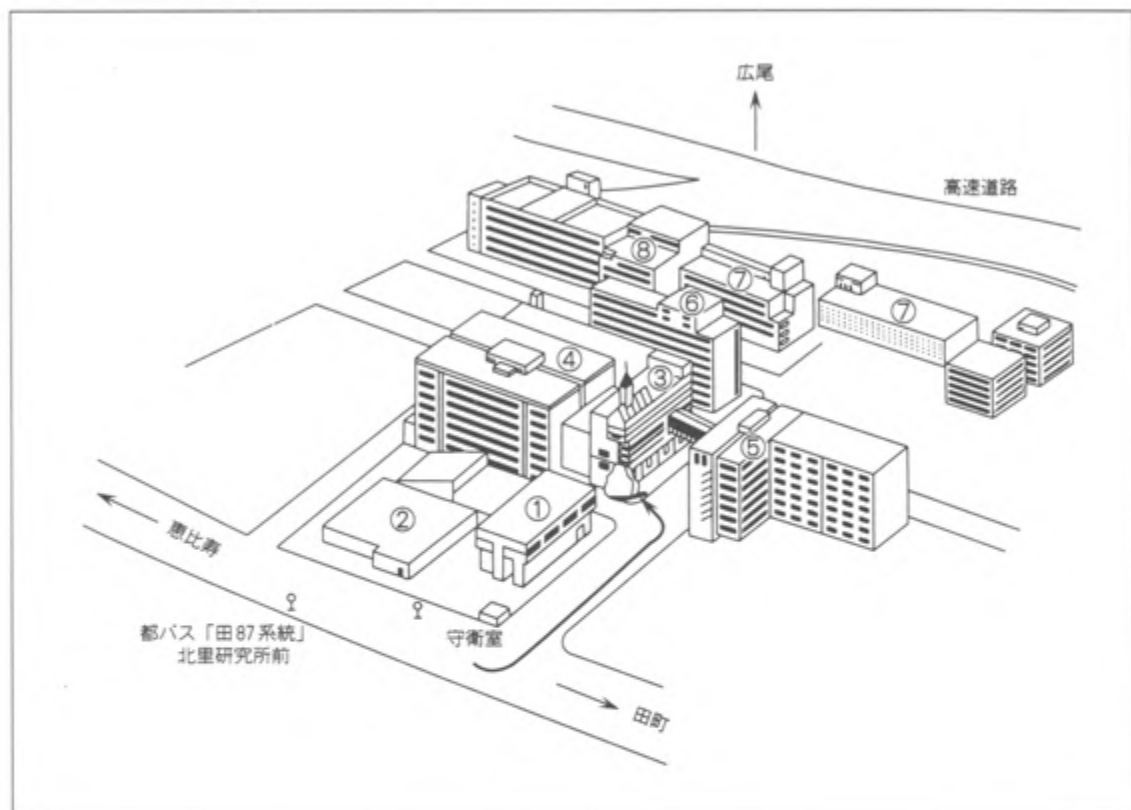
スカイウォーク（動く通路）経由で恵比寿ガーデンプレイスへ

### • 地下鉄日比谷線「恵比寿駅」下車

1番出口を出た後、山手線のガードをくぐり、右折する。JRの東口からスカイウォークへ

# 北里大学薬学部（白金キャンパス）案内図

〔7月24日（木）～25日（金）〕



- ① 北里本館 (2階大会議室で評議員会)  
(1階北里柴三郎記念室)
- ② 北里ホール (懇親会会場)
- ③ H号館 (1階・総合受付)  
(6階・A会場、1階より専用エレベーター有)
- ④ E号館 (3階・B会場、2階・C会場、2階・クローク)
- ⑤ C号館 (6階・展示会場 及び 休憩室)
- ⑥ 北里研究所・研究棟
- ⑦ 北里研究所病院
- ⑧ 東洋医学総合研究所

## 第 24 回 日本毒科学会学術年会 参加者へのお知らせとお願い

### ◆参加者の方へ

1. 受付：7月23日(水)午前9時からザ・ガーデンホール1Fの受付で開始します。  
7月24日(木)と25日(金)は午前9時から北里大学薬学部H号館1Fの受付で開始します。※受付場所が変わりますので、ご注意ください。
2. 参加費関係：◎当日申込(当日は所定の申込書に記入の上、現金を添えてのお申込みとなります)  
年会参加費 学会員 非会員 学生  
(要旨集込) 10,000円 12,000円 5,000円  
懇親会費 6,000円  
(会場の収容人数に限りがありますので、当日の参加申込みが出来ない場合がございます。)  
※事前申込者には、年会参加証(領収証付)と要旨集を年会前に送付済みです。  
なお、懇親会申込者には、領収証とシールを貼った参加証を送付済みです。
3. 懇親会は、7月24日(木)18:30～北里ホール(北里大学)にて行います。
4. 会場運営等についてのお願い
  - 1) 呼び出し：講演会場内での呼び出しは行いません。総合受付横に伝言板をご用意いたしますので、各自でご確認下さい。
  - 2) 写真撮影および録音：原則として講演会場内での撮影および録音はお断りいたします。
  - 3) 喫煙：講演会場内は禁煙です。所定の場所以外での喫煙はご遠慮下さい。
  - 4) 駐車場：駐車場の用意はしておりませんので、車での来場はご遠慮下さい。
  - 5) クローク：会場にクロークを設けますので、ご利用下さい。
  - 6) 携帯電話：講演会場内では、携帯電話の電源をOFFにして下さい。

本年会に3日間参加された場合、研修認定薬剤師制度の受講シール(9単位)が交付されます。ご希望の方は年会3日目(25日)に総合受付にお申し出下さい。

### ◆演者の方へ

- 注1) J.Toxicol.Sci.に掲載する英文抄録は、スライド受付でスライドと共に必ずご提出下さい。
- 注2) 事前に英文抄録掲載料(3,000円)の振込みをされていない方は、総合受付で掲載料をお支払い下さい。
  - 1) 演者は、講演の40分前(早朝は20分前)までに該会場受付においていただき、スライド受付をして下さい。講演終了後は、40分以内にスライドの返却を受けて下さい。
  - 2) 演者は、講演開始12分前までに次演者席にお着き下さい。
  - 3) 講演時間について  
発表+討論  
講演時間 8分+4分 計12分  
※時間の厳守をお願いします。

なお、ワークショップ、シンポジウムの講演時間は、予めオーガナイザーと打合わせをしておいて下さい。

- 4) 講演変更は原則として出来ません。やむを得ぬ理由により講演の取消、演者の変更が生じた場合は、直ちに年会事務局に連絡して下さい。なお、当日の場合は、座長へ申し出て下さい。  
注)・取消になった場合は、その時間帯は休憩時間とし、繰り上げはいたしません。  
・演者が発表時間開始時間から5分を越えて来られない場合は、講演取消といたします。

#### ◆スライドについて

(スライドプロジェクターは、1会場に1台準備しております。併写不可)

- 1) スライドはライカ判(35mm判)に限ります。
- 2) 同じスライドを繰り返し使用する場合は、その数だけ用意して下さい。
- 3) スライド枚数は、一般演題は1演題10枚以内とします。

#### ◆座長の方へ

- 1) ご担当セッションの30分前(早朝は15分前)までに該当会場のスライド受付にご来場の旨をお伝え下さい。
- 2) 次座長は、セッション開始15分前までに次座長席にお着き下さい。
- 3) 各講演時間については、それぞれ決められた時間進行を厳守願います。

#### ◆討論される方へ

各講演に対する質疑、追加討論は座長の指示に従い、所属と氏名を明らかにした上で行って下さい。

#### ◆各種会合案内

- ・理事・監事会  
7月22日(火) 14:00～ 会場：高輪プリンスホテル 「竹の間」
- ・評議員会  
7月24日(木) 12:10～13:10 会場：北里本館2F 大会議室  
※お弁当代を評議員会受付でお支払い下さい。
- ・総会  
7月24日(木) 13:20～14:20 会場：北里大学H号館6F A会場  
※会員の方はご出席下さい。
- ・田邊賞授賞式及び受賞講演  
7月24日(木) 14:30～15:00 会場：北里大学H号館6F A会場

#### ◆展示と休憩室関係

- 7月24日(木) 9:30～17:00 会場：北里大学C号館6F 講義室  
7月25日(金) 9:30～15:00 ”

#### 出展会社(申込順)

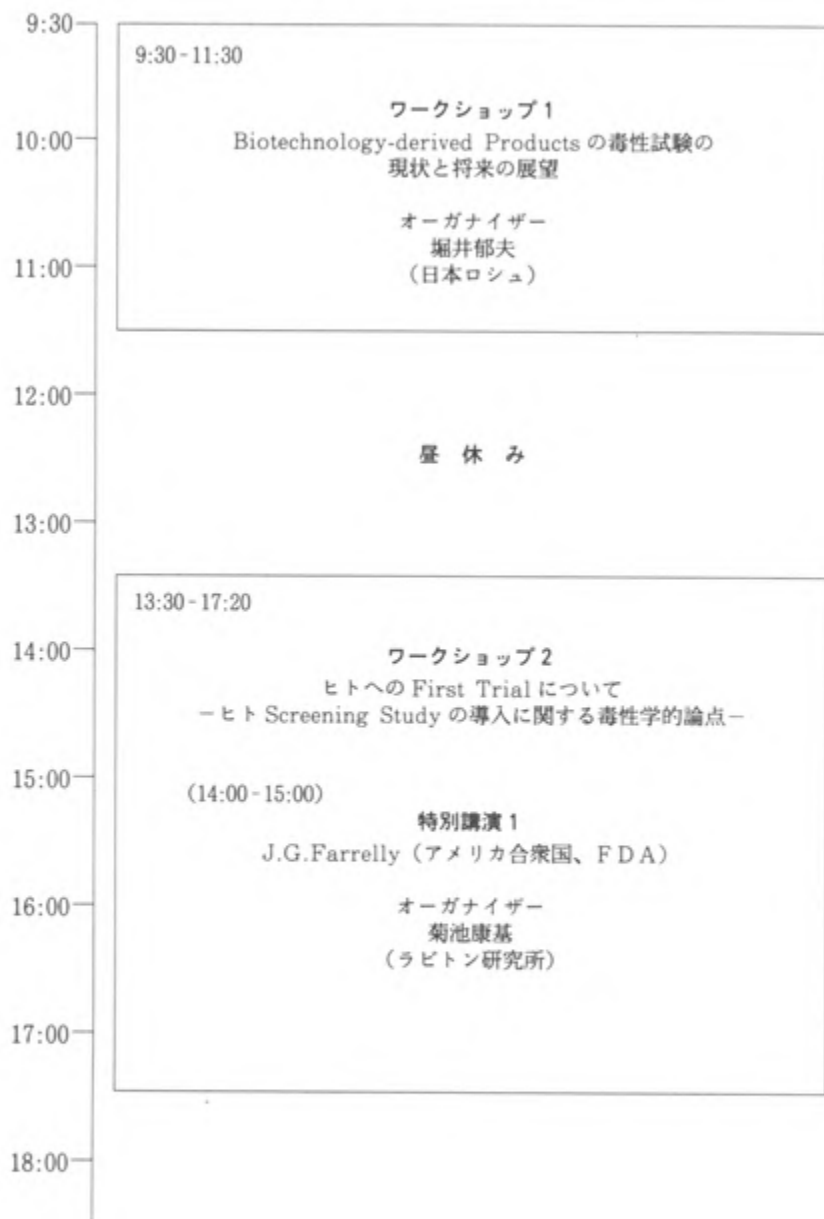
- |                     |                |
|---------------------|----------------|
| 1. 日本チャールス・リバー      | 5. 三菱化学安全科学研究所 |
| 2. ヘレナ研究所           | 6. ボゾリサーチセンター  |
| 3. エルゼビアサイエンスジャパン   | 7. 加商          |
| 4. エムビーアイ・リサーチ・ジャパン |                |

#### ◆年会事務局

北里大学薬学部公衆衛生学教室 (〒108 東京都港区白金5-9-1)  
TEL. 03-3444-6161 内線3382  
FAX. 03-3442-4146

# 第 24 回日本毒科学会学術年会スケジュール及び座長一覧

7月23日(水) 会場：ザ・ガーデンホール



第24回（平成9年）日本毒科学会  
組織委員会 事務連絡（6）

1996年7月22日

第2回組織委員会 議事録

日時： 7月15日（月）15:30-18:00

場所： 北里大学薬学部 G5ゼミ室

出席者： 菊池康基、藤井侑子、堀井郁夫、渡部烈、井村伸正、姫野誠一郎

1. 以下の各シンポジウムを行うことを決めた。タイトルは仮題。シンポジウム1と2については、ワークショップとして行う。
  1. ヒトへのFirst Trialについて  
----- ヒトによるパイロット試験の具体的方策 -----  
(企画：菊池康基)
  2. Biotechnological Productsの毒性試験の現状と将来の展望  
(企画：堀井郁夫)
  3. サイトカイン等生体内活性物質による毒性発現  
(企画：高橋道人)
  4. 重金属の毒性発現の分子機構  
(企画：井村伸正)
2. 特別講演については、シンポジウム1との関連で、FDAのDr. Templeを招聘することとした（交渉担当、菊池委員）。
3. 大会第一日の午前中にシンポジウム2、午後に特別講演とシンポジウム1を行うこととした。

なお、当日欠席の委員の方で、上記の案に対するご意見、あるいは代替案等ございましたら、是非お知らせ下さい。

以上

北里大学薬学部  
公衆衛生学教室

井村 伸正



7月24日(木) 会場：北里大学薬学部

	A 会場 (H号館6階)	B 会場 (E号館3階)	C 会場 (E号館2階)
9:30	9:30-11:50 シンポジウム1 神経毒性をめぐる諸問題と 今後の展望 オーガナイザー 高橋道人 (国立衛試)	9:30-10:18 毒性試験法 2B-01～2B-04 長尾 拓 (東大・薬)	9:30-10:18 腎毒性 2C-01～2C-04 田内清憲 (日本レダリー)
10:00		10:18-11:06 毒性試験法 2B-05～2B-08 横井 毅 (金沢大・薬)	10:18-10:54 腎毒性 2C-05～2C-07 玄番宗一 (大阪薬科大)
11:00		11:06-11:54 毒性試験法 2B-09～2B-12 池本文彦 (萬有製薬・開発研)	10:54-11:42 腎毒性 2C-08～2C-11 井上博之 (食農医薬安評セ)
12:00	昼 休 み 評議員会 12:10-13:10 本館2階大会議室		
13:00	総 会 13:20-14:20 A会場 (H号館6階)		
14:00	田邊賞授賞式及び受賞講演 14:30-15:00 A会場 (H号館6階)		
15:00	15:12-16:00 生殖毒性 2A-01～2A-04 高橋道人 (国立衛試)	15:12-15:48 神経毒性 2B-13～2B-15 伊藤忠信 (岩手医科大・歯)	15:12-16:00 肝毒性 2C-12～2C-15 真鍋 淳 (三共・安全研)
16:00	16:00-16:48 生殖毒性 2A-05～2A-08 藤井備子 (帝京大・医)	15:48-16:36 神経毒性 2B-16～2B-19 真板敬三 (残留農薬研)	16:00-16:48 肝毒性 2C-16～2C-19 大野泰雄 (国立衛試)
17:00	16:48-17:24 生殖毒性 2A-09～2A-11 赤堀文昭 (麻布大・獣医)	16:36-17:12 免疫・アレルギー 2B-20～2B-22 小野 宏 (食薬安全セ)	16:48-17:36 薬物動態(1) 2C-20～2C-23 島田 力 (大阪府公衛研)
18:00	17:24-18:00 生殖毒性 2A-12～2A-14 堀井郁夫 (日本ロシュ)	17:12-17:48 免疫・アレルギー 2B-23～2B-25 澤田純一 (国立衛試)	
19:00	懇 親 会 18:30～ 北里ホール (本館地下)		

7月25日(金) 会場：北里大学薬学部

	A 会場 (H号館6階)	B 会場 (E号館3階)	C 会場 (E号館2階)
9:30	9:30-10:18 薬物動態(2) 3A-01~3A-04 平塚 明(東京薬科大)	9:30-10:18 一般毒性(1) 3B-01~3B-04 松本清司(信州大・医)	9:30-11:50
10:00	10:18-11:06 発癌 3A-05~3A-08 藤井登志之(藤沢薬品)	10:18-11:06 一般毒性(1) 3B-05~3B-08 野村 護(第一製薬・安全研)	シンポジウム2 重金属の毒性発現の分子機構  (9:30-10:20) 特別講演2 D.M.Templeton (トロント大・医)
11:00	11:06-11:54 発癌 3A-09~3A-12 鎌滝哲也(北大・薬)	11:06-11:42 一般毒性(1) 3B-09~3B-11 降矢 強(国立衛試)	オーガナイザー 井村伸正(北里大・薬)
12:00	昼 休 み		
13:00	13:30-14:18 毒性発現 3A-13~3A-16 齋藤秀哉(北海道医療大・薬)	13:30-14:06 一般毒性(2) 3B-12~3B-14 半田 淳(日本化薬)	13:30-14:18 重金属 3C-01~3C-04 田中慶一(大阪大・薬)
14:00	14:18-14:54 毒性発現 3A-17~3A-19 三森国敏(国立衛試)	14:06-14:30 一般毒性(2) 3B-15~3B-16 馬屋原 宏(武田薬品)	14:18-14:54 重金属 3C-05~3C-07 太田久吉(北里大・医療衛生)
15:00			
16:00			

# プログラム

# 特別講演

## 特別講演 1

7月23日(水) ザ・ガーデンホール 14:00-15:00

(ワークショップ2「ヒトへの First Trial について」の中で行われます)

座長: 菊池康基 (ラビトン研究所)

渡部 烈 (東京薬科大学)

Single Dose Acute Toxicity Testing for Pharmaceuticals

James G. Farrelly

(U.S. Food and Drug Administration,

Center for Drug Evaluation and Research)

## 特別講演 2

7月25日(金) 北里大学薬学部 C会場 9:30-10:20

(シンポジウム2「重金属の毒性発現の分子機構」の中で行われます)

座長: 永沼 章 (東北大学薬学部)

Influence of  $Cd^{2+}$  on Signal Transduction in Smooth Muscle and Mesangial Cells

Douglas M. Templeton

(Department of Laboratory Medicine and

Pathobiology, University of Toronto)

# ワークショップ 1

7月23日(水) ザ・ガーデンホール 9:30-11:30

「Biotechnology-derived Productsの毒性試験の現状と将来の展望」

オーガナイザー：堀井郁夫（日本ロシュ）

座長：堀井郁夫（日本ロシュ）

井上 達（国立衛試）

9:30-9:50

WI-1 ICHガイドランスの現状

牧 栄二（ヤンセン協和）

9:50-10:10

WI-2 Biotechnology-derived Productsの毒性試験における諸問題  
－実際例の提示とその対応－

筒井尚久（三菱化学）

New Approach と将来の展望

10:10-10:30

WI-3 Animal model の問題

毒性試験に用いる遺伝子操作動物の問題点

上山義人（東海大学医学部）

10:30-10:50

WI-4 Animal model の問題

免疫毒性評価モデル動物の問題点

井上智彰（日本ロシュ）

10:50-11:10

WI-5 将来のBiotechnology-derived Productsの毒性試験のあり方

井上 達（国立衛試）

11:10-11:30

総合討論

## ワークショップ 2

7月23日(水) ザ・ガーデンホール 13:30-17:20

### 「ヒトへの First Trial について

ーヒト Screening Study の導入に関する毒性学的論点」

オーガナイザー：菊池康基（ラビトン研究所）

- 13:30-14:00 座長：菊池康基（ラビトン研究所）  
渡部 烈（東京薬科大学）
- WII-1 ICH Topic M3（臨床試験との関連における非臨床試験の実施時期）  
における問題点  
馬屋原 宏（武田薬品）
- 14:00-15:00  
WII-2 特別講演 1  
Single Dose Acute Toxicity Testing for Pharmaceuticals  
James G. Farrelly (U.S. Food and Drug  
Administration)
- 休 憩 (15:00-15:15)
- 15:15-15:45 座長 馬屋原 宏（武田薬品）  
柳田知司（実験動物中央研究所）
- WII-3 非臨床試験として如何なるデータがあればよいか  
毒性試験  
柳田知司（実験動物中央研究所）
- 15:45-16:15  
WII-4 非臨床試験として如何なるデータがあればよいか  
薬物動態試験  
渡部 烈（東京薬科大学）
- 16:15-16:45  
WII-5 非臨床試験として如何なるデータがあればよいか  
一般薬理試験  
大野泰雄（国立衛試）
- 16:45-17:05  
WII-6 治験審査委員会の立場から  
小林真一（聖マリアンナ医科大学）
- 17:05-17:20 座長 菊池康基（ラビトン研究所）  
渡部 烈（東京薬科大学）
- 総合討論

# シンポジウム 1

7月24日(木) 北里大学薬学部 A会場 9:30-11:50

## 「神経毒性をめぐる諸問題と今後の展望」

オーガナイザー：高橋道人（国立衛試）

座長：前川昭彦（佐々木研究所）

鈴木 勉（星薬科大学）

9:30-10:00

SI-1 各国におけるガイドラインの動向

藤森観之助（国立衛試）

10:00-10:20

SI-2 化審法における神経行動毒性試験

内田康策（厚生省生活衛生局）

10:20-10:50

SI-3 症状・行動観察における問題点

安東 潔（実験動物中央研究所）

10:50-11:20

SI-4 神経病理学的検索における問題点

今井 清（食品薬品安全センター）

11:20-11:50

SI-5 リスク評価上の問題点

奥野泰由（住友化学生物学研究所）

## シンポジウム 2

7月25日(金) 北里大学薬学部 C会場 9:30-11:50

### 「重金属の毒性発現の分子機構」

オーガナイザー：井村伸正 (北里大学薬学部)

座長：永沼 章 (東北大学薬学部)

大沢基保 (帝京大学薬学部)

9:30-10:20

#### SII-1 特別講演 2

Influence of  $Cd^{2+}$  on Signal Transduction in Smooth Muscle and Mesangial Cells

Douglas M. Templeton (University of Toronto)

10:20-10:50

#### SII-2 メチル水銀による神経毒性発現機構とアポトーシス

国本 学 (国立環境研究所)

10:50-11:20

#### SII-3 LECラットにおける銅の毒性発現機構と銅の選択的除去

鈴木和夫 (千葉大学薬学部)

11:20-11:50

#### SII-4 カドミウム及び鉛の血管組織における毒性発現の分子機構

鍛冶利幸 (北陸大学薬学部)



## 田邊賞受賞講演

7月24日(木) 北里大学薬学部 A会場 14:30-15:00

座長：長尾 拓 (東京大学薬学部)

受賞者：尾崎晴茂、倉田一之、堀ノ内 彰  
(武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所)

受賞論文：

Auditory brainstem response (ABR) and effects of furosemide on  
ABR in conscious F344 rats

J. Toxicol. Sci., 21(3), 167-175 (1996)

Harushige Ozaki, Kazuyuki Kurata, Akira  
Horinouchi and Takao Ando

(氏名は非会員)

7月24日(木)

A会場

15:12 - 16:00

生殖毒性

座長：高橋道人(国立衛試)

- 2A-01 Cyclophosphamide 投与ラットにおける精子形成ステージ及び精細管異常出現頻度の検討  
○大窪康貴、赤松 博、古谷清隆、渡辺 潔、林 裕(富士レビオ・医薬研)
- 2A-02 酢酸リュープロレリンによるテストステロン分泌抑制がラット精子形成に及ぼす影響  
○原田滋雄<sup>1)</sup>、鹿内ゆかり<sup>1)</sup>、島田 信<sup>1)</sup>、藤川香津子<sup>1)</sup>、渡辺 元<sup>2)</sup>、田谷一善<sup>2)</sup>(<sup>1)</sup>第一製薬・安全性研、<sup>2)</sup>東京農工大・家畜生理)
- 2A-03 Trimethylphosphateまたは Pyridoxine 投与時の Flow cytometry による精子生存性および精子数測定  
○滝沢節子、加藤千明、堀井郁夫(日本ロシュ・研・毒性病理)
- 2A-04 nitrofurazone によるラット精巣毒性発現メカニズムの検討  
○正田俊之<sup>1)</sup>、森安眞津子<sup>2)</sup>、豊田和弘<sup>1)</sup>、畝山智香子<sup>1)</sup>、高田幸一<sup>1)</sup>、安原加壽雄<sup>1)</sup>、三森国敏<sup>1)</sup>、高橋道人<sup>1)</sup>(<sup>1)</sup>国立衛試・病理、<sup>2)</sup>パナファーム・ラボラトリーズ)

16:00 - 16:48

生殖毒性

座長：藤井儂子(帝京大・医)

- 2A-05 セルトリ細胞・生殖細胞共培養系に対するジニトロフェノール系化学物質の影響  
○高橋 研<sup>1)</sup>、寺本昭二<sup>1)</sup>、川島邦夫<sup>2)</sup>(<sup>1)</sup>残留農薬研・毒性部、<sup>2)</sup>国立衛試・大阪支所)

- 2A-06 除草剤グリホサートのラット性腺カルボニル還元酵素活性に及ぼす作用  
○稲津教久、藤井儔子（帝京大・医・薬理）
- 2A-07 雌ビーグル犬の性成熟および発情周期に伴う生殖器系臓器の動きに関する調査  
○溝口靖基、長島吉和、若林佐知子、赤木圭介、渡辺 大、岡本正己、田村一利、岡庭 梓（ボゾリサーチセンター・函南研）
- 2A-08 フェニトインのラット出生児の生存率におよぼす影響  
○納屋聖人、竹中千鶴、佐久間妙子（協和発酵工業・安全性研）

16:48 - 17:24

生殖毒性

座長：赤堀文昭（麻布大・獣医）

- 2A-09 ラット胎児の骨形成に対するLathyrogenic agentsの作用について  
○池谷純子<sup>1)</sup>、加藤康子<sup>1)</sup>、田嶋尚之<sup>2)</sup>、田中頼久<sup>2)</sup>、三分一所厚司<sup>1)</sup>  
（<sup>1)</sup>三共・安全性研、<sup>2)</sup>同・分析代謝研）
- 2A-10 P=S型有機リン剤のラット胎子動脈管に対する作用  
○白井明志<sup>1)</sup>、政岡俊夫<sup>2)</sup>、有嶋和義<sup>3)</sup>、赤堀文昭<sup>1)</sup>（<sup>1)</sup>麻布大・獣医・薬理、<sup>2)</sup>同・毒性、<sup>3)</sup>同・解剖2）
- 2A-11 幼若期リニューロン投与ラットの第一世代児におけるカルシウム代謝調節系の変化  
○藤井儔子、稲津教久、長谷千賀子（帝京大・医・薬理）

17:24 - 18:00

生殖毒性

座長：堀井郁夫（日本ロシュ）

- 2A-12 牛準胎児血清培養液を用いたラット胎児培養法の開発（5）  
○横山 篤<sup>1)</sup>、秋田正治<sup>1)</sup>、阿部武丸<sup>2)</sup>、黒田行昭<sup>3)</sup>（<sup>1)</sup>鎌倉女子大、<sup>2)</sup>三菱化学、<sup>3)</sup>麻布大・環境）

2A-13 トルエン吸入暴露のラットにおける生殖発生毒性 III. 周産期及び授乳期吸入暴露試験

○小野 敦<sup>1)</sup>、関田清司<sup>1)</sup>、広瀬明彦<sup>1)</sup>、小川幸男<sup>1)</sup>、鈴木幸子<sup>1)</sup>、  
齊藤 実<sup>1)</sup>、内藤克司<sup>1)</sup>、金子豊蔵<sup>1)</sup>、降矢 強<sup>1)</sup>、松本清司<sup>2)</sup>、  
田中 悟<sup>1)</sup>、井上 達<sup>1)</sup>、黒川雄二<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup>国立衛試・毒性、<sup>2)</sup>信州大・  
医・動物実験)

2A-14 カニクイザルの個別ケージ内同居交配成績および出生児の成長に関する基礎的データ

○方山和幸、柳井邦男、園田崇倫、大町勝美、小柴 博、  
阿部俊一 (ミドリ十字・安全性研)

## B会場

9:30 - 10:18

毒性試験法

座長：長尾 拓 (東大・薬)

2B-01 ラジオテレメトリー法の毒性研究における有用性

○宮崎裕康、久野博司、太田 尚、宮沢英男、佐村恵治、  
松本浩良、池本文彦 (萬有製薬・開発研)

2B-02 エーテル麻酔したラットにおける血液ガス測定法に関する検討

○吉岡 勝、須山由美、岩知道貴子、苗代一郎、中井洋一 (武田薬品工  
業・薬剤安全性研)

2B-03 ラット循環血漿量の測定法に関する検討

○中下幸江、大久保芳伸、吉岡 勝、中井洋一 (武田薬品工業・薬剤安  
全性研)

2B-04 マウスの網膜電図記録法の検討 - Sodium iodate 網膜症の L-cysteine 併用投与による抑制効果 -

○杉本眞次、今若実穂、今井良悦、金丸健一、渡辺武志、佐々木 啓、  
西条武俊、佐藤秀蔵 (武田薬品工業・薬剤安全性研)

10:18 - 11:06

毒性試験法

座長：横井 毅（金沢大・薬）

- 2B-05 培養細胞を用いた血管内皮障害の評価に関する検討  
山田久陽、○渡邊久美子、大出佳代子、木村正明、  
樽本保男（大正製薬・開発研）
- 2B-06 皮膚刺激性試験代替法の検討：炎症性サイトカインの遺伝子発現定量化  
○柴田道男、井上かおり、板垣 宏、市川秀之（資生堂・安全性・分析  
センター）
- 2B-07 ラットの Alkaline phosphatase アイソザイム解析の毒性試験への有用  
性－卵巣摘出モデルを用いて－  
○望月雅裕、諏訪浩一、岡崎和志、中村英明、津田裕一、田村一利、  
楠岡 修、畠山和久（ボゾリサーチセンター・御殿場研）
- 2B-08 ヒト CYP2E1 遺伝子導入によるニトロソアミン感受性大腸菌株の樹立  
○中川徹也<sup>1)</sup>、横井 毅<sup>1)</sup>、串田浩孝<sup>1)</sup>、藤田健一<sup>1)</sup>、能美健彦<sup>2)</sup>、  
Frank J. Gonzalez<sup>3)</sup>、鎌滝哲也<sup>1)</sup>（<sup>1)</sup>北海道大・薬・代謝分析、<sup>2)</sup>国  
立衛試、<sup>3)</sup>米国 NIH）

11:06 - 11:54

毒性試験法

座長：池本文彦（萬有製薬・開発研）

- 2B-09 幼若ラットを使用した肝細胞小核試験－用量依存性・週齢差の検討－  
○白鳥 孝、宮川 誠（三菱化学・安全科学研・鹿島研）
- 2B-10 抗真菌剤開発におけるラット初代培養肝細胞と *Candida albicans* の共  
培養系を用いた形態解析による評価法  
○猪又 晃、井上智彰、堀井郁夫（日本ロシュ・研・毒性病理）

- 2B-11 反復投与による複製 DNA 合成 (RDS) 試験の検討  
 ○大塚雅則<sup>1),2)</sup>、今田中伸哉<sup>2)</sup>、白石啓二<sup>2)</sup>、飯田憲二<sup>2)</sup>、  
 寶珠山五月<sup>2)</sup>、篠田和俊<sup>2)</sup>、山崎寛治<sup>2)</sup>、谷口芳信<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup> 化学品検査協  
 会・安全性評価技術研、<sup>2)</sup> 同・日田研)
- 2B-12 テトラクロロエチレンの単回吸入投与後にみられたマウスおよびラットの  
 の肝・腎における複製 DNA 合成 (RDS) の誘発  
 ○片山誠一、穂山太郎、平塚秀明、宮川 誠、土谷 稔、三浦 稔  
 (三菱化学・安全科学研・鹿島研)

15:12 - 15:48

神経毒性

座長：伊藤忠信 (岩手医科大・歯)

- 2B-13 有機燐剤による中間症候群と遅発性神経毒性  
 ○木根渕英雄、野田信一郎、秋丸国広 (高知医科大・衛生)
- 2B-14 カーバメート系殺虫剤による海馬依存性の長期記憶の障害  
 ○水門佐保、二川治子、高橋宏明、千葉裕子、原田孝則、真板敬三  
 (残留農薬研)
- 2B-15 アリルニトリル投与マウスの神経病理学的変化と行動異常の関連性  
 ○臧 小萍、谷井秀治、西條清史 (金沢大・医・衛生)

15:48 - 16:36

神経毒性

座長：真板敬三 (残留農薬研)

- 2B-16 有機リン化合物による遅発性神経毒性に関する研究：脳・脊髄標本にお  
 ける OPIDN 誘発性物質 [<sup>3</sup>H] DFP の特異的結合  
 ○鎌田 亮<sup>1)</sup>、齊藤真也<sup>1)</sup>、鈴木忠彦<sup>1)</sup>、小藤田久義<sup>2)</sup>、太田路一<sup>2)</sup>、  
 武脇 義<sup>3)</sup>、小林晴男<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup> 岩手大・農・家畜薬理、<sup>2)</sup> 同・木材利用科  
 学、<sup>3)</sup> 岐阜大・院・連合獣医)

2B-17 カルバリル、トリメチルスズおよび DDT のラットにおける急性神経毒性試験

○和田美紀、中川善裕、都築 学、山田倫行、磯部直彦、関 高樹、奥野泰由、川崎 一、細川俊治（住友化学工業・生物環境科学研）

2B-18 エタンブトール経口投与によるビーグル犬の視覚機能に及ぼす影響  
－電気生理学的手法による検討－

中山直樹、○佐々木正治、中西 豊、栗原明義、大野理絵、中村 勇、木村正明、樽本保男（大正製薬・開発研）

2B-19 マウスにおける生後の脳アセチルコリン作動性神経系の発達について

○辻 良三、山田真司、和田美紀、紙田祐介、奥野泰由、細川俊治（住友化学工業・生物環境科学研）

16:36 - 17:12

免疫・アレルギー

座長：小野 宏（食薬安全セ）

2B-20 モルモットを用いた 3 種の皮膚感作性試験の比較検討

○中村洋介、檜桓 環、加藤日路士、岸田文雄、中塚 巖（住友化学工業・生物環境科学研）

2B-21 マウスの OVA 感作におけるアジュバント効果の比較

○副島潤子、望月幸子、細川 勇、筒井尚久、井上裕章（三菱化学・安全性研）

2B-22 マウスにおける同種受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験の検討

○志村賢一、井上智彰、堀井郁夫（日本ロシュ・研・毒性病理）

17:12 - 17:48

免疫・アレルギー

座長：澤田純一（国立衛試）

2B-23 ヒトインターフェロン製剤によるモルモットのアレルギー反応の機構

○後藤紀久<sup>1)</sup>、加藤博史<sup>1)</sup>、櫻井信豪<sup>2)</sup>、田中俊一<sup>3)</sup>、横山けい子<sup>4)</sup>、笠間協子<sup>5)</sup>、上西憲明<sup>4)</sup>、細井和男<sup>2)</sup>（<sup>1)</sup>国立感染症研・安全性研、<sup>2)</sup>東レ・医薬品質保証、<sup>3)</sup>同・医薬品製造、<sup>4)</sup>同・基礎研安全研、<sup>5)</sup>同・基礎研創薬 2 研）

2B-24 毒性試験に有用な免疫学的指標のスクリーニングーレバミゾールによる免疫賦活作用の検出ー

○古谷真美<sup>1)</sup>、安達智子<sup>1)</sup>、金澤由基子<sup>2)</sup>、原田知子<sup>3)</sup>、小島幸一<sup>1),2)</sup>

(<sup>1)</sup>食品薬品安全センター・秦野研・生化学、<sup>2)</sup>同・免疫毒性、<sup>3)</sup>同・一般毒性)

2B-25 PFC 測定に代わり得る特異抗体定量法の開発 (2)

ー測定法の改良と応用性の検討ー

○安達智子<sup>1)</sup>、金澤由基子<sup>2)</sup>、小島幸一<sup>1),2)</sup> (<sup>1)</sup>食品薬品安全センター・秦野研・生化学、<sup>2)</sup>同・免疫毒性)

## C会場

9:30 - 10:18

腎毒性

座長：田内清憲（日本レダリー）

2C-01 ラットの再生不良性貧血と腎性貧血における血液学的パラメータの挙動についての検討

○岩知道貴子、苗代一郎、伊藤賀永子、吉岡 勝、中井洋一（武田薬品工業・薬剤安全性研）

2C-02 腎毒性の指標としての血液および尿の生化学検査の検討

○向井大輔、勝俣 勇、熊平智司、大石法男、山川誠己、井上博之（食品農医薬品安全性評価センター）

2C-03 ラット尿沈渣検査における尿中有形成分分析装置（UF-100）の有用性についての基礎的検討 (1)

○平田絹子<sup>1)</sup>、緒方英博<sup>1)</sup>、嘉悦愛士<sup>1)</sup>、大山康浩<sup>2)</sup>、森安眞津子<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>パナファーム・ラボラトリーズ・安全性研、<sup>2)</sup>東亜医用電子)

2C-04 ラット尿沈渣検査における尿中有形成分分析装置（UF-100）の有用性についての基礎的検討 (2)

○緒方英博、平田絹子、嘉悦愛士、鎌先恵美子、森安眞津子（パナファーム・ラボラトリーズ・安全性研）



10:18 - 10:54

腎毒性

座長：玄番宗一（大阪薬科大）

- 2C-05 コーンオイルと飼料のラットの哺育および分娩に及ぼす影響  
○佐藤昌子、渡辺千朗、和田和義、長尾哲二、畔上二郎、丸茂秀樹、  
今井 清、小野 宏（食品薬品安全センター・秦野研）
- 2C-06 ラット腎機能パラメーターの加齢に伴う変化と特徴  
○村上善紀、坂内なるみ、坂口 弘、市村彰敏、橋本英明、大丸 香、  
山崎清美、笛木 修、増田達樹、田内清憲（日本レタリー・医薬研）
- 2C-07 低タンパク飼料で飼育したラットの腎機能変化（Ⅱ）  
○永藪徳久、田原紀子、神鳥仁志、西田信之、佐倉康文（武田薬品工業・  
薬剤安全性研・光支所）

10:54 - 11:42

腎毒性

座長：井上博之（食農医薬安評セ）

- 2C-08 セボフレン分解産物（compound A）の吸入による腎障害とその回復  
について－臨床マーカーとラット系統差の検討  
○渡辺幸彦、王鞍孝子、村崎祐子、井上立生、辻本 恒、河井祥一郎、  
田村 隆（丸石製薬・中央研）
- 2C-09 酵素免疫染色と NIH Image による近位尿細管障害の半定量的解析法の  
試み  
○三谷 治、王鞍孝子、村崎祐子、渡辺幸彦、井上立生、河井祥一郎、  
田村 隆（丸石製薬・中央研）
- 2C-10 ラット腎皮質切片のセファロリジン障害に対するプロテインキナーゼ C  
活性化による増強およびサイクリック AMP による軽減  
○幸田祐佳、河合悦子、玄番宗一（大阪薬科大・薬理）
- 2C-11 腎由来株化細胞でのアポトーシス（AP）における Interleukin-1 $\beta$ -  
converting enzyme family protease（ICE-FP）の役割  
○武田理夫、小林麻美、遠藤 仁（杏林大・医・薬理）

15:12 - 16:00

肝毒性

座長：真鍋 淳（三共・安全研）

- 2C-12 2-Mercaptobenzimidazole (MBI) 及びそのメチル誘導体のラット甲状腺毒性発現相違のトキシコキネティクス (TK) - 血中未変化体濃度に及ぼす反復投与の影響 -  
○酒見和枝、伊藤理恵乃、宇佐見 誠、大野泰雄、津田充宥 (国立衛試・薬理)
- 2C-13 2-Mercaptobenzimidazole (MBI) 及びそのメチル誘導体のラット甲状腺毒性発現相違のトキシコキネティクス (TK) - 尿中未変化体量及び代謝物量に及ぼす反復投与の影響 -  
○津田充宥、酒見和枝、伊藤理恵乃、宇佐見 誠、大野泰雄 (国立衛試・薬理)
- 2C-14 Kupffer 細胞動員像の定量的評価法の検討  
○小野澤 緑、庄司陽子、岡田洋明、山本健一、脇川典子、白石 明、川音晴夫 (明治製薬・安全性研)
- 2C-15 ラットにおける血漿中ビリルビン分別測定 (酵素法) による溶血性病態と肝障害の病態評価  
○池内滋郎、北野真希子、吉井景子、高野享治、木村由美子、大野浩司 (塩野義製薬・新薬研)

16:00 - 16:48

肝毒性

座長：大野泰雄 (国立衛試)

- 2C-16 新規化合物により惹起されたラット急性脂肪肝  
○蔵満茂晃、松本正博、斉藤直美、橋本正晴、藤井登志之 (藤沢薬品工業・安全性研・一般毒性、病理)
- 2C-17 尿素系農薬および分解・代謝産物のラット肝細胞におよぼす影響  
○籾内桃子、宮島敦子、張 宝旭、紅林秀雄、大野泰雄 (国立衛試・安全性生物試験研究センター)

2C-18 酸化ストレス負荷により遊離肝細胞に惹起される障害とライソソーム膜傷害

○高山房子、江頭 亨、山中康光（大分医科大・薬理）

2C-19 コモンマーモセットにおける CYP3A 誘導マーカーとしての 6 $\beta$ -ヒドロキシコルチゾールの尿中排泄の増加

○戸塚繁夫、渡辺稔之、小柳藤夫、田中宏治、安田充也、真鍋 淳  
（三共・安全性研）

16:48 - 17:36

薬物動態（1）

座長：島田 力（大阪府公衛研）

2C-20 Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) の自殺阻害に起因する致死的医薬品相互作用

