

第28回日本トキシコロジー学会学術年会

プログラム・要旨集

2001年6月10日(日)～12日(火)

東京ビッグサイト

特別講演

「私とレギュラトリーサイエンスー回顧と新世紀への展望ー」

内山 充 (国立医薬品食品衛生研究所 名誉所長)

「A Bold New Direction for Environmental Health Research」

Kenneth Olden (Director, National Institute of Environmental Health Sciences)

「21世紀、がんを克服するためには何が必要か」

黒木 登志夫 (昭和大学腫瘍分子生物学研究所所長、日本癌学会会長)

会長講演

「トキシコロジー管見」井上 達 (第28回学術年会会長)

教育講演

「老化と染色体テロメア」石川 冬木 (東京工業大学)

「神経幹細胞の同定・分離法の確立と神経再生への挑戦」岡野 栄之 (慶應義塾大学)

「リスクアセスメントの新しい流れ」大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

「発がん物質の低用量発がんと適応応答」福島 昭治 (大阪市立大学)

「細胞間結合をめぐる生物学とトキシコロジー」山崎 洋 (関西学院大学)

「まちがった結論を導かないための実験データ解析の勘所」吉村 功 (東京理科大学)

シンポジウム1 オーガナイザ 淀井淳司 (京大) 葛西宏 (産業医大)

「酸化DNA障害の分子機構」

シンポジウム2 オーガナイザ 村松正明 (ヒュービットジェノミクス) 堀井郁夫 (日本ロシュ)

「分子毒性とトキシコゲノミクス」

ハンティンドン ライフサイエンス社

ハイレベルな安全性評価試験を提供します。



◆ハンティンドン ライフサイエンス社は、医薬品、食品添加物、ニュートラシューティカルズなどの分野で世界各国の規制当局への届出・申請用安全性評価試験データ提出に多くの実績を築いてきました。

◆非臨床毒性試験全般、薬理試験、代謝試験、ファーマコカインेटクス、トキシコカインेटクス、変異原性試験、物化性試験、製剤安定性試験、さらに発展的に臨床試験などすべての分野でプログラムマネジメントにより化合物の全体像を明らかにする各種試験を実施しています。

◆日本事務所が試験実施の全ての段階にわたってサポートし、貴社のビジネス戦略に沿った申請用試験成績作成の支援を行います。

◆豊富な経験と高い技術から生み出されるハイレベルな安全性評価試験サービスをご利用ください。

Huntingdon
Life Sciences
Working for a better future

日本事務所 ハンティンドン ライフサイエンス株式会社
〒102-0076 東京都千代田区五番町12番地1
TEL (03) 3238-6381 FAX (03) 3238-6388

英国本部研究所
Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England
米国研究所
Huntingdon Life Sciences Inc. New Jersey, U.S.A.

www.huntingdon.com

第28回 日本トキシコロジー学会学術年会

会期：2001年6月10日(日)～12日(火)

会場：東京ビッグサイト

〒135-0063 東京都江東区有明3-21-1

Tel:03-5530-1111(代表) Fax:03-5530-1222

年会会長：井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

企画委員：井上 博之 ((財)食品農医薬品安全性評価センター)

遠藤 仁 (杏林大学医学部薬理学)

大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所 薬理部)

土井 邦雄 (東京大学大学院農学生命科学)

長尾 拓 (東京大学大学院薬学系研究科)

広瀬 雅雄 (国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

堀井 郁夫 (日本ロシュ(株)研究所)

牧 栄二 (ヤンセン協和(株)研究開発本部)

松澤 利明 (山之内製薬(株))

山添 康 (東北大学大学院薬学研究科)

吉田 武美 (昭和大学薬学部毒物学)

(五十音順)

年会事務局

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

国立医薬品食品衛生研究所

安全性生物試験研究センター毒性部内

Tel:03-3700-9646 Fax:03-3700-9647

E-mail:jst2001@nihs.go.jp

<http://www.soc.nacsis.ac.jp/jsts/jst2001/>

会期中：学会本部 (東京ビッグサイト601会議室)