○小倉健一郎<sup>1)</sup>、奥田晴宏<sup>1)</sup>、渡部 烈<sup>1)</sup>、荒川和人<sup>2)</sup>、福島正和<sup>2)</sup>

（<sup>1)</sup>東京薬科大・薬・第二衛生化学、<sup>2)</sup>大鵬薬品工業・創薬センター）

2C-21 ラット肝 *Theta* クラス Glutathione S-Transferase Yrs-Yrs ならびに 5-5 の酵素化学的および免疫化学的特性

○平塚 明、西島 武、奥田晴宏、渡部 烈（東京薬科大・薬・第二衛生化学）

2C-22 P450 isozyme を考慮した *in vitro* 代謝試験による *in vivo* 薬物肝代謝能の定量的予測

○伊藤清美<sup>1)</sup>、中島由起子<sup>1)</sup>、岩坪隆史<sup>2)</sup>、廣田徳子<sup>1)</sup>、金光真一<sup>1)</sup>、

鈴木洋史<sup>1)</sup>、C. E. Green<sup>3)</sup>、C. A. Tyson<sup>3)</sup>、島田典招<sup>4)</sup>、杉山雄一<sup>1)</sup>

（<sup>1)</sup>東京大・薬、<sup>2)</sup>山之内製薬、<sup>3)</sup>SRI International、<sup>4)</sup>第一化学薬品）

2C-23 ワルファリンのヒト P450 酵素による代謝と *R*-異性体による *S*-ワルファリン 7 位水酸化活性の阻害

○山崎浩史、島田 力（大阪府公衛研）

7月25日(金)

A会場

9:30 - 10:18

薬物動態(2)

座長: 平塚 明(東京薬科大)

- 3A-01 有機セレン化合物のヒトチトクローム P450 酵素活性の阻害作用  
○島田 力、山崎浩史(大阪府公衛研)
- 3A-02 抗酸化剤と食品中天然物質フラボノイドとの複合作用について  
○福原守雄、孫 歩祥(国立公衆衛生院・衛生薬学)
- 3A-03 F344 ラットの肝代謝酵素活性の日内変動における副腎摘出の影響  
○古川忠司、社領 聡、原田幸恵、大橋芳彦、渡辺稔之、杉浦智美、  
真鍋 淳、木村邦男(三共・安全性研)
- 3A-04 リファンピシン投与によるイヌ消化管薬物代謝酵素(CYP3A)の誘導  
○西部泰弘、若林美津子、原内敏夫、京川吉正、丸山敏之、大野浩司  
(塩野義製薬・新薬研)

10:18 - 11:06

発癌

座長: 藤井登志之(藤沢薬品)

- 3A-05 DMBA に対するメタロチオネインの抗発癌作用—メタロチオネイン遺伝子欠損マウスによる検討  
○張 宝旭<sup>1)</sup>、佐藤雅彦<sup>1)</sup>、西村典子<sup>1)</sup>、曾根秀子<sup>2)</sup>、遠山千春<sup>1)</sup>(<sup>1)</sup>国立環境研・環境健康、<sup>2)</sup>同・化学健康リスク評価チーム)
- 3A-06 コウジ酸の甲状腺腫瘍プロモーション作用に関する研究  
○小野寺博志<sup>1)</sup>、三森国敏<sup>1)</sup>、竹川 潔<sup>1)</sup>、安原加壽雄<sup>1)</sup>、高橋正一<sup>2)</sup>、  
船越拓志<sup>3)</sup>、高橋道人<sup>1)</sup>(<sup>1)</sup>国立衛試・病理、<sup>2)</sup>佐々木研・病理、<sup>3)</sup>吉富製薬・薬動研)

3A-07 キノン系色素であるアカネ色素の中期多臓器発癌性試験  
○田中 光<sup>1)</sup>、河部真弓<sup>1)</sup>、萩原昭裕<sup>1)</sup>、佐野真士<sup>1)</sup>、武貞徳子<sup>1)</sup>、  
玉野静光<sup>1)</sup>、中村幹雄<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>大雄会医科学研、<sup>2)</sup>三栄源エフ・エフ・アイ)

3A-08 パラジクロロベンゼン (pDCB) 吸入暴露によるラット慢性毒性試験  
○金子豊蔵、梅村隆志、鎌田栄一、小川幸男、広瀬明彦、鈴木幸子、  
井上 達、黒川雄二 (国立衛試・毒性・評価)

11:06 - 11:54

発癌 座長：鎌滝哲也 (北大・薬)

3A-09 BUUV 法を用いた造血幹細胞の細胞動態解析 2) c-myc 遺伝子導入マウスについて  
○平林容子、梅村隆志、児玉幸夫、金子豊蔵、黒川雄二、井上 達 (国立衛試・安全性生物試験研究センター)

3A-10 ヒトアセチル転移酵素遺伝子導入菌株を用いたニトロアレーンと芳香族アミンの代謝的活性化  
○小田美光<sup>1)</sup>、山崎浩史<sup>2)</sup>、島田 力<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>大阪府公衛研・公衆衛生、  
<sup>2)</sup>同・薬事指導)

3A-11 Methyl methane sulfonate によるラット初代培養肝細胞の DNA-damage-inducible gene 産物レベルに対するペルオキシソーム増殖剤の影響  
○高木篤也、広瀬明彦、黒川雄二、井上 達 (国立衛試・毒性)

3A-12 ペルオキシソーム増殖薬誘発肝癌細胞株の樹立とその性状  
○渡辺隆史、宇野京子、田村 浩、須賀哲弥 (東京薬科大・薬・臨床生化)

13:30 - 14:18

毒性発現 座長：齋藤秀哉 (北海道医療大・薬)

3A-13 ビーグル犬における投与方法の違いによる毒性の変化  
○中野雄司、渡邊 厚、高橋ひとみ、梅原重敬、平井 誠、小林和浩、  
梅田明広、佐々木眞敬、小林洋四郎 (旭化成工業・ライフサイエンス総合研・安全性研)

- 3A-14 毒性試験におけるラット流涎の評価に関する研究  
○長尾重之、大野泰雄（国立衛試・安全性生物試験研究センター）
- 3A-15 高プロラクチン血症時における一般毒性パラメータ変化について  
○於勢佳子、宮田かおり、野田聖子、吉岡 薫、紙田祐介、関 高樹、  
奥野泰由、細川俊治（住友化学工業・生物環境科学研）
- 3A-16 ラットの Xylazine 毒性影響における代謝物 xylidine の意義  
○安原加壽雄<sup>1)</sup>、三森国敏<sup>1)</sup>、村越美由紀<sup>2)</sup>、小林裕子<sup>2)</sup>、小野寺博志<sup>1)</sup>、  
竹川 潔<sup>1)</sup>、高木久宜<sup>1)</sup>、高橋道人<sup>1)</sup>（<sup>1)</sup>国立衛試・病理、<sup>2)</sup>残留農薬  
研・化学）

14:18 - 14:54

毒性発現

座長：三森国敏（国立衛試）

- 3A-17 スタウロスポリンによる血管内皮細胞のアポトーシス  
○三木康宏<sup>1)</sup>、寺岡宏樹<sup>1)</sup>、竹花一成<sup>2)</sup>、平賀武夫<sup>1)</sup>（<sup>1)</sup>酪農学園大・獣  
医・毒性、<sup>2)</sup>同・解剖）
- 3A-18 メトトレキサートのフェレット小腸セロトニン含有量に及ぼす影響  
○山本美佐江<sup>1)</sup>、中村裕之<sup>1)</sup>、岩井 毅<sup>1)</sup>、浅野 忠<sup>1)</sup>、三沢保幸<sup>1)</sup>、  
杉本哲朗<sup>1)</sup>、遠藤 泰<sup>2)</sup>、平藤雅彦<sup>2)</sup>、南 勝<sup>2)</sup>（<sup>1)</sup>中外製薬・安全性  
研、<sup>2)</sup>北海道医療大・薬・薬理）
- 3A-19 ニトロフラゾンのマウス卵巣腫瘍発生のメカニズムに関する検討  
○竹川 潔<sup>1)</sup>、三森国敏<sup>1)</sup>、森安眞津子<sup>2)</sup>、酒盛政光<sup>3)</sup>、安原加壽雄<sup>1)</sup>、  
小野寺博志<sup>1)</sup>、野村達次<sup>4)</sup>、高橋道人<sup>1)</sup>（<sup>1)</sup>国立衛試・病理、<sup>2)</sup>パナファー  
ム・安全研、<sup>3)</sup>吉富製薬・安全研、<sup>4)</sup>実中研）

## B会場

9:30 - 10:18

一般毒性 (1)

座長：松本清司 (信州大・医)

- 3B-01 マウス、ラット、ビーグル犬及びカニクイザルにおける赤血球の形態異常とヘマトクリット値への影響について－保存血液での検討－  
○兼崎秀一、清水靖夫、佐倉康文 (武田薬品工業・薬剤安全性研・光支所)
- 3B-02 骨髄細胞分類における血球サイズ (直径) 測定の意義  
○田畑さおり<sup>1)</sup>、野口規子<sup>1)</sup>、倉田昌明<sup>1)</sup>、田村博志<sup>1)</sup>、松本清司<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>中外製薬・安全性研、<sup>2)</sup>信州大・医)
- 3B-03 カニクイザルの胎児血液性状についての報告  
○山本 隆、池田浩明、岡崎啓幸、鮫島秀暢、永田良一 (新日本科学・安全性研)
- 3B-04 トキシコキネティクスを想定した血液採取のラット血液学的パラメータに及ぼす影響  
○倉田昌明、三沢かおる、野口規子、春日芳朋 (中外製薬・安全性研)

10:18 - 11:06

一般毒性 (1)

座長：野村 護 (第一製薬・安全研)

- 3B-05 自動分析装置による実験動物の血液生化学検査の基礎的検討とその評価  
○中村美穂、菅原正喜、梶村哲世、野村 護 (第一製薬・安全性研)
- 3B-06 CD (SD) IGS ラットの生化学検査値に関する検討  
○井上芳己、江口文子、田中栄治、務台 衛 (三菱化学・横浜総合研・安全性研)
- 3B-07 各種実験動物における PT, APTT 値の検討－3種の測定試薬の比較－  
○池田浩明、森 康男、岡崎啓幸、永田良一 (新日本科学・臨床病理検査)

- 3B-08 イヌの実験的胃障害モデルにおける血清C反応蛋濃度の変動  
○小田部耕二<sup>1)</sup>、有賀恭子<sup>1)</sup>、難波美保<sup>1)</sup>、浅野 忠<sup>1)</sup>、杉本哲朗<sup>1)</sup>、  
田中公一<sup>1)</sup>、長谷川隆司<sup>1)</sup>、山本静雄<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>中外製薬・安全性研、<sup>2)</sup>麻  
布大・環境保健・免疫)

11:06 - 11:42

一般毒性 (1)

座長：降矢 強 (国立衛試)

- 3B-09 エストラジオールとノルエチステロン配合剤の反復投与毒性  
○古川なな絵<sup>1)</sup>、佐々木弘幸<sup>1)</sup>、高安敏幸<sup>1)</sup>、Susan M. Henwood<sup>2)</sup>、  
Magdy Adhelhameed<sup>2)</sup>、高山 敏<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup>埼玉第一製薬・研究部、  
<sup>2)</sup>Covance Lab.)
- 3B-10 ピパリン酸ナトリウム飲水投与による低カルニチンラットの作製および  
骨格筋への影響について  
○大丸 香、武田和典、小笠原裕之、村田晃子、鈴木義治、四方義幸、  
村上善紀、増田達樹 (日本レダリー・医薬研)
- 3B-11 長期間持続インフュージョンの事例ービーグルを用いた6カ月間投与  
○鮫島秀暢<sup>1)</sup>、上田隆弘<sup>1)</sup>、柏原昌文<sup>1)</sup>、前田 博<sup>2)</sup>、永田良一<sup>1),2)</sup>  
(<sup>1)</sup>新日本科学・安全性研究、<sup>2)</sup>同・毒性病理研究)

13:30 - 14:06

一般毒性 (2)

座長：半田 淳 (日本化薬)

- 3B-12 一般毒性試験における統計解析の決定樹  
○浜田知久馬<sup>1)</sup>、吉野 慶<sup>2)</sup>、松本一彦<sup>2)</sup>、野村 護<sup>3)</sup>、吉村 功<sup>4)</sup>  
(<sup>1)</sup>東京大、<sup>2)</sup>日本たばこ、<sup>3)</sup>第一製薬、<sup>4)</sup>東京理科大)
- 3B-13 ラット反復投与毒性試験におけるt検定と多重比較法による検定  
○榊 秀之<sup>1)</sup>、吉中亮治<sup>2)</sup>、平田篤由<sup>3)</sup>、中嶋英美<sup>4)</sup>、貞永 納<sup>5)</sup>、  
山北 修<sup>6)</sup>、小林孝志<sup>7)</sup>、田中 均<sup>8)</sup>、橋本正晴<sup>9)</sup>、和田武夫<sup>2)</sup>  
(<sup>1)</sup>千寿製薬、<sup>2)</sup>武田薬品、<sup>3)</sup>マルホ、<sup>4)</sup>小野薬品、<sup>5)</sup>協和発酵、<sup>6)</sup>大鵬  
薬品、<sup>7)</sup>日本ヘキストマリオンルセル、<sup>8)</sup>ロート製薬、<sup>9)</sup>藤沢薬品)



3B-14 欧米で用いられている反復投与毒性試験（計量値データ）の統計解析方法に関する調査

○安藤誠人<sup>1)</sup>、山田雅之<sup>2)</sup>、今牧宏志<sup>3)</sup>、植村昌平<sup>4)</sup>、西直樹<sup>5)</sup>、赤池雅司<sup>6)</sup>、渡部一人<sup>7)</sup>、今村美喜郎<sup>8)</sup>、渡部則充<sup>9)</sup>、渡部浩治<sup>10)</sup>、塚本治<sup>11)</sup>、和田武夫<sup>12)</sup>、五十嵐俊二<sup>13)</sup>（<sup>1)</sup>明治製菓、<sup>2)</sup>富士レビオ、<sup>3)</sup>サンド薬品、<sup>4)</sup>スミスクライン・ピーチャム製薬、<sup>5)</sup>ゼリア新薬工業、<sup>6)</sup>日本ヘキストマリオンルセル、<sup>7)</sup>中外製薬、<sup>8)</sup>日研化学、<sup>9)</sup>三井製薬工業、<sup>10)</sup>山之内製薬、<sup>11)</sup>ヤンセン協和、<sup>12)</sup>武田薬品工業、<sup>13)</sup>エーザイ）

14:06 - 14:30

一般毒性（2）

座長：馬屋原 宏（武田薬品）

3B-15 第I相臨床試験までに実施された非臨床試験

○菊池康基<sup>1)</sup>、東純一<sup>2),3)</sup>、青木敏郎<sup>2)</sup>、金田平八郎<sup>1)</sup>、伊藤忠雄<sup>2)</sup>  
（<sup>1)</sup>ラビトン研、<sup>2)</sup>大阪臨床薬理研、<sup>3)</sup>大阪大・薬・臨床薬効評価）

3B-16 安全性試験を含む新薬承認申請資料の電子化の経験

永田良一、○西田章二（新日本科学・情報システム管理）

C会場

13:30 - 14:18

重金属

座長：田中慶一（大阪大・薬）

3C-01 ラットの妊娠初期に投与したトリブチルスズの生殖に及ぼす影響

○原園景、江馬眞、川島邦夫、小川義之（国立衛試・大阪支所）

3C-02 ラットにおけるトリブチルスズの投与日による発生毒性の変化

○江馬眞、宮脇英美子、原園景、川島邦夫、小川義之（国立衛試・大阪支所）

3C-03 無機水銀処置によるマウス腎臓 Mn-SOD の遺伝子発現、タンパク含量  
ならびに酵素活性の変動  
○熊谷嘉人、長舟 順、水門佐保、新屋敷 勝、本間志乃、下條信弘  
(筑波大・社会医学)

3C-04 カドミウムの精巣毒性軽減とメタロチオネイン様金属結合蛋白質の誘導  
○太田久吉、田中英之、浅見 聡、関 幸雄、吉川 博 (北里大・医療  
衛生・産業保健)

14:18 - 14:54

重金属

座長：太田久吉 (北里大・医療衛生)

3C-05 IL-6 とグルココルチコイドによるマウスメタロチオネイン-1プロモーター  
活性化の分子機構  
○伊藤徳夫、糟谷恵子、金清雅子、武藤徳男、田中慶一 (大阪大・薬・  
環境毒性)

3C-06 メタロチオネイン欠損マウスにおける亜鉛およびサクラソウサポニンに  
よる肝障害軽減作用  
○木村朋紀<sup>1)</sup>、伊藤徳夫<sup>1)</sup>、武藤徳男<sup>1)</sup>、小林資正<sup>2)</sup>、北川 勳<sup>2)</sup>、  
田中慶一<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup>大阪大・薬・環境毒性、<sup>2)</sup>同・生薬)

3C-07 カドミウムに対する耐性獲得におけるメタロチオネイン以外の因子の関与  
○柳谷隆宏<sup>1)</sup>、湯澤恵子<sup>1)</sup>、斎藤安芸子<sup>1)</sup>、井村伸正<sup>1)</sup>、近藤幸尋<sup>2)</sup>、  
John S. Lazo<sup>3)</sup> (<sup>1)</sup>北里大・薬、<sup>2)</sup>日本医科大・泌、<sup>3)</sup>ピッツバーグ  
大・医)

# ワークショップ1

「Biotechnology-derived Products の毒性試験の  
現状と将来の展望」

7月23日（水）

ザ・ガーデンホール  
演題番号 WI-1～WI-5

## ICH ガイダンスの現状

○牧 栄二

ヤンセン協和、研開本部、前臨床

ICH Topics S6) バイオ医薬品の非臨床試験ガイダンスは、1996年11月に開催されたEWG London会議でStep 2に達した。Step 2のS6文書は翻訳され、同年12月20日付厚生省薬務連絡として製薬関連施設へ意見が求められ、1997年1月24日までに意見の収集が行われた。EUにおけるStep 2 S6文書の対応は、5月末を期限として意見が集められ、USでは4月にFederal registerに掲載された。これらStep 2 S6文書について集められた各国の意見を元に、7月のICH4 Brussels会議で最終的な詰め作業が行われ、最終ガイダンスが作成される予定である。ところで、本ガイダンスの作成の目的は、各極とも柔軟性のあるcase-by-caseの科学的原則に基づいて非臨床試験の安全性評価が実施されているが、このcase-by caseの原則の各極間の解釈を一般化することにある。本ガイダンスは、バイオ医薬品の非臨床安全性試験のため推奨される基本的枠組みを示すものであり、種々の発現系を使って特性を与えられた様々な細胞に由来する医薬品に適用され、抗生物質、アレルゲンエキス、ヘパリン、ビタミン、細胞性血液成分、細菌やウイルスに対する在来型ワクチン、DNA ワクチンおよび遺伝子治療には適用されない。バイオ医薬品はその特徴的かつ多様な構造や、種特異性、免疫原性、予期しない多面発現活性といった生物学的特性などにより、従来 of 医薬品の毒性試験方法を用いることが適切でない場合がある。多くのバイオ医薬品には種特異性があるため、毒性試験用に適切な動物種を選択することが重要である。発表においては、ガイダンスの具体的な内容と7月開催のICH4 Brussels会議の結果も含めて報告する。

### Biotechnological Products の毒性試験における諸問題

#### － 実際例の提示とその対応 －

○筒井尚久

三菱化学、横浜総合研究所、安全性研究所

ICHの「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床試験ガイダンス」案で示されているように、バイオ医薬品ではその薬理活性と種あるいは組織特異性などにより、従来の医薬品で一般的に実施されているようなラットやイヌを用いた毒性試験が適切でない場合がある。特に、モノクローナル抗体製剤では、標的抗原の存在が生物学的活性の発現に必須であるために、種特異性が高く、抗原の存在しない動物種での毒性試験の実施意義は、極めて乏しいと考えられる。

当社は、遺伝子組換え技術の応用により製造したヒト化モノクローナル抗体を新規医薬品として開発中である。ICHでバイオ医薬品の毒性試験に関する討議が開始される以前は、現行ガイドラインの遵守を優先し、抗原の存在しない動物種による試験も行っていたが、現在は、ICHガイダンス案を参考にしながら、反応種による安全性評価を原則にして、開発品ごとにケースバイケースで毒性試験を計画し、実施している。

今回は、当社におけるモノクローナル抗体製剤の毒性試験の具体例を示しながら、これら開発品の安全性評価を計画する際に直面した諸問題とその対応について紹介する。

### 毒性試験に用いる遺伝子操作動物の問題点

○上山義人

東海大学医学部、病態診断系病理  
実験動物中央研究所

遺伝子操作動物作出技術が進歩してきた結果、毒性試験にも遺伝子操作動物が使われるようになって考えられる。そのため、毒性試験に用いられる遺伝子操作動物を作出する際の問題点を、我々の成績と、データを提供して頂ける他の研究機関の成績に文献の成績を加えて考察したい。マウスについては、単一の遺伝子の導入やノックアウトには操作する遺伝子の種類およびマウスの系統が作出効率に影響してくるが、ほぼ、その技術は確立していると考えられる。しかし、二つ以上の遺伝子を同時に注入した遺伝子操作動物の作出効率および特定の系統への遺伝子導入効率は低く、また、前者では複数の遺伝子が期待した強さで発現するとは限らず、後者では、特に、（抗体が出現しないため、長期毒性試験に有用と考えられる）免疫不全マウスでの成績が低いという問題点がある。その結果、現在のところ、前者、後者とも、交配により組み合わせの方が効率がよいといった状態で、作出に長期間を要するという問題点がある。一方、これまでのデータの蓄積などから、毒性試験にはマウスよりもラットの方が使いやすいため、毒性試験のための遺伝子導入ラットが開発されることが考えられる。受精卵の細胞質及び前核が柔らかいなどの理由により、遺伝子導入ラットの作出効率は、当初、マウスよりも低かったが、技術の改良により、ほぼマウス並みになっている。しかし、得られた遺伝子導入ライン全てを繁殖維持することはスペースなどの面で困難なため、必要なラインを迅速・確実に選択する方法の確立がマウス以上に重要になってくる。その他、特別の目的のためには、遺伝子操作ブタの作出が必要になる場合があると考えられるが、その問題点についても触れたい。

## 免疫毒性評価モデル動物の問題点

井上 智彰

日本ロシュ(株)、研究所、毒性病理部

Biotechnology-derived products は免疫系に作用するものも多く、免疫毒性について評価できる系を持つことは、重要である。しかしながら、実験動物においては、種特異性や免疫原性が問題となることも多く、従来からの試験ではヒトへの外挿性に乏しい場合も少なくない。一方、免疫系の特徴として、その担当細胞が血液等を介して体内を循環していることより、容易に生体から取り出し、in-vitro の系や他の生体内に移入する系を構成することができる。このような免疫系の特徴を生かして、ヒトの免疫担当細胞を用いた新しい試験系についての、我々の検討について紹介する。

In-vitro の試験系として、ヒト末梢血から分離した単核球 (PBMCs) を用いた培養系では Keyhole limpet hemocyanin を抗原として 1 次免疫応答 (抗体産生) が認められた。また、免疫不全マウスにヒト PBMCs を移入した系 (hu-PBL-SCID マウス) では、移入したヒト PBMCs はマウス生体内で長期間生存し、末梢血、脾臓、リンパ節等に分布した。血中ヒト免疫グロブリンレベルは経時的に増加した。また、hu-PBL-SCID マウスを免疫することにより、ovalbumin に対するヒト免疫グロブリン産生と、結核死菌に対するヒト免疫応答が認められた。これらの系は、validation を行なうことにより、将来の免疫毒性の試験系の候補になりうると考えられる。しかしながら、ヒトの免疫反応を in-vitro やマウス環境で完全に再現することは現在のところ難しく、MHC、homing receptors、免疫臓器での細胞構築等、ヒト生体内と比べるとかなり条件が悪いことが考えられ、これらの改善が今後の問題であると考えられる。

## 将来の Biotechnological Products(バイオ医薬品)の 毒性試験のあり方

井上 達、高木 篤也、金子 豊蔵

国立医薬品食品衛生研究所 (国立 FDH, 旧称: 衛試)

バイオ医薬品の開発が進んでいる。通常の化学剤には、生体内の何らかの細胞に働きかけ、そこで惹起される生物活性物質の誘導を以て効果を為す例が少なくないので、投与方法などの技術の進展に伴い、いずれそれらはバイオ医薬品への置換が進むことになる。バイオ医薬品はそうした歴史的な将来性を持つが、周知のようにこれらの安全性を担保する方策は、通常薬剤と多くの点で異なる。考え方の平易なものから開発が進んでいるので目下の煩悶は水面下にある。しかしヒトのみへの反応が期待され、動物に反応性のないものが次第に検討対象になっているし、思わぬプレイオトロピズムが異所で毒性 (=効果、但し望まない効果) を発揮する可能性は、すでに既知の注意義務のひとつである。生体内のタンパクが無限に近い異なったあり方をとる分、それらのバイオ医薬品(=タンパク)も多様であり、結果として効能→安全性担保の方法が多様なものならざるを得ない。安全性検討のストラテジーがケースバイケースとなる理由はこうした背景に基づいている。バイオ医薬品の開発過程では、しばしば開発の当初から然るべき既知の効果が期待されている。その薬効は受容体誘導性であり、予期しない“障害”もそれらの機能発現に他ならず、薬効そのものである。従って、こうした生体全体におよぶ総合的な作用をつぶさに把握し、生体内での制御を上回る遺伝子発現制御をめざすことが安全性の基本方向に他ならない。したがって安全性が開発に組み込まれて一体となったチームワークが組織され、開発プログラムに取り組むことが最大の課題となろう。



# ワークショップ 2

「ヒトへの First Trial について  
ーヒト Screening Study の導入に関する毒性学的論点」

7月23日（水）

ザ・ガーデンホール  
演題番号 WII-1～WII-6

# WII-序論

オーガナイザー 序論

菊池康基

ラビトン研究所

第I相臨床試験に関しては、最近のGCPの議論や、ICHのEfficacy分野の討議の中で、あまり話題に上がってこない。第II相以降の臨床試験では、問題が山積しているのに対し、第I相試験はその殆どが内外の受託機関で実施され、試験の内容やGCP上の問題もあまりないことが、その理由と考えられる。

しかし、ICH M3（臨床試験との関連における非臨床試験のタイミング）の議論を通じ、第I相試験に関し日本と欧米との間の大きな相違点が浮彫りになった。即ち、ヒトにおけるScreening studyが日本では全く行われていないことである。最近の日本臨床薬理学会のワークショップ等において、探索的(explorative)あるいは予備的第I相試験を考慮すべきとの意見も出されており、これはまさしくヒトscreening studyを指すものであろう。新薬の国内開発のためにも、ハーモナイゼーションのためにもヒトscreening studyの導入は必要不可欠と考える。

そこで、第一になすべきことは、ヒトscreening studyが実施可能な環境を作り上げることにあり、科学、倫理、行政等の全ての面から討議し、national consensusを得ることが急務である。本ワークショップの重要な論点として、非臨床の立場からヒトの安全性をいかに保証するか、即ち最小限必要な非臨床データは何かということが挙げられる。非臨床データと臨床副作用との低関連性、動物試験データのヒトへの外挿の限界の問題も含め、有益な議論が展開されることを期待すると共に、本ワークショップがこの問題の今後の一里塚となれば望外の幸せである。

なお、本年12月の日本臨床薬理学会でも、このテーマについて臨床面から議論するシンポジウムを催すので、多くの方々の参加を希望する。

### ICH Topic M3（臨床試験との関連における非臨床試験の実施時期）における問題点

○馬屋原 宏

武田薬品工業（株）、薬剤安全性研究所

ICH Topic M3「臨床試験との関連における非臨床試験の実施時期のガイドライン」（以下「タイミング・ガイドライン」と略）は、1996年11月のICH ロンドン会議で Step 2（日・米・欧3極の規制当局および産業側による原案合意）を達成した。

ICH Step 2 文書（ガイドライン案）は通常、3極調和ガイドラインと呼ばれ、本 Step 2 文書の表紙にもそのように書かれているが、このタイミング・ガイドラインは3極間の大きな不一致項目をいくつも含むという意味で特異な Step 2 文書と言えよう。

主な不一致点としては以下がある：

- 1) 単回投与の第 I 相および第 II 相試験の実施に必要な反復投与毒性試験の投与期間（日本は4週間、欧米は2週間。ただし米国ではスクリーニング IND の場合は反復投与毒性試験は必須でない）
- 2) 投与期間2週間までの第 I 相および第 II 相試験の実施に必要な反復投与毒性試験の投与期間（日本は4週間、欧米は2週間）
- 3) 投与期間3ヶ月までの第 III 相試験の実施に必要な反復投与毒性試験の投与期間（日・欧では米国の2～3倍の投与期間が必要）
- 4) 第 I 相および第 II 相試験の実施に必要な雄生殖毒性の病理組織学的評価に必要な反復投与期間（日本は4週間、欧米は2週間、米国ではスクリーニング IND のような場合は単回投与でよい）
- 5) 妊娠可能女性の第 I 相および第 II 相試験への組み入れに必要な雌生殖毒性試験（日・欧は雌受胎能および胚・胎児発生毒性試験が必要、米国は条件付きで雌生殖毒性試験は不要）

以上5種の不一致点のいずれにおいても、日本で臨床試験を実施するためには欧米あるいは米国に比べ長い時間とコストをかけた非臨床試験が必要である。このことは、日本ではスクリーニング臨床試験が実施困難なことと相まって、日本における新薬開発を欧米よりも相対的に困難にし、新薬開発過程の海外移転および臨床試験の空洞化を促進し、ひいては日本の薬物治療学の発展を阻害するものと考えられる。

### Single Dose Acute Toxicity Testing for Pharmaceuticals.

By James G. Farrelly\* and the Pharmacology/Toxicology  
Committee of CDER/ORM

U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug  
Evaluation and Research, Rockville, Maryland, U.S.A.

Acute toxicity studies in animals, in which a pharmaceutical is administered in one or more doses during a period not to exceed 24 hours, are usually necessary to support the safety for any pharmaceutical intended for human use. The information obtained from such studies is useful in choosing doses for repeat-dose toxicity studies, providing preliminary identification of target organs for toxicity, and, occasionally, revealing delayed toxicities. Acute toxicity studies may also aid in the selection of starting doses for phase 1 human studies.

Studies should be conducted using two species one of which should be a non-rodent and administration of the pharmaceutical should be by the intended clinical route and by the intravenous route, if feasible. When the intravenous route is proposed for dosing in humans, use of this route alone in animal testing is sufficient. Animals should be observed for 14 days after administration. All mortalities, clinical signs, time of onset, duration, and reversibility of toxicity should be recorded. Gross necropsies should be carried out on all animals in the study.

In addition, if acute toxicity studies in animals are to provide the primary safety data supporting single dose safety/kinetic studies in humans, the animal studies should be designed to evaluate dose-response relationships and pharmacokinetics. Clinical pathology and histopathology should be monitored at an early time and at termination of the observation period.

\*U.S. Food and Drug Administration, DAVDP, HFD-530, 5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857

非臨床試験として如何なるデータがあればよいか  
— 毒性試験

柳田知司

(財) 実験動物中央研究所  
(株)イナリサーチ

医薬品の開発研究において、はじめてヒトでの治験に進むための安全性の予測は、各種の非臨床試験成績を踏まえて以下の手順により検討がすすめられる。まず第一に、ヒトに被験薬を単回投与したときにどのくらいの用量から、どのような初期症候が観察可能な変化としてみられるかを予測する。その変化が薬理作用または毒性のいずれに基づくかは問わない。薬効が薬物の急性薬理効果に基づく場合は、その変化は薬効に関連していることが多い。次いで、単回投与で起り得る有害反応の種類、発現速度、持続性、可逆性、重篤性、観察の指標、万一発現したときの有効な対策などを検討し、なんらかの変化がみられたときと、重篤な有害反応がみられたときの動物での血中濃度の対比から、安全域の広さやヒトで重篤な変化が発現する可能性があると考えられる血中濃度を推定し、ステップごとに増量する治験において血中濃度を上げられる限界を把握する。第三に、被験薬をヒトに反復投与した場合に動物でみられた有害反応がヒトで予定されている投薬条件の範囲で起こり得る変化か否かを、動物の血中濃度とヒトでの推定濃度との比較から検討して、もし起こる可能性があるればその種類、可逆性、重篤性、観察の指標、有効な対策などを検討する。有害反応の発現速度が遅い場合には吸収、分布、代謝との関連を検討し、ヒトでの初期の治験におけるチェックポイントを明らかにする。

これらの予測に必要な毒性試験データは、試験の種類よりもその内容が大切であるが、現在ICHM3で考慮されている日本案が妥当と考えられる。ただし、vital functionに及ぼす影響が安全性薬理試験または単回投与毒性試験において観察されていることを前提とする。

### ヒトへの First Trial について 非臨床試験として如何なるデータがあればよいか 2. 2 薬物動態試験

渡部 烈

(東京薬科大学薬学部)

現行の「薬物動態試験ガイドライン」およびその運用の問題点 非臨床試験に関するこのガイドラインの存在意義にいま大きな疑問が投げかけられている。欧米にはヒトにおける薬物動態試験に関するガイダンスはあっても、わが国のように非臨床試験に限定したそれは無い。非臨床薬物動態試験は、ヒトにおける薬物の安全性を確保する目的で行われ、TK との関連が重視されている。臨床第 I 相試験に先立って薬物の用途や性状を問わず、画一的に課せられる試験の「チェックリスト」としてガイドラインが将来用いられてはならない。単回投与臨床第 I 相試験において、ヒトで明らかになった動態プロフィールとよく似たプロフィールを示す動物種を中心にし、反復投与を含めた精緻な試験が行われるべきである。そのためにも臨床第 I 相試験への早期移行が望まれる。ガイドラインはガイダンスと改め、その運用に関して何よりも重要なことは、「事前相談制 (IND 方式)」をとり入れることである。試験項目の選択は、科学的な根拠に基づき企業の責任においてなされるべきであり、行政は step by step にこれをチェックする機能をもち、かつ各 step において明白な見解を示すべきである。

ヒトへの first trial に必要な薬物動態試験データ 原則として単回投与毒性試験から単回投与第 I 相臨床試験への移行を前提とすることに大きな問題は無い。ヒトへの first trial を可能な限り低用量で行うための高感度血中薬物 (代謝物) 測定法の開発が先行しなければならない。PK および TK 試験はこれまで以上に科学的に意味のあるデザインでなければならない (筆者らによるソリブジンとテガフルの致死的作用メカニズムを例示する)。ヒト臓器 (主として肝) を用いる代謝試験、ヒト酵素発現系を用いる代謝試験などのデータが強く望まれる。ヒトへの first trial に際して不必要なデータ (約 10 試験項目、但し case by case) についても述べる。

非臨床試験として如何なるデータがあれば良いか：一般薬理試験

大野 泰雄

国立衛生試験所、安全性生物試験研究センター、  
薬理部

わが国の一般薬理試験（GP）ガイドライン（GL）では試験の目的を「臨床適用時に発現する可能性のある副作用の予測、副作用発現時の対策を講ずる上での重要な情報の獲得、更に生体機能に及ぼす作用のうち、毒性試験によっては必ずしも明らかにし難い有害作用についての考慮」としているが、GP・GLにおいてもその実施時期については明確には触れていない。しかし、上記目的から考えれば、その項目の多くを臨床試験実施の前に行い、その結果からヒトでの有害作用を予測し、それに対応した臨床試験プロトコルの作成に利用されることが期待されていると考えるべきである。ただ、どの試験項目をどの段階で行うべきかについては不明確である。ICHのStep 2文書では「安全性薬理には生命維持に必要な機能（心循環系、中枢神経系、呼吸系のような）に対する作用の評価が含まれ、これらの評価はヒトに投与する前に行うべきである。」とされており、現在、各界の意見を聴取している。

一方、GPの内容についてはいろいろ議論があり、GLの見直しの必要性が示唆されてきた。また、GLP適用の必要性についても示唆されてきた。そこで、これらの問題について討議し、必要があればGP・GLを修正するための検討班が衛試の藤森博士のもとで組織され、作業が進められている。

講演では主にGPの意義と実施タイミングについてのICHでの議論を概観するとともに、私の意見を述べさせていただく。



## ヒトへのFirst Trial について -ヒトScreening Studyの導入に関する 毒性学的論点- 4. 治験審査委員会の立場から

小林真一

聖マリアンナ医科大学 薬理学

新医薬品の開発過程においては、いかなる新薬も動物実験（非臨床試験）の結果を踏まえてヒト試験（臨床試験）に移行される。第1相試験に限らずヒトを対象とする初期の臨床試験（臨床薬理試験、探索的試験）では非臨床試験のデータが科学的にも極めて重要である。

しかし、現状では動物データをヒトへ外挿する上での動物種差の問題もあることから、ヒトでの安全性を予測するために十分な非臨床試験データがこの段階で得られていないこともある。

小生に与えられたテーマは「治験審査委員会（IRB）の立場から」ということであるのでIRBで初期臨床試験の実施を審査した経験から、実際に治験薬の毒性からヒトでの安全性が問題とされたいくつかの場合について以下に提起したい。

- 1) 臨床投与量の上限設定：トキシコキネティクスの応用
- 2) 催奇形性について：反復投与試験（生殖器への影響）と生殖毒性試験の実施
- 3) 癌原性について：試験実施のタイミングと他試験の実施
- 4) その他

非臨床試験の毒性データから、このような問題が提起されIRBで審査される場合は、通常、科学的根拠によって追加試験が必要な場合はデータの追加をお願いする。しかし、そうでない場合は倫理的、道義的問題であり、その場合は被験者に対するインフォメーションを適切に行い、同意取得を適切に実施することが大切である。



# シンポジウム 1

「神経毒性をめぐる諸問題と今後の展望」

7月24日（木）

北里大学薬学部（A会場）

演題番号 SI-1～SI-5

## 各国における試験ガイドラインの動向

藤森観之助

国立衛生試験所、安全性生物試験研究センター、薬理

化学物質のヒトへの安全性を評価する上で神経機能への影響の重要性は言うまでもないが、神経毒性の評価に適した試験法の開発は神経系の特殊性すなわち統合性と複雑性から困難であり、試験ガイドラインの確立が遅れていた。近年、国際的にも化学物質の曝露による神経毒性の危険性を下げるために、何らかの神経毒性試験の必要性が認識され、国際的試験ガイドラインとして、経済開発協力機構(OECD)は哺乳動物を用いたスクリーニング試験から開始する段階的な神経毒性試験ガイドラインを作成した。本試験法はラットを用いた急性、28日および90日反復経口投与および慢性毒性試験にも適用しうるものであり、通常の毒性試験評価に加え、神経毒性の第一段階試験項目として、健康状態、ケージ外およびオープンフィールドでの臨床症状のスコアによる詳細な臨床観察、機能試験（各種刺激に対する感覚反応、自発運動量および前後肢の把握力）並びに神経組織病理検査による評価を行い、もし何らかのデータが神経毒性作用を示す場合にはさらに感覚・運動機能もしくは学習・記憶について適切な試験法による検討を考慮すべきとしている。一方、米国では、1981年より神経毒性試験法ガイドラインが制定され、現在は農薬連邦法および有害物質規制法により規制される化学物質には、US環境庁(EPA)による第一段階検査および第二段階検査からなる“農薬および化学物質の神経毒性スクリーニング総合検査法ガイドライン”が適用されている。また、我国においても化審法スクリーニング毒性試験および農薬毒性試験のガイドラインを神経毒性試験を取り入れたガイドラインに改正する必要がある。

## 化審法における神経行動毒性試験

内田 康策

厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（以下「化審法」）においては、新規化学物質を製造又は輸入をしようとする者に対し、事前に届出を求めるとともに、その新規化学物質に対する審査を実施している。審査は、OECDにおいて提唱されているMPD（上市前最小安全性評価）における試験方法を取り入れ、試験成績等を評価することにより、その新規化学物質の判定を実施している。

1995年に、MPDの1つであるOECD試験法ガイドライン407（28日間反復投与毒性試験）が改訂され、OECD加盟国は、これを導入することが必要となっており化審法の評価においても、これを反映させることとしている。しかし、従来の試験方法とは比べ、異なる試験手法の導入、特に神経行動毒性のスクリーニング的手法の導入が必要となっている。行政的には、本試験法は、スクリーニング試験であることから、新たに加わる神経行動毒性においてもスクリーニング的手法として扱うべきものとの認識であるが、実際に試験を実施する者においては、必ずしも本試験手法になじみがない、本試験手法が習熟等されていない等の問題がある。このような現状下、導入にあたっては、問題点を整理するとともに、試験実施者の試験技術の平準化をはかり、もってその結果が国際的に相互に受け入れが可能となるようにすることが重要であり、この観点から準備をしている。

## 症状・行動観察における問題点

安東 潔

(財) 実験動物中央研究所

化学物質の神経毒性を機能的にとらえるためには行動を指標とする。その理由は、行動は基本的には神経によって統合的に支配され、行動に障害がみられたときには、その背景にある神経毒性を把握することができると思うからである。しかし、実際には神経毒性があっても行動的修復過程により毒性が遮蔽されてしまったり、行動的にみて障害があっても神経レベルでの毒性がみつからないことも多々ある。それゆえ、神経毒性の評価には単一の行動的手法のみでなく、様々な角度からの検討が必要となろう。神経毒性は、他の毒性検索の場合同様、素早く、高感度で、かつまた的確にとらえる必要がある。実験場面での行動的手法には、1) 化学物質を投与した動物の症状(徴候、症候など)の肉眼的観察、2) 測定機器による運動量の客観的記録、3) 学習行動による記憶などの詳細な検索などがある。今回は特に1)についてのみ触れることにする。症状観察では、観察項目とその基準をあらかじめ明確に設定しておき、動物の神経機能の反映としての行動を中心に観察する。その観察内容は中枢神経機能、自律神経機能、運動機能、感覚機能などについてのものである。このような症状観察の目的は、あくまでも神経毒性に関する第一次のスクリーニングとして、全体的プロファイルをおおまかに把握することである。肉眼的観察結果の信頼性について十分な検討を加え、また観察された多様な変化の中からノイズに相当する部分を取り除き、ヒトでの神経毒性の予測に有用であるデータのみを絞り込んでゆく必要がある。

## 神経病理学的検索における問題点

今井 清

食品薬品安全センター 秦野研究所

神経系組織は、呼吸、血液循環等生命維持のための基本的な機能のみならず、運動機能、精神活動等の調節中枢としてきわめて重要な組織であることから、神経系組織の障害は非常に悲惨な結果を招くことが多く、我が国においても、過去に水俣病、スモン病など化学物質による悲惨な神経毒性例を経験している。このため米国環境保護局（EPA）では1991年に神経毒性試験法のガイドラインを制定し、このガイドラインに準拠した形で、ほとんどの化学物質について神経毒性試験が実施されているほか、現在は経済協力開発機構（OECD）においても神経毒性試験法ガイドラインの検討が進んでいる。神経系組織、特に中枢神経系に分布している神経細胞は、小領域ごとに形態学的にも機能的にも著しい相違を示しているが、これらの小領域を相互に連絡する神経伝導路の存在により、調和のとれた神経機能が営まれている。従って、理論的には神経系組織に観察された病理形態学的変化の種類、分布を詳細に検討することにより、神経機能の変化を類推することは可能であると考えられるが、神経系組織の機能と形態との関係については不明の点も多く、このことが神経毒性の理解をより困難にしている大きな要因の一つと考えられる。今回のシンポジウムにおいては、神経系組織の病理学的検索の際の技術的な問題点および病理形態学的変化から機能あるいは行動の変化を考察・類推する際の問題点を紹介したい。

## 神経毒性リスク評価上の問題点

奥野泰由

住友化学工業株式会社、生物環境科学研究所

米国では1991年に、OECDでは1996年に各種化学物質の神経毒性試験ガイドラインが発行されている。以来既に米国においては、神経毒性が少しでも疑われるこれらの化合物について、当該試験の実施が、義務づけられている。しかし、得られたデータのリスク評価については、多くの課題が残されている。このような観点から、1995年に発表された米国EPA神経毒性リスク評価ガイドライン（ドラフト）の内容を中心に、神経毒性リスク評価上の問題点について述べる。

1995年のEPAリスク評価ガイドラインは神経毒性のリスク評価の科学的根拠を述べている。神経毒性のリスク評価のための欠落推定を行っており、そのなかで神経毒性には閾値が存在すると考えている。また、非可逆性の変化、回復性の遅い変化、間欠的に発現する変化、職業や環境からの曝露によって発現する変化、潜伏性の変化等が毒性学的意義の高い変化として、重要視している。

神経毒性リスク評価の現状は方法論の確立の段階であり、行動学的、生理学的、神経化学的方法、種差の取り扱い方法、可逆性/非可逆性のメカニズムなどを模索している。また、より科学的なリスク評価、リスクマネジメントのために、データを蓄積している状況である。従って、今後の課題として残されている点が非常に多い。幾つかの例を挙げて、現状の問題点を説明したい。

これらの神経毒性の理解のためには、神経行動学、神経化学、神経病理学を総合的に理解し、相互の関連性を明らかにしていくことが必要である。今後の毒性学における、最も重要な一分野であると言えよう。今後の発展に期待したい。

# シンポジウム 2

「重金属の毒性発現の分子機構」

7月25日（金）

北里大学薬学部（C会場）

演題番号 SII-1～SII-4



## SII-1 特別講演 2

Influence of Cd<sup>2+</sup> on signal transduction in smooth muscle and mesangial cells

Douglas M. Templeton

Department of Laboratory Medicine and Pathobiology,  
University of Toronto, Toronto, Canada

Damage to the renal proximal tubule is a hallmark of both acute and chronic Cd exposure, with evidence that smooth muscle-like mesangial cells in the glomerulus may also be involved in long term organ damage. Effects on vascular smooth muscle cells may also account for some of the vasoactive effects of cadmium. Cadmium causes an accumulation of mRNA for the protooncogene c-fos in smooth muscle cells. Two of the major signaling pathways involved in c-fos induction in these cells are activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) downstream from protein kinase C (PKC) and activation of calcium/calmodulin kinase (CaMK). Both PKC and CaMK are Ca<sup>2+</sup>-dependent, and cadmium has been shown to activate both in vitro by acting as a Ca<sup>2+</sup> analog. However, cadmium causes a sustained activation of cellular MAPK without an effect on either PKC or CaMK activity, suggesting involvement of a novel mechanism for MAPK activation by cadmium, perhaps independent of its action as a Ca<sup>2+</sup> analog. Cadmium causes a disruption of the actin cytoskeleton in mesangial and smooth muscle cells, and while altering Ca<sup>2+</sup> levels in the cytosol, appears to exert its effect on actin filaments independently of Ca<sup>2+</sup>-dependent actin equilibria. Rather, the levels of two actin-binding proteins are influenced by exposure of the cells to cadmium. Whether the expression of these proteins is influenced by MAPK is presently under investigation.



### メチル水銀による神経毒性発現機構とアポトーシス

国本 学

国立環境研究所、環境健康

水俣病の原因物質であるメチル水銀の神経毒性発現機構を明らかにするため、メチル水銀の標的部位の一つとされている小脳神経細胞を対象として、ラット新生仔より調製した小脳初代培養細胞系を用いて、特にアポトーシス誘導という観点から様々の検討を加えた。

メチル水銀によって誘導される初代培養小脳神経細胞の死は、アポトーシスに特徴的な核の凝縮、DNAのヌクレオソーム単位での断片化等を伴っており、少なくとも低用量域ではアポトーシスであると結論された。このアポトーシスはメチル水銀用量及び暴露時間に依存して誘導され、しかも暴露初期のメチル水銀の影響は可逆的であった。

小脳神経細胞のアポトーシスに対して抑制効果があることが知られている高カリウム培地、神経栄養因子、Caspase阻害剤、転写・翻訳阻害剤のうち、高カリウム培地で有意なメチル水銀によるアポトーシスの抑制効果が認められた。

また、メチル水銀によるアポトーシス誘導前後でのアポトーシス関連遺伝子の発現についてRT-PCR法で解析した結果、癌抑制遺伝子でありアポトーシス誘導作用のあるp53のmRNAレベルが、細胞死の顕在化する前に用量依存的に上昇していることが明らかになった。

更に、神経細胞に特異的に発現され、C末端部にDeath domainを有することが明らかにされている440-kD ankyrin<sub>B</sub>が、細胞死の顕在化する前に特異的に消失することも明らかになった。

以上の事実を基にして、メチル水銀による小脳神経細胞のアポトーシス誘導機構について議論する。

## LECラットにおける銅の毒性発現機構と銅の選択的除去

○鈴木 和夫

千葉大学、薬学部、衛生化学研究室

LECラットは銅の排出にかかわる銅結合性ATPase遺伝子(Wilson gene)が変異したWilson病の動物モデルである。肝細胞から銅を排出できないために蓄積し、metallothionein (MT)に結合しているが、肝炎や肝癌を発症する。そこで、肝炎の発症機構並びに蓄積した銅をtetrathiomolybdate (TTM)により選択的に除去する機構を検討した。

LECラット肝臓中の銅濃度は15週齢で約200  $\mu\text{g/g}$ となり、黄疸を発症し、傷害された肝細胞が剥落して、銅濃度は1/3程度に減少する。HPLC/ICP-AES法で肝臓中の銅の存在形態を分析すると、MTに結合していない銅が多量に存在した。一方、通常のラットに銅を連続的に投与し、肝臓中の銅濃度をLECラットよりも蓄積させても銅はほとんどがMTに結合していないにもかかわらず、肝炎は発症しない。

*in vitro*においてZn-MTにCu(II)を加え、Cu,Zn-MTとし、 $\text{H}_2\text{O}_2$ の存在下、ヒドロキシルラジカル ( $\text{HO}\cdot$ )の発生を観察した結果、銅含有MTにZnが存在するときはMTはanti-oxidantとして作用するが、Znが存在しないとpro-oxidantとして作用することが分かった。肝臓に銅がMTの合成限界以上に蓄積し、non-MT-bound Cuが存在するようになると、MTを還元剤として $\text{HO}\cdot$ が発生し、肝炎を発症させると説明した。また、肝臓中のnon-MT-bound Cuは血漿中のceruloplasmin (Cp)への銅の供給の程度によって推定できることを示した。

TTMを投与すると肝臓中でMTに結合して蓄積している銅が選択的に除去され、LECラットは肝炎から回復する。この機構をTTMとCu-MTの量的関係によるthiolate bond(-S-Cu-S-Mo-S-)の形成様式の違いで説明した。また、Cu-MTを含む細胞により多く取り込まれた。

### カドミウム及び鉛の血管組織における毒性発現の分子機構

鍛冶利幸

北陸大学，薬学部，環境科学教室

〔目的〕カドミウムおよび鉛は代表的な有害重金属であるが，血管組織，特に血液と直に接している血管内皮細胞はその毒性発現の有力な標的である。本研究の目的は，これらの重金属の血管内皮細胞機能に対する毒性発現様式を明らかにすることで，血管組織における毒性発現の分子機構の理解のための知見を得ることである。

〔方法〕ウシ大動脈由来あるいはヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞をコンフルエントまで培養し，無血清培地中で塩化カドミウムあるいは塩化鉛で処理し，内皮機能を分析した。

〔結果〕(1)カドミウムは内皮細胞に対して強い細胞毒性を発現したが，鉛による細胞傷害は認められなかった。(2)内皮増殖は鉛によって強く阻害されたが，血管平滑筋細胞増殖は促進された。(3)カドミウムはプロテインキナーゼC依存性の経路を介して転写レベルでブラスミノゲンアクチベーターインヒビター1の産生を促進するのに対し，鉛はCyclic AMP依存性の経路を介して翻訳レベルで組織ブラスミノゲンアクチベーターの産生を抑制し，共に内皮細胞表層（液相）の線溶活性を低下させた。(4)内皮細胞層が保持するヘパラン硫酸プロテオグリカンは主として細胞外基質成分であるパールカンであるが，カドミウムがコア蛋白の合成促進によってパールカン分子数を増加させ，血管平滑筋細胞の塩基性線維芽細胞増殖因子に対する応答性を高めるのに対し，鉛はパールカンのコア蛋白当たりのヘパラン硫酸糖鎖数を減少させた。

〔考察〕カドミウムおよび鉛が異なる様式で血管内皮細胞の機能障害を誘発し，血管組織に対して毒性を発現するものと考えられた。

# 一般演題

7月24日(木)

北里大学薬学部 (A会場)  
演題番号 2A-01~2A-14

北里大学薬学部 (B会場)  
演題番号 2B-01~2B-25

北里大学薬学部 (C会場)  
演題番号 2C-01~2C-23

Cyclophosphamide投与ラットにおける精子形成ステージ  
及び精細管異常出現頻度の検討

○大窪康貴、赤松 博、古谷清隆、渡辺 潔、林 裕

富士レビオ（株）医薬研究所

【緒言】 Cyclophosphamide(CP)は、精祖細胞に障害を与えることで精巣毒性を誘発することが知られているが、その障害の検出は定性的な形態観察では困難である場合が多く、一般に精細胞数の計測を実施する定量的評価が行われている。今回、我々はCP投与によるラットの精巣毒性を、精子形成ステージ及び精細管異常の出現頻度により検出することを試みたので報告する。

【方法】 Crj:CD(SD)IGS系雄ラット(9週齢)にCPの0, 30及び40mg/kgを5日間経口投与し、休薬1, 7, 14及び21日に各群5例の精巣及び精巣上体を摘出後ブアン固定し、常法に従いパラフィン包埋後、HE及びPAS染色を施して光学顕微鏡下で観察した。精巣組織の評価には、各個体の右側精巣横断面標本中の100本の精細管についてステージ分類を実施し、I～Ⅳのステージを6ステージ群にまとめた出現頻度を算出するとともに、精細管異常の出現頻度を求める方法を用いた。また、Ⅱ～Ⅲ、Ⅴ、Ⅶ及びⅨの4ステージの精細管について1個体当たり各ステージ毎に3本の精細管中の精細胞数及びセルトリ細胞数を計測し、セルトリ細胞当たりの精細胞数を算出する方法も併せて実施した。

【結果及び考察】 精子形成ステージ出現頻度は、CP投与群で休薬7日以後、投与量に相関して増加あるいは減少するステージ群が認められた。精細管異常の観察では、CP投与群で休薬1日以後成熟精子の停滞及び精細胞の変性／壊死の認められる精細管の出現頻度が増加した。更に、精細胞の剥離、精細管の萎縮、パキテン期精母細胞の消失、多核巨細胞及びステージの混在も認められた。また、精細胞数の観察では、CP投与群で休薬1日以後、精祖及び精母細胞が精子形成サイクルの進行に従って順次減少した。以上より、精子形成ステージ及び精細管異常の出現頻度の観察結果は、CP投与による精巣障害を反映していると考えられ、方法としても簡便であることから、病理組織学的検査における精巣毒性の検出法として有用であると思われる。

酢酸リュープロレリンによるテストステロン  
分泌抑制がラット精子形成に及ぼす影響

○原田滋雄、鹿内ゆかり、島田 信、  
藤川香津子、渡辺 元\*、田谷一善\*

第一製薬（株）安全性研究所  
東京農工大学家畜生理学教室\*

【目的】精子形成過程にtestosterone(T)が重要な役割を演じていることは周知の事実であり、ラットでは正常値の1/5程度のT値でも精子形成が維持されることが報告されている<sup>1)</sup>。しかし、T分泌が急激に抑制された場合、精子形成に及ぼす影響について詳細に検討した報告は見あたらない。そこで今回、LH-RH誘導体である酢酸リュープロレリンの徐放性製剤（リュープリン<sup>®</sup>、武田薬品工業）を用いて、雄ラットのT分泌を低下させ、経時的に精巣内精子数(SHC)を測定し、精子形成に対するT分泌抑制の影響を検討した。

【材料および方法】10週齢のSD系雄ラットに酢酸リュープロレリン0.6 mg/kgを単回皮下投与し、投与後7、14および28日目に採血後と殺した。対照群には生理食塩液を投与後、同様に処置した。と殺時には臓器重量（精巣、精巣上体、前立腺）、SHCを測定した。さらに、血清中T、luteinizing hormone(LH)、follicle stimulating hormone(FSH)および精巣中T含量を測定した。

【結果および考察】血清中および精巣中Tはいずれの時点でも低下傾向を示し、1週後では対照群の1/2以下の値で有意に低下していた。FSHは1週と2週後に対照群の1/5程度の値を示し、有意に低下していた。SHCはいずれの時点でも有意に減少していた。

以上の結果よりT値が正常の1/2程度に抑制される用量の酢酸リュープロレリンを雄ラットに投与すると、精子形成が直ちに抑制されることが明らかになった。

1) Endocrinology, **124**:3043-3049(1989)

Trimethylphosphate または Pyridoxine 投与時の  
Flow cytometry による精子生存性および精子数測定

○滝沢節子、加藤千明、堀井郁夫

日本ロシュ（株）研究所、毒性病理部

〔目的〕我々はラット精子の生存率と数を Flow Cytometer を用いて測定する方法を報告してきたが、今回、雄生殖器（精子形成、精子運動性等）に影響を及ぼす薬物を用いた時、本検査法によってどのような所見が得られるかについて検討を行った。

〔方法〕5週齢の SD-Slc 雄ラット（10例/群）に、Trimethylphosphate (TMP, 100 mg/kg, po)、または Pyridoxine (PD, 500 mg/kg, ip)を4週間反復投与後、左精巣上体尾部より採取した精子試料の精子生存率と数を Flow Cytometer を用いて測定すると共に、精子運動性および形態を顕微鏡観察により検査した。生殖器（精巣、精巣上体、精囊および前立腺）の臓器重量および病理組織学的検査も合わせて実施し、障害の程度を精査した。対照群は無処置動物を用いた。

〔結果〕TMP 群では精子運動性の低下（頭部振幅の減少）が認められたが、それらは Flow Cytometer による分析で生存精子であることが示された。PD 群では病理組織学的検査により精巣には著変は認められなかったが、精巣上体において精子の変性、精子の顕微鏡観察では精子形態の変化（頭部と尾部の分断）や運動性の低下（20% vs 52% 対照群）が認められた。Flow Cytometer 分析においても、精子形態を反映する Dot plot に形態的变化が示唆されると共に、精子生存性（65% vs 74%）や数の減少（ $0.87$  vs  $1.13 \times 10^6/\text{mg}$ ）も認められた。

〔結論〕以上の結果より、Flow Cytometer を用いて精子生存性および数を測定する本方法は、精子形成や精子運動性等に影響を及ぼす薬物を投与した時の、精子を検査する際にも興味深い所見を提供し、雄生殖能を評価をする上で一つの有用な方法であることが示された。



nitrofurazone によるラット精巣毒性発現メカニズムの  
検討

- 正田俊之<sup>1</sup>, 森安眞津子<sup>2</sup>, 豊田和弘<sup>1</sup>, 畝山智香子<sup>1</sup>,  
高田幸一<sup>1</sup>, 安原加壽雄<sup>1</sup>, 三森国敏<sup>1</sup>, 高橋道人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>国立衛試・病理, <sup>2</sup>パナファーム・ラボラトリーズ

【目的】 nitrofurazone(NF)は畜産動物に使用されている合成抗菌剤であり, 輸入食品中に残留する疑いがもたれている。NF はラットに精巣萎縮を引き起こすことが知られており, 我々は NF 単回経口投与により投与後数時間でVII~VIII期 Pachytene 精母細胞が変性することを見いだし, この一連の変化がセルトリ細胞障害に起因する可能性があることを報告した(第13回日本毒性病理学会)。一方, 癌原性試験ではNFは雌ラットに乳腺腫瘍, 雌マウスに卵巣腫瘍の発生を増加させることから, その発現メカニズムとして内分泌系障害の可能性が推測されている。そこで, NFの精巣障害が性関連ホルモンの変動を介したものであるか否かを明らかにするため, 以下の実験を実施した。

【材料および方法】 0 mg/kg (対照群)ないし 300 mg/kg のNFを0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し, 9週齢のSDラットに単回経口投与した。投与後6, 12, 24, 48時間に各群5匹を剖検すると共に, 血清中のLH, FSH, エストロジェン(E), プロジェステロン(PRG), テストステロン(T), プロラクチン(PRL)をRIA法もしくはELISA法により測定した。

【結果】 投与後6時間では, NF投与群のTが有意に増加しPRGが有意に減少した。12時間ではLHが有意に減少し, 24時間ではTが有意に減少した。PRLは投与後12時間から減少傾向を示し, 48時間では有意に低値を示した。FSHおよびEには変動は認められなかった。

【考察】 上記の結果より, 精巣障害を惹起するといわれているTの減少やEの増加は認められなかったことから, これらの変動は精巣障害発現には関与しないものと考えられ, NFが直接セルトリ細胞を障害する可能性がより強く示唆された。



セルトリ細胞・生殖細胞共培養系に対するジニトロフェノール系化学物質の影響

○高橋 研、寺本 昭二、川島 邦夫\*

残留農薬研究所・毒性部

\*国立衛生試験所大阪支所・生物試験部

【目的】 Gray らは、ラット精巣より調製したセルトリー生殖細胞初代共培養系に精巣毒性物質 monoethylhexyl phthalate を添加すると濃度依存的に生殖細胞がセルトリ細胞から遊離すると報告している。今回我々は、ラットに精巣障害を引き起こすことが知られている dinitrophenol 系除草剤 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol (DNBP) の本培養系に対する影響を、遊離生殖細胞の数と、ディッシュに付着する生殖細胞およびセルトリ細胞の形態の変化に着目して検討した。同時に、DNBP の類似化合物で精巣毒性の明らかでない 2,4-dinitrophenol (DNP) と 4,6-dinitro-*o*-cresol (DNOC) についても検討した。

【方法】 28 日齢 Jcl:SD ラットから精細管を無菌的に採取し、酵素で間質・基底膜の消化を行って生殖細胞とセルトリ細胞の凝集塊を回収し、10% FCS/MEM 培地中で培養した。72hr 前培養した後、DMSO に溶解した DNBP、DNP および DNOC をそれぞれ  $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  および  $10^{-4}$  M の濃度で MEM 培地に添加し、24hr 暴露した。培養終了後、遊離した生殖細胞を数えた。付着細胞については顕微鏡による形態学的観察を行った。

【結果および考察】 DNBP では  $10^{-6}$  M から遊離生殖細胞数が有意に増加し、DNOC では  $10^{-5}$  M 以上、DNP では  $10^{-4}$  M で有意な増加が観察された。付着細胞の形態観察の結果、DNBP では  $10^{-5}$  M で生殖細胞の広範な変性、 $10^{-4}$  M でセルトリ細胞の形態変化が認められた。生殖細胞の変性は  $10^{-4}$  M の DNOC および DNP でも認められ、DNP ではセルトリ細胞への影響も認められた。以上の結果から、DNBP の培養系への影響が明らかとなった。また、同様な影響が DNOC、DNP にも認められたことから、これらの化合物の精巣毒性の可能性が考えられた。

## 除草剤グリホサートのラット性腺カルボニル還元酵素活性に及ぼす作用

○稲津教久、藤井儔子

帝京大、医、薬理

〔目的〕グリホサート(Gly)は柑橘園、水田、公園など幅広く適用される除草剤である。その機序として芳香族アミノ酸合成阻害が報告されているが、ヒトおよび動物に対する薬理学的および毒科学的作用に関する報告は少ない。カルボニル還元酵素 (CR)は組織可溶性画分に局在するNADPH 依存性の酸化還元酵素である。ラット性腺CRはLHおよび性腺ステロイドにより促進的調節を受けている。今回、母体に投与した Glyの第一世代 (F1)ラット性腺 CRに及ぼす作用を検討した。〔方法〕妊娠 Wistar-今道ラットを実験に使用した。Glyは 0.5% CMC 懸濁液として妊娠 9から 15日まで 50 mg/kgを皮下投与した。出産後の F1雌雄ラットの性腺を摘出し、常法に従って組織可溶性画分を調製した。CR活性は 340 nmにおける NADPHの酸化速度を分光光学的に測定した。〔結果および考察〕Gly-F1雄ラットは 21日齢、6週齢および 9週齢においていずれも Control-F1ラットに比べ体重および精巣重量が著明に増加した。一方、Gly-F1ラットの精巣 CR活性は幼若期の 21日齢において Control-F1ラットに比べ有意に低値であった。また、LH活性を持つ hCG投与による精巣 CR活性も Gly-F1では低値を示した。しかしながら、6週齢および 9週齢における Gly-F1ラット精巣 CR活性は Control-F1ラットと比べ有意な変化は認められなかった。以上の結果から、胎児発育期に投与した Glyは幼若期における精巣機能に何らかの影響を及ぼすことが示唆された。

雄ビーグル犬の性成熟および発情周期に伴う生殖器系臓器の動きに関する調査

株式会社ボゾリサーチセンター 函南研究所

○溝口靖基、長島吉和、若林佐知子、赤木圭介、渡辺 大、岡本正己、田村一利、岡庭 梓

毒性試験に供されるビーグル犬は、温湿度、照明時間等を一定に保った閉鎖環境の中、通常は5ないし6ヵ月例から性成熟期を迎える場合が多い。このような条件の下、薬物の毒性評価、とりわけ生殖器に対する影響に関しては、他の器官組織と異なり発情周期の特性と同時に、発情周期に依存した重量的および組織形態的変動を正確に把握した上で行う必要がある一方、実験用ビーグルに関するこれらの情報は乏しいのが現状である。そこで我々は、毒性試験の対照群に供されたビーグル犬を対象に、性成熟および発情周期とこれに伴う生殖器系器官組織の変化について基礎的知見を整理したので報告する。調査対象のビーグル犬は1989年から1994年にかけて当社において毒性試験の対照群に供された193-681日齢の総数418頭であった。動物は温度 $22 \pm 4^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 25\%$ 、12時間照明に制御された動物室にて $900 \times 850 \times 750\text{mm}$ の金属製ケージに個別に収容し、固型飼料(DS-5)および水道水を自由に摂取させた。

[調査結果]

1. 初回発情発情出血は、246-671日齢(平均355.6日)にみられ、その時の体重は6.5-12.4kg(平均9.1kg)であった。
2. 発情出血持続日数は、3-28日(平均13.8日)であり、初回発情出血終了から次の出血までの間隔は、23-411日(平均175.2日)であった。発情出血の発現から次の発情出血の開始までの周期は29-426日(平均189.2日)であった。
3. 発情出血発現の季節特異性はなかった。
4. 子宮および卵巣重量は、収縮期、増殖期、分泌期の順に増加し、特に分泌期の子宮重量は増殖期のそれに比べ約2倍であった。

以上、発情出血に関してSmithらの報告と大差ない結果が得られた。本回では、さらに詳細なデータと共に、発情周期とこれに伴う生殖器系器官組織の形態学的変化についても併せ報告する。

## フェニトインのラット出生児の生存率におよぼす影響

○納屋 聖人, 竹中 千鶴, 佐久間 妙子

協和発酵工業(株)安全性研究所

抗てんかん剤であるフェニトインはラットにおいて児の行動変化を生じさせることが知られている。児の行動異常を観察することを目的に、フェニトインを妊娠ラットに投与して分娩させた際に、母性行動の低下がみられ、これにより、哺育期間中の児の生存率が変化することを観察したので報告する。

方法：妊娠期間中（交尾確認日＝妊娠0日）に1匹収容あるいは2匹収容して飼育したSlc:SD系ラットにフェニトインの200mg/kgを妊娠10日から14日、あるいは16日から20日の間に1日1回、強制経口投与し、その後分娩させて哺育期間中の児の生存性について検討した。

結果：妊娠10日から14日の間にフェニトインを投与した時の1匹収容の場合には母性行動（胎盤捕食、巣作り、児を腹の下に集めること、保温、授乳など）の低下が著明で、生後0日から4日の間の児の生存率は36.3%であり、一方、2匹収容の場合には母性行動は低下せず、児の生存率は82.5%であった。また妊娠16日から20日の間にフェニトインを投与した時には1匹収容、2匹収容ともに母性行動は低下せず、児の生存率は81.1%（1匹収容）、99.2%（2匹収容）であり、大きな差はみられなかった。なお、生後4日から21日までの児の生存率（離乳率）はいずれの群も良好であり、哺育期間中の児の体重推移にも差はみられなかった。

中枢神経系に作用する薬物を用いての哺育実験では、母性行動の変化により児の生存性が大きく影響されることを考慮する必要がある。

## ラット胎児の骨形成に対する Lathyrogenic agents の作用について

○池谷純子<sup>1)</sup>, 加藤康子<sup>1)</sup>, 田嶋尚之<sup>2)</sup>, 田中頼久<sup>2)</sup>, 三分一所厚司<sup>1)</sup>三共株式会社<sup>1)</sup>安全性研究所<sup>2)</sup>分析代謝研究所

<目的> 骨形成に影響を与える薬物として知られる  $\beta$ -aminopropionitrile 等 Lathyrogenic agents は妊娠ラットに投与すると、胎児に口蓋裂や脊柱の弯曲等の異常を誘発する。構造的に類似した  $\beta$ -aminopropionitrile(BAPN), aminoethyl nitrate(AEN), Cysteamine の投与経路の違いによる胎児の異常発現の作用機序について、異常の発現頻度と胎児中の可溶性コラーゲン量から検討した。

<方法> Cj:CD(SD)ラットの妊娠 15, 16 日に BAPN(1500 mg/kg), AEN(1000 mg/kg), Cysteamine(300,500,700 mg/kg) を経口および皮下投与し、妊娠 20 日に解剖し胎児の外表および骨格異常について観察した。また同様に、妊娠 15 日に BAPN(1500 mg/kg), AEN(1000 mg/kg)を経口および皮下投与し、Cysteamine は 700 mg/kg を経口、300 mg/kg を皮下投与して投与後 24 時間に胎児を採取し、胎児中の可溶性コラーゲンを抽出し SDS-PAGE により解析を行った。

<結果および考察> 胎児の外形異常として口蓋裂が観察され、経口投与の BAPN 投与群で 94.6%, AEN 投与群で 100%, Cysteamine 700 mg/kg 投与群で 100%, 500 mg/kg 投与群で 35.6%見られた。皮下投与では、BAPN 投与群で 69.6%見られたが、AEN 投与群では 3%しか見られなかった。Cysteamine 500 mg/kg 投与群では、胎児の死亡が著しく、生存胎児では全く口蓋裂は見られず、300 mg/kg 投与群も 0%であった。骨格観察では脊柱の弯曲が、経口投与では妊娠 16 日の BAPN 投与群で 93.9%, AEN 投与群で 100%, 妊娠 15 日の Cysteamine 700 mg/kg 投与群で 100%, 500 mg/kg 投与群で 15.6%見られた。皮下投与では、BAPN 投与群で 68.4%見られたが、AEN 投与群では 12.5%しか見られず、Cysteamine 500, 300 mg/kg 投与群では観察されなかった。胎児中可溶性コラーゲン量は、BAPN 投与群では経口、皮下投与ともに多く抽出されたが、AEN, Cysteamine 投与群は、経口投与では多く抽出されたが、皮下投与ではわずかしこ抽出されなかった。

以上より BAPN, AEN および Cysteamine は妊娠ラットに投与すると胎児の口蓋裂や骨格異常を誘発し、その形態的な特徴は非常に類似していた。しかし、投与経路の違いによって、異常の発現頻度は、BAPN 投与では大きな差は見られなかったが、AEN, Cysteamine 投与では異なることが示された。胎児の可溶性コラーゲン量は異常の発現に伴って増加した。AEN は胎児の異常の発現頻度と血中、羊水中、胎児中の AEN 濃度が相反することは既に報告したが、Cysteamine も同様な特徴を有していることが推察され、BAPN とは異なった作用によって胎児異常を発現していると考えられる。

## P=S 型有機リン剤のラット胎子動脈管に対する作用

○白井明志<sup>1</sup>、政岡俊夫<sup>2</sup>、有嶋和義<sup>3</sup>、赤堀文昭<sup>1</sup>麻布大学 獣医学部 <sup>1</sup>薬理、<sup>2</sup>毒性、<sup>3</sup>解剖 2

動脈管は、胎生期において肺動脈と大動脈を結ぶバイパスである。近年、この動脈管がインドメタシンなどの抗炎症薬によって収縮が引き起こされるとの報告がなされてから種々の化学物質の動脈管に対する作用が注目されている。そこで演者らは、P=S 型有機リン剤であるフェンチオン (MPP) およびダイアジノン (DIA) の動脈管に対する作用についてラットを用いて検討を行ったので報告する。

Wistar 系ラットを用いた。母体の妊娠日数は、交配の翌朝、膈垢中に精子の確認された日を妊娠 0 日として起算した。妊娠 21 日目の午後 1 時を剖検時間とし、MPP (123 mg/kg) および DIA (143 mg/kg) を剖検の 1、3 および 6 時間前に母体に経口投与した。胎子動脈管および肺動脈の観察は、全身急速凍結法を用いて行い、それぞれの血管の内径を測定するとともに”動脈管の内径/肺動脈の内径”比 (DA/PA 比) を算出した。

動脈管の内径は、MPP 投与群、DIA 投与群ともに投与 1 時間においては有意な変化は認められなかったが、投与 3 時間および 6 時間において対照群と比べて有意な低値を示した。一方、DA/PA 比は、MPP 投与群、DIA 投与群ともに観察した全ての時間で有意な変化は認められなかった。

MPP 投与群、DIA 投与群でみられた動脈管の内径の変化は、DA/PA 比には変化のみられていないことから、P=S 型有機リン剤の動脈管への直接的な変化ではなく、母体および胎子の循環動態の変化によって引き起こされた二次的な変化であると考えられた。

幼若期リニュロン投与ラットの第一世代児における  
カルシウム代謝調節系の変化

○藤井儔子、稲津教久、長谷千賀子

帝京大学、医、薬理

[目的] 1950年代から除草剤として広く使用されているリニュロンはmethylureaを構造にもち発芽期の草に特に効果が強いとされている。ラットにおける経口LD50は1.0-2.25g/kgと報告され長期間の動物実験では肝P450の増加やラットに離乳後から10週間の胃内投与で骨密度の低下が見られている。本実験ではCa代謝系への継世代的影響を検討した。[方法] Wistar-今道およびF344/Du Crj ラット雌雄を使用。1) 5ヵ月齢F344ラットにLin10あるいは30mg/kg(0.5%CMC懸濁)を3日間皮下注射、2) W-1ラットの27日から6日間30あるいは50mg/kgのLinを皮下注射、いずれも24時間後に検索。3) 幼若期50mg/kg投与群の一部を3ヵ月齢にて交配、♂CMC-♀CMC, ♂CMC-♀Lin, ♂Lin-♀CMC, ♂Lin-♀Lin 4群の出生児(F1)を8週齢にて用いた。[結果と考察] 1) 5ヵ月齢ラットにおいて血中副甲状腺ホルモン(PTH)およびカルシトニン(CT)の有意な低下がみられた。2) 幼若期投与群雄甲状腺中のCTが増加した。3) ♂CMC-♀Lin, ♂Lin-♀CMC両群のF1において4mg/kgCa静注1分後の血中CT放出が雄では対照の1.4倍、雌では1.5-2倍と高値であった。血中Caレベルの上昇に群間の差を認めなかった。これらの群のF1雌はCa負荷前のCT基礎値も有意に高値であった。♂Lin-♀CMCF1雌雄ともに血中PTH基礎値が著明に低くCaによる分泌抑制が認められなかった。Linの短期間投与によるCa代謝調節ホルモン産生の変化および幼若期投与群の第1世代児が著明なCa感受性増大をきたす機序は現在不明であるが、骨密度減少が報告されているように、ヒトにおける長期汚染の影響をみる視点として重要と考える。

## 牛準胎児血清培養液を用いたラット胎児培養法の開発 (5)

○横山 篤1)、秋田正治1)、阿部武丸2)、黒田行昭3)

1) 鎌倉女子大、2) 三菱化学、3) 麻布大・環保

<目的> 生殖発生毒性試験のIn vitro 化を目的として哺乳類全胚培養法（胎児培養）を開発してきた我々の研究チームはある壁にぶつかった。培養液が100%ラットの血清が最も培養成績が良好な点である。胎児培養1回に（12ボトル）使用するラット血清は60mlで雄ラット（300g）約20匹に相当する。血液を採取しただけで雄ラットは不要になるので動物数の軽減にはあてはまらない。しかし、奇形の作用機序を観察するには欠かせない実験系である。そこで、ドナーを殺さずとも一定の血清が採取できる牛の準胎児血清を用いた培養法に取り組んだので報告する。<実験方法> ラット胎児培養は胎齢12日目の胎児を24時間培養する方法をとった。培養液はラット血清（RS）と牛準胎児血清（PFCS）（三菱化学）を使用し、各々にサリドマイドの奇形発現用量である700ug/mlを処理した。<実験結果> サリドマイド未処理のRSとPFCSで培養されたラットの胎児は異常は認められず、変化はなかった。組織標本においても神経細胞の核濃縮が確認されたが、この時期のラット胎児においては対照群で普遍的に認められた。次に培養24時間で胎児を観察し、サリドマイドの影響を確認した。その結果、RS培養群よりPFCS培養群の胎児は全例血液体循環が抑制されていたが、頂殿長・体節数・外表形態には影響なく対照群と同等であった。以上の結果より、医薬品の生殖・発生毒性試験を行う場合ラット血清と同じ様に三菱化学製の特殊調整牛準胎児血清は培養胎児の時期が限定されるとはいえ繁用できることが証明された。



トルエン吸入暴露のラットにおける生殖発生毒性  
 III. 周産期及び授乳期吸入暴露試験

○小野 敦、関田清司、広瀬明彦、小川幸男、鈴木幸子、斉藤 実、  
 内藤克司、金子豊蔵、降矢 強、松本清司<sup>#</sup>、田中 悟、井上 達、  
 黒川雄二

国立衛試・毒性部、<sup>#</sup>信州大・医・動物実験施設

[目的]我が国では、青少年を中心とした有機溶剤乱用が大きな社会問題となっており、その次世代に及ぼす影響が危惧されている。我々は乱用者が特に多いトルエンの生殖発生に及ぼす影響を検討するため、妊娠前から離乳期にいたる生殖発生過程の期間を3区分してラットにトルエンの吸入暴露を行い、これまでに妊娠前及び妊娠初期暴露及び胎児の器官形成期暴露による胚胎児毒性について本学会（第22,23回学術年会）において報告してきた。今回、周産期及び授乳期暴露による分娩および胎児への影響を検討した。

[方法]Sic:SD妊娠雌ラット(15匹/群)にトルエン(0,2000及び6000ppm)を1日2時間、妊娠17日より分娩後21日（離乳）までの期間のうち分娩予定日（妊娠21及び22日）を除く25日間吸入暴露した。親動物は体重・摂餌量を記録し全動物を自然分娩させ分娩後22日（離乳時）に剖検した。出生児については身体的発達の観察及び行動機能に関する検査を行い、離乳時及び8週齢時に一部を剖検した。剖検時には血液形態学・血清生化学的検査、臓器重量の測定及び母動物の主要臓器について病理組織学的検査を行った。

[結果及び考察]トルエン暴露に伴う流涎及び流涙が、6000ppm群では暴露初日より、2000ppm群でも暴露期間の末期に観察された。症状は暴露期間とともに強くなり反復暴露による副交感神経機能の亢進が示唆された。6000ppm群の母動物では体重及び摂餌量に抑制傾向が認められ、分娩後22日の剖検時の検査では肝臓及び副腎重量の増加、胸腺及び卵巣重量の減少、血清AsTの増加等が認められた他、組織学的検査では胸腺の萎縮が用量相関性をもって認められ、肝毒性及び免疫機能への影響が示唆された。分娩成績にトルエン暴露の影響は認められなかったが、6000ppm暴露群では、暴露後の哺育（授乳）行動の不良が認められた。同群の出生児では体重及び離乳後は摂餌量が有意に抑制された。また血清AsT及びLDHが増加し肝毒性が示唆された。

カニクイザルの個別ケージ内同居交配成績および  
出生児の成長に関する基礎的データ

○方山和幸、柳井邦男、園田崇倫、大町勝美、小柴 博、  
阿部俊一

(株)ミドリ十字 安全性研究所 毒性・動物管理グループ

【緒言】サルはヒトに類似した薬物反応や代謝を示すことから、非臨床試験における試験動物種として有用であると考えられる。しかし、サルの入手・取り扱い・馴化の難しさや特有の微生物を保有していることなどの問題から、毒性試験での使用は限定される場合が多く、特に生殖毒性関連での使用は数少ない。我々はサル胎児あるいは新生児への薬物の影響を調べるため、実験施設内でのカニクイザルの繁殖を試みるとともに、出生児の成長過程を詳細に観察したので、その結果を報告する。

【方法】当施設において(株)日本クレアより購入したインドネシア産のカニクイザル雄6頭雌27頭(推定4～7年齢)を用いて、雌ザルの生理出血開始日より10日前後経過した時点で、ステンレス製個別ケージ内での3日または5日間の1対1同居交配を行った。また、妊娠ザルを自然分娩させ、出生児について最長5年齢まで飼育して、その間の体重・体長(頭胴長+尾長)の推移、歯萌出の経過、血液および血液生化学的パラメーターの変動を調べた。

【結果および考察】3日間の同居交配では交尾確認12頭中6頭に受胎(妊娠率50.0%)が確認され、5日間の同居交配では交尾確認15頭中11頭に受胎(妊娠率73.3%)した。平均妊娠期間は165.8日であった。児ザルの平均体重・体長は生後24ヵ月齢においてそれぞれ雄1966g・70cm、雌1861g・69cmであり大差はみられなかった。血清ALP活性は雄雌ともに加齢に伴って低下する傾向を示した。その他、歯萌出の経過などの興味深い成績を得た。

今回の検討において、小規模な実験施設内においてもカニクイザルの効率的な繁殖が可能であり、胎児のみならず新生児の成長過程についても薬物の影響を検索し得ると考えられた。

## ラジオテレメトリー法の毒性研究における有用性

○宮崎裕康、久野博司、太田尚、宮沢英男、佐村恵治、  
松本浩良、池本文彦

萬有製薬（株）開発研究所

〔目的〕ラジオテレメトリー法（TMS）による血圧測定値の精度、TMS と従来の毒性評価法との比較の観点から、その有用性について検討した。

〔方法〕実験にビーグル犬を使用した。1) トランスミッター埋め込み手術後、3.6 カ月間、波形を記録し血圧を測定した。2) 手術前後で、一般症状、血液生化学検査を行った。3) 圧勾配を作製しポリグラフシステム（PGS）及びTMSによる血圧測定値を比較した。4) アセプロマジン（APZ）0.3 mg/kg を筋肉内投与し、一般症状及びTMSにより血圧、心拍数、体温及び活動量を測定した。5) ヒマシ油を持続静注し、TMSにより血圧、心拍数、体温及び活動量を測定した。