Tel/Fax:03-5530-1202

年会長挨拶	5
会場へのアクセスのご案内	6
会場内のご案内	8
参加者へのご案内とお願い	9
各種委員会・集会の日程と会場	11
会場と催し物のご案内	12
司会・座長一覧	18
ランチョンセミナー	19
プログラム	21
講演要旨	
特別講演	47
会長講演	53
教育講演	57
シンポジウム1	65
シンポジウム2	75
ワークショップ1	83
ワークショップ2	91
一般演題	95
索引	153

年会長挨拶

第28回日本トキシコロジー学会学術年会の開催にあたって

新世紀の幕開けの第28回学術年会の開催にあたって世話人として衷心より歓迎のご挨拶を申し上げます。学術年会の成功には、一般会員諸兄姉、皆々さまおひとりおひとりの参加がなにより不可欠です。みなさんの積極的なご参加と活発なご討議をお願い申し上げます。ポスター会場と一般口演会場は、商業展示ともども、同じフロアで隣り合わせになるように致しましたので、会場をこまめに行き来して双方の発表を気楽にお楽しみ戴きたいと存じます。なおポスターでも展示を前にしてそれぞれご説明、討論をお願いすることに致しました。

会員のみなさんの一般演題が学会の生命ならば、特別企画は、それらを盛り上げる科学の一大アトラクションと申しても、お引受戴いた高名な先生方に失礼にはならないと思います。幸いにもご助力あって、安全性科学の研究の中軸としてその指導にあたってこられた日米の双璧、内山 充先生とKenneth Olden先生の両先生、そして、いま癌研究で世界をリードする研究の中心におられ、昨秋、日本癌学会を成功裏に終えられたばかりの黒木登志夫先生にそれぞれ特別講演をお引受戴きました。これらのご講演が、新世紀のトキシコロジー学会の幕開けにふさわしい、当会会員の皆様への贈り物になるものと確信いたしております。

皆さんご自身の発表の合間には、シンポジウム1「酸化的DNA障害の分子機構」[淀井 淳司(京大ウィルス研)・葛西 宏(産業医大)]や、シンポジウム2「分子毒性とトキシコゲノミクス」[村松 正明(ヒュービットジェノミクス)・堀井 郁夫(日本ロシュ研)]、あるいは、新しい話題「ワークショップ：Chemical Allergy 研究の最近の動向」[大沢 基保(帝京大)と澤田 純一(国立衛生研)]など、バリエエティーに富んだトピックスをアレンジしましたので、トキシコロジーの基礎を支える教養として大いに学んで戴きたいと存じます。

最終日の午後は、いまや恒例となりつつあるワークショップ2「毒性質問箱2001」をお馴染みの渡部 烈(東京薬科大)教授と、野村 護(第一製薬)・松本一彦(鳥居薬品)の両先生にお世話戴くことにしております。

本来は、学術年会そのものが生涯教育の場であります。自然科学の日進月歩と、年會に許される時間の関係でテーマは限られますが、6つの教育講演、「老化と染色体テロメア」石川 冬木(東工大)、「神経幹細胞の同定・分離法の確立と神経再生への挑戦」岡野 栄之(慶大)、また、「リスクアセスメントの新しい流れ(不確実係数とdioxin類のTDI決定について)」大野 泰雄(国立衛生研)、「発がん物質の低用量発がん適応応答」福島 昭治(阪市大)、「細胞間結合をめぐる生物学とトキシコロジー」山崎 洋(関西学院大)、および「まちがった結論を導かないための実験データ解析の勘所」吉村 功(東京理科大)を各先生方をお願い致しました。いずれのお話も、トキシコロジーの根幹に関わる最近のトピックを構成していますので、どうぞお楽しみに。

平成13年6月

第28回 日本トキシコロジー学会学術年会長
井上 達

会場への交通案内



■りんかい線

新木場駅 (JR・営団地下鉄) ←5分→国際展示場駅 (下車徒歩5分)
 ※JR東京駅←10分→新木場駅 有楽町線有楽町駅←12分→新木場駅

■ゆりかもめ

新橋駅 (JR・営団・都営地下鉄) ←21分→国際展示場正門駅 (下車すぐ)
 ※イベント開催時は混雑が予想されます。

■水上バス

日の出桟橋 (JR浜松町駅徒歩7分) ←約20分→有明客船ターミナル (下車すぐ)

■路線バス

[虹01] JR浜松町駅←約30分→東京ビッグサイト
 [海01] 営団地下鉄門前仲町駅←約30分→東京ビッグサイト
 [東16] JR東京駅八重洲口←約35分→東京ビッグサイト
 ※上記の所用時間は交通事情により異なる場合もあります。

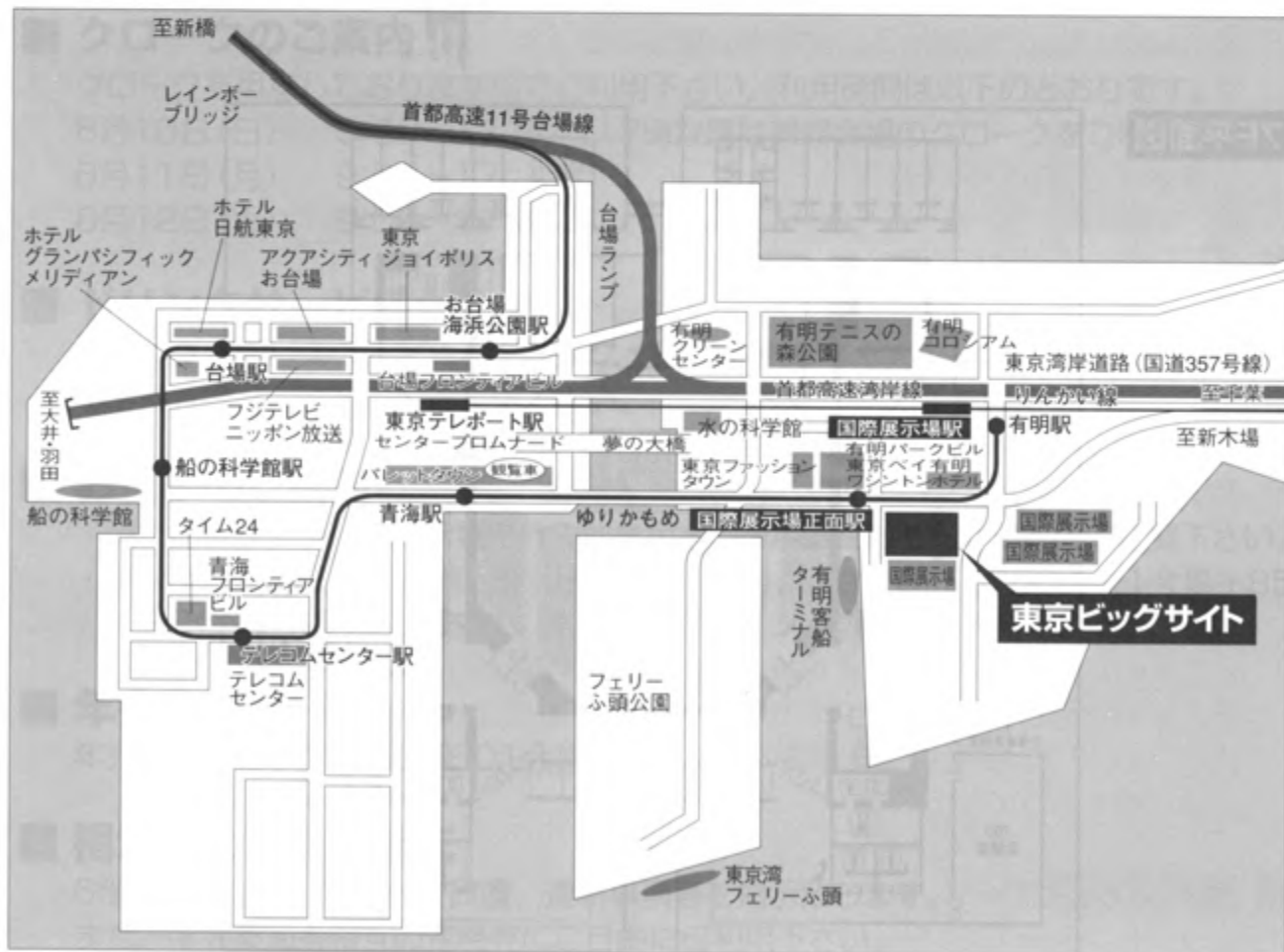
※ [海01]、[東16] は豊洲経由です。
 ※ [東京テレレポート駅前] 行きをご利用の際は、「東京ビッグサイト東棟前」または「国際展示場正門駅前」のいずれかでお降りください。
 ※ イベント開催時には臨時急行便もございます。東京駅での乗り場をお確かめください。