〔結果〕1) 実験期間中、安定した良好な波形が得られた。2) 手術前後で、検査値に変動は認められなかった。3) 両法の観血的血圧測定値は良好な相関（収縮期／拡張期、係数；0.99 / 0.99、傾斜；1.15 / 1.10）を示した。4) APZ 投与後、TMS では持続的な血圧低下、心拍数上昇、活動量低下及び体温低下が観られた。これは外観的な鎮静状態と平行して観られた。5) 高濃度で、投与後TMSにより血圧低下が観られた。外観的所見は血圧低下の有無に拘わらず、全例に発赤、腫脹、搔痒行動が観られた。

〔考察〕今回の検討でTMS血圧測定値の良好な精度が確認された。また回復させた動物に埋め込み手術の影響は認められなかった。外観的な毒性症状は内観的な生理学的変動を正確に反映していないことがある。TMSは内外両面からの観察を可能にした。今後薬物の毒性評価に応用することで、多くの有益な情報をもたらすと考えられた。

## エーテル麻酔したラットにおける 血液ガス測定法に関する検討

○吉岡勝、須山由美、岩知道貴子、苗代一郎、中井洋一

武田薬品工業株式会社・薬剤安全性研究所

非臨床試験における血液ガス測定は、通常イヌを用いて無麻酔下で実施されているが、今回ラットにおける血液ガス測定法について検討した。

ラットを用いた非臨床試験では、採血は剖検時に麻酔下で実施されることが多く、血液ガス測定用試料も他の血液検査試料と同時に採取できることが望ましいため、エーテル麻酔下での採血を試みた。エーテル量がコントロールできない麻酔箱方式で麻酔したラットの腹大動脈から採血し、血液ガスを測定すると酸素分圧 ( $pO_2$ ) に大きなバラツキがみられた。しかし、 $pO_2$  と酸化ヘモグロビン ( $O_2Hb$ ) の関係を見ると、シグモイド曲線様の酸素解離曲線が得られ、採血時に動物への酸素供給が十分であれば、エーテル麻酔の  $pO_2$  への影響を少なくできると推察した。そこで、エーテル蒸気と空気の混合比を一定にした場合について検討した結果、エーテル量約 20% で麻酔状態導入開始後 1 時間以内は安定した  $pO_2$  値が得られ、その値は留置針を装着し無麻酔無拘束状態で採血した時の  $pO_2$  値と特に差は認められなかった。さらに、無麻酔下では困難な尾動脈採血も麻酔下では容易であることも確認できた。

これらの方法を用いて、ラットにおける塩酸フェニールヒドラジン (PHZ) の影響を検討した結果、40mg/kg の PHZ を腹腔内投与したラットでは生理食塩液を投与したラットと比較して、 $pO_2$  と  $O_2Hb$  の低値およびメトヘモグロビンの高値が認められた。

以上、ラットを用いた血液ガス測定が容易に実施可能となり、非臨床試験に応用可能と判断された。

## ラット循環血漿量の測定法に関する検討

○中下幸江、大久保芳伸、吉岡勝、中井洋一

武田薬品工業株式会社・薬剤安全性研究所

循環血漿量の測定法として色素(エバンスブルー, EB)を用いる方法がある。今回、濁り誤差の低減化及び飽食ラットでの循環血漿量測定について検討したので報告する。

色素法による循環血漿量の測定の際、血漿由来の濁りが大きな誤差要因となるため、通常は絶食及び EB 投与前の血漿による補正が必須条件となっている。そこで濁りの除去方法について検討した結果、血漿を 100%トリクロ酢酸(TCA)溶液で希釈すると、蛋白質及び脂肪などが溶解し、濁りによる誤差は生理食塩液で希釈した場合の 1/10 以下に低下した。また、飽食の Wistar fatty ラットでも EB 投与前血漿による補正が不要な程度にまで濁りが低下した。TCA 溶液添加後の吸光度は室内光下で約5時間安定であり、希釈直線性及び添加回収率ともに良好であった。

EB をラットに投与した後、採血までの時間について検討したところ、5分後から10分後まで血漿中の EB 濃度はほぼ一定であった。EB の投与量については、2.5~10mg/kg の範囲で血漿中濃度は直線的に増加した。

EB 2.5mg/kg の静注5分後の条件下で、雄性SDラットの循環血漿量の週齢差について検討したところ、5、7、11 週齢では各々8.0、12.4、及び 14.1ml(5.3、4.8、3.6ml/100g 体重)であり、絶対量は成長と共に増加したが単位体重当りのそれは週齢の増加とともに低下した。また、エーテル麻酔下採血では循環血漿量が増加した。

以上、今回確立した TCA 溶液による濁り除去により、正確性を損なうことなく操作が簡便化された。

マウスの網膜電図記録法の検討—Sodium iodate  
網膜症の L-cysteine 併用投与による抑制効果—

○杉本眞次, 今若実穂, 今井良悦, 金丸健一  
渡辺武志, 佐々木啓, 西条武俊, 佐藤秀蔵

武田薬品工業株式会社・薬剤安全性研究所

Sodium iodate(SI)は網膜電図(ERG) c 波を消失させることが知られている。また、L-cysteine(L-Cys)は併用投与により SI 網膜症を抑制すること、更に c 波増大作用を有することが知られているが、これらはいずれもウサギでの報告である。前本学会において我々は、ステンレス線で作製したコイル型の電極を用いたマウスの ERG 記録法を紹介した。今回は、本手法を有色マウスに用いて、L-Cys の c 波増大作用、SI 網膜症に対する L-Cys の抑制効果を調べた。

群	薬物	投与経路	投与量(mg/kg)	投与液量(ml/kg)	動物数(匹)
1	L-Cys	i.v.	1000	20	3
2	Saline	i.v.	—	20	3
3	SI 単独	i.v.	25	10	3
4	SI+L-Cys 併用	i.v.+ i.v.	25+25	10+5	3
5	SI+L-Cys 併用	i.v.+ i.v.	25+50	10+10	5
6	SI+L-Cys 併用	i.v.+ i.v.	25+100	10+20	3

1. L-Cys 1000 mg/kg 静注後、速やかに c 波は増大した。
2. SI 25 mg/kg 単独投与群では、投与 1 日後より c 波の消失、b 波下降脚にそった陰性波の増大を示し、次いで 3 ないし 7 日後より陰性波も減弱し、投与 28 日後にはほとんど消失した。
3. L-Cys 25 mg/kg 併用投与群では、SI 単独群と同様の c 波の変化を示した。L-Cys 50 mg/kg 併用投与群では、5 例中 2 例は SI 単独群と同様 c 波は消失したが、残り 3 例には異常はみられなかった。L-Cys 100 mg/kg 併用投与群では、c 波に異常はみられなかった。
4. 病理組織学的検査では、SI 単独投与群及び L-Cys 併用群で c 波が変化した例において、網膜外顆粒層の皺曲、杆・錐状体層の配列の乱れ及び視細胞の減少、色素上皮細胞の腫大及び減少が認められた。
5. 以上より、マウスにおける L-Cys の c 波増大作用及び SI 網膜症に対する L-Cys の抑制効果を、c 波の変化及び網膜の病理組織学的検査成績より確認した。従って、本 ERG c 波記録法は妥当性があり視覚毒性試験法として有用な方法であることが確認された。

## 培養細胞を用いた血管内皮障害の評価に 関する検討

山田久陽, ○渡邊久美子, 大出佳代子,  
木村正明, 樽本保男

大正製薬(株)開発研究所 安全性研究室

〔目的〕ウシ肺動脈内皮細胞(CPAE)とヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いてMTT法, LDH法, Fura-2法により血管内皮障害物質の毒性を評価するとともに, 2種細胞の感受性差についても検討した。

〔方法〕①MTT法: 細胞を播種し2日間培養後, 種々の濃度の障害物質で曝露後, MTTの取込量を測定した。②LDH法: 細胞を播種し24時間培養後, 障害物質曝露後の上清中に漏出したLDH活性を測定した。③Fura-2法: 細胞を播種し3日間培養後, 2  $\mu$ M Fura-2/AMを細胞に取り込ませ, 障害物質曝露後の上清中に漏出したFura-2の蛍光を測定した。

〔結果〕(1) アドリマイシンによるCPAEでのMTT<sub>50</sub>値は12時間後で0.13  $\mu$ M, 24時間後で0.09  $\mu$ Mであった。HUVECでは12時間後で1.96  $\mu$ M, 24時間後で0.41  $\mu$ Mであった。(2) シスプラチンによるCPAEでのMTT<sub>50</sub>値は12時間後で22.7  $\mu$ M, 24時間後で3.8  $\mu$ Mであった。HUVECでは12時間後で107  $\mu$ M, 24時間後で21.5  $\mu$ Mであった。LDH法ではCPAEで24時間後に3.13  $\mu$ M以上, HUVECで24時間後に50  $\mu$ Mより活性が増加した。Fura-2法ではCPAEで2時間後に1.56  $\mu$ Mより軽度に蛍光強度が増加した。(3) マイトマイシンCによるCPAEのMTT<sub>50</sub>値は12時間後で2.1  $\mu$ M, 24時間後で0.7  $\mu$ M, HUVECでは12時間後で4.8  $\mu$ M, 24時間後で0.3  $\mu$ Mであった。LDH法ではCPAEで12時間後では12.5  $\mu$ M以上, 24時間後では0.05  $\mu$ Mより, HUVECでは12時間後では0.39  $\mu$ M以上, 24時間後では0.05  $\mu$ Mより増加した。

〔考察〕3種の評価法において障害物質毎に異なる検出感度を示す結果が得られた。今後, 電顕レベルでの障害発現部位を明らかにし評価法との関連を検討してゆく予定である。また, 2種の細胞間で感受性の差異が見られたことから, 結果をヒトへ外挿する場合にはHUVECの使用が適切と考えられた。



皮膚刺激性試験代替法の検討：炎症性サイトカインの  
遺伝子発現定量化

○柴田道男、井上かおり、板垣宏、市川秀之

(株)資生堂 安全性・分析センター

我々は、皮膚に炎症反応が生じる際に生成・放出される炎症性サイトカインを培養ヒト表皮角化細胞を用いて解析し、皮膚刺激性試験代替法としての応用を検討している。細胞外へ放出されるサイトカインの定量結果より、細胞毒性試験において偽陰性に判定される界面活性剤のいくつかは、角化細胞からのインターロイキン(IL)-8の放出を顕著に増加させることを既に報告している(Shibata *et al.* ATLA *in press*)。今回は、炎症性サイトカインIL-1 $\alpha$ 、IL-8、IL-6 およびTNF- $\alpha$ について、遺伝子発現定量法を確立したのでその結果について報告する。

ヒト表皮角化細胞培養系にホルポールエステルあるいは各種界面活性剤を5あるいは24時間適用後、細胞より総RNAを抽出し、得られた1 $\mu$ gの総RNAよりcDNAを合成し、ABI PRISM 7700 Sequence Detector(パーキンエルマー社)を用いて試料中の遺伝子発現を定量した。IL-8の遺伝子発現は、IL-1 $\alpha$ より10倍程度大きく、特にSDS等において、10から100倍の発現増加が認められた。IL-6 およびTNF- $\alpha$ については、ホルポールエステルあるいはSDS等界面活性剤による遺伝子発現の増加が認められた。また、被験物質による遺伝子発現の応答性の差異についても報告する。本法により、従来のノーザンブロット法等の方法よりも短期間で、簡便に、精度良く炎症性サイトカインの遺伝子発現を定量することが可能となり、細胞毒性試験結果との組み合わせにより、皮膚刺激性試験代替法としての応用が考えられる。



ラットの Alkaline phosphatase アイソザイム解析の毒性試験への有用性—卵巣摘出モデルを用いて—

- ◎ 望月雅裕、諏訪浩一、岡崎和志、中村英明、津田裕一、田村一利、楠岡修、畠山和久

株式会社ボソリサーチセンター 御殿場研究所

〔目的〕 Alkaline phosphatase(ALP)は臓器特異性が高く、そのアイソザイム解析はヒトにおける臨床的有用性は高いが、ラットを用いた毒性試験で応用例が少ない。そこで我々は、実験的骨粗鬆症モデル動物として広く用いられている卵巣摘出ラットを用いて、17 $\beta$ -エストラジオール(E<sub>2</sub>)投与し、骨組織変化の解析に対する骨由来 ALP アイソザイムの有用性について検討した。

〔方法〕 SD 系雌ラットの卵巣を 10 週齢で摘出(OVX)し、40 週齢より E<sub>2</sub> をラット背部皮下に 10 $\mu$ g/rat/day(1 日 2 回、6 時間間隔)の用量で 4 週間連日投与した。対照群にはオリーブオイル(日局)を同様に投与した。また、無卵巣摘出(NOVX)群を設け、10 週齢で偽手術を施した。投与第 4 週に尿を採取し、尿中ヒドロキシプロリン(HP)量および Ca を測定した。4 週間投与終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈より採血し、得られた血清を用いて ALP、Ca および P を測定した。ALP アイソザイムはタイタンⅢを支持体として電気泳動を行い、5-プロモ-3-インドリルリン酸-P-トルイジン塩を基質として反応後、発色させて調べた。

〔結果〕 骨由来の ALP アイソザイムは、OVX 群では明瞭なバンドとして検出されたが、E<sub>2</sub> 群および NOVX 群では検出されなかった。血清 ALP 活性は OVX 群に比べ E<sub>2</sub> 群および NOVX 群では低値であった。血清中 Ca 濃度は OVX 群に比べ E<sub>2</sub> 群および NOVX 群で高値を示し、尿中 HP 量は OVX 群に比べ E<sub>2</sub> および NOVX 群では低値であった。

〔まとめ〕 卵巣摘出ラットに E<sub>2</sub> を投与することにより発現する骨組織変化について骨由来の ALP アイソザイム解析の有用性について検討した結果、骨病変の解析に有用な項目の一つになることが明らかとなった。現在、骨由来 ALP アイソザイムを用いて、骨代謝の盛んな成長期ラットにおける卵巣摘出後の E<sub>2</sub> 投与による経時的骨形態変化について検討中である。

## ヒトCYP2E1遺伝子導入によるニトロソアミン感受性大腸菌株の樹立

○中川徹也<sup>1</sup>、横井毅<sup>1</sup>、串田浩孝<sup>1</sup>、藤田健一<sup>1</sup>、能美健彦<sup>2</sup>、  
Frank J. Gonzalez<sup>3</sup>、鎌滝哲也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大・薬・代謝分析、<sup>2</sup>国立衛生試験所・変異遺伝、  
<sup>3</sup>米国NIH

【目的】現在、ニトロソアミンの多くの変異原性を検出するためにはラット肝S9等による代謝的活性化系を加えている。演者らはヒトにおけるニトロソアミンの活性化を予測することをも期待してヒトCYP2E1遺伝子を大腸菌に導入し、S9を用いずにニトロソアミンの変異原性を検出できる系の樹立を試みた。

【方法】ヒトCYP2E1およびヒトNADPH-チトクロームP450還元酵素(OR)の同時発現プラスミドを構築し、比較的ニトロソアミンに対して感受性が高いとされる大腸菌株WP2 *uvrA*<sup>-</sup> pKM101に導入した。CYP2E1の発現条件や至適試験条件を検討した後、各種ニトロソアミンについて変異原性試験を行った。

【結果・考察】今回樹立した菌株では、各種ニトロソアミンのうち比較的側鎖の短い(低分子量の)ニトロソジメチルアミン、ニトロソジエチルアミン、ニトロソジプロピルアミン、ニトロソジブチルアミン、そしてニトロソピロリジンの変異原性を検出できた。特にニトロソピロリジンの場合ラット肝S9を用いた系よりも明らかに高感度に検出できた。またCYP2E1、ORを同時発現する菌体膜を緩衝液中に加えた比較実験から、薬物代謝酵素の菌体内発現が樹立菌株の変異原物質高感度化に大きく寄与していることが示唆された。今回樹立した系はヒトの酵素を発現していることから薬物代謝酵素における動物種差を克服できる有用な系と考えられる。

幼若ラットを使用した肝細胞小核試験  
－用量依存性・週齢差の検討－

○白鳥 孝, 宮川 誠

(株)三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】*In vivo*の肝細胞小核試験は肝臓での染色体異常の検出を目的とした試験法である。我々は、昨年の本学会で、肝がん原性物質であるジエチルニトロソアミン(DEN)を用いて、幼若ラットを使用した肝細胞小核試験が部分肝切除法と同様に有用な試験法であると報告した。今回、DENに対する用量依存性および週齢に伴う感受性の差違について検討したので報告する。

【方法】用量依存性：動物は4週齢のDuCrj：F344(F344)系雄性ラットを使用した。DENを12.5、25および50mg/kgの用量で投与した後、コラゲナーゼ灌流法により肝細胞を単離した。肝細胞をジアミノフェニルインドール(DAPI)により蛍光染色した塗抹標本を観察し、小核出現頻度を求めた。

週齢差：動物は3、4、5、7および9週齢のF344系雄性ラットを使用した。各週齢の動物にDENを50mg/kgの用量でそれぞれ投与した後、用量依存性と同様に標本観察して小核出現頻度を求めた。

【結果および結論】用量依存性：DEN12.5、25、50mg/kg投与群の小核出現頻度は、対照群と比較して9～20倍に増加し、明確な用量依存性が見られた。週齢差：各週齢の小核出現頻度は、3週齢の小核出現頻度が最も高く(2.3%)、加齢と共に低下し、9週齢の動物で3週齢の約1/14の値(0.17%)を示した。この結果から、幼若ラットを使用した肝細胞小核試験の検出感度は成長に伴う肝臓の分裂増殖に左右されることが示唆された。以上の結果と投与、灌流など実験上の便宜を考慮すると、適用週齢として4週齢の動物が最適であると考えられた。

抗真菌剤開発におけるラット初代培養肝細胞と *Candida albicans* の共培養系を用いた形態解析による評価法

○猪又 晃, 井上 智彰, 堀井 郁夫

日本ロシュ(株)、研究所、毒性病理部

**[目的]** 嚙菌類の初代培養肝細胞を用いた実験系は、毒性学領域のみならず、様々な研究分野において肝細胞が持つ多くの情報を提供してきた。今回我々はこの系を応用し、ラット初代培養肝細胞と *C.albicans* の共培養系を用い、肝細胞が抗真菌剤の抗菌活性に及ぼす影響を image analyzer を用いた形態解析により評価する系を確立したので報告する。

**[方法]** 肝細胞は2-step *in situ* 灌流法により SD-slc 系雄ラットより採取され、分離肝細胞をプレートに接着させた後、*C.albicans* (CY1002) の分生子の懸濁液を  $1 \times 10^3$  conidia/well になるように接種し、11種類の抗真菌剤を含んだ培養液を各 well に添加し、そのまま 37℃で一晩インキュベートした。翌日各 well 中の細胞はホルマリン固定の後、PAS染色が施され、封入された。形態解析は image analyzer (C.IMAGING 1280, Compix, Inc., USA)により実施され、単位面積当りの *C.albicans* の占有面積を真菌の増殖の指標とした。また、image analyzer による形態解析の他に光学顕微鏡による観察を併せて実施した。

**[結果]** 1) 肝細胞との共培養により抗菌活性の低下が認められたもの：Compound X, 2) 肝細胞との共培養により抗菌活性に変化が認められなかったもの：Fluconazole および Itraconazole etc., 3) 菌体の形態に顕著な変化が認められたもの：Echinocandin B, 4) 肝細胞に対する細胞傷害性が認められたもの：Amphotericin B および Echinocandin B。

**[結論]** 新規抗真菌剤の開発において、本法により、*in vivo* での評価系に先立ち、薬物代謝に主要な役割を担う肝臓と抗真菌剤の薬効との相互作用、細胞傷害性等、貴重な情報を提供するものと考えられる。

## 反復投与による複製 DNA 合成(RDS)試験の検討

○大塚雅則<sup>1,2</sup>、今田中伸哉<sup>2</sup>、白石啓二<sup>2</sup>、飯田憲二<sup>2</sup>、  
寶珠山五月<sup>2</sup>、篠田和俊<sup>2</sup>、山崎寛治<sup>2</sup>、谷口芳信<sup>2</sup>

財団法人化学品検査協会、<sup>1</sup>安全性評価技術研究所、  
<sup>2</sup>日田研究所

[目的]変異原性を示さない発癌物質の早期検出法として、被験物質を単回投与したラットまたはマウスの肝細胞を用いる *in vitro/in vivo* RDS 試験が提唱されている。今回、我々はクロフィブラートまたは四塩化炭素をラットに 7 日間及び 14 日間投与し、反復投与による肝細胞増殖の誘発性について BrdU 免疫染色により検討した。[材料及び方法]9 週齢 F344 ラット雄に 50、100、200 mg/kg のクロフィブラートまたは 50、200、400 mg/kg の四塩化炭素を 7 日間及び 14 日間強制経口投与し 1 晩絶食の後解剖した。増殖肝細胞を標識するため、解剖 2 日前から BrdU を間歇的に合計 5 回腹腔内投与した。肝臓の左側葉及び中間葉のパラフィン薄切標本を用いて BrdU 免疫染色を行い、1000 個以上の肝細胞を観察して BrdU 陽性率(LI)を算出した。血清 ALT、AST、OCT、SDH を測定し肝障害の生化学的検査を実施し、HE 染色標本で病理組織学的観察を行った。[結果]いずれの物質も用量に依存した有意な LI の増加を認めず、7 日間投与と 14 日間投与を比較すると四塩化炭素の 50 mg/kg 群で LI の上昇がみられたが、それ以外は低下していた。クロフィブラートでは血液生化学的変化は認められず、肝細胞腫大が観察され、四塩化炭素では肝障害の指標酵素の顕著な増加を認め、肝細胞の肥大と空胞化がみられた。[結語]反復投与によって誘発された肝細胞の増加を発癌性予測の指標とするためには 14 日間の投与期間が必要であると考えられた。なお、本研究は通商産業省・工業技術院からの委託により行われたものである。

テトラクロロエチレンの単回吸入投与後にみられたマウスおよび  
ラットの肝・腎における複製 DNA 合成 (RDS) の誘発

○片山 誠一, 穂山 太郎, 平塚 秀明,  
宮川 誠, 土谷 稔, 三浦 稔

㈱三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】RDS試験は、細胞増殖を指標とした短期の発がんスクリーニング試験法である。テトラクロロエチレン (TeCE) は、吸入投与による2年間のがん原性試験でマウスの肝およびラットの腎にがんを誘発する非変異 (Ames試験陰性) のがん原性物質である。今回、我々はマウスおよびラットにTeCEを単回吸入投与し、肝および腎におけるRDSの誘発性について検討したので報告する。

【方法】8週齢の雄性B6C3F1マウスおよび9週齢の雄性F344ラットにMTDと1/2MTDの用量 (マウス: 1800と830ppm, ラット: 1990と940ppm) でTeCEを4時間、単回吸入投与した。投与後24, 48, 72, 96, 168時間に、BrdUを腹腔内投与してパルス標識した肝および腎を摘出した。常法に従って固定・包埋後、連続薄切標本を作製し、抗BrdU抗体による免疫染色およびHE染色を行った。鏡検部位は、肝では内側葉、腎では皮質および髄質とし、各領域毎に2000個の細胞を計数し、その中に占めるRDS誘発細胞の出現頻度 (%) を算出した。さらに、RDS誘発部位における病理組織学的な変化を解析した。

【結果】マウスでは、1/2MTD群の48時間とMTD群の96時間の肝およびMTD群の48~96時間の腎髄質において、RDSの有意な上昇が認められた。病理組織学的には、RDSの誘発に先行して小葉中心性の肝細胞の空胞化および腎尿管上皮細胞の変性・壊死がみられた。その後、48~168時間に腎で再生尿管が認められた。一方、ラットの肝・腎ではRDSの誘発はみられず、病理組織学的にも著変は認められなかった。RDSの上昇がみられたマウスの肝臓は、TeCEの発がん標的臓器と一致しており、揮発性化学物質の発がん性の短期予測に本試験系が有用なことが示唆された。

## 有機燐剤による中間症候群と遅発性神経毒性

○ 木根渕英雄, 野田信一郎, 秋丸国広

高知医科大学, 衛生

【目的】少数の有機燐化合物は、コリンエステラーゼ活性阻害作用による急性中毒の他に、曝露から1~3週後に作用機序が不明の遅発性神経障害を起こす。近年さらに、曝露の1~4日後に軀幹部の筋肉が麻痺する中間症候群の存在が明らかにされた。この第三の神経毒性もまた、本態は不明であり、報告も数少ない。そこでウズラをモデル実験動物にして、遅発性神経毒性と中間症候群の比較実験を試みた。

【方法と結果】遅発性神経毒性を持つ代表的な有機燐剤として古くから知られているトリオルトトリル燐酸 (TOTP) と、同じく本毒性を持つが、その神経障害はTOTPによるものとはやや異なるという報告がある亜燐酸トリフェニル (TPP) を用いた。また本毒性を検出する実験動物としてニワトリが国際的に賞用されているが、演者らはウズラを代用することに成功した。また投与方法として経口、静注、皮下注などが用いられているが、経皮投与方法が急性毒性を抑えて遅発性神経毒性を強く発現させる優れた方法であることを確立した。ところでTOTPを投与されたニワトリが急性中毒期に卵殻のない卵膜に包まれた卵を産むことがしばしば観察された。そこでTOTP投与ウズラの血中カルシウム (Ca) 濃度を測定したところ、投与直後に著しく低下していることが証明された。TOTPによる神経障害が投与から1週以上経過した後に運動失調で発症し、次第に悪化して麻痺に至るのに対して、TPPの場合は曝露の1~3日後に麻痺で発症する例が多い。両者は明らかに異なる神経毒性に起因するものであり、演者らはこれを中間症候群と考えている。さらにTPP投与後の血中Caの動態もまた、TOTPによるものとは異なる結果が得られた。



カーバメート系殺虫剤による海馬依存性の長期記憶の障害

○水門佐保, 二川治子, 高橋宏明, 千葉裕子, 原田孝則,  
真板敬三

残留農薬研究所

学習・記憶にコリン作動性神経が関与することは広く知られている。中隔から海馬に投射するコリン作動性神経の過剰興奮は、学習後の時間に依存して、海馬に依存した長期記憶を障害することを報告した(水門, 高橋, 日本薬理学会年会, 97/3)。すなわち、恐怖条件付け負荷ラットにコリンエステラーゼ (ChE) 阻害剤フィゾスチグミンを学習3時間後に大量投与した時にのみ、状況刺激に対する記憶が選択的に障害されることを報告した。本研究は ChE 阻害剤であるカーバメート系殺虫剤の学習・記憶に対する影響を検索することを目的とした。

7~8週齢の雄性SDラットにカーバメート系殺虫剤(BPMC, PHC, Methomyl, Carbosulfan)を経口投与すると、投与後30分をピークとしてコリン作動性神経興奮による種々の毒性症状が発現し、24時間以内に回復した。恐怖条件付けの3時間後にカーバメート系殺虫剤を投与して7日後に状況/音刺激に対するすくみ行動を測定すると、音刺激に対する行動に影響はみられなかったが、状況刺激に対する行動は用量に依存して減少した。この減少はフィゾスチグミンと比べて少なかった。一方、行動量、熱板試験、海馬組織像にカーバメート系殺虫剤投与の影響は認められなかった。

以上より、カーバメート系殺虫剤の学習3時間後の大量投与は、フィゾスチグミンと比較して抑制程度は少ないが、状況刺激に対するすくみ行動(海馬依存性の長期記憶)を選択的に抑制した。この記憶障害は形態学的変化に起因するのではなく、コリンエステラーゼ阻害によるコリン作動性神経の過剰興奮によると推察された。



## アリルニトリル投与マウスの神経病理学的変化と行動異常の関連性

○臧 小萍、谷井秀治、西條清史

金沢大学、医学部、衛生学教室

〔目的〕アリルニトリルを投与したマウスは長期間行動異常を引き起こすが、行動異常誘発のメカニズムは解明されていない。本研究はこのメカニズムを明らかにする目的で、アリルニトリル投与マウスの神経病理学的変化と行動異常の関連性を調べた。

〔方法〕雄性マウス（ddY,体重約25-30g）に、オリーブ油に溶かしたアリルニトリルを0、63、84、112mg/kgの量で経口投与した。投与後経時的に行動異常を評価し、又、脳の病理学的変化をHE染色と terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL)法で調べた。

〔結果〕アリルニトリルは投与2日後から運動量の増加、回転運動、後方歩行、首の前後運動、尾の挙上、正向反射の消失等の行動異常を引き起こした。同日の内側手綱核ではHE染色での変化はなかったが、TUNEL陽性細胞が検出され、アポトーシスが惹起されたと考えられた。投与9日目以降、正中縫線核、蒼淡縫線核、背縫線核、大脳皮質、視床下部、海馬と歯状回で、細胞体の萎縮、ニッスル小体の消失などが認められたが、TUNEL陽性細胞は顕著ではなかった。これらの行動異常と病理変化は投与60日でも観察された。

〔結論〕アリルニトリルは主に内側手綱核に影響を与え、運動量の増加をもたらすと考えられた。その後、基底核運動系及び辺縁系と関連する領域での病理変化が引き起こされ、行動異常が固定すると考えられた。

有機リン化合物による遅発性神経毒性に関する研究：  
脳・脊髄標本におけるOPIDN誘発性物質 $[^3\text{H}]\text{DFP}$ の特異的  
結合

○鎌田 亮<sup>1</sup>, 齊藤真也<sup>1</sup>, 鈴木忠彦<sup>1</sup>, 小藤田久義<sup>2</sup>,  
太田路一<sup>2</sup>, 武脇 義<sup>3</sup>, 小林晴男<sup>1</sup>

岩手大・農・<sup>1</sup>家畜薬理, <sup>2</sup>木材利用科学, <sup>3</sup>岐阜大・院・  
連合獣医

〔目的〕有機リン化合物による遅発性神経毒性(OPIDN)の発症機序として, neuropathy target esterase (NTE)の阻害および阻害されたNTEのagingが考えられてきた. しかし, 先に演者らは, NTEの抑制とOPIDNの発症とは関連が低いことを示唆した(第23回日本毒科学会). 今回, OPIDNの初期ターゲットを見つける目的で, OPIDN誘発性物質DFPの結合特性を種々の薬物を用いて検討した.

〔方法〕実験には雌性白色レグホン成鶏を用い, 脳および脊髄の膜分画標本および可溶性分画標本を試料とした. 受容体の結合実験に用いられる手法と同様に, 試料における $[^3\text{H}]\text{DFP}$ の全結合から, 高濃度非標識DFP存在下における $[^3\text{H}]\text{DFP}$ 結合(非特異的結合)を引いた値を特異的結合とした. この特異的結合に対する阻害作用(置換効果)をOPIDN誘発性有機リン化合物 (DFPおよびmipafox), 非OPIDN誘発性有機リン化合物 (paraoxon), NTE基質 (phenyl valerate) および水溶性acetylcholinesterase (AChE)阻害剤 (eserine)を用いて検討した.

〔結果および考察〕膜分画において, 脳・脊髄ともにmipafoxとparaoxonが最も低濃度において置換効果を示し, 非標識DFPの置換曲線はこれらよりも高濃度に位置していた. これに対して, 可溶性分画において, 脳・脊髄ともにDFPとmipafoxが最も低濃度において置換効果を示したが, paraoxonはこれらより緩やかな置換曲線を示し, 特に脳では $[^3\text{H}]\text{DFP}$ 結合の置換は認められなかった. また, phenyl valerate および eserineは両分画において, 高濃度存在下( $10^{-4}$  -  $10^{-3}$  M)であっても $[^3\text{H}]\text{DFP}$ 結合を完全には置換しなかった.

以上より, OPIDN誘発性物質DFPおよびmipafoxの結合部位は可溶性分画(特に脳)に存在し, paraoxon結合部位, AChEおよびNTEとは異なる可能性が示唆された.

カルバリル、トリメチルスズおよびDDTのラットにおける急性神経毒性試験

○和田美紀、中川善裕、都築学、山田倫行、磯部直彦、  
関高樹、奥野泰由、川崎一、細川俊治

住友化学工業（株）生物環境科学研究所

神経毒性試験は、1991年に米国EPAが試験法を策定し、1995年にOECDガイドラインにも取り入れられた。OECDの改訂を受け日本の化審法も本年中に改訂が予定されていることから、近年日本国内でも注目されている。EPAの神経毒性ガイドラインに準拠した試験法を確立し、カルバリル、トリメチルスズおよびDDTを用いた試験を実施したので報告する。

〔方法〕各試験では5週齢あるいは6週齢の雄性SD系ラットを用いた。被験物質の投与は単回とし、投与前7日、投与日、投与後7および14日目に行動機能観察（FOB）、自発運動量の測定を実施し、灌流固定後神経病理組織学的検査に供した。また、同様に投与した動物で、脳内グリア線維性酸性タンパク（GFAP）の測定を実施した。投与量はカルバリル12.5、40および125mg/kg（CMC懸濁）、トリメチルスズ6、9および12mg/kg（コーンオイル溶解）、DDT11.5、35および115mg/kg（コーンオイル溶解）とした。

〔結果および考察〕カルバリル投与により体温や筋力の低下、自発運動量の減少等自律神経への影響が認められた。トリメチルスズ投与では過敏、興奮、痙攣等の症状、中枢および末梢神経細胞の変性およびGFAPの増加が認められた。DDT投与においては振戦、体温の上昇等が認められた。以上の結果は、文献的な各化合物の神経に対する影響と一致し、急性神経毒性試験法が確立できたと考えられた。

エタンブトール経口投与によるビーグル犬の視覚機能に  
及ぼす影響 - 電気生理学的手法による検討 -

中山直樹, ○佐々木正治, 中西豊, 栗原明義, 大野理絵,  
中村勇, 木村正明, 樽本保男

大正製薬株式会社 開発研究所 安全性研究室

[目的] エタンブトールがビーグル犬の視覚機能にどのような影響を及ぼすかを検討するために、電気生理学的手法を用いて、フラッシュおよびパターンリバーサル刺激による網膜電図(ERG)並びに視覚誘発電位(VEP)を指標として検討した。

[方法] 雄ビーグル犬6匹(約1~2歳齢, 体重8~11kg)を、対照群およびエタンブトール群に各3匹ずつ分け、対照群には空のゼラチンカプセルを、エタンブトール群にはカプセルに充填した630mg/kgのエタンブトールを3箇月間反復経口投与した。投与期間中、経時的(投与前, 投与1, 3, 5, 8および12週目)にフラッシュおよびパターンリバーサル刺激によるERG並びにVEPを測定した。なお、ERGおよびVEPの測定は、キシラジン(約2.0mg/kg)および硫酸アトロピン(約0.05mg/kg)の皮下投与による鎮静状態にて実施した。

[結果および考察] 網膜神経節細胞から視神経を介して大脳視覚領までの変化を反映するVEPのうち、パターンリバーサル刺激によるパターンリバーサルVEP(P-VEP)は、投与12週目に頂点潜時の延長が認められた。一方、網膜機能を反映するフラッシュERG(F-ERG)および網膜神経節細胞の機能を反映するパターンリバーサルERG(P-ERG)には明らかな変化は認められなかった。また、測定条件に大きく左右されるフラッシュVEP(F-VEP)は、バラツキが大きく明らかな変化は捕えられなかった。以上の結果より、エタンブトールは網膜機能および網膜神経節細胞には影響を与え難く、視神経に影響を与えると考えられた。

マウスにおける生後の脳アセチルコリン作動性神経系の  
発達について

○辻 良三、山田真司、和田美紀、紙田祐介、奥野泰由、  
細川俊治

住友化学工業（株）、生物環境科学研究所

【目的】 脳の急激な発達時期は脆弱期と呼ばれ、外的侵襲を受け易いことが報告されている。また、脳の発達時期には種差が存在することが知られており、ヒトでの脆弱期は妊娠後期であるが、げっ歯類で生後に迎える。今回、特にアセチルコリン作動性神経系についてのマウスにおける生後の発達を検討するとともに、モルモットと比較したので報告する。

【方法】 幼若期のマウスもしくはモルモットの脳を摘出し、脳重量、蛋白量、コリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)活性、コリンエステラーゼ(ChE)活性、アセチルコリン(ACh)含量、ムスカリニック受容体(mR)密度について測定し、成熟動物と比較した。

【結果】 マウスにおいては各種測定項目の値は生後急激に上昇し、3週齢にてほぼ成熟動物と同程度になった。一方、モルモットの7日齢のChAT活性、ChE活性およびmR密度は成熟動物とほぼ同程度であった。

【結論】 マウスにおけるACh作動性系神経系の各種パラメーターは生後から約3週間の間に急激に発達することが確認された。一方、モルモットにおいては7日齢においてChE活性、CAT活性およびmR密度は成熟動物とほぼ同程度であり、マウスとの間に明確な種差が認められた。従って、幼若期の実験動物における被験物質の影響は、脳の発達程度が異なる動物種においては異なる可能性があると考えられた。

## モルモットを用いた3種の皮膚感作性試験の比較検討

○中村洋介、檜垣 環、加藤日路士、岸田文雄、  
中塚 巖

住友化学工業株式会社 生物環境科学研究所

【目的】皮膚感作性試験としては、Maximization test (MT)、Buehler test (BT) がよく用いられるところであるが、免疫増強剤で処理し、且つ、経皮的に感作する Adjuvant and Patch test (APT) も有効な試験の一つと考えられる。我々は、代表的陽性対照物質を用いて、これら3種の皮膚感作性試験の検出感度を比較し、その有用性を考察した。

【方法】試験には、1群5匹の Hartley 系雄性モルモットを用いた。また、陽性対照物質としては、2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)、無水マレイン酸 (MA)、及び  $\alpha$ -hexylcinnamicaldehyde (HCA) の3種類を用い、感作濃度および誘発濃度を各々数段階で試験し、用量-反応関係を検討した。検出感度の比較では、50%の陽性率を示す感作濃度 (IC<sub>50</sub>) を指標とした。

【結果及び考察】いずれの陽性対照物質についても、検出感度は、BT < APT < MT の順となり、BT で最も感度が低く、MA で最も感度が高い傾向が認められた。このような検出感度の開きは用いた対照物質でも著しく異なり、BT/MT の濃度差で示すと、DNCB で 30、HCA で 200、MA で 300000 以上となった。最も差が大きかった MA の Ko/w (分配係数) は、他に比較して著しく低く、このような検出感度の違いに皮膚透過性が関与する可能性が示唆された。中間的な感度を示した APT は、免疫増強剤で処理し、且つ、実際の曝露経路 (経皮的) で感作する試験であり、MT と比較し、化合物の皮膚透過性の影響をより適切に反映しているものと考えられた。

## マウスのOVA感作におけるアジュバント効果の比較

○副島 潤子、望月 幸子、細川 勇、  
筒井 尚久、井上 裕章

三菱化学 安全性研究所

＜目的＞医薬品の抗原性試験では被験薬物の臨床投与経路による単独感作に加えて、アジュバントとの併用感作を行うのが一般的であり、マウスには水酸化アルミニウムゲル(Alum)が多用されてきた。しかしAlumの吸着性の問題から、低分子化合物の抗原性を評価する際のアジュバントにはFreund's complete/incomplete adjuvant (FCA/FIA)を使用するのが適していると考えられる。しかし、マウスの感作にFCA/FIAを用いた報告は少なく、またそれにより誘導される抗体クラスについて詳細に検討した報告もない。今回、我々は2系統のマウスにovalbumin(OVA)を感作する際にFCA、FIAおよびAlumを用い、これらのアジュバント効果を比較した。

＜方法および結果＞A/JおよびBALB/cマウスに1回/週の頻度で3回、OVAをアジュバントと共に皮下投与した。両系統とも3回の感作にFCAのみを併用する群(FCA群)と、初回はFCA、2および3回目はFIAを用いる群(FIA群)を設けた。これらの感作血清を用いてラットHetero-PCA反応試験を実施した結果、A/JマウスではFCA群とFIA群の抗体価は同等であったが、BALB/cマウスではFIA群の抗体価はFCA群に比べて低かった。系統間の抗体価の比較では、FCA群とFIA群とともにA/Jマウスの抗体価はBALB/cマウスに比べて高値を示し、これはAlumと共に腹腔内投与した場合の成績と一致していた。現在、感作方法の違いによるマウスの免疫応答の系統差を検討するために、ELISAによる産生抗体のクラスおよびサブクラスの同定を実施中である。

## マウスにおける同種受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 試験の検討

○志村 賢一、井上 智彰、堀井 郁夫

日本ロシュ(株)、研究所、毒性病理部

[目的] 抗原性試験の試験項目として、モルモットにおける能動全身アナフィラキシー (ASA) 試験および PCA 試験が、広く行われている。また、マウスにおいてはラットを recipient とした (マウスーラット) PCA 試験が主に行われているが、マウスを recipient とした同種 (マウスーマウス) PCA 試験はほとんど行われていないのが現状である。今回、我々は、マウスーマウス PCA 試験の特徴、メリットについて検討したので報告する。