(交通局深川自動車営業所 TEL.03-3529-3322)

■空港バス

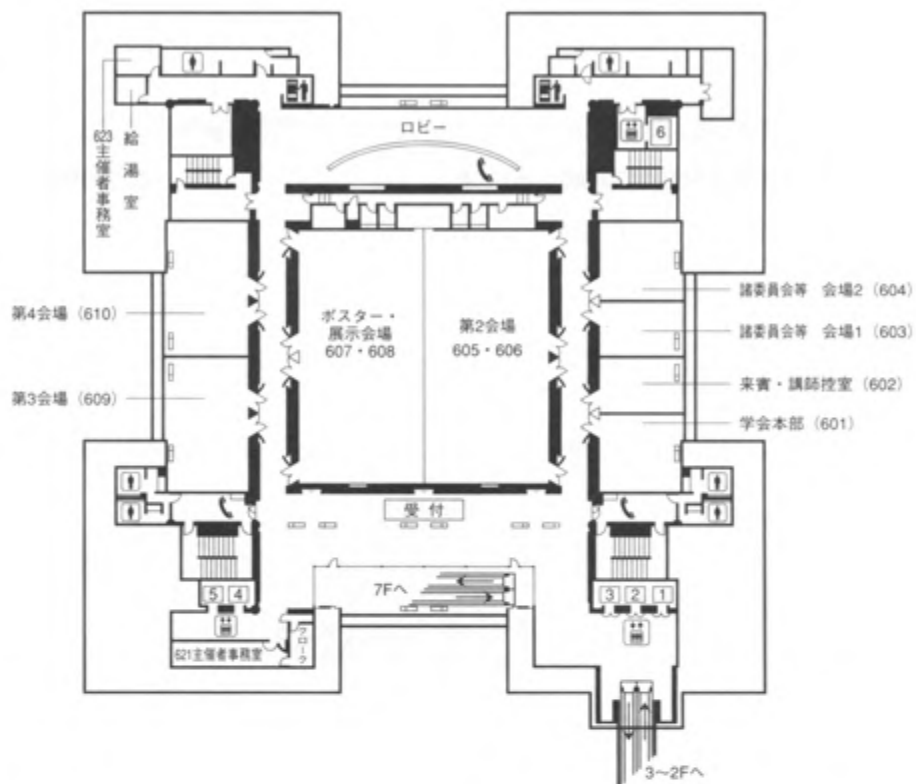
羽田空港←約20分→東京ビッグサイト
 ●成田空港←約65分→東京ビッグサイト
 ●東京シティエアーターミナル←約15分→東京ビッグサイト

●は、運行日をお確かめください。
 (東京空港交通(株) TEL.03-3665-7223)

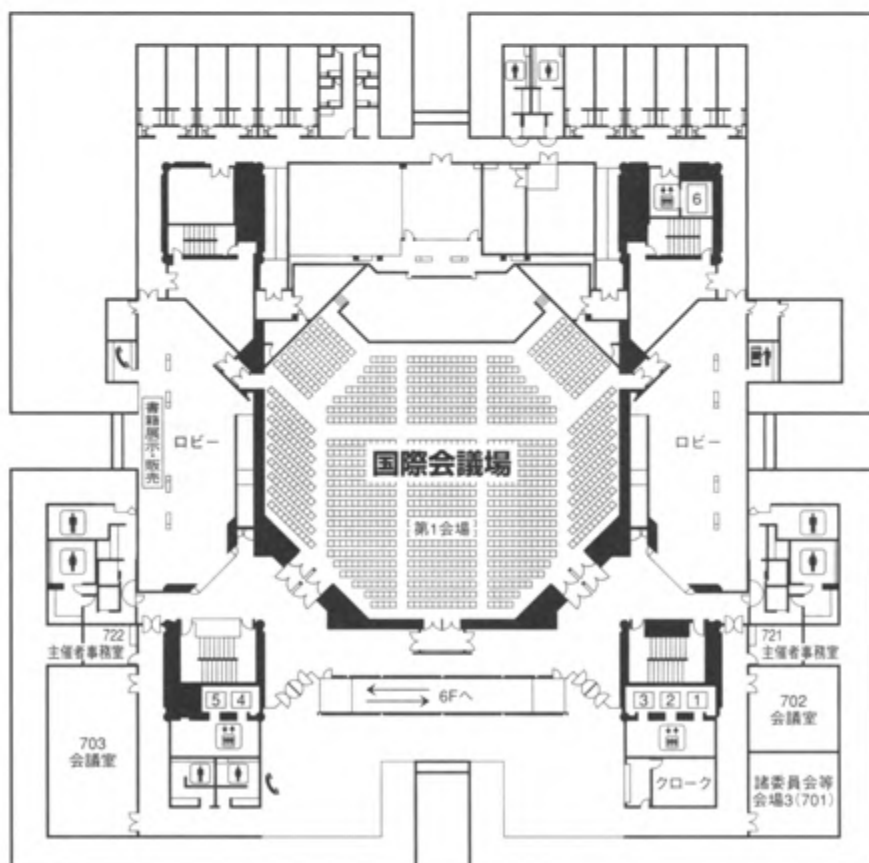


会場内のご案内

6F平面図



7F平面図



参加者へのご案内とお願い

■ 総合受付・参加登録

当日参加登録	6月10日(日)	8:30~17:00
	6月11日(月)	8:30~17:00
	6月12日(火)	8:30~15:00

■ 当日受付の参加登録費、懇親会費

参加登録費

学会員 10,000円

非会員 12,000円

学生会員 6,000円 (非会員の学生の方はご相談下さい)

懇親会費 10,000円 (学生は5,000円)

■ ネームプレート

年会参加者は必ず所属・氏名を明記したネームプレートを着用して下さい。
ネームプレートを着用していない方は入場をお断りいたします。

■ クロークのご案内

クロークを用意しておりますのでご利用下さい。利用時間は以下のとおりです。

6月10日(日) 9:00~17:30 (17時以降は懇親会場のクロークをご利用下さい)

6月11日(月) 9:00~17:30

6月12日(火) 9:00~17:00

■ ドリンクサービス

ドリンクサービスコーナーを6階607・608会議室(ポスター・展示会場)に設置致しております。ご自由にご利用下さい。

■ お食事のご案内

- ・受付にビッグサイト展示場内外の飲食店案内を用意致しておりますのでご覧下さい。
- ・ランチョンセミナーが第1日(85人×2会場)、第2、3日(300人×1会場+85人×2会場)に開催されます。案内はランチョンセミナーの項をご参照下さい。