[方法] C57BL/6 雄マウスに Penicillin G (PCG) - guinea pig serum albumin conjugate を CFA と共に皮下注射することにより免疫した後、血清を分離し、BALB/c 雄マウス皮内 (耳、背中、foot pad) に 20  $\mu$ l/spot 注射した。1 日後に惹起抗原を Evans blue と共に静脈内注射し、30 分後に blue spots の出現を観察した。また、反応の強さを比較するために、同一血清を用いて定法のマウスーラット PCA 試験も行なった。

[結果] マウスーマウス PCA 試験において、PCG - ovalbumin (OVA) conjugate 100  $\mu$ g/mouse を惹起注射した場合、抗血清注射部位による反応性 (End point の血清希釈倍率) は、耳 > 背中 > foot pad の順に強く、耳では判定も容易であった。体重当りではほぼ同じ抗原量を惹起注射したマウスーラット PCA 試験 (PCG-OVA conjugate 1 mg/rat 惹起) に比べると、マウス耳での PCA 試験の方が  $2^2 \sim 2^3$  くらい高感度 (End point の血清希釈倍率) であった。この結果より、被験薬物の量が限られる early stage での抗原性スクリーニング系として、少ない被験物質で評価できる、耳でのマウスーマウス PCA 試験が有用であると考えられた。



## ヒトインターフェロン製剤によるモルモットのアレルギー反応の機構

○後藤紀久<sup>1</sup>、加藤博史<sup>1</sup>、櫻井信豪<sup>2</sup>、田中俊一<sup>3</sup>、横山けい子<sup>4</sup>、笠間 協子<sup>5</sup>、上西憲明<sup>4</sup>、細井和男<sup>2</sup>

<sup>1</sup>国立感染症研究所・安全性研究部、東レ(株)・<sup>2</sup>医薬品質保証室、<sup>3</sup>医薬品製造部、<sup>4</sup>基礎研安全研、<sup>5</sup>基礎研創薬2研

〔目的〕生物学的製剤の検定項目である異常毒性否定試験の実施時において高頻度に認められたインターフェロン(IFN)  $\alpha$ 、 $\beta$  製剤投与後の耳、眼瞼、足蹠の発赤症状を解明するために免疫学的、病理学的検討を試みた。

〔方法〕材料としてIFN- $\beta$  製剤〔東レ、ヒト線維芽細胞由来天然型、含安定化剤としてヒト血清アルブミン(HSA)〕、IFN- $\beta$ (HSAフリー)、HSAそして別の抗原として破傷風トキソイド(TT)等を用いた。1群3匹のHartley系雌モルモット(約350g)にそれぞれの組合せで調整したサンプルを5 ml腹腔内投与し、投与後、発赤症状や他の異常の有無を観察した。更に投与後8、14、25日目の各モルモットの抗IFN- $\beta$  抗体および抗HSA抗体そして抗TT抗体をELISA法で測定した。また、投与後26日目に皮内反応を行った。耳、皮膚等の反応は病理組織学的にも検討された。

〔結果および考察〕IFN- $\beta$ 、HSAそしてIFN- $\beta$  + HSAの各材料をそれぞれ投与し耳の発赤を観察した結果、投与後7~10日にIFN- $\beta$  + HSA群でのみ発赤が認められた。また、注射後の血清中の抗HSA抗体価を測定したところ、HSA単独に比べてIFN- $\beta$  + HSAでは強い抗体価の上昇がみられた。皮内反応試験では時間的経過及び皮膚の組織所見より、Arthus型と考えられる反応が観察された。主に耳等でみられた発赤反応の発現機構は、モルモットがヒトIFN- $\beta$  に反応性を示すことより、IFN- $\beta$  がもつアジュバント活性により、HSAやTTに対する抗体産生が増強され、それらと残存する多量の抗原との間に生じたアレルギー性反応によると考えられた。

毒性試験に有用な免疫学的指標のスクリーニング  
—レバミゾールによる免疫賦活作用の検出—

○古谷 真美<sup>1)</sup> 安達 智子<sup>1)</sup> 金澤 由基子<sup>2)</sup>  
原田 知子<sup>3)</sup> 小島 幸一<sup>1), 2)</sup>

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所  
1) 生化学 2) 免疫毒性学 3) 一般毒性学

毒性試験において入手が容易な血漿を用いて免疫系の変動を捉えるために、C3 蛋白質(C3)、血清補体価(CH50)および IgG 等の測定方法を開発し、その利用を検討してきた。そして、サイクロフォスファミドを投与したラットでは CH50 が免疫抑制作用をよく反映することを昨年報告した。今回は、免疫賦活剤であるレバミゾール(Lev)を投与した時のこれら測定値の変化と免疫賦活作用との関係を経時的に調べた。[方法] SD ラットに Lev(0、1、3、10 mg/kg)を 14 日間皮下投与した。投与前、投与 7 および 14 日目に尾静脈より採血を行い、C3、CH50、IgG および新たに確立した方法で IgM を測定した。また、最終投与の翌日に SRBC を静脈内投与し、その 4 日後に脾細胞を用いた溶血斑形成細胞(PFC)測定、血液学的検査を行い測定値を比較検討した。

[結果・考察] Lev の 14 日間投与では、PFC 測定において 3 mg/kg までは抗体産生細胞数が増加し免疫賦活作用が認められたが、10 mg/kg では対照群と同レベルになり、逆に抑制作用が表われたと考えられた。また、白血球数は 1 および 3 mg/kg 投与群で減少した。一方、CH50 は 1~10 mg/kg、IgG は 10 mg/kg 投与群で対照群に比べて有意な増加を示した。さらに各群について投与前値と 7 日間投与後の値を比較すると、CH50、IgG とも 3 および 10 mg/kg 投与群で増加を示した。

以上のことから CH50 や IgG は、PFC 測定や白血球数が変動する用量より高くなるものの Lev が免疫系に与える影響をより広い用量範囲で捉えられるため、毒性試験における免疫系の変化のスクリーニングには有用であると考えられた。また、群別に投与前後の値を比較することで早期に変動を捉えられる可能性が示唆された。

PFC 測定に代わり得る特異抗体定量法の開発 (2)  
——測定法の改良と応用性の検討——

○安達 智子<sup>1)</sup>、金澤 由基子<sup>2)</sup>、小島 幸一<sup>1),2)</sup>

(財) 食品薬品安全センター 秦野研究所  
<sup>1)</sup> 生化学研究室、<sup>2)</sup> 免疫毒性学研究室

免疫機能の試験方法である溶血斑形成細胞 (PFC) 測定に代わる方法として、ヒツジ赤血球 (SRBC) に特異的なラット IgM (anti-SRBC IgM) 濃度を直接定量する ELISA が抗体価の測定に比べて優れていることを、昨年度報告した。本年は ELISA の標準物質の精製法を改良して定量性の向上を図ると共に、多系統のラットへの適用拡大、免疫賦活作用の検出への応用などを検討した。

〔方法〕 Anti-SRBC IgM は、SRBC を静脈内投与したラットの血清から ImmunoAssist MG-PP (関東化学) とゲルろ過によって総 IgM として精製し、ELISA に用いた。総 IgM 中の anti-SRBC IgM 濃度は、総 IgM 濃度から SRBC をリガンドとしたアフィニティカラムの非吸着画分の濃度を差し引いて求めた。3 系統 (Wistar, Fischer, Brown Norway) のラットに SRBC を静脈内あるいは腹腔内投与し、その 4 日後の PFC 測定と ELISA との相関性を検討した。また、レバミゾール (0, 1.25, 2.5, 5mg/kg) を 14 日間投与した SD ラットにおいて両測定法における免疫賦活作用の検出感度を比較した。

〔結果および考察〕 改良した標準物質の精製では、anti-SRBC IgM を含む総 IgM を、SRBC との結合能を失活させることなく得られるため、試料血清の前処理が不用となった。これによって定量性が向上し、より簡便な測定が可能となった。3 系統のラットとも PFC 測定と ELISA 間でおおむね良好な相関が認められ、SD を含めた少なくとも 4 系統のラットに適用できた。また、レバミゾールの投与量に依存して anti-SRBC IgM 濃度は上昇し、我々の ELISA で免疫賦活作用の検出ができることが明らかとなった。

## ラットの再生不良性貧血と腎性貧血における血液学的パラメータの挙動についての検討

○岩知道貴子、苗代一郎、伊藤賀永子、吉岡勝、中井洋一

武田薬品工業株式会社、薬剤安全性研究所

薬物による貧血の発現機序を調べる場合、使用する動物の血液学的、血液生化学的及び造血組織の病理学的な背景データを充分把握したうえで、検討を進めることが重要である。今回、Crj:CD(SD) IGS ラットについて、血液学的検査を5から19週齢時に、骨髄検査を6、10及び19週齢時に実施して背景データを収集した。また、6週齢の雄性ラットにシクロホスファミドあるいはゲンタマイシンを投与して、血液学的検査及び骨髄検査のパラメータを毒性学的に比較検討した。

血液学的検査では、5から13週齢にかけて赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値は増加し、網状赤血球数、MCV及び血漿中エリスロポエチン濃度は減少した。その後、これらのパラメータはいずれもほぼ一定の値を示した。しかし、血小板数及び白血球数は5から19週齢の間で大きな差はなかった。また、骨髄検査では加齢により総有核細胞数及び赤芽球系細胞数が減少し、骨髄球系細胞数と赤芽球系細胞数の比が増加した。

また、ラットにシクロホスファミドを投与した場合、末梢血で赤血球数及び網状赤血球数の減少とともに白血球数、血小板数の減少がみられ、骨髄検査では総有核細胞数の減少が認められた。一方、ゲンタマイシンを投与した場合、末梢血で赤血球数及び網状赤血球数の減少はみられたが、白血球数と血小板数に変化はなく、骨髄検査では赤芽球系細胞数の減少が認められた。

これらの成績から、再生不良性貧血では造血の抑制が特徴であり、腎性貧血はエリスロポエチン産生の減少を介した赤血球の産生抑制に起因することが認められた。

## 腎毒性の指標としての血液および尿の生化学検査の検討

○向井大輔、勝俣勇、熊平智司、大石法男、山川誠己、  
井上博之

(財)食品農医薬品安全性評価センター

【目的】腎毒性の指標として種々の検査項目が実施されているが、腎障害を適切に反映する検査法はいまだ確立されていない。今回我々は、糸球体障害を惹起する Puromycin aminonucleoside(PAN)および尿細管障害を惹起する Gentamycin(GM)を投与したラットの血清および尿を用いて検査法を検討したので報告する。

【方法】Sprague-Dawley 系雌性ラットを用い、PAN を 6、18 および 50 mg/kg 静脈内単回投与または GM を 9、26 および 80 mg/kg 筋肉内 7 日間反復投与を行った。投与 7 日に代謝ケージを用いて 24 時間尿を採取し、NAG、Creatinine、 $\gamma$ -GTP、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ および I.P 濃度の測定を行った。同時に新鮮尿について  $\alpha$ -GST および T.P 濃度の測定を行った。また、血清については BUN、Creatinine、T.P、Albumin、Erythropoietin、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ および  $\text{K}^+$ 濃度の測定を行った。なお、腎臓については確認の意味もあり、病理組織学的検査を実施した。

【結果】PAN 投与ラットでは、50 mg/kg 群で、対照群に比較して尿中  $\alpha$ -GST 濃度が 14 倍、尿中 T.P 濃度が 68 倍、尿中 NAG/creatinine が 1.3 倍にそれぞれ増加し、血清 Albumin 濃度が 0.8 倍に減少した。GM 投与ラットでは、80 mg/kg 群で尿中  $\alpha$ -GST 濃度が 15 倍、尿中 NAG/creatinine が 1.6 倍にそれぞれ増加した。

【まとめ】腎毒性の指標としては、糸球体障害では尿中蛋白濃度、尿細管障害では尿中  $\alpha$ -GST 濃度の測定が鋭敏であると考えられた。これらの検査項目は、腎毒性のモニター項目として有用であると考えられる。

ラット尿沈渣検査における尿中有形成分分析装置  
(UF-100)の有用性についての基礎的検討(1)

○平田絹子<sup>1</sup>、緒方英博<sup>1</sup>、嘉悦愛士<sup>1</sup>、大山康浩<sup>2</sup>、  
森安眞津子<sup>1</sup>

- 1) パナファーム・ラボラトリーズ、安全性研究所
- 2) 東亜医用電子、開発本部

【目的】尿中有形成分分析装置 UF-100 (東亜医用電子)はフローサイトメトリー方式により、尿中の有形成分を分画して定量的算定を行う全自動分析装置で、ヒトの尿沈渣検査ではすでに実用化されている。今回、我々はUF-100を用いてラット尿を測定する機会を得たので、鏡検法と比較検討した。

【方法】SD系雄性ラット(10~12週齢、無処置、並びにシスプラチン、ハブ毒あるいはプロモエチルアミンを単回投与)を個別に代謝ケージに入れ、絶食給水下で2ml以上の新鮮尿を採取した。UF-100および尿試験紙法で測定し、さらに尿1mlを遠心(1500rpm, 5分)して上清0.8mlを除去した後SM染色液を1滴添加し、15 $\mu$ lをスライドガラスに滴下して鏡検を行った。強拡大(HPF:400倍)で20視野以上観察して、有形成分の判別とその数をカウントした。円柱等の大きな有形成分については弱拡大(HPF:100倍)にて観察した。なお、UF-100測定においてはラット専用の解析アルゴリズムを用いた。

【結果及び考察】赤血球、白血球、上皮細胞、内容物を含む円柱および精子とも、UF-100法と鏡検法との相関は比較的良好であり、相関係数は0.68~0.85であった。両方法での値が大きく乖離した検体が数%程度認められ、その原因として 1)両者の測定感度の差、2)集塊物(主に細菌の集塊)による分画ミス、3)UF-100の許容範囲を超える多数の夾雑物の影響などが考えられた。また、測定までの時間が長くなると尿中夾雑物と細胞の識別が困難な画分もあり、採尿方法に関連する問題点が示された。UF-100測定に必要な尿量が低減され放尿後早期に測定可能となれば、有用性がさらに高まることが期待できる。

ラット尿沈渣検査における尿中有形成分分析装置  
(UF-100)の有用性についての基礎的検討(2)

○緒方英博、平田絹子、嘉悦愛士、楢先恵美子、  
森安眞津子

パナファーム・ラボラトリーズ、安全性研究所

【目的】UF-100による尿中有形成分の測定は、操作が簡単で処理能力が高いだけでなく、鏡検法に比べ感度が高くより定量的な測定法であり、粒子の大きさや形状に関する情報を与えてくれる。今回、急性の腎障害を惹起させたラットの新鮮尿をUF-100を用いて測定し、ラット尿検査におけるUF-100の有用性について基礎的検討を行った。

【方法】SD系雄性ラットにシスプラチン(4あるいは8mg/kg)、ハブ毒(1.5あるいは4.5mg/kg)あるいはプロモエチルアミン(BEA, 300mg/kg)を単回投与して急性腎障害ラットを作製し、経日的に新鮮尿(2ml以上)及び24時間尿を採取した。新鮮尿についてはUF-100法及び鏡検法により尿中有形成分を測定し、24時間尿については尿量、浸透圧、電解質、クレアチニン、蛋白質、N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG)活性、アルブミン、ヘモグロビン及び $\beta_2$ -ミクログロブリン濃度を測定した。同時に、腎臓の病理組織学的検査も実施した。

【結果及び考察】ハブ毒を除く投与群で、投与3～5日後から電解質の低下並びに蛋白質及びNAG活性の増加傾向が認められた。さらに、シスプラチン群では尿量とクレアチニンが低下し、BEA群ではこれらは上昇した。組織学的にも腎障害を示す像がみられた。尿沈渣検査では、これらの変化と対応して白血球や上皮細胞を主とした尿中有形成分の経日変化が観察された。鏡検法とUF-100法とで、赤血球と円柱についての不一致が少数例でみられたものの、UF-100での測定結果は薬剤投与による腎障害を的確に反映しているものと考えられ、ラットの尿検査におけるUF-100の有用性が示唆された。



コーンオイルと飼料のラットの哺育および分娩に  
及ぼす影響

○佐藤昌子、渡辺千朗、和田和義、長尾哲二  
畔上二郎、丸茂秀樹、今井 清、小野 宏

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所

【目的】コーンオイルは不飽和脂肪酸を多く含む植物油で、毒性試験では一般的な溶媒として齧歯類などに投与されている。しかし、生殖試験において重要な妊娠、分娩、哺育といった繁殖に対するコーンオイルの影響は詳細に調べられていない。そこで、雌ラットの妊娠、分娩、哺育期にコーンオイルを投与し、摂餌させる飼料との組み合わせにより影響が生じるか否か検討した。【方法】7週齢のCrj:CDラットを購入し、齧歯類用固型飼料CA-1あるいはCE-2（日本クレア(株)）を摂餌させる2群に分けた。各飼料群の雌ラットに、8週齢から交配前2週間、交配期間、妊娠期間および分娩3日まで、コーンオイル0（無処置対照群）、2あるいは10 ml/kgを毎日経口投与した。投与期間中体重および摂餌量を測定し、交尾雌は自然分娩させ、分娩4日に母動物および出生児を剖検した。剖検時には、母動物の器官重量（肝臓、腎臓、胸腺）を測定し、腎臓の病理組織学的検査を実施した。【結果および考察】摂餌量は両飼料群とも10 ml/kg投与群で投与期間を通して有意に減少した。交尾率および受胎率にはコーンオイル投与の影響は認められなかったが、分娩後CA-1群の10 ml/kg投与群のみ一般状態の悪化が認められ、出生児の生存性が低下した。この群の腎臓の病理組織学的検査では、近位尿細管上皮細胞に壊死や微細あるいは大型の空胞形成、また多数の好酸性円柱が観察された。器官重量にはコーンオイル投与による影響は認められなかった。以上の結果から、妊娠、分娩、哺育期にラットにコーンオイル10 ml/kgを投与すると、摂餌させる飼料との組み合わせで腎毒性が発現することが示唆された。



## ラット腎機能パラメーターの加齢に伴う変化と特徴

○村上善紀、坂内なるみ、坂口弘、市村彰敏、橋本英明、  
大丸香、山崎清美、笛木修、増田達樹、田内清憲

日本レダリー株式会社 医薬研究所

老齢ラットの死因として、慢性腎症は重要な位置を占めるものとされている。若齢(2.5 カ月齢)及び加齢ラット(16 から 24 カ月齢)を用いて、腎機能検査および病理組織学的検査を行い、加齢に伴う変化について、若干の知見を得た。

加齢ラットでは若齢動物に比べ、GFR、尿蛋白、尿中 NAG 活性の増加が認められ、血清中の総蛋白の減少、尿素窒素の増加が認められた。また、PSP 静脈内投与 15 分後の血漿中 PSP 濃度(PSP<sub>PL15</sub>)が高く、排泄遅延が認められた。加齢ラット(16・22・24 カ月齢間)の比較では、PSP<sub>PL15</sub>の平均値に有意差は認められないが、個々には 24 カ月齢の動物に高い値が認められ、その他のパラメーターについても、加齢ラットでは、個体間で値のばらつきが大きくなる傾向が認められた。病理組織学的には、糸球体変性、間質の線維化、硝子円柱、尿細管上皮の好塩基性変化などが認められ、加齢とともに重篤となる傾向が認められた。血清中の電解質濃度は、若齢と加齢動物の間に差が認められず、水及び電解質の再吸収率に低下は見られなかった。したがって、今回検討した加齢ラットでは、電解質の再吸収機能は正常に維持されており、生命の恒常性維持に重要な機能は、維持されていること、一方、GFR や PSP 排泄量のように個体間の機能に大きな差を認めるパラメーターもあり、加齢による影響を考える上で、個体差が重要なファクターであると考えられた。

## 低タンパク飼料で飼育したラットの腎機能変化(Ⅱ)

○永藪徳久、田原紀子、神鳥仁志、西田信之、佐倉康文

武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所 光支所

[序] 前回の年会にて、我々は、F344 ラットを6カ月齢から1年間低タンパク飼料で飼育することにより、糸球体濾過値が低下し、加齢による腎障害の発生が抑制されることを報告した。今回はラットを24カ月齢に達するまで、さらに6カ月飼育し、若干の検討を加えたので、その成績を紹介する。

[方法] 6カ月齢の雄性 F344/DuCrj ラットを通常飼料(タンパク質含量24%)または低タンパク飼料(タンパク質含量18%)で飼育し、途中尿検査、血液検査、血圧測定及び腎機能検査(腎血漿流量及び糸球体濾過量)を行った。12,18及び24カ月齢時に一部の例を剖検して、腎の重量測定及び病理組織学的検査を実施した。さらに、別途6週齢のラットを用いて、上記の加齢ラットでみられた変化が、若齢でも認められるか否かを調べた。

[結果] 24カ月齢までの飼育期間中、尿検査、血液検査及び血圧測定において通常飼料と低タンパク飼料との間に差はみられなかった。飼育期間を通して、低タンパク飼料群では通常飼料群に比べ尿量及び飲水量、糸球体濾過値の減少傾向がみられた。18及び24カ月齢時には腎重量が低値を示し、尿細管の好塩基性化などの病変の発生頻度の減少及び程度の低下がみられた。若齢のラットでも尿量及び飲水量の低下がみられ、さらに血液検査において、尿素窒素、ナトリウム及びクロライドの低値がみられた。

[まとめ] 低タンパク飼料で雄ラットを長期飼育することにより、18カ月齢以降自然発生する腎症の軽減がみられたが、これはタンパク摂取量が減少することにより、腎の糸球体濾過や尿細管再吸収への負担が少なくなったことによることが示唆された。

セボフレン分解産物(compound A)の吸入による腎障害と  
その回復について—臨床マーカーとラット系統差の検討

○渡辺幸彦、王鞍孝子、村崎祐子、井上立生、辻本 恒、  
河井祥一郎、田村 隆

丸石製薬中央研究所

＜目的＞セボフラン分解産物 compound A[fluoromethyl-2,2-difluoro-1-(trifluoro-methyl)vinyl ether]は特異的に尿細管に障害を引き起こすと報告されている。この研究はラットで腎障害を生じる濃度を把握し、臨床マーカーを検討するために行った。＜方法＞Sprague-Dawley (SD), Wistar, Fischer の3系統のラット各5匹に50, 100, 200ppmの compound A を空気と混合して3時間吸入させた。吸入1, 2, 4日(50ppmは2日後まで)後に血液と24時間尿を採取し、尿中[glucose,  $\alpha$ -GST, 遊離フッ素イオン(F)]、血中(BUN,  $\alpha$ -GST, F)を測定した。さらに腎臓をブアン固定、HE染色により観察した。＜結果＞50ppm吸入群では変化はみられず、100及び200ppm吸入群の近位尿細管に変性及び壊死が認められた。またその程度は、100ppm吸入群で1日後に moderate であったが、2日と4日後に mild となり障害の回復性が認められた。200ppm吸入群では1及び2日後に severe と判定されたが、4日後には mild となり回復性が認められた。また病理組織学的には、系統による差異は認められなかった。血液の生化学データは吸入により大きな変動は認められなかったが、尿中  $\alpha$ -GST, F量は濃度依存性に増加した。しかし病理組織学的回復と同様に、回復性が認められた。尿中  $\alpha$ -GST, F量はSDで最も高値となり、WistarとFischerは同レベルであった。＜結論＞compound Aによるラットの腎障害は100ppmで認められるが、4日後には回復性を示し、一過性の障害である。また、尿中  $\alpha$ -GSTとF量は腎障害を検討するために最適なマーカーと考えられる。さらにこれらのデータから、3系統の中でSDがcompound Aに対して最も感受性が高いと考えられる。

## 酵素免疫染色と NIH Image による近位尿細管障害の半定量的解析法の試み

○三谷 治、王鞍孝子、村崎祐子、渡辺幸彦、井上立生、河井祥一郎、田村 隆

丸石製薬中央研究所

＜目的＞compound A[fluoromethyl-2,2-difluoro-1-(trifluoromethyl)vinyl ether)]は特異的に近位尿細管変性、壊死を起こすと報告されている。この近位尿細管に特異的にみられる障害の程度を半定量的に解析することを試みた。＜方法＞ラット (Sprague-Dawley) 各 5 匹を用いて、50, 100, 200ppm の compound A を空気と混合して 3 時間吸入させた。吸入 1, 2, 4 日(50ppm は 2 日後まで)後に 24 時間尿を採取し、尿中に排出される  $\alpha$ GST と compound A からの遊離フッ素イオンを測定した。さらに腎をブアン固定して抗  $\gamma$ GTP 及び抗  $\alpha$ GST 抗体を用いて免疫組織染色を行った。光学顕微鏡で観察、写真撮影をした画像をコンピューターに取り込み、NIH Image で処理し、染色濃度の平均を得た。また同じ腎をホモジネートして組織内  $\gamma$ GTP と  $\alpha$ GST を測定し、免疫組織染色の結果と比較した。＜結果及び結論＞100 及び 200ppm 吸入群の尿細管に変性及び壊死が認められたが、50ppm 吸入群では正常であった。尿中  $\alpha$ GST、遊離フッ素イオン量は濃度依存性に増加を認めた。抗  $\gamma$ GTP と抗  $\alpha$ GST を用いた染色結果では brush border に  $\gamma$ GTP と  $\alpha$ GST が局在しているのが認められた。平均濃度の結果は  $\gamma$ GTP では normal と吸入群とでは変化はなかったが、 $\alpha$ -GST では吸入群が有意に低値となった。また組織内  $\alpha$ GST も同様の結果を示していた。以上の結果より近位尿細管に局在する  $\alpha$ GST が組織障害によって逸脱酵素として尿中に排出され、その結果腎組織内の  $\alpha$ GST 含量が低下することとなり、抗  $\alpha$ -GST による免疫組織染色と NIH Image を用いた定量法が組織障害を半定量的に観察できると考えられる。

ラット腎皮質切片のセファロリジン障害に対する  
プロテインキナーゼ C 活性化による増強および  
サイクリック AMP による軽減

○幸田祐佳、河合悦子、玄番宗一

大阪薬科大学、薬理

【目的】細胞内シグナル伝達を担うプロテインキナーゼ C (PKC) およびサイクリック AMP は、フリーラジカルによる細胞障害に影響すると考えられている。そこで、腎皮質切片を用いて、フリーラジカル関与の可能性が高いとされるセファロリジン (CER) による薬物性腎細胞障害に対する PKC およびサイクリック AMP の効果を調べた。

【方法】SD 系雄性ラットの腎皮質から切片を調製した。切片を薬物の存在下で、好氣的にインキュベート後、フリーラジカル障害の指標として反応液に遊離する過酸化脂質量 (チオバルビツール酸陽性物質、TBARS) を、および細胞障害の指標として遊離した乳酸脱水素酵素 (LDH) の活性を測定した。

【結果】CER は、腎皮質切片において、過酸化脂質量および LDH 遊離を増大させた。PKC 活性化薬であるホルボールミリステートアセテート (PMA, 12.5  $\mu\text{M}$ ) は、切片における過酸化脂質および LDH 遊離に影響を与えなかったが、CER によるこのような腎細胞障害を増強した。PMA による CER 障害の増大は、PKC 阻害薬 H-7 によりほぼ完全に消失した。サイクリック AMP は、CER による過酸化脂質量および LDH 遊離の増大を抑制した。

【結論】ラット腎皮質切片において PKC の活性化は、CER によるフリーラジカル障害を増大させ、サイクリック AMP は、CER 障害を軽減したことから、これらの細胞内シグナル伝達は、フリーラジカル性腎障害を修飾すると考えられる。

腎由来株化細胞でのアポトーシス(AP)における  
Interleukin-1 $\beta$ -converting enzyme family protease  
(ICE-FP)の役割

○武田理夫, 小林麻美, 遠藤仁

杏林大学医学部薬理学

【目的】 マウス近位直尿細管終末部(S<sub>3</sub>)細胞でのシスプラチン(CDDP)およびスタウロスポリン(STS)によるAPにおけるICE-FPの役割について検討する。【方法】 ICEおよびICE-FPのmemberであるCPP32活性は蛍光基質を用いて測定した。【結果】 1.CDDPおよびSTS処理S<sub>3</sub>細胞では共にCPP32活性の亢進が認められたがICE活性の亢進は認められなかった。2.ICE阻害ペプチド(Ac-Tyr-Val-Ala-Asp-H), ICEおよびICE-FPの両者の阻害ペプチド(Z-Asp-CH<sub>2</sub>-DCB), CPP32の阻害ペプチド(Ac-Asp-Glu-Val-Asp-H)そしてvirus由来のICE-FP阻害蛋白質CrmAのS<sub>3</sub>細胞における細胞障害およびCPP32活性に対する影響を検討した成績が下の表である。これらの結果からS<sub>3</sub>細胞でのCDDP誘導APにはCPP32およびICE-FPのmemberの関与が, 一方STSによるAPにはCPP32以外のICE-FPの関与が示唆された。【結論】 腎由来株化細胞におけるAPには誘導刺激によって異なるICE-FPがその実行に関与すると考えられた。

	CDDP- 細胞障害	STS- 細胞障害	CDDP- CPP32 活性	STS-CPP32 活性
Ac-Tyr-Val- Ala-Asp-H	↓	→	→	→
Z-Asp-CH <sub>2</sub> - DCB	↓	↓	↓	↓
Ac-Asp-Glu- Val-Asp-H	↓	→	↓	↓
CrmA	↓	→	↓	↑

2-Mercaptobenzimidazole (MBI) 及びそのメチル誘導体の  
 ラット甲状腺毒性発現相違のトキシコキネティクス(TK)  
 —血中未変化体濃度に及ぼす反復投与の影響—

○酒見和枝, 伊藤理恵乃, 宇佐見誠, 大野泰雄, 津田充宥

国立衛生試験所 薬理部

【目的】 MBI 及び Methyl-2-mercaptobenzimidazole (MMBI, 4Me体及び 5Me体の1:1 混合物) は、ゴムの老化防止剤として使われている。両化合物の LD50値(ラット, 経口) はほぼ同等 (Ca. 300mg/kg)であるが、反復投与により MBI でのみ著しい甲状腺毒性を示す。我々は両者の甲状腺毒性発現の顕著な差を究明する目的で TK による解析を試みてきた。昨年の本学会では、両者の単回投与による未変化体の血中濃度推移の比較より、反復投与時における MBI の蓄積を示唆する結果を報告した。今回は、MBI と MMBI のラットへの15日間反復経口投与を実施、各未変化体の血中濃度推移に及ぼす反復投与の影響を検討し、毒性解釈に資する知見を得たので報告する。

【実験方法】 5週齢のWistar系雄ラットに MBI 0.3mmole/kg(B.W.)、MMBI 0.3 及び 0.6 mmole/kgをコーン油に懸濁して15日間反復強制経口投与した。その間、一般状態の観察と体重、摂餌量並びに飲水量の測定を行ない、投与 1, 8, 15日目には採血、採尿、解剖(臓器重量測定)を行った。得られた血清の一部は T3, T4, 並びに TSH の測定に用いた。血清および尿中の未変化体量、代謝物量は HPLC を用いて測定した。

【結果及び考察】 MBI、MMBI 両投与群において、一般状態の異常は観察されなかったが、MBI 投与群で摂餌量の減少及び体重の増加抑制が見られた。また MBI 投与群では、甲状腺重量の有意な増加に伴い、血清中 T3、T4 量が有意に減少し且つ TSH 量が著しく増加する甲状腺機能低下を示した。これらの変化は MMBI 投与群では観察されなかった。MBI 投与群での血中未変化体の消失速度は遅く、投与15日目の AUC<sub>0-24</sub>( $\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ ) は初回投与時の2.7倍に増加した。これに対して MMBI 投与群では、血中未変化体の消失は MBI に比べて速く、反復投与により AUC の減少傾向がみられた。MBI 投与群の AUC は MMBI 投与群の AUC に比べて 5~25倍大きかった。MBI は甲状腺に蓄積されることから、反復投与に伴って誘起される未変化体の血中濃度推移の顕著な差が両化合物の甲状腺毒性発現相違の主要な一因と考えられた。



2 - Mercaptobenzimidazole (MBI) 及びそのメチル誘導体の  
 ラット甲状腺毒性発現相違のトキシコキネティクス(TK)  
 一尿中未変化体量及び代謝物量に及ぼす反復投与の影響—

○津田充宥, 酒見和枝, 伊藤理恵乃, 宇佐見誠, 大野泰雄

国立衛生試験所 薬理部

【目的】 MBI 及び Methyl-2-mercaptobenzimidazole (MMBI、4-Me体及び 5-Me体の1:1混合物) は、ゴム製品等の老化防止剤として使われている。両化合物のLD50値(ラット, 経口) はほぼ同等 (Ca. 300mg/kg) であり、四肢麻痺等の急性毒性症状も類似しているが、反復投与では MBI のみが著しい甲状腺毒性を示す。我々は両者の甲状腺毒性発現の顕著な差を究明する目的で、TK による解析を試みてきた。今回我々は、MBI 及びMMBI をラットに15日間反復強制経口投与し、尿中排泄された未変化体量及び代謝物量の解析から両化合物の毒性発現の相違の解釈に資する知見を得たので報告する。

【実験方法】 5週齢のWistar系雄ラットに MBI 0.3mmole/kg(B.W.)、MMBI 0.3及び0.6 mmole/kgをCorn油に懸濁して、15日間反復強制経口投与した。投与 1, 8 及び15日目に 24時間尿を採取し、尿中の未変化体及び代謝産物を HPLCにより定量した。

【結果及び考察】 MBI、MMBI 両投与群のラット尿中排泄物として各未変化体及び対応する脱硫黄代謝産物 (Benzimidazole, BI 及び Methylbenzimidazole, MeBI) を検出した。MBI 投与群では、尿中未変化体量は反復投与により初回投与日の 4~5倍に増加した。一方、BI は初回投与日には検出されたが 15日目では定量限界以下に減少した。MMBI 投与群の尿中排泄では未変化体より MeBI が 3~5倍多く、この尿中排泄パターンは反復投与により変動しなかった。以上の結果より、MBI 投与群では反復投与の進行 (甲状腺肥大化) と共に解毒代謝経路 (脱硫等) の阻害等、薬物体内動態の反復投与による変動が示唆された。一方、MMBI 投与群では脱硫反応やメチル基の酸化的代謝等による解毒が反復投与により影響を受けないものと推測された。反復投与の血中未変化体濃度への影響と尿中への未変化体並びに代謝産物排泄との相関についても言及する。



## Kupffer 細胞動員像の定量的評価法の検討

○小野澤緑、庄司陽子、岡田洋明、山本健一、脇川典子、  
白石 明、川音晴夫

明治製菓株式会社、安全性研究所、病理、毒性

目的：Kupffer 細胞(Kc)は、腸管などから流入する外来抗原を有効に除去するように分化した組織マクロファージで、その活性化は肝病変の発生や修飾に深く関与すると考えられている。今回、2、3の肝障害モデルを用いて、Kc 活性化の性質や程度の定量的評価法を検討した。

方法：7週齢のSD系ラットに polyvinylpyrrolidone(PVP)および LPS をそれぞれ投与して蓄積型、抗原刺激型の Kc 活性化モデルを作製した。これらの肝臓のホルマリン固定、パラフィン包埋標本に、抗組織球(ED-1)抗体を用いた免疫染色を施し、組織中の Kc を識別した。各群について中心静脈周辺(CV)と門脈域周辺(PA)の Kc の数と面積をそれぞれビデオマイクロメーター(OLIMPUS,VM-30)で計測し、単位面積あたりの Kc 数と平均面積を、無処置対照動物のものと比較検討した。

結果と考察：Kc 数、面積共に2群の実験群で有意に増加し、数では LPS 群(対照の10倍以上)、面積では PVP 群(対照の3倍以上)が著しかった。また、今回検討したモデルに関しては、CV と PA で計測結果に有意な差は見られなかった。以上の結果は、それぞれの Kc 活性化の成因から予測しうるものであった。H.E.や PAS 染色による病理組織評価法では、Kc 活性化の程度の客観的な評価は難しかったが、免疫組織染色を用いた今回の検討では、数と面積の2要素で数値化することによって、Kc の活性化のタイプと程度を客観的に把握することができた。この評価法は薬物による肝毒性の障害型と程度を評価するためにも有効な方法と考えられた。

ラットにおける血漿中ビリルビン分別測定(酵素法)による  
溶血性病態と肝障害の病態評価

○池内滋郎、北野真希子、吉井景子、高野享治、  
木村由美子、大野浩司

塩野義製薬(株)新薬研究所

実験動物の血漿中ビリルビンは極めて低く、ジアゾ化法による分別測定は病態判別にとって有用性が低かった。今回、ラットでの薬物性溶血病態及び肝・胆道系障害モデルを用いて、酵素法による血漿中ビリルビン分別測定 of 病態判別に向けての有用性について検討した。

[実験方法]Jcl:SDラット(雄)に、溶血誘発化合物として2-methyl-1,4-naphthoquinone(MNQ, 200~600 mg/kg)を経口投与し、溶血性病態発現時の総ビリルビン(TBil),直接ビリルビン(DBil)の変動について検討した。又、肝・胆道系障害誘発化合物として $\alpha$ -naphthylisothiocyanate(ANIT, 50 mg/kg)を経口投与し、肝障害の病態推移とTBil, DBil値の変動との関連性を観察した。血漿中TBil, DBilはネスコート試薬(日本商事)により測定した。

[結果] MNQの4日間投与ラットのTBil値は用量依存的に軽度上昇し、いずれの投与群でもDBil/TBil比は42~43%(投与前値:31%)であった。又、10日間投与により重篤な溶血性貧血が持続した場合でも、TBil値は約0.30 mg/dl以下の軽度な上昇であった。一方、ANIT(単回)投与ラットでは、AST, ALT, ALP及びTBil値がDay 2にピーク(TBil値、3.34 mg/dl)となる顕著な上昇を示し著しい肝障害が示唆された。そして、肝障害の発現、増悪、回復の病態推移に関係なくDBil/TBil比は70~90%と直接ビリルビン値優位の割合を示し、溶血性病態時と大きく異なることが明らかになった。以上の結果から、血漿中TBilの上昇レベル及びDBil/TBil比共、両病態間に大きな差が認められ、酵素法による血漿中ビリルビン分別測定はラットでも病態判別マーカーとして有用性は高いと結論された。

## 新規化合物により惹起されたラット急性脂肪肝

○蔵満茂晃、松本正博、斉藤直美、橋本正晴、藤井登志之

藤沢薬品工業（株） 安全性研究所、一般毒性、病理

ある種の化合物をラットに単回静脈内投与した試験で、観察期間中に衰弱した動物の肝細胞に著しい脂肪変性像を観察した。今回、本化合物により惹起される脂肪変性の発現過程を *in vivo* 及び *in vitro* の試験系により詳細に検討したのでその結果を報告する。

[方法] SD系雄性ラットに本化合物を単回投与し、その後経時的及び経日的に、また、反復投与し、その間経日的に体重・摂餌量の測定、血液化学的検査、肝重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、ラット初代培養肝細胞を用い、培養液中の脂質量及び逸脱肝酵素活性の測定に加え培養肝細胞の形態学的観察を行った。

[結果] 単回投与では急激かつ著明なトリグリセリド量の減少がみられ、同時に肝重量の増加及び瀰慢性脂肪変性を認めた。この変化は投与後7日まで持続し、投与後14日でも十分な回復はみられなかった。軽度な逸脱肝酵素活性の上昇と肝細胞壊死が投与後3～7日に観察された。反復投与では投与期間中を通じ著明なトリグリセリド量の減少、逸脱肝酵素活性の明らかな上昇、中等度の肝細胞壊死及び瀰慢性脂肪変性を認めた。また、肝重量の増加は投与初期のみにみられた。培養液中の脂質量及び逸脱肝酵素活性も単回投与時とほぼ同様の変動を示した。

以上、本化合物投与により惹起された肝障害は、急性脂肪肝と判断された。また、その発現は脂質の肝細胞内への流入増加と細胞外への流出減少によるものと考えられた。

尿素系農薬および分解・代謝産物のラット肝細胞におよぼす影響

○籾内桃子、宮島敦子、張宝旭、紅林秀雄、大野泰雄

国立衛生試験所・安全性生物試験研究センター・薬理

【目的】 残留農薬の安全性評価の一環として、尿素系農薬である Linuron(LNR), Hexaflumuron(HFM), Cinosulfuron(CSF)およびThifensulfuron methyl(TFM)とその分解・代謝物の肝毒性と薬物代謝酵素誘導能について遊離肝細胞および初代培養肝細胞を用いて検討した。

【方法】 SD系雄ラットからコラーゲナーゼ灌流法により遊離肝細胞を調製しGSH含量とViability(LDH漏出法)を測定した。また、遊離肝細胞をコラーゲン塗布培養皿上で培養し、農薬を培養3時間目から48時間目まで添加して、細胞外LDH活性、P450分子種および7-Ethoxyresorfin deethylation (EROD)活性を測定した。非肝由来の細胞株SIRC細胞に対する毒性は、Crystal violet染色法により測定した。

【結果と考察】 遊離肝細胞において、HFMとその代謝物1-[3,5-Dichloro-4-(1,1,2,2-tetrafluoroethoxy)phenyl]-amine (DCA)は、GSH含量を急速に低下させ、1時間後にはそれぞれ対照群の約61%と35%の値を示した。DCAはViabilityをも強く低下させた。初代培養肝細胞においては、LNR( $\geq 0.25$  mM)とその代謝物NOR:1-(3,4-Dichlorophenyl)urea ( $\geq 0.5$  mM)およびDCA( $\geq 0.125$  mM)は、LDH活性を用量依存的に上昇させた。肝細胞毒性が発現していない濃度範囲で、LNR(0.008 - 0.125 mM)はCYP1A1およびEROD活性を強く増加させ、0.0625 mMで対照群の約4,000%のEROD活性を示した。またNOR、HFM、DCAおよびCSFとTFMもEROD活性を増加させた。SIRC細胞に対する毒性はLNR、NORおよびDCAで強く見られたが、HFMでは認められなかった。CSF、TFMおよびその分解・代謝物は肝細胞およびSIRC細胞に対して細胞毒性を示さなかった。以上の結果より、HFMの細胞毒性は肝に特異的で、HFMの分解・代謝物であるDCAの細胞毒性は母化合物より強いこと、また、LNRは薬物代謝酵素機能に影響をおよぼすことが示された。