■ 年会事務局

年会期間中の事務局は6階601会議室です。

■ 掲示板と緊急連絡先

6階総合受付前に掲示板を設置、連絡事項等を掲示致します。
また、学会参加者相互の連絡等にご自由にご利用下さい。

■ 第1会場（国際会議場）でのご講演の方へ

30分前までに当該会場の「スライド受付」で受付をしてください。

指定した時間での講演をお願い致します。

スライドは35mmフィルムをご用意ください。

枚数制限はありません。

液晶プロジェクターをご利用の方は年会事務局あてご連絡ください。

J. Toxicol.Sci.に掲載する英文抄録の提出について

英文抄録を総合受付の「英文抄録受付」担当者に提出してください。

■ 口演発表の方へ

30分前までに当該会場の「スライド受付」で受付をして下さい。

発表時間を厳守して下さい。

一般口演：発表8分＋質疑応答4分＝計12分

スライドは35mmフィルムで、一般口演では10枚以内とさせていただきます。

スライドの併写はできません。同一のスライドを2回以上使用する場合は、映写回数ごとにご用意下さい。液晶プロジェクターは国際会議場以外では使用できません。

J.Toxicol.Sci.に掲載する英文抄録の提出について

英文抄録を総合受付の「英文抄録受付」担当者に提出して下さい。英文抄録掲載料は2,000円です。英文抄録用原稿用紙はJ.Toxicol.Sci.Vol.26 No2（5月送付）に綴じ込まれております。

■ ポスター発表の方へ

発表者は、ポスター受付で発表者用リボンと画鋏を受け取って下さい。

内容の表現は発表者の自由といたしますが、1～2m離れた位置から十分に読める程度の大きさの文字を使用して下さい。巾90cm×縦210cmのパネルと演題番号を用意します。発表者は演題番号の右の縦20cm×横70cmのスペースに演題名、所属、発表者（発表者名に○印）を明示して下さい。ポスターは巾90cm×縦120cmまでとします。座長の司会による、プレゼンテーションを9:00～10:00に行います（発表3分、質疑2分）。9:00までに掲示を済ませて下さい。

掲示期間は6月10日、11日は9:00～17:00、6月12日は9:00～15:00と致します。

J.Toxicol.Sci.に掲載する英文抄録の提出について

英文抄録を総合受付の「英文抄録受付」担当者に提出して下さい。英文抄録掲載料は2,000円です。英文抄録用原稿用紙はJ.Toxicol.Sci.Vol.26 No2（5月送付）に綴じ込まれております。

■ 座長の先生へ

セッションの始まる15分前までに該当会場のスライド受付までご連絡下さい。

各種委員会・集会の日程と会場

● 6月9日(土)

理事・監事会	15:00~17:30	(6階 604会議室) (諸委員会等会場2)
第29回日本トキシコロジー学会学術年会 企画委員会	12:00~13:00	(6階 603会議室) (諸委員会等会場1)

● 6月10日(日)

評議員会	12:00~13:00	(6階 605・606会議室) (第2会場)
総会	13:00~14:00	(7階 国際会議場) (第1会場)
懇親会	18:00~20:00	(1階 レセプションホール)

● 6月11日(月)

国際認定トキシコロジスト委員会	12:00~13:00	(6階 603会議室) (諸委員会等会場1)
編集委員会委員会	12:00~13:00	(6階 604会議室) (諸委員会等会場2)
認定試験小委員会	12:00~13:00	(7階 701会議室) (諸委員会等会場3)

● 6月12日(火)

生涯教育講習会小委員会	12:00~13:00	(6階 603会議室) (諸委員会等会場1)
用語集作成委員会	12:00~13:00	(6階 604会議室) (諸委員会等会場2)

会場と催し物のご案内

6月10日(日) 第1日

			9	30	10	30	11	30	12	30	13
会場	部屋	階数									
第1会場	国際会議場	7				教育講演1 「老化と染色体 テロメア」 石川 冬木 司会：前川 昭彦		教育講演2 「神経幹細胞の同定・ 分離法の確立と神経 再生への挑戦」 岡野 栄之 司会：早川 亮夫			
第2会場	605・606 会議室	6	一般口演 肝・消化器系 010-01~03 座長 出川 雅邦		一般口演 腎・尿路系 010-04~06 座長 三浦 克之				評議員会		
第3会場	609会議室	6	一般口演 循環器系 010-07~09 座長 尾崎 博		一般口演 血液系 010-10~12 座長 松本 清司				ランチョンセミナー1 "Study Tracker"; On- Line Data Access System by Client Study Monitors World コーパンスイック 日本支社		
第4会場	610会議室	6	一般口演 発生・生殖系 010-13~15 座長 北嶋 聡		一般口演 神経系 010-16~18 座長 真坂 敬三				ランチョンセミナー2 NOTOX社における 毒性試験のトピックス (Topics in Toxicological Studies at NOTOX) NOTOX 日本事務所		
ポスター・ 展示会場	607・608 会議室	6	ポスタープレゼンテーション 一般毒性/内分泌 P10-01~P10-08 座長 若狭 芳雄・吉田 緑 試験法/統計/金属・その他 P10-09~P10-17 座長 千葉 百子・小川 幸男								