酸化ストレス負荷により遊離肝細胞に惹起される障害と  
ライソソーム膜傷害

○高山房子、江頭 亨、山中康光

大分医科大学、薬理学教室

フリーラジカル関与の生体膜酸化変性が急性肝障害等の様々な疾患に関与することは広く認識されている。また、ライソソーム膜の酸化傷害による酵素放出は炎症反応に繋がり病態進展に重大な意味を持つ事を示唆する報告が近年散見される。ラジカル関与の障害に対する治療薬の評価の一環として、*in vivo*の酸化ストレス障害を均一な*in vitro*の系で発現させる有用性を認めた。そこで、遊離肝細胞に酸化ストレスを負荷して障害を惹起させる実験系の確立を図った。

【方法】雄性Wistarラットからコラゲナーゼ還流法により肝細胞を得、トリパンブルー排除テストで細胞の90%以上が生存細胞であることを確認後、遊離肝細胞試料とした。0.001~10mMのラジカル発生剤 4,4'-azobis(cyanovaleric acid)または過酸化物質 *tert*-butyl hydro peroxideに10分間暴露させることで、遊離肝細胞に酸化ストレスを負荷した後、細胞をHanks-10mM Hepes緩衝液, pH7.4 に再分散させて37℃でインキュベートした。酸化ストレス負荷後のインキュベーション間に経時的に採取した細胞浮遊液を用い、肝障害とライソソーム膜傷害との関連を検討した。

【結果】酸化ストレス負荷後の肝細胞から培養液中へのGOT, GPT, LDHとライソソーム酵素の放出は、ラジカル発生剤あるいは過酸化物質の濃度やインキュベーション時間に依存的であった。また、これらの酵素の放出と細胞膜の過酸化変性の指標として膜脂質ヒドロペルオキシド含量との関連や実験系に発生するラジカル種についても併せて報告および考察する予定である。

コモンマーモセットにおける CYP3A 誘導マーカーとしての 6  $\beta$ -ヒドロキシコルチゾールの尿中排泄の増加

○戸塚繁夫、渡辺稔之、小柳藤夫、田中宏治  
安田充也、真鍋 淳

三共株式会社 安全性研究所

**[目的]** Gedらは、尿中6  $\beta$ -ヒドロキシコルチゾール (6  $\beta$ -OHF) と、その親化合物のコルチゾール (F) の比 (6  $\beta$ -OHF/F) が 3A サブファミリーに属するシトクロム P450 分子種、すなわち CYP3A 誘導のマーカーである事を、リファンピシンの服用患者で明らかにしている。そこで我々は、コモンマーモセットにおいても尿中6  $\beta$ -OHF/F 比が CYP3A 誘導のマーカーとなり得るか、リファンピシンを用いて検討した。

**[方法]** リファンピシンの 0、10 および 20 mg/kg/day (n=4) を4日間反復経口投与し、HPLC で投与前および投与期間中の尿中6  $\beta$ -OHF と F 含量を測定して 6  $\beta$ -OHF/F 比を求めた。また、最終投与後に肝臓を摘出して P450 含量、各種薬物代謝酵素活性の測定、抗ラット P450 分子種抗体による肝マイクロソーム画分のウェスタンブロット分析を行なった。

**[結果]** 尿中6  $\beta$ -OHF/F 比は投与用量および投与日数に対応して増加し、投与前値に比較した投与4日目の値は、対照群で0.84倍、10 mg/kg 群で4.7倍、20 mg/kg 群で5.3倍を示した。また、P450 含量と、その触媒活性は増加した。さらに、抗ラット CYP1A1、CYP2B1/2、CYP3A および CYP4A 抗体のうち、抗ラット CYP3A 抗体と交叉するバンドのみが特異的な増加を示した。

**[考察]** コモンマーモセットの尿中6  $\beta$ -OHF/F 比の増加は、CYP3A 誘導のマーカーになり得ると判断した。この試験系は、動物を生かした状態で、しかもヒトと同じ指標で、CYP3A の誘導を評価出来る利点があり、開発化合物の前臨床試験段階での安全性評価に有用と考える。

## Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) の自殺阻害に起因する致死的医薬品相互作用

○小倉健一郎<sup>1)</sup>、奥田晴宏<sup>1)</sup>、渡部 烈<sup>1)</sup>、荒川和人<sup>2)</sup>、福島正和<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東京薬科大学・薬学部・第二衛生化学教室、<sup>2)</sup>大鵬薬品工業株式会社創薬センター

**【目的】** ソリブジン (SRV) 薬害として知られる抗ウイルス薬 SRV と 5-FU 系抗癌薬の併用により発生した致死的医薬品相互作用は、5-FU の代謝律速酵素である DPD が SRV から腸内細菌により生成する 5-(2-bromovinyl)uracil (BVU) により阻害され、5-FU の生体濃度が異常に上昇したためであることを既に我々はラットを用いた *in vivo* ならびに *in vitro* 実験により明らかにした。本研究では、ヒト DPD (hDPD) を用いて BVU による阻害機構について検討を行うことを目的とした。

**【方法】** hDPD cDNA をヒト白血球 mRNA より RT-PCR により増幅し、発現ベクター pTrcHis に組み込み hDPD を大腸菌中で発現させた。発現 hDPD は Ni-binding resin および 2',5'-ADP Sepharose を用いた 2 段階のカラムクロマトグラフィーにより精製した。

**【結果・考察】** 精製した発現 hDPD は NADPH 共存下 [<sup>14</sup>C]BVU によってすみやかに失活するとともに、化学量論的な関係で放射能により修飾された。しかし、同一条件下で SRV は hDPD を失活させなかった。NADPH 不在下では、hDPD は [<sup>14</sup>C]BVU による失活も放射能の取り込みも起こさなかった。以上の結果から、hDPD の BVU による不活性化は、hDPD によって BVU から生成する活性代謝物により hDPD が共有結合的に修飾され、失活する自殺阻害反応に起因することが明らかになった。SRV 薬害は人為的に引き起こされた DPD 欠損であったが、最近遺伝的に DPD を欠損したヒトの存在が明らかにされており、DPD 欠損者への 5-FU 投与による死亡例も報告されている。DPD 欠損者に対する 5-FU 系抗癌剤の投与は極めて危険であり、DPD 欠損者を容易に発見できるスクリーニング方法の開発が求められる。



ラット肝 *Theta* クラス Glutathione S-Transferase Yrs-Yrs  
ならびに 5-5 の酵素化学的および免疫化学的特性

○平塚 明、西島 武、奥田晴宏、渡部 烈

東京薬科大学・薬学部・第二衛生化学教室

【目的】ラット肝可溶性画分には、発がん性アリールメチルサルフェート( $\text{Ar-CH}_2\text{-OSO}_3^-$ )を特異的にグルタチオン (GSH) 解毒抱合 ( $\text{Ar-CH}_2\text{-SG}$ )する分子種として我々によってその存在と一次構造および遺伝子構造が初めて明らかにされた *theta* クラスの glutathione S-transferase (GST) Yrs-Yrs の他に、後になって同クラスに属することが明らかになった GST 5-5 が存在する。GST 5-5 はこれまで主にオレフィンエポキシド類の解毒酵素として考えられてきたが、最近本酵素がジクロロメタン等の発がん性ハロアルカン類の代謝的活性化に関与することが明らかにされ注目を集めている。

本研究では、これまで極めて不鮮明であった両 GST 分子種の諸性質の差異を直接的に明らかにすることを目的とした。

【方法】GST Yrs-Yrs および GST 5-5 は、SD 系雄性ラット肝可溶性画分を用い筆者らの既報を改変し、同時に分離精製した。

【結果・考察】精製 GST Yrs-Yrs と GST 5-5 の相異点を以下に示す。  
1) SDS-PAGE 的に異なるサブユニット分子量 (Yrs-Yrs : 26.5 kDa, 5-5 : 28 kDa) を示した。2) 逆相分配 hplc において、Yrs-Yrs は 34 min および 5-5 は 36 min にそれぞれ単一ピークとして溶出された。3) 基質特異性は、*theta* クラスに特徴的な共通部分を除くと大きく異なり、一方の GST 分子種にとっての特異基質 (5-sulfoxymethyl-chrysene (Yrs-Yrs); 1,2-epoxy-3-(4'-nitrophenoxy) propane および dichloromethane (5-5)) は他方の基質とはなり得なかった。4) GST 5-5 は抗 GST Yrs 抗体に対し全く免疫交差性を示さなかった。上記の結果は、*theta* クラスの両酵素が一次構造上の差異とともに、酵素化学的ならびに免疫化学的にも著しく異なる性質を持つ分子種であることを示している。



P450 isozyme を考慮した *in vitro* 代謝試験による *in vivo* 薬物  
肝代謝能の定量的予測

○伊藤清美<sup>1</sup>、中島由起子<sup>1</sup>、岩坪隆史<sup>2</sup>、廣田徳子<sup>1</sup>、金光真一<sup>1</sup>、  
鈴木洋史<sup>1</sup>、C.E.Green<sup>3</sup>、C.A.Tyson<sup>3</sup>、島田典招<sup>4</sup>、杉山雄一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大・薬、<sup>2</sup>山之内製薬、<sup>3</sup>SRI International、

<sup>4</sup>第一化学薬品

【目的】薬物による毒性発現に直接関与する体内動態パラメータとして、血中濃度曲線下面積、定常状態血中濃度などが挙げられる。したがって、これらの値を支配する要因の一つである肝代謝クリアランスを *in vitro* 試験により予測することは、薬物による毒性発現を防ぐために極めて重要である<sup>1)</sup>。本研究では、P450 による種々の代謝反応について、*in vitro* 試験データから *in vivo* 肝代謝クリアランスを予測することを試み、関与する P450 isozyme に着目してその予測性について検討した。

【方法】P450 が関与する種々の代謝反応に関して、ヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験における  $K_m$ 、 $V_{max}$  の測定値あるいは文献情報を用いて、肝代謝固有クリアランス ( $CL_{int, in vitro}$ ) を計算し、試料中の P450 含量等を考慮することにより肝臓 1g 当たりの値に換算した。一方、各薬物のヒトにおける体内動態パラメータを文献から収集し、dispersion model に基づいて *in vivo* 肝代謝固有クリアランス ( $CL_{int, in vivo}$ ) を算出した。

【結果・考察】多くの代謝反応において、 $CL_{int, in vitro}$  と  $CL_{int, in vivo}$  とは比較的良好に一致したが、中には 10 倍以上の差がみられるものもあった。この結果を各々の代謝反応に関与する P450 isozyme を考慮して分類した結果、主に CYP3A4 が関与する代謝反応については比較的良好な予測性が得られることが示唆された。その他の代謝反応についても、*in vitro* 試験からの *in vivo* 肝代謝能の予測性が P450 isozyme により異なる可能性について、現在検討中である。

1) T.Iwatsubo, N.Hirota, T.Ooie, H.Suzuki and Y.Sugiyama: Prediction of *in vivo* drug disposition from *in vitro* data based on physiological pharmacokinetics. *Biopharm.Drug Dispos.* 17: 273-310 (1996)

ワルファリンのヒトP450酵素による代謝とR-異性体によるS-ワルファリン7位水酸化活性の阻害

○山崎浩史、島田 力

大阪府立公衆衛生研究所

【目的】抗凝固薬ワルファリンはラセミ体として临床上汎用されているが、薬効は主にS-ワルファリンにより認められる。ヒトでのS-ワルファリンの主要代謝経路は7位水酸化で、主にチトクロームP450 (P450又はCYP) 2C9によって触媒される。一方、R-体の7位水酸化を触媒するP450分子種については議論されているが、いまだ明確にはなっていない。そこで、R-ワルファリン7位水酸化活性に関与するヒトP450分子種を明かにし、ラセミ体で投与された際に薬効・毒性に影響を与えるR-体のS-ワルファリン7位水酸化活性に及ぼす影響を調べることを目的とした。

【方法】ヒト肝ミクロゾーム又はP450精製酵素を用いた再構成系によるR-及びS-ワルファリン7位水酸化活性は、生成する代謝物を蛍光検出器を用いるHPLC法により測定した。反応に及ぼすP450抗体及び阻害剤の影響については、常法により調べた。

【結果及び考察】ヒト肝ミクロゾームでのS-ワルファリン7位水酸化活性はR-体のその約8倍高く、ラセミ体の場合の約2倍であった。35例のヒト肝によるラセミ体7位水酸化活性は、S-体7位水酸化と高い相関性が認められたが、R-体7位水酸化との相関は低かった。ミクロゾームによるS-体7位水酸化はCYP2C9抗体並びにスルファフェナゾールやR-ワルファリンによって阻害されたが、R-体7位水酸化はCYP1A2抗体によって阻害された。以上の結果から、S-及びR-ワルファリンはそれぞれCYP2C9およびCYP1A2によって触媒されること、臨床的にラセミ体で投与されたS-ワルファリンの代謝はR-体による非拮抗的な阻害作用を受けることが示唆された。

# 一般演題

7月25日(金)

北里大学薬学部 (A会場)

演題番号 3A-01～3A-19

北里大学薬学部 (B会場)

演題番号 3B-01～3B-16

北里大学薬学部 (C会場)

演題番号 3C-01～3C-07

有機セレン化合物のヒトチトクロームP450酵素活性の  
阻害作用

○島田 力、山崎浩史

大阪府立公衆衛生研究所

〔目的〕セレンの生体内レベルとヒトの発癌リスクとの関係について議論されている。実験動物の結果から、無機あるいは有機セレン化合物の投与により、化学発癌の頻度が抑制あるいは阻害されるとの報告がいくつもなされている。しかしながら、これらセレンの発癌抑制作用の機構については十分な理解がなされていない。チトクロームP450 (P450あるいはCYP) は、種々の発癌性物質の代謝的活性化に関与することが知られている。そこで、セレン化合物がP450の活性を阻害するかどうかについて検討した。

〔方法〕本研究ではヒト肝ミクロゾームあるいは発現ヒトP450酵素を酵素源として用いた。主にCYP1A1, 1A2, 1B1による酸化代謝反応に対するセレン化合物の作用を調べて。基質として、エトキシレゾルフィン、エトキシマリニン、並びに種々の発癌性物質を用いた。また、各種P450酵素のマーカー基質の酸化活性も調べた。その他の方法は、すでに我々の研究室で報告している方法<sup>1)</sup>に従った。

〔結果・考察〕いくつかのセレン化合物をヒト肝ミクロゾームに添加すると、典型的なType IIの差スペクトルの生ずることを見出した。用いたセレン化合物のなかで強いP450活性の阻害作用をもつものが見出された。なかでも、CYP1ファミリーの阻害作用が強く観察され、1  $\mu$ M以下の濃度においても活性を阻害する化合物を見出した。これらの結果は、P450による発癌性物質の代謝的活性化の阻害による、セレン化合物の発癌抑制作用の機構の存在することを示唆するものとして興味深い。

<sup>1)</sup> Shimada, T. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. **270**, 414-423 (1994)

## 抗酸化剤と食品中天然物質フラボノイドとの複合作用について

○福原守雄、孫歩祥

国立公衆衛生院、衛生薬学

〔目的〕食品中に存在する合成及び天然化合物を同時に摂取した場合の複合作用について調べた。合成添加物としては抗酸化剤BHT, BHAを、食品天然物質としてフラボノイドをモデル化合物として用いた。作用の指標として食品に混入する変異原性物質の活性化を用い、更にその活性化作用の機構を検討した。

〔実験方法〕雄マウスにBHT(0.1%), BHA (0.2%)と Flavone(0.1%), Flavanone(0.1%)を餌に混ぜて2週間与えた。投与は単独(4群)あるいは抗酸化剤とフラボノイドの組み合わせ(5群)で行った。複合作用は食品中変異原物質のAflatoxin B<sub>1</sub>, Benzo[a]pyrene, N-Nitrosodemethylamineの肝ミクロゾームの変異原活性化能を指標とし、単独投与群と併用投与群との間での比較を行った。また複合作用の機構については、変異原物質の活性化を担う異物代謝酵素分子種の変動を、その特異的酵素活性、immunoblot,抗体抑制により調べた。

〔結果と考察〕肝ミクロゾームによるAflatoxin B<sub>1</sub>の活性化は、単独投与群よりは併合投与群で相乗的に増加したが、Benzo[a]pyreneでは相加的な増加であり、N-Nitrosodemethylamineでは有意な増加は見られなかった。BHTとFlavoneの併用投与で、異物代謝酵素Cytochrome P450分子種のCyp1a2, Cyp2bの増加が、BHAとFlavanone併用投与では、Cyp2a, Cyp2b, Cyp1a2の増加が見られ、更にこれらが活性化能に関与していることが推測された。以上より、食品添加物や食品天然成分の同時投与により、単独投与で得られるより強い複合作用、相乗作用が見られる場合があること、又食品添加物の作用は食品天然物との相互作用をも視野に入れて行う必要があることが示唆された。今後これらが毒性とどのように関連しているかを検討したい。

F344 ラットの肝代謝酵素活性の日内変動における  
副腎摘出の影響

○古川忠司, 社領 聡, 原田幸恵, 大橋芳彦, 渡辺稔之,  
杉浦智美, 真鍋 淳, 木村邦男

三共(株)安全性研究所

我々は、ラットにおいて 7-alkoxycoumarin を基質とする肝臓の P450 酸化系酵素活性(ACD 活性)に日内変動が認められること、およびその変動が絶食条件下でも消失しないことを第 23 回日本毒科学会で報告した。また、肝薬物代謝酵素活性は、副腎由来ホルモンや下垂体由来ホルモンなどの影響を受けることが知られている。そこで本試験では、副腎から分泌されるホルモンに焦点をあて、ACD 活性の日内変動における副腎摘出の影響について検討した。

F344/DuCrj ラットの雄を 3 週齢で搬入し、搬入後 3 日以内にエーテル麻酔下で副腎を摘出した。なお、擬手術群には腹壁切開のみを実施した。約 6 週間の回復期間の後、9 週齢で 9:00, 13:00, 17:00, 21:00, 1:00, あるいは 5:00 に相当する時刻に肝臓を摘出した。各時点で 5 ないし 4 例の動物より摘出し、直ちに液体窒素を用いて凍結した。すべての動物からの摘出が終了した後に、肝ミクロゾームを調製し、7-methoxycoumarin O-demethylase 活性, 7-ethoxycoumarin O-deethylase 活性および 7-propoxycoumarin O-depropylase 活性を測定した。また、各時点における血清コルチコステロン濃度(CS)も測定した。

その結果、擬手術ラットにおける CS は 17:00 をピークとする明瞭な概日リズムを示したが、副腎摘出ラットでは CS は検出されず、各個体から副腎が摘出されていることが確認できた。また、副腎摘出ラットにおける肝臓の ACD 活性は、擬手術ラットの場合と同様、暗期に高く明期に低い値となる明瞭な日内変動を示した。このことから、ACD 活性に認められる変動は、副腎より分泌されるホルモンによる制御は受けていないことが明らかとなった。



リファンピシン投与によるイヌ消化管薬物代謝酵素  
(CYP3A)の誘導

○西部泰弘、若林美津子、原内敏夫、京川吉正、  
丸山敏之、大野浩司

塩野義製薬(株) 新薬研究所

近年、経口投与された薬物の消化管における初回通過代謝が注目され、消化管における P450 酵素(CYP3A サブファミリー)の誘導や阻害を介した薬物相互作用が問題になりつつある。今回、ヒトにおける CYP3A 誘導剤のリファンピシン(Rif)をモデル化合物として使用し、イヌ消化管においてヒト消化管と同様に CYP3A が誘導されるかどうかを検討した。

〔方法〕ビーグル犬に Rif を 10 mg/kg(臨床相当量)、7 日間反復経口投与した後、肝及び消化管(十二指腸、空腸、回腸)粘膜上皮細胞のマイクロソームを調製し、総 P450 量、テストステロン 6 $\beta$ -、16 $\alpha$ -水酸化酵素活性(6 $\beta$ -OHT, 16 $\alpha$ -OHT)及びエトキシマリン脱エチル化酵素活性(ECOD)を測定した。また、肝及び消化管に発現する CYP3A の同定と定量をウエスタンブロット及び ELISA 法で行い、組織内の局在部位を免疫組織化学により検索した。

〔結果〕免疫組織化学検査の結果、消化管粘膜上皮細胞にのみ CYP3A の発現が認められ、Rif 投与により増加した。ウエスタンブロット及び ELISA 法からも消化管と肝に発現する CYP3A は免疫学的に同一分子であり、Rif 投与による増加が確認された。無処置動物の消化管における総 P450 量は空腸(25-35 pmol/mg protein)で最も多く認められたが、肝の 1/10 以下で、Rif 投与により約 2 倍増加した。消化管の 6 $\beta$ -OHT 活性も Rif 投与により約 3-4 倍に上昇したが、16 $\alpha$ -OHT 及び ECOD 活性にはほとんど変化はみられなかった。

以上の結果から、イヌ消化管粘膜上皮細胞に CYP3A の発現が確認され、しかもイヌ消化管 CYP3A はヒトと同様に Rif 投与によって誘導されることが明らかとなった。

DMBAに対するメタロチオネインの抗発癌作用  
——メタロチオネイン遺伝子欠損マウスによる検討

○張 宝旭 佐藤雅彦 西村典子 曾根秀子\* 遠山千春

国立環境研究所・環境健康部・病態機構研究室・\*化学健康リスク評価チーム

【目的】7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン(DMBA)は四環式芳香族炭化水素に属する皮膚発癌物質であり、その発癌過程に酸化ストレスの関与が指摘されている。メタロチオネイン(MT)はシステイン含量が極めて高い金属結合蛋白質で、重金属解毒、亜鉛や銅の代謝調節、ラジカル消去作用などを示し、最近特に生体内での抗酸化作用が注目されている。そこで、DMBA曝露による皮膚損傷に対するMTの効果をもつ遺伝子欠損MT(-/-)マウスを用いて検討した。

【実験方法】MT(-/-)マウスおよびその対照マウス [C57BL/6-129MT(+/+)] マウスはChoo博士から供与を受け、国立環境研究所動物施設で繁殖、飼育している。10週齢の雌MT(-/-)およびMT(+/-)マウスを剃毛し、背部皮膚にDMBA (0.5mg/100 $\mu$ L アセトン/マウス)をそれぞれ1回塗布した。14週間後にマウスの外観変化および病理組織学的検査を行った。

【結果および考察】MT(-/-)マウスにおいて、DMBAを塗布して1週間後の外観変化ではマウスの皮膚に糜爛および潰瘍が観察され、14週間後では腫瘍が認められた。しかしながら、MT(+/-)マウスでは、このような変化は全く観察されなかった。DMBAを塗布して14週間後の皮膚の組織変化について調べたところ、MT(-/-)マウスにおいて表皮肥厚、乳頭腫、真皮内水疱および潰瘍が観察されたが、MT(+/-)マウスでは、このような変化は認められなかった。以上の結果より、MTはDMBAによる皮膚の発癌などの損傷に対する防御作用を有することが明らかとなった。従って、MTはDMBAに対する生体内抗発癌因子として重要な役割を果たしていることが示唆された。



## コウジ酸の甲状腺腫瘍プロモーション作用に関する研究

- 小野寺 博志、三森 国敏、竹川 潔、安原 加壽雄、  
高橋 正一<sup>1</sup>、船越 拓志<sup>2</sup>、高橋 道人

国立衛生試験所・病理、<sup>1</sup>佐々木研・病理、  
<sup>2</sup>吉富製薬・薬動研

[目的] コウジ酸は *Aspergillus* 類から生成抽出されたチロキシナーゼ阻害作用を有する物質であり、水産物品質改良剤や農産用品質保持剤として使用されている。変異原性は Ames 試験で弱い陽性所見の報告があるが、他の試験では陰性である。最近、コウジ酸のマウス甲状腺に対する影響が報告されたことから、ラット甲状腺二段階発癌モデルを用い甲状腺腫瘍プロモーション作用の有無について検討した。

[実験方法] 6 週齢の雄 F344 ラットにイニシエーション処置として Diisopropanolnitrosamine (DHPN)2800mg/kg を一回皮下投与した。その一週間後に第 1 群には 4%、2 群には 2% および第 3 群には 0% のコウジ酸含有粉末飼料を自由に与えた。コウジ酸投与開始後 1、2、4、8 および 12 週目に各群 5 匹ずつ経時的に屠殺した。第 4 群は無処置対照群とし同様に経時的に 4 匹ずつ屠殺した。各解剖時に体重、甲状腺、下垂体、肝臓の重量、血中甲状腺ホルモン (T3, T4, TSH) や肝の UDP-GT 活性 (2 および 4 週目のみ) を測定すると共に病理組織学的検索を実施した。[結果] コウジ酸投与群では投与初期から体重の増加抑制が用量相関性に実験終了時まで見られた。甲状腺重量はコウジ酸投与 1 週目で増加しその傾向は投与期間の延長と共に増大したが、1 群と 2 群の間に差はなかった。相対肝重量はいずれの時期においても各投与群で増加する傾向が認められた。T3/T4 値は投与全期間のコウジ酸投与群で有意に減少した。肝 T4 UDP-GT 値はコウジ酸投与群において有意な変動は見られなかった。甲状腺腫瘍はコウジ酸投与群で誘発された。[まとめ] コウジ酸はラットに対し甲状腺プロモーション作用を有することが示され、そのメカニズムには血中 T3/T4 の低下によるネガティブフィードバックが関与していることが示唆された。

## キノン系色素であるアカネ色素の中期多臓器発癌性試験

○田中 光<sup>1</sup>、河部真弓<sup>1</sup>、萩原昭裕<sup>1</sup>、佐野真士<sup>1</sup>、  
武貞徳子<sup>1</sup>、玉野静光<sup>1</sup>、中村幹雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大雄会医科学研究所、<sup>2</sup>三栄源エフ・エフ・アイ㈱

【目的】アカネ科セイヨウアカネの根より抽出された天然のキノン系色素であるアカネ色素 2 種について、全身諸臓器に対する発癌促進作用の有無を中期多臓器発癌性試験法を用いて検討した。【方法】6 週齢の F344 系雄ラット 190 匹を用い、複数の臓器に発癌インシジョンを行う目的で実験開始後 4 週間のうちに、DEN (100mg/kg, ip, 1 回), MNU (20mg/kg, ip, 4 回/2 週間), DHPN (0.1%飲料水, 2 週間) を投与した (DMD 処置)。DMD 処置後、アカネ色素およびアカネ色素製剤 (各々 2.5% と 5.0%)、既に発癌性のないことが証明されているコチニール色素 (5.0%)、陽性対照物質のフェノールピタール (PB: 0.05%) をそれぞれ混餌投与した。また、DMD 処置のみの対照群、DMD 無処置各投与群も設定した。全経過 20 週で屠殺剖検し、全身諸臓器を病理組織学的に検索した。肝臓については免疫組織学的に GST-P 染色を施し、その陽性細胞巢を定量的に解析した。【結果】病理組織学的には、DMD 処置により各アカネ色素投与群およびコチニール色素投与群の全身諸臓器に種々の前腫瘍性および腫瘍性病変を観察したが、いずれも対照群との間に有意な差はみられなかった。また、肝 GST-P 陽性細胞巢の定量値においても対照群との差異は認められなかった。一方、陽性対照の PB 投与群では甲状腺病変および肝 GST-P 陽性細胞巢の定量値がいずれも著明に増加した。【結論】2 種のアカネ色素 *クニエー*-AK と *SRレト* RTM および非発癌物質であるコチニール色素は、本試験法においていずれの臓器においても発癌促進作用を示さなかった。従って、アカネ色素には発癌性のないことが強く示唆された。

## パラジクロロベンゼン (pDCB) 吸入暴露によるラット慢性毒性試験

○金子豊蔵、梅村隆志、鎌田榮一、小川幸男、広瀬明彦、鈴木幸子、井上 達、黒川雄二

国立衛生試験所、毒性、評価

〔目的〕防虫剤、防臭剤として広く一般家庭で使用されているパラジクロロベンゼン (pDCB) はその経口投与により雄ラット腎臓に腺がんを引き起こすことが知られている。一方、本化合物は昇華性物質であることからヒトにおいては経気道暴露が予想されている。そこで今回、全身暴露チャンバーを用いてラットに2年間の吸入暴露を実施し、その催腫瘍性を中心に検討した。

〔方法〕各群60匹の雄5週齢のF344ラットに全身暴露チャンバーを用いてpDCB 700、140、28 および0 ppm (対照群) の濃度で6時間/日、6日/週、24ヶ月吸入暴露した。病理組織学的検索とともに、解剖時、眼窩静脈叢より採血し、血液学的検査および血清生化学的検査を実施した。

〔結果・考察〕血液学的検査では著変は認められなかった。血清生化学的検査では、トリグリセライドが高用量群で増加し、尿素窒素の増加が中用量群以上で認められた。病理組織学的検査では、非腫瘍性病変として、腎臓糸球体ボウマン嚢上皮の肥厚、再生尿細管の増加、尿円柱の出現、間質への単核球細胞浸潤を特徴とする慢性腎症が中用量群以上で認められ、それに伴い集合管への石灰沈着および腎盂移行上皮の過形成が最高用量群で認められた。腫瘍性病変では、下垂体腺腫、副腎褐色細胞腫、白血病等々認められたが、群間でその出現頻度に差は認められず、これらは自然発生性の腫瘍と考えられた。pDCBは雄ラット特有尿中蛋白 $\alpha_{2u}$ -globulinの腎尿細管内沈着を引き起こす腎毒性、腎発がん性物質として知られているが、本実験条件下では腎臓に重篤な障害を示したものの、腎臓を含めてその他の臓器においてもその催腫瘍性は認められなかった。

## BUUV 法を用いた造血幹細胞の細胞動態解析 2) c-myc 遺伝子導入マウスについて

○平林容子、梅村隆志、児玉幸夫、金子豊蔵、黒川雄二、井上 達

国立衛生試験所 安全性生物試験研究センター

DNA 合成期 (S 期) 幹細胞の総量や、これに関連した諸々のパラメータを求める時、パルス標識による S 期分画は定常状態での細胞回転分画を意味せず、それらの値は細胞動態を把握するための指標として適当でない。持続投与が事実上不可能で、*in vitro* 標識に頼らざるを得ない高比放射能のトリチウムチミジン ( $^3\text{H-TdR}$ ) の取り込みによる  $\beta$  線パージの代わりに、BrdUrd 標識細胞の近紫外線 (UV) 高感受性を利用したパージを用いる BUUV 法は、造血幹細胞レベルでの細胞動態を正しく把握する従来にない方法である。具体的には BrdUrd を浸透圧ミニポンプ (Alzet, CA) にて *in vivo* 投与したマウス骨髓細胞を分離、近紫外線照射後、*in vitro* 及び *in vivo* のコロニー形成法でアッセイする。この方法を用いて、c-myc 遺伝子導入 (myc) マウスの骨髓造血幹細胞動態を解析した。【結果】横軸に BrdUrd 投与時間、縦軸に殺傷率をとると、正常な 9 日目の脾コロニー (CFU-S-9) では、殺傷率は経時的に上昇し、4 日ほどで plateau に達する。この時 Y 切片は単位時間当たりの cycling fraction を、上昇曲線の傾きは generation time を、plateau レベルは cycling fraction の大きさを各々反映する。myc マウスでは、① Y 切片は大きく、②傾きは CFU-S-9 では緩徐、より未分化な 13 日目の脾コロニー (CFU-S-13) では急峻だが、③ plateau レベルには差異を認めない。導入した c-myc の機能発現による未分化な造血幹細胞の増殖の亢進と、より分化型の前駆細胞における抑制とを示唆するもので、myc マウスでの腫瘍発生の態様を裏付ける根拠となるものと考えらる。

ヒトアセチル転移酵素遺伝子導入菌株を用いたニトロアレーンと芳香族アミンの代謝的活性化

○小田美光<sup>1</sup>、山崎浩史<sup>2</sup>、島田力<sup>2</sup>

大阪府立公衆衛生研究所、<sup>1</sup>公衆衛生部、<sup>2</sup>薬事指導部

〔目的〕環境や食品中に存在するニトロアレーンと芳香族アミンは、*N*-(*O*-)アセチル化の過程によって代謝的活性化され、変異原性を示すことが知られている。今回、ヒトの*N*-アセチル転移酵素遺伝子のNAT1とNAT2を導入した二つのサルモネラの試験菌株を開発した。これらの菌株を用いてニトロアレーン、芳香族アミンに対する感受性を*umuC*遺伝子発現誘導能を指標にして検討した。

〔方法〕NAT1とNAT2の遺伝子をベクターpACYC184にサブクローニングしてプラスミドpNM63とpNM64を構築した。これらのプラスミドを*umu*テスト試験菌株TA1538/1,8-DNP/pSK1002 (NM6000) に形質転換して、NM6002とNM6011株を作製した。*umu*テストは、被験物質とS-9存在、非存在下で2時間、37℃で培養後菌体内のβ-ガラクトシダーゼ活性を測定した。

〔結果と考察〕開発した試験菌株NM6002 (NAT1高産生)、NM6011 (NAT2高産生) およびNM6000 (*O*-AT欠損) を用いて、3種類のニトロアレーンと9種類の芳香族アミンによる*umuC*遺伝子発現誘導能を比較検討した結果、NAT1高産生株は特にベンチジン、2-アミノフルオレン (2-AF)、2-ニトロフルオレン (2-NF) に対して高い感受性を示した。これに対してNAT2高産生株は、1,8-ジニトロピレン (1,8-DNP)、MeIQ、IQに対して高感受性を持つことがわかった。このことから、ヒトのNAT1はベンチジン、2-NF、2-AFの代謝的活性化に、NAT2は、1,8-DNP、MeIQ、IQなどの代謝的活性化に重要な役割を果たしていることが示唆される。

Methyl methane sulfonateによるラット初代培養肝細胞の  
DNA-damage-inducible gene 産物レベルに対するベルオキシ  
ソーム増殖剤の影響

○高木篤也、広瀬明彦、黒川雄二、井上 達

国立衛生試験所、毒性

【目的】非変異原性肝発がん物質のベルオキシソーム増殖剤の発がん機序は現在まで明らかでない。そこで、その機序として生体のDNA障害に対する種々の防御機構をベルオキシソーム増殖剤が阻害する可能性を考え、今回は、DNA-damage-inducible gene に対するベルオキシソーム増殖剤の影響を検索した。

【方法】雄F-344ラットより、コラゲナーゼ灌流法にて、初代培養用ラット肝細胞を採取した。プレートに細胞を蒔いて2時間後、付着肝細胞に、ベルオキシソーム増殖剤のciprofibrateを20または200 $\mu$ Mの濃度で添加した。添加1時間後に、Methyl methane sulfonate(MMS)を300 $\mu$ Mの濃度で添加した。MMS添加後16時間目における、DNA-damage-inducible gene 蛋白のP53、gadd153をウエスタンブロット法で測定した。

【結果】P53およびgadd153蛋白レベルはMMS群で対照群に比較してごく軽度の増加が認められたが、ciprofibrate単独では増加は認められなかった。また、本実験条件下ではMMSによるごく軽度のP53およびgadd153増加に対するciprofibrateの影響を明らかにすることは出来なかった。一方、gadd153抗体に反応する分子量約175kDaの未知の蛋白のバンドがMMSにより明らかに増加し、その増加はciprofibrateの前投与により抑制された。

以上の結果、MMSによる肝細胞のDNA障害に対する防御機構として、175kDaのgadd153にホモロジーを有する未知の蛋白が関与し、しかもciprofibrateがこの蛋白発現を抑制していることから、ciprofibrateの肝発がん機序にも関与している可能性が示唆された。

## ペルオキシソーム増殖薬誘発肝癌細胞株の樹立とその性状

○渡辺 隆史, 宇野 京子, 田村 浩, 須賀 哲弥

東京薬大・薬・臨床生化

【目的】ペルオキシソーム増殖薬は遺伝子毒性を示さない発肝癌物質であることがよく知られている。この種の薬物によって誘発される肝癌の生物学的特徴は報告されているがいまだ十分に明らかにされていない。癌細胞の生物学的性質を知ることは発癌機構の解明に多くの情報を与えるものと考えられ、そのために癌細胞株を用いることは有用な手段となりうる。そこで我々は、ペルオキシソーム増殖薬で誘発される肝癌の生物学的性質を調べるためにWy-14,643によって誘発された肝癌組織より癌細胞の株化を試み、その性質について検討した。

【方法】0.1% Wy-14,643を混餌自由摂食によりF-344雄性ラットに投与し誘発した肝癌組織を採取した。細胞培養は常法に従い、基礎培地(10% CS、インスリン、デキサメタゾンを含んだWilliam's E培地)と基礎培地にWy-14,643(90  $\mu$ M)を添加した2種類の培地を用いて細胞株の樹立を行った。

【結果・考察】Wy-14,643を投与した2例のラットの肝癌組織から2種類の培地を用いて株化を試み、基礎培地より3株(RHW-CV1, -CV2, -CV3), Wy-14,643添加培地より3株(RHW-CW1, -CW2, -CW3)の細胞株を樹立した。これら6株はいずれも上皮様細胞の形態を示し、シート状に増殖した。また、細胞の染色体モードはRHW-CV系細胞株ではいずれも42であったが、RHW-CW系の細胞株ではそのモードに異数性あるいは多倍体の傾向が認められた。すべての細胞株は2重軟寒天培養においてコロニーを形成し、そのコロニー形成能はHGFによって抑制された。ペルオキシソーム  $\beta$ 酸化酵素活性はいずれの細胞株も維持していた。現在、さらに本細胞株の生物学的性質を検討中である。



## ビーグル犬における投与方法の違いによる毒性の変化

○中野雄司、渡邊 厚、高橋ひとみ、梅原重敬、平井 誠、  
小林和浩、梅田明広、佐々木眞敬、小林洋四郎

旭化成工業(株)、ライフサイエンス総合研究所、  
安全性研究所

〔目的〕 血圧低下作用を有する被験物質をビーグル犬に静脈内投与あるいは静脈内持続投与してその毒性を比較検討した。

〔方法〕 約8ヵ月齢の雄ビーグル犬を使用した。静脈内投与では被験物質の0.3、1および3mg/kgを0.5ml/kgの容量で単回投与した。静脈内持続投与では被験物質の0.3および1mg/ml溶液を1ml/kg/hrの注入速度で1時間ならびに1mg/ml溶液を同じ注入速度で3時間注入して、静脈内投与と同様な用量を投与した。体温、心拍数及び平均血圧の経時的な測定ならびに尿、血液、血液化学的検査を行った。投与2週目に安楽死させ、剖検、器官重量の測定ならびに器官・組織の摘出を行った後、病理組織学的検査を実施した。

〔結果および考察〕 被験物質の両投与方法で脱糞、液状便、血便、飲水行動、せき、振戦、うずくまりがみられ、3mg/kgの静脈内投与では痙攣転倒、よろめき、脱力、横臥、流涙、流涎もみられた。両投与方法で体温および平均血圧の低下と心拍数の増加が投与後3時間まで認められた。投与2日目の血液化学的検査で3mg/kgの静脈内投与ではGPTとALPの上昇、1および3mg/kgの静脈内持続投与ではGOT、GPT、ALP、LDHおよび尿素窒素の上昇が認められた。病理組織学的には静脈内持続投与の1および3mg/kgでのみ腎臓の尿細管上皮細胞の扁平化、再生像および管腔の拡張が認められた。3mg/kgの静脈内投与での痙攣転倒等の症状は急激な血圧低下による影響が考えられ、静脈内持続投与での腎臓の変化は投与中の低血圧状態で腎臓への血液が持続的に減少し、酸素要求量の多い尿細管上皮細胞に虚血性の変化が生じたものと思われる。



## 毒性試験におけるラット流涎の評価に関する研究

○長尾 重之、大野 泰雄

国立衛生試験所  
安全性生物試験研究センター薬理部

化学物質の安全性試験において、流涎のみが低用量より現れ、毒性評価に窮することが多い。そこで、一般毒性試験の中でラットの流涎量を定量的に測定し、他の毒性症状と比較することにより、神経性と非神経性流涎とを区別できないか検討した。

〔実験方法〕動物は7週齢のSD系雄ラットを用い、副交感神経興奮様薬 Pilocarpine、コリンエステラーゼ阻害薬 Physostigmine、有機リン系農薬 Trichlorfon および刺激物質—クエン酸を被検物質とした。一般症状は FOB: Functional Observational Battery方式<sup>1)</sup>により観察した。なお、流涎については、ラットの下歯歯茎と下顎の間に挿入した濾紙に唾液を浸透させ、その浸透距離を測定した。瞳孔変化については、瞳孔直径をスケール付き実体顕微鏡にて測定した。

〔結果および考察〕Pilocarpine、Physostigmine、Trichlorfon およびクエン酸による流涎の時間的変動をろ紙上の浸透距離から測定することができた。また瞳孔変化に関して、Pilocarpine では、散瞳、Physostigmine および Trichlorfonでは、縮瞳が認められたが、クエン酸では、変化は認められなかった。FOB による神経症状観察により流涎の認められている間、Pilocarpine、Physostigmine および Trichlorfonでは、流涎、立毛、痙攣および振戦のいずれかの症状を確認できた。一方、クエン酸飽和水溶液では、投与5分後に流涎が認められたのみで、瞳孔直径および FOBの各測定項目において対照群との差は認められなかった。

今回の実験において、酸による刺激の場合は、流涎のみ認められ、他の FOB測定項目では変化せず、神経性流涎との区別が可能であることが確認され、FOB 方式にて詳細に動物を観察することにより一般毒性試験の中で流涎の毒性学的な評価が可能であることが示唆された。

1) McDaniel, K. L. and Moser, V. C.; Neurotoxicology and Teratology 15, 71- 83, 1993.

高プロラクチン血症時における一般毒性パラメータ変化について

○於勢佳子、宮田かおり、野田聖子、吉岡薫、紙田祐介、  
関高樹、奥野泰由、細川俊治

住友化学工業株式会社 生物環境科学研究所

[目的] ドーパミン(D<sub>2</sub>)受容体遮断作用を有する抗精神病薬は、高プロラクチン血症を惹起し、生体に種々の影響を及ぼすことが知られている。今回、下垂体前葉を腎被膜下に移植したラットを用いて高プロラクチン血症時における一般毒性パラメータ変化について検討した。

[方法] F344 雄ラットに下垂体前葉の腎被膜下移植術(移植下垂体数3および6個)を施し、13週間飼育した。飼育期間中に体重および摂餌量測定を、飼育終了時に血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査(膵臓、移植下垂体、乳腺)およびBrdUを用いた膵島細胞の増殖率測定を行った。

[結果] 病理組織学的検査により、移植下垂体の定着が確認された。血中プロラクチン濃度は偽手術群36ng/mlに対し、移植下垂体数3および6個でそれぞれ70および105ng/mlであった。この時、血液生化学的検査において、コリンエステラーゼおよび総コレステロールの高値、ならびに、トリグリセリドおよび黄体形成ホルモンの低値が認められ、臓器重量測定において、副腎重量の高値が認められた。病理組織学的検査では、乳腺に雌様の構造が認められた。また、膵島細胞の増殖率は明らかに上昇し、血中プロラクチン濃度との間に正の相関が認められた。

[考察] 高プロラクチン血症により雌化の反応が認められ、プロラクチンあるいは他のホルモンを介した変化ではないかと考えられた。また、一部の抗精神病薬で報告のあるラットの膵島細胞腫瘍の発現にプロラクチンレベルの上昇が関与することが示唆された。

## ラットのXylazine毒性影響における代謝物xylidineの意義

○安原 加壽雄, 三森 国敏, 村越 美由紀<sup>1</sup>, 小林 裕子<sup>1</sup>,  
小野寺 博志, 竹川 潔, 高木 久宜, 高橋 道人

国立衛試・病理, <sup>1</sup> 産農研・化学

【目的】  $\alpha$  2 $\gamma$ 1<sup>\*</sup>レリン受容体作動薬であるXylazine(XZ)は家畜の鎮静剤として用いられている。一方, このXZの代謝物である2,6-Xylidine(XD)をラットに混餌投与すると鼻腔に腫瘍が誘発される事が報告されており, XDの毒性影響が懸念される。今回, XZ投与によるラット血中動態およびその毒性影響を検索した。【方法】実験Ⅰ: 8週齢の雄F344ラットにLD50値である150 mg/kgのXZを単回投与し, 3および6時間目に血漿中XZとXD濃度を測定した。実験Ⅱ: 6週齢の雄F344ラットに最大耐量とみなされる1000 ppm (60~80mg/kg)XZ添加飼料を自由に摂取させ, 実験開始7および28日に血漿中の薬物濃度を測定した。また, 主要臓器の病理組織学的観察を行った。【結果】実験Ⅰでは, XZ投与直後より鎮静, 聴覚・痛覚消失がみられ, これは3時間で回復した。6時間目では胸水貯留のため採血量が激減し, 9時間までに動物は胸水充満により死亡した。血漿中XZ量は3時間で0.3  $\mu$ g/ml, 6時間で0.1  $\mu$ g/mlと減少した。XD量はいずれも0.03~0.04  $\mu$ g/mlであった。実験ⅡのXZ投与では一般状態に明かな変化はみられず, 血漿中XZとXD量は検出限界(0.02  $\mu$ g/ml)以下であった。組織学的には7日で胸腺の萎縮, 甲状腺濾胞上皮の肥大がみられたが, 28日では軽減した。【結論】今回の実験で, XZの単回投与では血漿中XZ量は6時間目で減少し, XD量も検出限界値よりやや高い程度であった。また, 反復投与ラットでの血中XZとXD量は検出限界以下であった。組織学的にも7日で見られた胸腺および甲状腺の変化は28日では軽減しており一過性のものと考えられた。以上のことより, XZをラットに長期間反復投与してもXDが血中に残存する可能性は著しく低く, XZの毒性発現にXDが関与する可能性は示されなかった。

## スタウロスポリンによる血管内皮細胞のアポトーシス

○三木康宏<sup>1</sup>、寺岡宏樹<sup>1</sup>、竹花一成<sup>2</sup>、平賀武夫<sup>1</sup>酪農学園大学・獣医・毒性<sup>1</sup>、解剖<sup>2</sup>

細胞傷害作用を担う免疫担当細胞と接する機会の多い血管内皮細胞において、アポトーシスが重要な役割を担っているということが考えられるが、血管内皮細胞についての報告例は少なく、その機構はよくわかっていない。今回我々は、本来プロテインキナーゼC (PKC)の特異的阻害薬として開発されたスタウロスポリン(ST)が、ブタ大動脈内皮細胞培養系にアポトーシス様の細胞死を起こすことを観察したので報告する。

①STは濃度依存性(1-1000nM)および時間依存性(2-21時間)に、核クロマチン凝集細胞とエリスロシンB染色陽性率を増加させた。また、透過型電子顕微鏡により核クロマチンの凝集と表面膜構造の変化が観察された。アガロースゲル電気泳動ではアポトーシスに典型的なDNAラダー像が得られた。

②チロシンキナーゼ阻害薬(Genistein, Herbimycin A)およびカルモジュリン依存性キナーゼ阻害薬(KN-62)はいずれも顕著な細胞毒性を示さなかった。

③セラミド類似体(C2-Ceramide)は濃度依存性(1-500 $\mu$ M)および時間依存性(2-21時間)に、核クロマチン凝集細胞とエリスロシンB染色陽性率を増加させた。

④蛋白合成阻害薬(Cycloheximide)は、STとC2-Ceramideの作用に影響を与えなかった。

⑤ICE/ICE様プロテアーゼ阻害薬(Z-Asp-CH<sub>2</sub>-DCB)は、曝露後20時間のST(100nM)およびC2-Ceramide(10 $\mu$ M)の影響を、濃度依存性(1-500 $\mu$ M)に抑制した。

以上の成績より、STはICE/ICE様プロテアーゼを介してブタ大動脈内皮細胞にアポトーシスを起こすということが示唆される。

メトトレキサートのフェレット小腸セロトニン含有量に  
及ぼす影響

○山本美佐江、中村裕之、岩井 毅、浅野 忠、三沢保幸、  
杉本哲朗、遠藤 泰<sup>1)</sup>、平藤雅彦<sup>1)</sup>、南勝<sup>1)</sup>

中外製薬(株) 安全性研究所、  
1)北海道医療大学薬学部薬理学教室

〔目的〕白金化合物のシスプラチンやアルキル化剤のシクロフォスファミド投与による嘔吐は、小腸粘膜のエンテロクロマフィン(EC)細胞で増加、放出されたセロトニン(5-HT)が迷走神経を介して嘔吐中枢を刺激するためと考えられている。今回、葉酸代謝阻害により制癌作用を示すメトトレキサート(MTX)を嘔吐のモデル動物であるフェレットに投与し、嘔吐と小腸5-HT含有量の変化を観察した。

〔方法〕フェレットにMTX(5mg/kg)を5日間にわたり経口投与し、retchingとvomitingを観察した。投与最終日に小腸を採取し、5-HT量を測定するとともに5-HT免疫染色を含む病理組織学的検査を行った。本実験では対照群として溶媒投与群およびシスプラチン(10mg/kg、2日間、i.p.)投与群を設定した。

〔結果〕シスプラチン投与群では投与後1時間をピークとしたretchingとvomitingが認められたが、MTXでは嘔吐反応は認められなかった。小腸5-HT含量を測定した結果、シスプラチン投与群では $109.6 \pm 8.6$  ng/mg proteinと溶媒対照群の $55.0 \pm 5.1$  ng/mg proteinに対して有意な増加が認められた。一方、MTX投与群では症状が認められなかったにもかかわらず、 $153.7 \pm 24.0$  ng/mg proteinとシスプラチンを上回る増加が認められた。組織学的検索によりシスプラチンでは粘膜上皮の萎縮、細胞異型および単細胞壊死が認められた。MTXではこれらの所見は軽度であったが、5-HT陽性細胞の増加が認められた。

〔結論〕葉酸代謝阻害により制癌作用を示すMTXは、小腸5-HT含有量を著明に増加させることが明らかとなった。しかしながら、MTXは今回の用量範囲で嘔吐を発現させなかったことから、嘔吐発現と関連するEC細胞からの5-HT脱顆粒が低下していることが示唆された。

## ニトロフラゾンのマウス卵巣腫瘍発生のメカニズムに関する検討

○竹川 潔、三森 国敏、森安 眞津子<sup>1</sup>、酒盛 政光<sup>2</sup>、  
安原 加壽雄、小野寺 博志、野村 達次<sup>3</sup>、高橋 道人

国立衛生試験所・病理、<sup>1</sup>パナファーム・安全研、  
<sup>2</sup>吉富製薬・安全研、<sup>3</sup>実中研

【目的】 ニトロフラゾン(NF)は *in vitro* で変異原性陽性を示し、マウス発癌性試験で卵巣腫瘍を誘発することが報告されているが、卵巣腫瘍発生が遺伝子障害によるものか内分泌環境の変化を介するものかは結論されていない。一方、ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子導入トランスジェニックマウス(Hras2 マウス)は遺伝毒性発癌物質の検出に有用であることが示されている。我々は、この Hras2 マウスおよび非遺伝子導入 CB6F1 マウス(Non-Tg)を用い、NF の卵巣腫瘍誘発のメカニズムについての検討を行った。【方法】 実験 I では、8 週齢の雌 Hras2 マウスに NF を 500 および 250ppm の濃度で 26 週間混餌投与し、投与終了後に血清中エストラジオール 17  $\beta$  (E2) およびプロゲステロン(P)を測定した。実験 II では、8 週齢の Hras2 および Non-Tg の雌マウスに NF を 1000ppm の濃度で 11 日間混餌投与した。投与終了後、血清中の黄体形成ホルモン(LH)およびプロラクチン(PRL)値を測定した。実験 I, II ともに全臓器の剖検を行い、生殖器系について病理組織学的検査を行った。【結果】 実験 I では、Hras2 マウスの血清 E2 および P のいずれにも投与による影響は認められなかったが、組織学的には 500ppm 群で卵巣の萎縮が認められた。実験 II においても、両系マウスの 1000ppm 群で卵巣の萎縮性変化がみられ、血清 LH 値が増加した。【結論】 Hras2 マウスに 26 週間投与を行った実験 I では、いずれの臓器においても肉眼的に腫瘍の誘発はみられなかったことから、NF の遺伝毒性メカニズムによる発癌の可能性は低いと考えられた。さらに、実験 II では、Hras2 および Non-Tg マウスともに NF 投与により血清 LH 値が増加し、かつ、卵巣の萎縮性変化がみられたことから、NF 長期投与による卵巣腫瘍誘発には内分泌環境の変動が関与している可能性が示唆された。

マウス、ラット、ビーグル犬及びカニクイザルにおける  
赤血球の形態異常とヘマトクリット値への影響について  
—保存血液での検討—

○兼崎秀一、清水靖夫、佐倉康文

武田薬品工業（株）薬剤安全性研究所 光支所

種々の薬物投与により赤血球の形態異常が発生する。今回、我々は形態異常が血液学的検査値に及ぼす影響を検討する第一段階として、保存血液に発生する形態異常とヘマトクリット値への影響を検討した。マウス、ラット、ビーグル犬及びカニクイザルの赤血球を採血直後、1、4、及び24時間保存（冷蔵あるいは室温）後にヘマトクリット値（電気抵抗法と遠沈法）を測定するとともに、走査電顕により形態を観察した。

金平糖状あるいはウニ状の形態を示す異常赤血球は、冷蔵より室温保存に多く出現し、保存時間の経過に伴って増加した。異常赤血球の出現頻度には種差が認められ、マウス、ラット、ビーグル犬及びカニクイザルの順で高率に認められた。金平糖状赤血球は保存時間の経過とともにウニ状赤血球へ変化した。更に、マウスでは室温24時間後に球状赤血球が観察された。

電気抵抗法によるヘマトクリット値は、いずれの動物でも室温24時間後に増加傾向を示したが、遠沈法では変化しなかった。ラット、ビーグル犬及びカニクイザルでは、ウニ状赤血球比率とヘマトクリット値（電気抵抗法）との間に正の相関が認められた。しかし、マウスではウニ状赤血球比率の増加に伴う増加はみられず、室温24時間後に認められた球状赤血球がヘマトクリット値（電気抵抗法）を増加させたと考えられる。

以上の結果から、赤血球の形態異常は、電気抵抗法によるヘマトクリット値に影響することが示唆された。



## 骨髄細胞分類における血球サイズ（直径）測定の意義

○田畑さおり、野口規子、倉田昌明、田村博志、  
松本清司\*

中外製薬株式会社 安全性研究所、\* 信州大学医学部

【目的】薬剤の骨髄毒性を調べる場合、一般に骨髄細胞数の測定と細胞分類が実施される。このうち、細胞分類は血球の核および細胞質の形態学的特徴により行われるが、実験動物の血液形態に関する解説資料、特にサイズに関するデータは少ない。そこで、血球を分類する際に形態学的特徴の中で、最も客観的要素と考えられる血球サイズ（直径）に注目し、サイズが血球判定にどの程度寄与するかを検討した。

【方法】ラット (Slc:SD) およびイヌ (Beagle/CSK) の骨髄標本(サイトスピン法、ライトギムザ染色) を作製し、赤芽球系および顆粒球系細胞について各成熟過程の細胞の直径を顕微鏡写真を基に計測した。

【結果および考察】正常ラットおよびイヌの骨髄細胞のサイズの分布を上記の方法で調べたところ、次の結果が得られた。

顆粒球系細胞：ラット、イヌともに分裂能をもたない後骨髄球、桿状核および分葉核好中球の間にはサイズに明らかな差はみられず、ほとんどの細胞はラットで $9.0\sim 13.5\mu\text{m}$ の間に、またイヌでは $9.5\sim 15.5\mu\text{m}$ の間に分布した。分裂能を有する前骨髄球および骨髄球についても、分布に重複部分がみられた。しかし、骨髄球と後骨髄球の間にはサイズに差がみられ、ラットでは $13.5\mu\text{m}$ 以上の直径を有する細胞は、分裂能を有する細胞群である可能性の高いことが示唆された。イヌの幼若細胞については例数を増やして検討中である。

赤芽球系細胞：多染性赤芽球のサイズはラットでは $5.0\mu\text{m}$ 、イヌでは $6.0\mu\text{m}$ 付近にピークが認められ、ラットでは $10.0\mu\text{m}$ 以上、イヌでは $11.0\mu\text{m}$ 以上で塩基好性赤芽球および前赤芽球が占める割合が増大した。ラット、イヌともに塩基好性赤芽球と多染性赤芽球を分別する際には細胞サイズが有用なパラメータであると考えられた。



## カニクイザルの胎児血液性状についての報告

○山本隆, 池田浩明, 岡崎啓幸, 鮫島秀暢,  
永田良一

株式会社 新日本科学 安全性研究部門

【目的】妊婦に適用される医薬品の安全性試験の一環として, 生殖・発生毒性だけではなく胎児の生理機能に及ぼす影響を調べることは重要な意義がある。安全性試験には, 通常, 若齢あるいは成熟動物が用いられ, 血液学的検査が実施されている関係から, これらの血液性状に関する報告は多いが, 胎児については極めて少ない。今回, 我々はカニクイザルの胎児の血液学的性状について若干の項目を測定する機会があったので報告する。

【方法および結果】カニクイザル 12 匹 (妊娠 100 日~102 日) を用いた。帝王切開を実施後, 臍帯動脈より可能な限りの血液を採取し, EDTA-2K で抗凝固処理した全血を使用した。多項目自動血球計数装置 (E-4000 型, 東亜医用電子) および血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-70, オムロン) を用いて検査を行った。母動物についても帝王切開前に大腿静脈より採血し, 同様の方法で検査した。

胎児の血液性状 (Mean $\pm$ SD, n=12) は RBC 390.7 $\pm$ 34.9  $\times 10^4/\mu\text{l}$ , WBC 22.5 $\pm$ 4.1  $\times 10^2/\mu\text{l}$ , Hgb 12.28 $\pm$ 1.08 g/dl, Hct 39.37 $\pm$ 2.91 %, MCV 101.05 $\pm$ 5.32 fl, MCH 31.52 $\pm$ 1.89 pg, MCHC 31.18 $\pm$ 0.89 g/dl, platelets 38.92 $\pm$ 7.37  $\times 10^4/\mu\text{l}$ , reticulocytes 80.5 $\pm$ 17.0 %, 白血球分類では band neutrophils 0.1 $\pm$ 0.3 %, segmented neutrophils 8.0 $\pm$ 5.6 %, eosinophils 0.7 $\pm$ 0.7 %, basophils 0.2 $\pm$ 0.4 %, lymphocytes 88.5 $\pm$ 6.1 %, monocytes 2.6 $\pm$ 1.8 %であった。母動物と比較 (Student's t test) した結果, 赤血球系では RBC および Hct が低値 (P<0.01) を, MCV, MCH, MCHC, reticulocytes および platelets が高値 (P<0.01 or P<0.05) を示した。白血球系では WBC, segmented neutrophils, monocytes および basophils は低値 (P<0.01 or P<0.05) を, lymphocytes は逆に高値 (P<0.01) を示した。血清生化学的検査も実施したので, 併せて報告する。

## トキシコキネティクスを想定した血液採取の ラット血液学的パラメータに及ぼす影響

○倉田昌明、三沢かおる、野口規子、春日芳朋

中外製薬（株）安全性研究所

頻回採血時のラットの血液学的パラメータへの影響は過去に多くの検討がなされ、既にトキシコキネティクス（TK）実施時の採血量について目安も存在している。ラットの場合、TKは採血量の問題から通常サテライト群で実施されるが、毒性試験成績との関連性を重視して試験動物での実施が必要となることも考えられる。今回、1ヶ月のTKを想定した採血をラットから行い、その血液学的パラメータへの影響を検討した。

採血群は、1日当たりの採血ポイント数により3群を設け、I群は3ポイント、II群は5ポイント、III群は10ポイントとした。この採血を実験開始初日と最終日（開始日の1ヶ月後）に行い、この間に各群1ポイント/週の採血を併せて実施した。採血部位は頸静脈とし、採血量は300 $\mu$ l/1ポイントとした。その結果、I群では血液系に明らかな変化はなかったが、II群とIII群では繰り返し採血後に赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の低下がみられ、特にIII群では顕著な変化がみられた。しかし、これらの変化は1週間以内にI群と同じ程度にまで回復した。この時、赤血球造血や幼若な赤血球の増加を示唆する網状赤血球比率とMCVの上昇もみられた。一方、今回の実験では、WBCとPLTに変動はみられなかった。

本検討は、TK試験と毒性試験において、血液学的パラメータの変化を把握する上で有用であり、これらの試験の一つの参考データになるものと思われる。

## 自動分析装置による実験動物の血液生化学検査の基礎的検討とその評価

○中村 美穂、菅原 正喜、梶村 哲世、野村 護

### 第一製薬株式会社 安全性研究所

〔目的〕毒性試験の血液生化学的検査には自動分析装置が汎用されているが、動物試料測定における精密性、正確性の保証に関する検討は少ない。今回、各測定項目について定量可能範囲、機器間の相関性および動物血清での同時再現性を検討し、問題点について考察した。

〔材料および方法〕自動分析装置は日立 7350 型を用いた。定量可能範囲は市販の管理血清あるいは高濃度調製試料を段階的に希釈した試料を作製し、設定値の 95~105%の範囲内に入る実測値を与える範囲とした。無処置の SD 系ラット、ビーグル犬およびカニクイザルから採取した同一試料を日立 7350 型および日立 736 型で測定して、両機器の相関性を解析した。同時再現性は未処置ラット血清および管理血清を各 30 回測定し、変動係数(CV)値を算出した。

〔結果〕ラット血清の総ビリルビン(BIL)およびコリンエステラーゼ(CHE)の CV 値は試薬の設定値よりも高かった。ラット、イヌおよびサル(BIL)、および雄ラットの CHE は測定値が定量可能範囲の下限値を下回るものもあった。マグネシウム(MG)は CV が比較的大きく、日立 7350 型と日立 736 型の相関係数も 0.9 未満であった。

〔考察〕実験動物の BIL はヒトよりも低値であることから、無処置動物での測定値は高い信頼性が得られなかった。しかし、毒性評価では主に増加変化が問題になることから、毒性試験での使用には問題がないと考えられる。一方、雄ラットの CHE は著しく低値であることから、減少変化を正確に把握するのは困難と思われる。また、MG は測定誤差が比較的大きいと考えられた。従って、これらの項目はスクリーニング的な毒性試験の検査として、意義が少ないことが示唆された。

## CD(SD) IGSラットの生化学検査値に関する検討

○井上芳己、江口文子、田中栄治、務台 衛

三菱化学(株)横浜総合研究所 安全性研究所

【目的】当社が日本チャールス・リバー(株)のCD(SD)IGSラット(以下IGSラットと記す)を使用するようになって1年余りが経過したことから、今回従来使用していたCD(SD)ラットとIGSラットの生化学検査値を比較し、若干の知見を得たので報告する。

【方法】CD(SD)ラットは1993年～1995年の3年間、IGSラットは1996年の1年間に測定したものについて、基準範囲(95%範囲)の比較と各試験から求めたバラツキの程度の比較(SD値の比較)を行った。検査項目は、AST, ALT, ALP, UN, CRE, Glu, T-Cho, PL, TG, TP, Alb, A/G, Ca, IP, Na, K, Clとした。また、動物の週齢はALP, Glu, Ca, IPについては5～9週齢を、その他の項目については5～23週齢のデータを集計した。

【結果】基準範囲を比較した場合、中央値の比較ではIGSラットの方が高値を示した項目はAST, ALP, TP, Alb, K、低値を示した項目はT-Cho, PL, TG, A/Gであった。また、RANGE(下限値と上限値の差)の比較では、IGSラットの方が広くなった項目はALPのみで、他の項目ではほとんどが狭くなった。一方、バラツキの程度を比較した場合、IGSラットの方が大きいバラツキを示した項目はALP, Glu, Cl、小さいバラツキを示した項目はT-Cho, PL, TG, Ca, IP, Kであった。

【考察】RANGEが大きくなったALPは、単位試験でのバラツキも大きいことから、毒性試験では投薬による影響を見逃し易く、また、単位試験でのバラツキが小さくなったT-Cho, PL, TG, Ca, IP, Kなどは、投薬による影響は無くとも統計学的に有意差を認め易くなったと考えられる。従って、IGSラットの生化学検査成績の評価に当たっては、これらを考慮し、投薬による影響を的確に捕らえることが必要と考えられた。

各種実験動物における PT,APTT 値の検討  
—3種の測定試薬の比較—

○池田浩明, 森 康男, 岡崎啓幸, 永田良一

株式会社 新日本科学 臨床病理検査室

【目的】血液凝固機構の異常をスクリーニングする検査として、プロトロンビン時間 (PT) や活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) が一般に実施されている。今回、4種の実験動物について3社の測定試薬を使用して比較検討したので報告する。

【方法および結果】カニクイザル、マーモセット、ビーグル、ラット雌雄各10匹を使用した。血液9容に対し3.8%クエン酸ナトリウム1容の割合となるように血液を採取し、遠心分離 (3,000rpm, 15min, 4℃) 後、得られた血漿について PT および APTT を全自動血液凝固測定装置 CA-5000 (東亜医用電子) で測定した。PT の試薬には試薬 A (シスメックス PT II, シスメックス), B (トロンボプラスチン・C プラス, Dade) および C (PT-テストワコー, 和光純薬) の3試薬を用い、APTT の測定には試薬 D (シスメックス APTT II, シスメックス), E (データファイ・APTT, Dade) および F (APTT-テストワコー, 和光純薬) の3試薬を用いた。

その結果、試薬 A, B, C における PT 値 (秒) はマーモセットで 4.55, 4.48, 4.66, カニクイザルで 11.21, 9.58, 10.01, ビーグルで 9.85, 7.61, 5.30, ラットで 18.31, 16.09, 10.36 であり、マーモセットは3試薬間で同様の値であったが、カニクイザルは  $B < C < A$ , ビーグルおよびラットは  $C < B < A$  の順にそれぞれ高値を示した。また、試薬 D, E, F における APTT 値 (秒) はマーモセットで 27.48, 27.91, 26.51, カニクイザルで 24.14, 20.98, 23.14, ビーグルで 13.19, 13.20, 24.53, ラットで 18.81, 21.11, 23.92 であり、マーモセットは3試薬間で同様の値であったが、カニクイザルは  $E < D \approx F$ , ビーグルおよびラットは  $D \approx E < F$  の順に高値を示した。また、3試薬とも PT および APTT 値に種差がみられた。結論として、PT および APTT 測定時には試薬による反応差ならびに種差を十分考慮する必要性が示唆された。

イヌの実験的胃障害モデルにおける血清C反応蛋白濃度の変動

○小田部耕二、有賀恭子、難波美保、浅野 忠、杉本哲朗、  
田中公一、長谷川隆司、山本静雄\*

中外製薬（株）安全性研究所

\*麻布大学・環境保健・免疫

【目的】急性期蛋白であるC反応性蛋白（CRP）は、ヒトと同様にイヌでも感染症、外科手術などで血清中に出現することが知られており、臨床的に炎症マーカーとしての有用性が示唆されている。我々はイヌCRPの毒性研究への応用を目的とした検討を行っているが、今回は胃障害発症時における血清CRP濃度の変動について調べた。

【方法】1から3歳齢の雌雄ビーグル犬を用い、アスピリン（200mg/kg）、インドメタシン（60mg/kg）、NaCl（1000mg/kg）をそれぞれ各1匹に経口単回投与し、実験的胃障害を惹起した。動物の胃内を内視鏡を用いて観察するとともに、投与前日、投与後1、3、7、14日に採血して各時期における血清CRP濃度を抗イヌCRP山羊IgGを用いたELISA法（S.Yamamoto et al. 1992）にて測定した。同時に血液学的検査および血液化学的検査を実施した。

【結果・考察】内視鏡検査では各投与物質で投与後1および3日に出血性びらんが観察されたが、投与後7日には癒痕化するか消失した。血清CRP濃度は各投与物質で投与後1ないし3日をピークに著明に増加し、その後減少して、投与後14日にはおおそ回復した。血液および血液化学的検査では一部の個体で血清CRPの変動に相応して白血球数の増加および鉄量の増減傾向がみられた。以上、血清CRP濃度は実験的胃障害において上昇し、その推移は障害の経過と一致した変動を示すことから、胃障害の検出および経過観察に有用な指標であると考えられ、毒性試験への応用が期待される。

血清CRP濃度推移（ $\mu$ g/ml）

投与物質	投与量	性	pre	1	3	7	14(day)
アスピリン	200mg/kg	♂	11.2	76.5	111.4	51.3	17.5
		♀	17.6	390.6	143.2	41.2	11.7
インドメタシン	60mg/kg	♂	7.0	201.1	217.4	37.0	26.8
		♀	3.2	13.8	144.7	37.3	9.5
NaCl	1000mg/kg	♂	23.7	131.3	34.7	12.8	39.8
		♀	7.2	131.8	37.9	13.2	5.1

エストラジオールとノルエチステロン配合剤の反復  
投与毒性

○古川なな絵、佐々木弘幸、高安敏幸、Susan M. Henwood<sup>\*</sup>、  
Magdy Adhelhameed<sup>\*</sup>、高山敏

埼玉第一製薬株式会社 研究部

<sup>\*</sup>Covance Laboratories Inc.

〔目的〕近年、更年期障害などではホルモン補充療法（HRT）が広く行われるようになってきた。今回我々はエストラジオール(E<sub>2</sub>)と酢酸ノルエチステロン(NEA)を含有する配合剤のラットとイヌでの安全性を検討し、若干の興味ある知見を得たので報告する。

〔方法〕SD系雌ラットには配合剤（E<sub>2</sub>/NEA:10/15, 10/50 μg/kg）を、同系統の卵巣摘出ラットには E<sub>2</sub>(10 μg/kg)、NEA(50 μg/kg) および配合剤(E<sub>2</sub>/NEA:0.1/0.5, 1.0/5.0, 10/50, 10/15 μg/kg)を、また雌ビーグル犬には E<sub>2</sub>(10 μg/kg)、NEA(50 μg/kg)および配合剤 (E<sub>2</sub>/NEA:0.1/0.15, 1.0/1.5, 10/15, 0.1/0.5, 1.0/5.0, 10/50 μg/kg)をそれぞれ4週間反復皮下投与した。ラット、イヌともに経時的に採血しトキシコキネティクス解析を行い、4週間投与後には常法に従い血液学的検査、血液化学的検査、病理組織学的検査等を行った。

〔結果と考察〕トキシコキネティクスでは卵巣摘出ラット、イヌともに E<sub>2</sub>と NEA の血中濃度は用量に相関した AUC と Cmax の上昇がみられたが、投与回数の増加に伴う変化は認められなかった。なお、卵巣摘出ラットと正常ラットの間に差異は認められなかった。またラット、イヌともに NEA の併用は E<sub>2</sub> の血中濃度推移に影響を及ぼさなかった。病理組織学的検査において正常ラットおよびイヌへの投与では、生殖内分泌系に E<sub>2</sub> の投与に起因する多彩な変化が低用量から出現した。卵巣摘出ラット対照群は E<sub>2</sub> の欠乏から生殖内分泌系で変化が出現するが、E<sub>2</sub> 投与により正常ラット対照群と差異がみられなくなり、更に大腿骨で海面質の増加が認められた。なお、NEA はラット、イヌともに E<sub>2</sub> の作用に影響を及ぼさなかった。



ピバリン酸ナトリウム飲水投与による低カルニチン  
ラットの作製および骨格筋への影響について

○大丸 香、武田和典、小笠原裕之、村田晃子  
鈴木義治、四方義幸、村上善紀、増田達樹

日本レダリー株式会社医薬研究所

〔目的〕カルニチンは、生体内においてミトコンドリアで行われる脂肪酸酸化に必須の物質である。ピバリン酸ナトリウム（以下 PA）はカルニチンと抱合体を形成してカルニチンの体外排泄を促進する。我々は PA をラットに飲水投与することによって低カルニチンモデルを作製し、低カルニチン状態が生体に与える影響について検討を行なった。

〔方法〕20 mM PA を 1 週間飲水させた SD 雌ラットと無処置の SD 雄ラットを交配し、妊娠中から児動物の離乳までは母体動物に、離乳後は児動物に生後 20 週齢まで継続して PA を自由飲水させ、その間に強制走行による運動負荷試験、肝、腎および心機能検査、骨格筋等の病理学的検査を実施した。

〔結果〕①母体動物の血漿中カルニチン濃度は低値を示したが、妊娠および出産に影響はなかった。②児動物の血漿中カルニチン濃度、肝、腎、心および骨格筋中カルニチン量は生後 3 週齢以後低値を示した。③強制走行による運動負荷では、途中歩かなくなるなどの変化がみられ、終了後不活発、腹臥位等が認められた。④肝、腎および心機能に異常は認められなかった。⑤病理学的検査では、骨格筋に筋衛星細胞の増加および筋原線維不整が認められた。

〔まとめ〕我々が作製したラットの低カルニチンモデルでは、妊娠および出産に異常はみられなかったが、運動負荷に対する抵抗性が低いことが明らかになり、また骨格筋に組織学的な変化も認められた。



## 長期間持続インフュージョンの事例 - ビーグルを用いた 6 ヶ月間投与

○鮫島秀暢\*, 上田隆弘\*, 柏原昌文\*, 前田 博\*\*, 永田良一\*,\*\*

株式会社 新日本科学 \*安全性研究部門, \*\*毒性病理研究部門

【目的】医薬品の毒性試験では、可能な限り臨床適用方法に準拠した投与を実施することが必要である。今回、その投与方法の一つとしてビーグル犬を用いて持続的に静脈内に 6 ヶ月間投与したので、その方法および結果について報告する。

【方法】雌雄各 6 匹のビーグル (5 ~ 6 ヶ月齢) の大腿静脈内にシリコンチューブを下記の手順で留置した。ペントバルビタールナトリウム麻酔下でチューブ (Φ con, SH no. 1) を左大腿静脈から後大静脈まで挿入後、チューブの後端を皮下を通して背部から体外に取り出し、ステンレス製テーサー (Lomir Biomedical Inc.) の中を通してシーベル (Lomir Biomedical Inc.) につなぎ、注射筒と接続した。動物にはジャケット (Lomir Biomedical Inc.) を着せテーサー基部をジャケットに固定し、エリザベスカラー (フジヒラサビックス) を装着した。術後 2 日間は抗生物質 (マイシリンゾル明治®) を筋肉内投与した。溶媒をインフュージョンポンプ (Braintree Scientific Inc.) を用いて 52ml/個体/日の投与速度で 1 日 24 時間、6 ヶ月間持続的に静脈内へ注入した。投与期間中は一般状態の観察、摂餌量および体重測定を実施し、血液学的検査、血液化学的検査も併せて実施した。また、投与終了後は剖検を行い、病理組織学的検査を実施した。

【結果】一般状態、摂餌量および体重推移には異常はみられなかった。血液学的検査では赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよび白血球数には影響はみられなかったが、手術後 6 週目まで血小板数の減少を示す例があった。血液化学的検査では特記すべき変化はみられなかった。病理学的検査については現在実施中である。

## 一般毒性試験における統計解析の決定樹

○浜田知久馬\*, 吉野慶\*\*, 松本一彦\*\*, 野村護\*\*\*, 吉村功\*\*\*\*

\*東京大学、\*\*日本たばこ、\*\*\*第一製薬、\*\*\*\*東京理科大学

## 1. 目的:

一般毒性試験では多様な多項目のデータを統計解析するために、ツリー型アルゴリズムが長年用いられてきたが、最近のコンピュータハードウェア・ソフトウェアの発展によって、統計学も急速に変化しており、これまで標準的に用いられてきた決定樹<sup>1)</sup>を、現在のレベルで評価すると、様々な問題がある。例えば例数がアンバランスなときの Scheffe 法の使用、等分散性の Bartlett 検定の結果によるパラメトリック手法とノンパラメトリック手法の使い分け、用量相関性の考慮がなされていないなどの問題が指摘されている。しかしながらどのような決定樹を構築すべきかについては、議論が十分ではなく、現在までのところコンセンサスが得られていない。そこで小動物を用いて4~5群で行われる一般毒性試験データを対象に、毒性と統計の専門家が共同して、決定樹の1つの例を作成した。この例に基づき決定樹作成において考慮すべき点を示し、実際の毒性試験データに適用した結果を示す。ただし提案する決定樹は論理的な流れを示すための1つの例であり、絶対的な解析アルゴリズムの提案を意図するものではない。

## 2. 決定樹の流れ

- 1 視覚的なデータの吟味
- 2 等分散性、変数変換についての検討
- 3 外れ値の検出とその原因の検討
- 4 用量相関性についての検討
- 5 対照群と各用量群の比較

## 参考文献

1) 山崎実、他.:ラット一般毒性試験における統計的手法の検討。対照群との多重比較のためのアルゴリズム、武田研究所報 40(3/4)、163-187(1981)

## ラット反復投与毒性試験における t 検定と多重比較法による検定

○榊秀之<sup>1</sup>, 吉中亮治<sup>2</sup>, 平田篤由<sup>3</sup>, 中嶋英美<sup>4</sup>, 貞永納<sup>5</sup>, 山北修<sup>6</sup>, 小林孝志<sup>7</sup>,  
田中均<sup>8</sup>, 橋本正晴<sup>9</sup>, 和田武夫<sup>2</sup>(日本製薬工業協会基礎研究部会)

千寿製薬<sup>1</sup>, 武田薬品<sup>2</sup>, マルホ<sup>3</sup>, 小野薬品<sup>4</sup>, 協和発酵<sup>5</sup>, 大鵬薬品<sup>6</sup>,  
日本ベキストマリン<sup>7</sup>, ロート製薬<sup>8</sup>, 藤沢薬品<sup>9</sup>

ラット反復投与毒性試験(計量値)では, 対照群と投与群との平均の対比較検定において, 現在, 多くの施設で多重比較法, 特にDunnett法が用いられている。一方, 毒性試験では見逃しの少ない解析方法が良いとして, 多重比較法より t 検定がよいとする意見もある。t 検定では見逃しは少なくなるが, 偶然に有意となることが多い。日本製薬工業協会基礎研究部会ではいずれの方法が実用上好ましいかを検定結果の妥当性の面から検討した。すなわち, 実際の試験データを用いて, 多重比較法および t 検定による検定結果と研究者により「生物学的な差がある」と判定された検定結果との一致性を調べた。

12試験(血液学的検査:9項目, 血液化学的検査:20項目, 器官重量; 絶対重量:13項目, 相対重量:12項目)について検討した結果, Dunnett法は t 検定に比べ「生物学的な差」との一致性が高く, かつ, t 検定を用いても見逃しは存在した。このことから, 妥当性はDunnett法の方が高いと考えられた。

また, 用量相関性の検定を利用したアルゴリズムについて, 毒性試験での有用性を検討した。

## 欧米で用いられている反復投与毒性試験(計量値データ)の統計解析方法に関する調査

○安藤誠人<sup>1</sup>、山田雅之<sup>2</sup>、今牧宏志<sup>3</sup>、植村昌平<sup>4</sup>、西直樹<sup>5</sup>、赤池雅司<sup>6</sup>、渡部一人<sup>7</sup>、今村美喜郎<sup>8</sup>、渡部則充<sup>9</sup>、渡部浩治<sup>10</sup>、塚本治<sup>11</sup>、和田武夫<sup>12</sup>、五十嵐俊二<sup>13</sup>(日本製薬工業協会基礎研究部会)

<sup>1</sup>明治製菓、<sup>2</sup>富士レビオ、<sup>3</sup>サンド薬品、<sup>4</sup>ミスクリン・ピーチャム製菓、  
<sup>5</sup>ゼリア新薬工業、<sup>6</sup>日本ヘキストマリオンセル、<sup>7</sup>中外製薬、<sup>8</sup>日研化学、  
<sup>9</sup>三井製薬工業、<sup>10</sup>山之内製薬、<sup>11</sup>ヤンセン協和、<sup>12</sup>武田薬品工業、<sup>13</sup>エーザイ

【目的】一般毒性試験における計量値データの統計解析方法として、『Bartlett の等分散性の検定 → 一元配置分散分析あるいは Kruskal-Wallis 検定 → Dunnett あるいは Scheffé の多重比較検定』に代表される、いわゆる“Decision tree”方式が日本国内の多くの企業で用いられている。今回、製薬協・基礎研究部会・第1分科会加盟の外資系企業を対象に、海外における一般毒性試験の計量値データの統計解析に関してアンケート調査を実施(1996年1～3月)し、20社、のべ24施設からの回答が得られたので報告する。

【調査内容】プロトコールとしてラット(1群雌雄各10例)及びイヌ(1群雌雄各4例)の26週間反復投与毒性試験(4群、対照群+投与群3群)を提示し、計量値データの代表として体重及びALT(GPT)について、①少数例(イヌ)の場合統計解析を行うか、②変数変換の有無および方法、③等分散性の検定の有無および方法、④一元配置分散分析(又はKruskal-Wallis test)で有意になった場合のみ対比較を実施するか、⑤対照群との対比較における多重性の考慮の有無および方法、⑥用量相関性の検定の有無および方法、⑦経時測定データの統計解析方法(イヌの試験)、⑧雌雄の値を併合して統計解析を行うか(イヌのALT)を質問した。

【調査結果】①少数例の場合(イヌの試験)では、約3割の施設で統計解析(各種の検定)が実施されていなかった。②必要に応じてデータを変数変換した後に統計解析を行う施設は約7割あり、そのほとんどは順位変換であった。③等分散性の検定を行い、対照群との対比較の方法を変える施設が約6割あった。そのほとんどは、不等分散の場合にはノンパラメトリック法による対比較を行っていた。④対照群との対比較の前に、一元配置分散分析あるいはKruskal-Wallis検定を行う施設が約6割あった。⑤対照群との対比較は、パラメトリック法ではほとんどの場合多重性を考慮した検定(特にDunnett検定)が用いられていた。一方、ノンパラメトリック法では多重性を考慮する施設より考慮しない施設の方が多かった。⑥用量相関性の検定は、約3割の施設で実施していた。⑦体重とALTを計量値データの代表例として調査したが、ほとんどの施設では項目間で統計解析方法を変えず同様の方法で解析していた。⑧ラットとイヌの試験で統計解析方法を使い分けている施設は少なかった。ラットでは対照群との対比較で多重性を考慮するが、イヌではしないとする施設もあった。⑨経時測定データの統計解析を、約2割の施設で実施していた。

## 第 I 相臨床試験までに実施された非臨床試験

○菊池康基<sup>1</sup>，東純一<sup>2,3</sup>，青木敏郎<sup>2</sup>，金田平八郎<sup>1</sup>，  
伊藤忠雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ラビトン研究所，<sup>2</sup> 大阪臨床薬理研究所，  
<sup>3</sup> 阪大・薬・臨床薬効評価

【目的】第 I 相臨床試験(Phase I)のために実施された非臨床試験について，日本の現状の一指標として，大阪臨床薬理研究所(OPHAC)が，'84/3より'96/5迄に受託したPhase Iの概要書に記載されている主要な試験について集計し，実施状況について調査した。

【方法】この12年間に受託したPhase Iは290件で，この内ヒトに初めて投与する治験(世界初の治験)52件(18%)と，比較のため海外先行型の治験薬で日本では初めての治験(日本初の治験)61件(21%)について集計した。年代別の変動を調べるために，'84/3(IRB第1回)より'90/8(IRB 100回)迄の受託分と，それ以降'90/9(IRB 101回)より'96/5(IRB 200回)迄の受託分とに分け，各々について主要な毒性，ADME，及び一般薬理の各試験の実施状況を解析した。

## 【結果と考察】

- 1 毒性試験：'90以降に受託した世界初の治験では，ガイドラインの改訂に準じ，あるいはICHの合意を受けて，実施された試験の組合せや内容に変動が認められた。海外先行の治験薬(日本で初の治験)では，毒性試験の実施率も高く，試験の種類も多い傾向が認められた。
- 2 ADME試験：世界初の治験ではADME試験を多数実施してから，治験に臨む傾向が認められた。'90以降では，代謝物の同定，排泄等を詳細に検討する傾向が示された。Toxicokineticsの実施により，血中濃度が薬効や副作用に影響を与える第一要因と認識されたためと思われる。
- 3 一般薬理試験：ガイドラインの施行の前後で実施試験項目の変動が顕著であった。また，世界初と日本初の治験とを比べると，この試験に対する日本と欧米の対応の相違が窺えた。

## 安全性試験を含む新薬承認申請資料の電子化の経験

永田良一<sup>○</sup>、西田章二

株式会社新日本科学

新薬承認申請資料の電子化は、申請資料の質向上や審査期間の短縮などの点から早期実現を期待されている。今回、我々は新薬承認申請資料の電子化を行ったのでその経験について報告する。申請資料の電子化にはナビゲーション機能、注釈機能、マーキング機能、検索機能が必要であり、HTML (Hyper Text Markup Language) や PDF (Portable Data Format) に対応することが望ましいと考えられている。そこで、今回の電子申請には、これらを満足できる PharmBridge を用いた。PharmBridge は、ウィンドウズ上で稼働し、最も多くの電子化申請の実績を持つ。今回、電子化した申請資料は、添付資料を含めて 14600 ページであり、基本的には画像データをベースにし、アプリケーション (ワード、エクセル) とのリンク行い、CD-ROM で提出した。ネットワーク上での使用が予想されることからドキュメントアーカイバとしての機能を考慮して作成した。電子化に要した時間は実質 24 日であった。これには資料の印刷待ちや打ち合わせ等の時間は含まれない。結果として、安全性試験データを含む多くの添付書類の確認が飛躍的に時間短縮され、資料保管室も省スペース化された。また、保存媒体が CD-ROM (650MB) であるため保管文書の原版保証と大量の文書の移動が簡単となり、申請資料の確認の効率が画期的に向上した。今後は、通信機能を利用した情報交換の工夫が必要と考える。

ラットの妊娠初期に投与したトリブチルスズの生殖に及ぼす影響

○原園 景、江馬 眞、川島邦夫、小川義之

国立衛生試験所大阪支所生物試験部

有機スズ化合物は農業や工業の分野で広く使われており、そのうちトリブチルスズは殺生物作用を有していることから、船底や漁網の防汚剤、農業用殺菌剤として使われてきた。先に、我々は塩化トリブチルスズ (TBTCI) をラットの妊娠0-7日に投与したとき、妊娠の成立した (着床痕の認められる) ラット数が減少することを報告した (Toxicol. Lett. 89, 185-190, 1996)。今回、TBTCIの生殖に及ぼす害作用についてその投与時期特異性を検討した。ラットの妊娠0-3日にTBTCIを0、8.1、16.3、32.5mg/kgまたは妊娠4-7日に0、8.1、16.3、32.5、65.1mg/kg経口投与し、妊娠20日に開腹して胚-胎児に対する影響を調べた。妊娠0-3日にTBTCIを投与したときの妊娠率は、対照群の100%(12/12)に対し、8.1、16.3、32.5mg/kg投与群ではそれぞれ84.6% (11/13)、37.5% (6/16)、12.5% (2/16)であり、TBTCIの投与量の増加とともに妊娠率の減少傾向がみられた。しかし、着床痕の認められた母体においては黄体数、着床数及び生存胎児数に対照群とTBTCI投与群との間の差はみられなかった。妊娠4-7日にTBTCIを投与したときには、16.3mg/kg以上の投与量で着床後胚死亡の有意な増加がみられた。以上のことから、TBTCIの生殖に対する害作用は、妊娠のより早い時期に投与したときにより強く発現し、妊娠0-3日に投与したときには着床阻害作用を惹起し、妊娠4-7日に投与したときには着床後胚死亡を惹起することが明らかになった。

ラットにおけるトリブチルスズの投与日による  
発生毒性の変化

○江馬 眞、宮脇英美子、原園 景、川島邦夫  
小川義之

国立衛生試験所大阪支所 生物試験部

農業や工業の分野で広く使われている有機スズ化合物のうち、トリブチルスズは殺生物作用を有していることから、船底や漁網の防汚剤、農業用殺菌剤として広く使われてきた。先に、我々は塩化トリブチルスズ (TBTCI) をラットの妊娠10-12日または妊娠13-15日に経口投与したとき、奇形胎児の発現頻度が有意に上昇することを報告した (Toxicology 96, 195-201, 1995)。今回は、TBTCIを胎児の器官形成期の間の1日に1回投与したときの発生毒性の変化についてWistar ラットを用いて検討した。妊娠7-9日の間の1日に100 mg/kgまたは妊娠7-15日の間の1日に200 mg/kgのTBTCIを経口投与し、妊娠20日に開腹して胚-胎児に対する影響を調べた。母体重増加の抑制がTBTCI投与群において認められた。妊娠7日、8日または9日に100または200 mg/kg、妊娠10日または11日に200 mg/kgのTBTCIを投与したとき、胚死亡率が有意に上昇した。妊娠8日に100または200 mg/kgのTBTCI、妊娠11日、12日、13日または14日に200 mg/kgのTBTCIを投与したとき、外表奇形を有する胎児の発現頻度が有意に上昇した。奇形胎児の発現頻度はTBTCIを妊娠13日に投与したときに最も高かった。口蓋裂が最も多く観察された。これらのことから、TBTCIの発生毒性はTBTCIの母体への投与時期における胚の発生段階によって変化し、TBTCIの催奇形作用に対する感受期は妊娠8日および妊娠11-14日であることが明らかになった。



無機水銀処置によるマウス腎臓 Mn-SOD の遺伝子  
発現、タンパク含量ならびに酵素活性の変動

○熊谷嘉人、長舟順、水門佐保、新屋敷勝、  
本間志乃、下條信弘

筑波大、社会医学系、環境医学

【目的】我々はマウスにメチル水銀を投与すると、障害部位である脳の Mn-SOD 活性が有意に減少すること；ただし、活性の低下はその mRNA およびタンパク含量のそれによるものではなく、本金属の酵素への直接的な結合によることを報告してきた。今回は、無機水銀投与による腎臓中 Mn-SOD の変動について検討した。

【方法】動物の処置：ICR 系雄性マウスに HgCl<sub>2</sub> (0.25、1 あるいは 3 mg/kg) を背部皮下に 1 回投与した。分析法：腎臓中 Mn-SOD mRNA 含量、タンパク含量および酵素活性はそれぞれノーザンブロット法、ELISA 法および KCN 存在下アセチル化チトクロム C 法で行った。総水銀濃度は還元気化無炎原子吸光法で決定した。酵素の精製：マウス肝臓より単一タンパクを得た（比活性：4,860 U/mg）。

【結果・考察】① 腎臓中水銀濃度は、いずれの場合も投与後 6 時間で最高値に達した（0.25 mg/kg、7.13  $\mu$ g/g；1 mg/kg、20.8  $\mu$ g/g；3 mg/kg、54.2  $\mu$ g/g）。② Mn-SOD の mRNA 含量の変動は LPS 処置により対照群の 2.3 倍（投与後 24 h）増加するのに対し、HgCl<sub>2</sub> 処置ではいずれの投与量でも殆ど変化は見られなかった。③ しかしながら、Mn-SOD のタンパク含量は HgCl<sub>2</sub> (0.25 mg/kg) 投与により、対照群の 3.7 倍（投与後 6 h）上昇した。④ 一方、Mn-SOD 活性は投与量に依存して低下した。同様の現象は精製酵素標品を用いた実験においても観察された。以上の結果より、無機水銀は Mn-SOD の遺伝子発現、タンパク含量ならびに酵素活性に対して異なる影響を与える重金属であることが明かとなった。本学会では、活性低下メカニズムについても言及する。

## カドミウムの精巣毒性軽減とメタロチオネイン様金属結合蛋白質の誘導

○太田久吉、田中英之、浅見 聡、関 幸雄、吉川 博

北里大学、医療衛生、産業保健

「目的」精巣はカドミウム(Cd)の急性毒性に対して感受性が高い臓器である。一方、Cdの少量前投与により死亡率や精巣の出血性炎症障害、壊死等が著しく軽減されることが知られているが、その有害及び防御作用の詳細な機構についてはよく知られていない。本研究は、Cdの腹腔内注射と経口投与による精巣毒性を比較し、精巣内に存在するメタロチオネイン(MT)様Cd結合蛋白質(Cd-BP)のCd毒性発現及び毒性防御における役割について検討した。「方法」Wistar系雄ラット(6週齢)に塩化カドミウム(CdCl<sub>2</sub>)を腹腔内に注射し、また20mgCd/kgを週6日10週間経口投与した。対照群には蒸留水を同様に投与した。Cd注射後24時間目に、またCd経口投与後5週目、10週目に動物を屠殺した。精巣を摘出し、Cd、亜鉛(Zn)、銅(Cu)、鉄(Fe)等の元素を原子吸光光度計で測定した。また、精巣を0.25M Sucrose Bufferでホモジナイズし、13,000 rpm 5分間遠心分離後、上清についてCd-BP及びCd-BPに結合しないCdを測定した。さらに、精巣中のグルタチオン(GSH)、ホモジネートの40,000 rpm上清についてグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)やグルコース6リン酸脱水素酵素(G6PDH)活性等の臨床生化学検査並びにMT抗体を用いて精巣組織の免疫組織染色実施した。

「結果及び考察」Cdの注射と経口投与により精巣中Cd濃度は共に上昇したが、Cd経口投与10週目では著しいCdの蓄積が認められた。正常ラット精巣中Cd-BP濃度は約100ug/g程度であった。これに対して、Cd経口投与ラットでは精巣中Cd濃度の上昇に対応してCd-BP濃度も有意に上昇した。しかしCd注射ラットでは、逆にCd-BP濃度は対照群に比し低下した。MTの免疫組織染色の結果も陽性染色が同様に認められた。臨床生化学検査結果では、Cd注射によりGSH、GSTの低下やG6PDHの上昇が認められたが、Cd経口投与による著しい変化は認められなかった。以上のことから精巣中のCd-BPは、Cdの精巣障害が伴わない蓄積に対応して精巣中に誘導され、またMTである可能性が強く考えられた。

## IL-6とグルココルチコイドによるマウスメタロチオネイン-1プロモーター活性化の分子機構

○伊藤徳夫、糟谷恵子、金清雅子、武藤徳男、田中慶一

大阪大学、薬学部、環境毒性学講座

【目的】我々はインターロイキン(IL)-6による肝癌細胞株メタロチオネイン(MT)誘導にグルココルチコイドの共存が必要であることを報告している。この現象は、IL-6の細胞内情報伝達系とグルココルチコイドの情報受容系がMT遺伝子の活性化に特異的な部分で接点を有するためであると考えた。従来、MT遺伝子の転写調節に関わる研究でグルココルチコイド応答配列は同定されているものの、IL-6応答配列やそのグルココルチコイド応答配列との相互作用についてはまったく知られていないため、この現象の分子機構について検討した。

【方法】マウスMT-1プロモーター、あるいはその欠失変異体や点突然変異を導入した変異プロモーターをルシフェラーゼレポーター遺伝子に連結し、肝癌細胞株にトランスフェクトした。この細胞をIL-6とグルココルチコイドにより刺激し、ルシフェラーゼ活性を測定することによりプロモーターの応答を評価した。この応答に関わる可能性のある転写因子の発現DNAをコトランスフェクションする実験もあわせて行なった。

【結果および考察】種々の検討により、マウスMT-1プロモーターのIL-6とグルココルチコイドに対する応答に必要な領域を2箇所同定した。この領域はIL-6応答配列タイプ2とグルココルチコイド応答配列であり、それぞれAPRF/STAT3とグルココルチコイドレセプターの結合配列である。両応答配列間の距離を増加させることにより応答性が失われたことから、APRF/STAT3およびグルココルチコイドレセプターがそれぞれの応答配列に結合するだけでなく、DNA上での両転写因子間の相互作用が重要であると考えられた。

## メタロチオネイン欠損マウスにおける亜鉛およびサクラソウサポニンによる肝障害軽減作用

○木村朋紀<sup>1</sup>、伊藤徳夫<sup>1</sup>、武藤徳男<sup>1</sup>、小林資正<sup>2</sup>、北川勳<sup>2</sup>、  
田中慶一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪大学、薬学部、環境毒性学講座

<sup>2</sup>同・生薬学講座

【目的】四塩化炭素は肝ミクロソームのシトクロムP450 (CYP2E1) により代謝活性化されることによって肝障害を引き起こす。この障害はメタロチオネイン (MT) を誘導する亜鉛の前処理により軽減され、その肝保護作用の一部はMTのラジカルスカベンジ能によると考えられてきた。また、われわれはMT誘導能を有するサクラソウサポニンも亜鉛と同様に肝保護作用を有することを報告している。そこで、これらMT誘導剤の肝保護作用がMT誘導にもとづくものか否かをMT欠損マウスを用いて検討した。

【方法】MT-1, 2欠損マウスとしてMastersらにより作製されたマウスを用いた。肝障害は四塩化炭素皮下投与24時間後の血漿トランスアミナーゼ活性を測定することにより評価した。亜鉛およびサクラソウサポニンは四塩化炭素投与24時間前に皮下投与した。肝シトクロムP450量およびアニリン水酸化活性の変化もあわせて評価した。

【結果および考察】亜鉛およびサクラソウサポニンによる肝保護作用はMT欠損マウスでも観察され、その効果は対照マウスの場合と同等であった。したがって、亜鉛およびサクラソウサポニンによる肝保護作用の主要な部分はMTとは関係ない機序によって発現することは明らかである。また、サクラソウサポニンの投与は主にCYP2Eファミリーの活性を反映するアニリン水酸化活性を有意に減少させていたため、肝保護作用の一部は四塩化炭素の代謝活性化阻害にもとづくと考えられた。初代培養肝細胞を用いた検討についてもあわせて報告する。

カドミウムに対する耐性獲得におけるメタロチオネイン  
以外の因子の関与

○柳谷隆宏<sup>1)</sup>、湯澤恵子<sup>1)</sup>、斎藤安芸子<sup>1)</sup>、井村伸正<sup>1)</sup>、  
近藤幸尋<sup>2)</sup>、John S. Lazo<sup>3)</sup>

1) 北里大・薬、2) 日本医科大・泌、3) ピッツバーグ大・医

【目的】メタロチオネイン (MT) は、カドミウム (Cd) の毒性軽減に深く関与していると考えられている蛋白質である。Cdに耐性を示す細胞の耐性獲得機構は多くの場合、細胞内のMT濃度の上昇によって説明されてきた。しかし、我々はMT遺伝子を欠失したMT欠失細胞株を用いてCd耐性細胞株を樹立し、この細胞の耐性獲得機構としてCdのトランスポートの違いが関係していることを日本薬学会117年会において報告している。そこで今回、MT遺伝子を有する繊維芽細胞株 (MT+/+) を用いてCd耐性細胞株を作成し、これらの細胞においてもCdのトランスポートの違いがあるか否かを検討した。

【方法】C57BLの14.5日齢胎仔より得た初代培養細胞にSV40DNAを導入し樹立したMT+/+を培養する際、培地中に塩化カドミウムを添加し、その濃度を徐々に増加 (~100  $\mu$ M) させることによりMT+/+由来のCd耐性細胞株 (Cd-r<sup>+</sup>) を得た。化学物質に対する感受性はMTT法、細胞中のMT量およびグルタチオン (GSH) 量はそれぞれ、<sup>203</sup>Hg-binding法、GSH recycling法により測定した。

【結果・考察】Cd-r<sup>+</sup>は、Cdに対する感受性がMT+/+に比べ有意に低下しており、IC<sub>50</sub>は約10倍にまで上昇していたが、cisplatin、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、無機水銀に対しては交叉耐性を示さなかった。Cd-r<sup>+</sup>中のMT量とGSH量は、それぞれMT+/+の約50倍、約1/2であり、細胞内への<sup>109</sup>Cdの蓄積量は、MT+/+よりもCd-r<sup>+</sup>の方が約1/2と少ないことがわかった。このことから、今回、我々が樹立したCd-r<sup>+</sup>は、Cdに特異的な耐性細胞であると考えられ、耐性獲得には細胞内MT量の上昇のみならず、Cdのトランスポートの違いが関与していると考えられる。

# 索引

## あ

青木敏郎	3B-15	板垣宏	2B-06
赤池雅司	3B-14	市川秀之	2B-06
赤木圭介	2A-07	市村彰敏	2C-06
赤堀文昭	2A-10	伊藤賀永子	2C-01
赤松博	2A-01	伊藤清美	2C-22
秋田正治	2A-12	伊藤忠雄	3B-15
秋丸国広	2B-13	伊藤徳夫	3C-05
浅野忠	3A-18		3C-06
	3B-08	伊藤理恵乃	2C-12
浅見聡	3C-04		2C-13
東純一	3B-15	稲津教久	2A-06
畔上二郎	2C-05		2A-11
安達智子	2B-24	井上かおり	2B-06
	2B-25	井上立生	2C-08
Magdy Adhelhameed	3B-09		2C-09
阿部俊一	2A-14	井上達	WI-5
阿部武丸	2A-12		2A-13
荒川和人	2C-20		3A-08
有嶋和義	2A-10		3A-09
有賀恭子	3B-08		3A-11
安東潔	SI-3	井上智彰	WI-4
安藤誠人	3B-14		2B-10
			2B-22
		井上裕章	2B-21
		井上博之	2C-02
		井上芳己	3B-06
		猪又晃清	2B-10
		今井清	SI-4
			2C-05
飯田憲二	2B-11	今井良悦	2B-04
五十嵐俊二	3B-14	今田中伸哉	2B-11
池内滋郎	2C-15	今牧宏志	3B-14
池田浩明	3B-03	今村美喜郎	3B-14
	3B-07	今若実穂	2B-04
池本文彦	2B-01	井村伸正	3C-07
池谷純子	2A-09	岩井毅	3A-18
磯部直彦	2B-17		

岩知道	貴子	2B-02	太田路一	2B-16
		2C-01	大塚雅則	2B-11
岩坪隆史		2C-22	大野浩司	2C-15
				3A-04
	う		大野泰雄	WII-5
上田隆弘		3B-11		2C-12
上西憲明		2B-23		2C-13
植村昌平		3B-14		2C-17
上山義人		WI-3		3A-14
宇佐見誠		2C-12	大野理絵	2B-18
		2C-13	大橋芳彦	3A-03
内田康策		SI-2	大町勝美	2A-14
畝山智香子		2A-04	大山康浩	2C-03
宇野京子		3A-12	岡崎和志	2B-07
梅田明広		3A-13	岡崎啓幸	3B-03
梅原重敬		3A-13		3B-07
梅村隆志		3A-08	岡田洋明	2C-14
		3A-09	岡庭梓	2A-07
			岡本正己	2A-07
	え		小笠原裕之	3B-10
江頭亨子		2C-18	緒方英博	2C-03
江口文子		3B-06		2C-04
江馬眞		3C-01	小川幸男	2A-13
		3C-02		3A-08
遠藤泰		3A-18	小川義之	3C-01
遠藤仁		2C-11		3C-02
			奥田晴宏	2C-20
	お			2C-21
大石法男		2C-02	奥野泰由	SI-5
大出佳代子		2B-05		2B-17
大窪康貴		2A-01		2B-19
大久保芳伸		2B-03		3A-15
王鞍孝子		2C-08	小倉健一郎	2C-20
		2C-09	於勢佳子	3A-15
太田尚吉		2B-01	小田部耕二	3B-08
太田久吉		3C-04	小田美光	3A-10





			3B-04					
蔵	満	茂	晃	2C-16			さ	
栗	原	明	義	2B-18	西	條	清	史
紅	林	秀	雄	2C-17	西	条	武	俊
黒	川	雄	二	2A-13	斎	藤	安	芸
				3A-08	齊	藤	真	也
				3A-09	齊	藤	直	美
				3A-11	齊	藤		実
黒	田	行	昭	2A-12	坂	内	なる	み
鎌	先	恵	美	2C-04	榭		秀	之
C.	E.	Green		2C-22	坂	口		弘
					酒	盛	政	光
			け		佐	久	間	妙
玄	番	宗	一	2C-10	佐	倉	康	文
								3B-01
			こ		櫻	井	信	豪
幸	田	祐	佳	2C-10	酒	見	和	枝
小	柴		博	2A-14				2C-12
小	島	幸	一	2B-24				2C-13
				2B-25	佐	々	木	啓
児	玉	幸	夫	3A-09	佐	々	木	正
小	林	和	浩	3A-13	佐	々	木	弘
小	林	真	一	WII-6	佐	々	木	幸
小	林	孝	志	3B-13	貞	永		敬
小	林	晴	男	2B-16	佐	藤	秀	納
小	林	麻	美	2C-11	佐	藤	昌	蔵
小	林	資	正	3C-06	佐	藤	雅	子
小	林	裕	子	3A-16	佐	野	真	彦
小	林	洋	四郎	3A-13	佐	村	恵	士
小	藤	久	義	2B-16	鮫	島	秀	治
小	柳	藤	夫	2C-19				暢
近	藤	幸	尋	3C-07				3B-11
後	藤	紀	久	2B-23				2A-09
Frank	J.	Gonzalez		2B-08				し
					四	方	義	幸
					鹿	内	ゆ	かり
					篠	田	和	俊
								3B-10
								2A-02
								2B-11

柴田道男	2B-06		せ
島田力	2C-23	関高樹	2B-17
	3A-01		3A-15
	3A-10	関幸雄	3C-04
島田典招	2C-22	関田清司	2A-13
島田信夫	2A-02		そ
清水靖賢	3B-01	臧副曾園孫	小萍子
志村賢一	2B-22	島潤子	2B-15
下篠信弘	3C-03	曾根秀子	2B-21
社領陽聡	3A-03	園田崇倫	3A-05
庄司陽子	2C-14	孫步祥	2A-14
正田俊之	2A-04		3A-02
白井志明	2A-10		た
白石明二	2C-14	C. A. Tyson	2C-22
白石啓	2B-11	田内清憲	2C-06
白鳥孝勝	2B-09	高木篤也	WI-5
新屋敷	3C-03		3A-11
		高木久宜	3A-16
		高田幸一	2A-04
		高野享治	2C-15
		高橋研	2A-05
		高橋ひとみ	3A-13
		高橋宏明	2B-14
		高橋正道	3A-06
		高橋一人	3A-06
			2A-04
			3A-06
			3A-16
			3A-19
		高安敏幸	3B-09
		高山敏子	3B-09
		高山房子	2C-18
		高滝節子	2A-03
		竹川子潔	3A-06
			3A-16
			3A-19
須賀哲弥	3A-12		
菅原正喜	3B-05		
杉浦智美	3A-03		
杉本眞次	2B-04		
杉本哲朗	3A-18		
	3B-08		
杉山雄一	2C-22		
鈴木和夫	SII-3		
鈴木幸子	2A-13		
	3A-08		
鈴木忠彦	2B-16		
鈴木木洋史	2C-22		
鈴木木義治	3B-10		
鈴木内桃子	2C-17		
須山由美	2B-02		
諏訪浩一	2B-07		

武	貞	徳	子	3A-07					
武	田	和	典	3B-10				ち	
武	田	理	夫	2C-11	千	葉	裕	子	2B-14
竹	中	千	鶴	2A-08	張		宝	旭	2C-17
竹	花	一	成	3A-17					3A-05
武	脇		義	2B-16					
田	嶋	尚	之	2A-09				つ	
田	中	栄	治	3B-06	塚	本		治	3B-14
田	中	慶	一	3C-05	辻		良	三	2B-19
				3C-06	辻	本		恒	2C-08
田	中	公	一	3B-08	津	田	充	宥	2C-12
田	中	宏	治	2C-19					2C-13
田	中		悟	2A-13	津	田	裕	一	2B-07
田	中	俊	一	2B-23	土	谷		稔	2B-12
田	中		光	3A-07	筒	井	尚	久	WI-2
田	中	英	之	3C-04					2B-21
田	中		均	3B-13	都	築		学	2B-17
田	中	頼	久	2A-09					
谷	井	秀	治	2B-15				て	
谷	口	芳	信	2B-11	寺	岡	宏	樹	3A-17
田	原	紀	子	2C-07	寺	本	昭	二	2A-05
田	畑	さ	おり	3B-02	D. M. Templeton				SII-1
玉	野	静	光	3A-07					
田	村	一	利	2A-07				と	
				2B-07	遠	山	千	春	3A-05
田	村		隆	2C-08	戸	塚	繁	夫	2C-19
				2C-09	豊	田	和	弘	2A-04
田	村	博	志	3B-02					
田	村		浩	3A-12				な	
田	谷	一	善	2A-02	内	藤	克	司	2A-13
樽	本	保	男	2B-05	苗	代	一	郎	2B-02
				2B-18					2C-01
大	丸		香	2C-06	中	井	洋	一	2B-02
				3B-10					2B-03
									2C-01
					中	川	徹	也	2B-08

中	川	善	裕	2B-17	野	口	規	子	3B-02	
中	下	幸	江	2B-03					3B-04	
中	嶋	英	美	3B-13	野	田	信一郎		2B-13	
中	嶋	由起	子	2C-22	野	田	聖	子	3A-15	
中	塚		巖	2B-20	野	村	達	次	3A-19	
中	西		豊	2B-18	野	村		護	3B-05	
中	野	雄	司	3A-13					3B-12	
中	村		勇	2B-18						
中	村	英	明	2B-07				は		
中	村	裕	之	3A-18	萩	原	昭	裕	3A-07	
中	村	幹	雄	3A-07	橋	本	英	明	2C-06	
中	村	美	穂	3B-05	橋	本	正	晴	2C-16	
中	村	美	洋	2B-20					3B-13	
中	山	直	樹	2B-18	長	谷	千賀	子	2A-11	
長	尾	直	重	3A-14	長	谷	川	隆	司	3B-08
長	尾	哲	之	2C-05	畠	山	和	久		2B-07
長	島	吉	和	2A-07	浜	田	知久	馬		3B-12
永	田	良	一	3B-03	林			裕		2A-01
				3B-07	原	内	敏	夫		3A-04
				3B-11	原	園		景		3C-01
				3B-16						3C-02
長	舟		順	3C-03	原	田	滋	雄		2A-02
永	藪	徳	久	2C-07	原	田	孝	則		2B-14
納	屋	聖	人	2A-08	原	田	知	子		2B-24
難	波	美	保	3B-08	原	田	幸	恵		3A-03
			に							ひ
西		直	樹	3B-14	檜	桓		環		2B-20
西	島		武	2C-21	平	井		誠		3A-13
西	田	章	二	3B-16	平	賀	武	夫		3A-17
西	田	信	之	2C-07	平	田	篤	由		3B-13
西	部	泰	弘	3A-04	平	田	絹	子		2C-03
西	村	典	子	3A-05						2C-04
			の		平	塚		明		2C-21
能	美	健	彦	2B-08	平	塚	秀	明		2B-12
					平	林	容	子		3A-09

平藤雅彦	3A-18	堀井郁夫	2A-03
広瀬明彦	2A-13		2B-10
	3A-08		2B-22
	3A-11	本間志乃	3C-03
廣田徳子	2C-22		
			ま
	ふ	真板敬三	2B-14
J. G. Farrelly	WII-2	前田博	3B-11
笛木修	2C-06	牧栄二夫	WI-1
福島正和	2C-20	政岡俊夫	2A-10
福原守雄	3A-02	増田達樹	2C-06
藤井登志之	2C-16		3B-10
藤井儔子	2A-06	松本一彦	3B-12
	2A-11	松本清司	2A-13
			3B-02
藤川香津子	2A-02	松本浩良	2B-01
藤田健一	2B-08	松本正博	2C-16
藤森観之助	SI-1	真鍋淳	2C-19
二川治子	2B-14		3A-03
船越拓志	3A-06	馬屋原宏	WII-1
古川忠司	3A-03	丸茂秀樹	2C-05
古川なな絵	3B-09	丸山敏之	3A-04
古谷清隆	2A-01		
降矢強美	2A-13		
古谷真美	2B-24		み
		三浦稔	2B-12
		三木康宏	3A-17
S. M. Henwood	3B-09	三沢かおる	3B-04
		三沢保幸	3A-18
		水門佐保	2B-14
			3C-03
寶珠山五月	2B-11	溝口靖基	2A-07
細井和男	2B-23	三谷治	2C-09
細川勇	2B-21	三森国敏	2A-04
細川俊治	2B-17		3A-06
	2B-19		3A-16
	3A-15		3A-16
穂山太郎	2B-12		3A-19



## ら

John S. Lazo 3C-07

## わ

若	林	佐知子	2A-07
若	林	美津子	3A-04
脇	川	典子	2C-14
渡	邊	厚	3A-13
渡	部	一人	3B-14
渡	辺	潔	2A-01
渡	邊	久美子	2B-05
渡	辺	元	2A-02
渡	部	浩治	3B-14
渡	辺	隆史	3A-12
渡	辺	武志	2B-04
渡	辺	大	2A-07
渡	辺	千朗	2C-05
渡	辺	稔之	2C-19
			3A-03
渡	部	則充	3B-14
渡	辺	幸彦	2C-08
			2C-09
渡	部	烈	WII-4
			2C-20
			2C-21
和	田	和義	2C-05
和	田	武夫	3B-13
			3B-14
和	田	美紀	2B-17
			2B-19

## 賛助企業及び団体御芳名一覧

旭化成工業(株)  
味の素(株)  
アラガン(株)  
エーザイ(株)  
大塚製薬(株)  
小野薬品工業(株) 福井安全性研究所  
杏林製薬(株) 中央研究所  
協和発酵工業(株)  
キリンビール(株)  
埼玉第一製薬(株) 研究部  
三共(株)  
(財) サントリー生物有機科学研究所  
塩野義製薬(株)  
昭和電工(株) 総合研究所  
第一製薬(株)  
大正製薬(株)  
大鵬薬品工業(株)  
武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所  
田辺製薬(株)  
中外製薬(株) 安全性研究所  
帝國製薬(株)  
帝国臓器製薬(株)  
日本インスツルメンツ(株)  
日本ロシュ(株) 研究所  
浜理薬品工業(株)  
萬有製薬(株)  
フナコシ(株) 総務部  
明治製菓(株) 薬品総合研究所  
ヤンセン協和(株)  
(株) ラビトン研究所  
和光純薬工業(株)

(平成9年6月20日現在、五十音順)



# Cytochrome P450 関連研究用試薬

Cytochrome P450 関連研究用試薬について一部の製品をご紹介します。

## Cytochrome P450 関連抗体 .....

	商品番号
<i>Anti- Cytochrome P450 2C11</i>	( RB-1303-40 )
<i>Anti- Cytochrome P450 4A</i>	( RB-1303-30 )

## Cytochrome P450 Inhibitors & Inducers .....

	商品番号		商品番号
<i>Benzylimidazole</i>	( MO-2416-20 )	<i>Furafylline</i>	( 70-0501-24 )
<i>Clofibrate</i>	( MO-2416-00 )	<i>Ketoconazole</i>	( 70-1011-05 )
<i>Muscone</i>	( MO-2416-10 )	<i>Methoxsalen</i>	( MO-2413-20 )

## Cytochrome P450 代謝物 .....

	商品番号
( ± ) - <i>Bufuralol, hydrochloride salt</i>	( UL-1680-00 )
<i>Carboxytolbutamide</i>	( UL-2600-00 )
<i>Hydroxybufuralol, maleate salt</i>	( UL-1690-00 )
( ± ) - <i>4' - Hydroxymephenytoin</i>	( UL-1260-00 )
( ± ) - <i>Mephenytoin</i>	( UL-1770-00 )
( ± ) - <i>Nirvanol</i>	( UL-1780-00 )
<i>Sulfaphenazole</i>	( UL-1661-00 )

※ 上記以外の製品もありますので、詳細は下記宛にお問い合わせ下さい。

フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器

## フナコシ株式会社

〒113 東京都文京区本郷2丁目9番7号 ユビテル・ユニビルディング

<http://www.funakoshi.co.jp/> e-mail: [funa@gol.com](mailto:funa@gol.com)

価格・納期・営業に関するお問い合わせ

Tel. 03-5684-1615 Fax. 03-5684-1634

製品内容・資料請求に関するお問い合わせ

試薬に関して: Tel. 03-5684-1620 Fax. 03-5684-1775 e-mail: [fshiyaku@gol.com](mailto:fshiyaku@gol.com)

機器に関して: Tel. 03-5684-1619 Fax. 03-5684-1775

# The HP 1100 Series LC/MSD

新発売



**お気軽に、こき使っていただければ幸いです。**

値段は高い、それに大きい、  
操作がまた難しい、メンテナンスはさらにめんどろ。  
こんな今までのLC/MSにHPは抗議します。  
まずはコンパクトに、もっと操作も簡単に。  
しかも、オートチューニング付というのはいかがでしょう。  
そして、もっともっと簡単にメンテナンス。  
スプレーチャンバー内のクリーニングなど、  
目を閉じたままでもOKなくらい。最後にお値段もお手頃。

**HP1100シリーズLC/MSD誕生です。**

どうぞ、お気軽にこき使ってください。  
それがHP1100シリーズLC/MSDの幸せです。

※カタログをご希望のお客様は、営業本部 企画 GrまでFaxでご請求ください。  
Fax:0422-56-9440

**横河アナリティカル システムズ株式会社**

営業本部 / 〒180 東京都武蔵野市中町1-15-5三鷹高木ビル ☎0422-56-9393/4

# 私たちは MSI

MITSUBISHI CHEMICAL SAFETY INSTITUTE LTD.

医薬、農薬、各種化学物質に関し、薬理・毒性・代謝のそれぞれの視点から、薬物のプロフィールを総合的に評価します。



## 毒性試験

- 一般毒性/発癌性試験\*1・\*2
- 特殊毒性試験
- 生殖発生毒性試験\*3
- 変異原性試験\*4

## 総合評価

## 薬理試験

- 一般薬理試験
- 薬効薬理試験
- 生体の機能に及ぼす影響(農薬)

## 代謝試験

- 薬物動態試験
- 生物学的同等性試験
- 薬物相互作用試験
- 生体内運命(農薬)試験

\*1 トキシコキネティクス分析/バリデーションも実施しております。

\*2 吸入暴露技術も高い評価を得ております。代謝・薬理試験にも応用可能です。

\*3 ICHガイドライン対応試験も実施しております。

\*4 UDS試験、複製DNA合成試験(RDS試験)も受託しております。



株式  
会社

# 三菱化学安全科学研究所

本

社 〒105 東京都港区芝二丁目1番30号 TEL.(03)3454-7571(代) FAX.(03)3454-7573



安全性試験研究センター

受託業務

医薬・化粧品・農薬等 GLP適合安全性試験  
薬理試験、検討試験等

**Iar** (財) 動物繁殖研究所

〒300-01  
茨城県新治郡霞ヶ浦町深谷1103  
TEL. 0298-97-0631  
FAX. 0298-97-1158

学会の共同事務処理機構  
財団法人 日本学会事務センター

日本学会事務センターは、学会事務の合理的な運営をはかる共同事務処理機構として1971年7月に発足し、下記のような業務を進めてまいりました。今日ではコンピューターを利用したシステム化が着実に伸展し、会員業務受託学会は200学会(28万人)を数えるとともに、年間約20件の国際会議を含め約60件の学術講演会開催のお世話をするまでに至りました。また学会誌の頒布業務では、現在320の学会誌の国内・国外の流通を支えております。

会員業務

- 会員原簿の管理
- 会費の徴収
- 学協会誌等の送付
- 新入会ならびに退会の受付
- 名簿作成

委託製作業務

- 会報・ニュース・学会誌の製作
- 予備集・アブストラクツの製作
- プロシーディングスの製作

庶務・会計業務

- 窓口業務
- 庶務・受付業務
- 会計業務
- 渉外業務
- 資格認定・講習会等の学会事業
- 新学会の設立・法人化等の事務

学会誌・書籍頒布業務

- 学会誌・刊行物・プロシーディングス等の国内・国外への頒布



学術講演会(国際会議・大会)開催業務

- 事務局の設置、会議の企画(予算等)
- 参加登録の受付
- 投稿論文の受付
- プログラム、サーキュラーの製作・送付
- 講習会場の設営と当日運営
- 備品の貸出
- 広告の募集と展示会の開催
- 催物、宿泊・旅行の企画運営

関連組織 (財)学会誌刊行センター(学会誌の製作) 観学会出版センター(学会企画の出版) 観学会ユーティリティセンター(学会誌等の発送)

東京 〒113 東京都文京区本駒込5-16-9  
本部 学会センターC21ビル  
Tel 03-5814-5801 Fax 03-5814-5820

学会センター関西 〒565 豊中市新千里東町1-4-2  
千里ライフサイエンスセンタービル14階  
Tel 06-873-2301 Fax 06-873-2300

## 第24回 日本毒科学会学術年会 プログラム・要旨集

---

●発行日/平成9年7月7日 ●発行人/井村 伸正

●発行所/北里大学薬学部 公衆衛生学教室 〒108 港区白金5-9-1 TEL (03) 3444-6161 内線 3382 FAX (03) 3442-4146

●印刷所/財 日本学会事務センター TEL (03) 5814-1440

# 水銀を前処理なしで迅速、正確に測定！



## 汎用自動水銀分析装置 マーキュリー／SP-3D

### 特長

- ★試料の前処理（湿式灰化）不要
- ★超高感度・ワイドレンジ  
0.004 ng (SN/3) ~ 1000 ng
- ★加熱気化-金アマルガム-冷原子吸光法を採用
- ★液体試料も大気試料もこの一台で測定可能

### 用途

- ★廃油、廃プラスチック、焼却灰、廃土
- ★汚泥、土壌、肥料、工場排水
- ★原油、ナフサ、天然ガス、石炭
- ★食品、生体、医薬品など

### NIC水銀分析計

- ・RAシリーズ：水溶液試料用／還元気化法採用  
自動試料交換機 SC-20 と連動による無人測定可
- ・AMシリーズ：一般環境から発生源まで連続大気モニター用
- ・EMシリーズ：作業環境大気モニター用（ポータブル／据置）
- ・PMシリーズ：ポータブル（資源探査用／環境用）
- ・TMシリーズ：蛍光管中の水銀量測定用
- ・DMシリーズ：清掃工場煙道ガス中水銀連続測定用



日本インスツルメンツ株式会社 NIPPON INSTRUMENTS CORPORATION

本社 〒151 東京都渋谷区千駄ヶ谷 4-14-4

TEL (03)3479-6014 (代)

FAX (03)3479-6166

大阪営業所 〒569-11 大阪府高槻市赤大路町 14-8

Tech.センター

TEL (0726)94-5195 (代)

FAX (0726)94-0663

# SQA

## 精子特性分析機

### SPERM QUALITY ANALYZER

United Medical Systems社製品

U.S. Patent No. 4176953

輸入元 Jaffco LTD.

承認番号06B 輸第1226号

～生殖毒性試験や薬理試験での精子受精能の評価に～



- ①画期的な低価格を実現しました。
- ②初めての方でも簡単に操作出来ます。  
“エス キュー エーの操作には面倒な訓練も熟練も不要”
- ③僅か40秒で精子特性が客観的に判断出来るので動物実験の効率が大幅にUPします。
- ④コンパクトなので使用しない時は余分な場所をとりません。  
“外寸240(W)×150(D)×80(H)mm”
- ⑤医療用検査機器として保険適用が認められています。
- ⑥SMI値は受精能と高い相関を示します。  
[文献] Congenital Anomalies Vol.35 No.4 1995 p.477-480

[資料請求先]



**東洋産業株式会社** 医用機器事業部 **MATYS**

本社・工場 〒930-02 富山県中新川郡舟橋村舟橋415 TEL: (0764) 64-1577 FAX: (0764) 64-1477  
東京支店 〒107 東京都港区北青山2丁目12-4 TEL: (03) 3401-6596 FAX: (03) 3478-5369  
大阪営業所 〒532 大阪市淀川区西中島7丁目4-5 TEL: (06) 309-1231 FAX: (06) 309-1250