13	30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30
総会		田選賞授賞式 受賞講演1 受賞講演2		特別講演1 「私とレギュラトリーサイエンス —回顧と新世紀への展望—」 内山 充 司会：黒川 雄二		特別講演2 「A Bold New Direction for Enviromental Health Research」 Kenneth Olden 司会：井上 達					
機器展示・ポスター 一般毒性/内分泌 P10-01~P10-08 試験法/統計/金属・その他 P10-09~P10-17											

6月11日(月) 第2日

			9	30	10	30	11	30	12	30	13
会場	部屋	階数									
第1会場	国際会議場	7				教育講演3 「リスクアセスメントの新しい流れ (不確実係数とdioxin類のTDi決定について)」 大野 泰雄 司会：鎌滝 哲也		教育講演4 「発がん物質の低用量発がんと適応応答」 福島 昭治 司会：広瀬 雅雄			
第2会場	605・606 会議室	6	一般口演 薬物代謝1 011-01~03 座長 上野 光一	一般口演 薬物代謝2 011-04~06 座長 島田 力							ランチョンセミナー3 Novel Technique to Develop Neuroprotective Drugs: From Glaucoma to Alzheimer. (株)新日本科学
第3会場	609会議室	6	一般口演 免疫アレルギー 011-07~09 座長 畑尾 正人	一般口演 発癌性 011-10~12 座長 務台 衛							ランチョンセミナー4 Considerations for Nonclinical Evaluation of Dermatologic Drug Products 日本シイベルヘグナー(株)
第4会場	610会議室	6	一般口演 変異原性1 011-13~15 座長 瀧谷 徹	一般口演 変異原性2 011-16~18 座長 能美 建彦							ランチョンセミナー5 Current Issues in Regulatory Immunology and Immunotoxicology ハンティンドン ライフサイエンス(株)
ポスター・ 展示会場	607・608 会議室	6	ポスタープレゼンテーション 循環器/肝・消化器系/腎・尿路系 P11-01~P11-10 座長 井上 博之・小澤 正吾 神経系/発生・生殖系 P11-11~P11-20 座長 藤井 優子・伊原 敏夫								

13	30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30
<p>特別講演3</p> <p>「21世紀、がんを克服するためには何かが必要か」</p> <p>黒木 登志夫 司会：首藤 絢一</p>		<p>シンポジウム1</p> <p>「酸化的DNA障害の分子機構」</p> <p>オーガナイゼ：淀井 淳司・葛西 宏</p> <p>S1-1～S1-8</p>									
		<p>ワークショップ1</p> <p>「Chemical Allergy 研究の最近の動向」</p> <p>オーガナイゼ：大沢 基保・澤田 純一</p> <p>W1-1～W1-6</p>									
<p>機器展示・ポスター</p> <p>循環器／肝・消化器系／腎・尿路系 P11-01～P11-10</p> <p>神経系／発生・生殖系 P11-11～P11-20</p>											

6月12日(火) 第3日

			9	30	10	30	11	30	12	30	13	
会場	部屋	階数										
第1会場	国際会議場	7				教育講演5 「細胞間結合をめぐる生物学とトキシコロジー」 山崎 洋 司会：菅野 純		教育講演6 「まちがった結論を導かないための実験データ解析の勘所」 吉村 功 司会：林 真				
第2会場	605・606 会議室	6	一般口演 細胞毒性1 012-01~03 座長 沼澤 聡	一般口演 細胞毒性2 012-04~06 座長 井上 智彰					ランチョンセミナー6 OutbredRatの 国際標準化に向けて (Approaches to international standardization of outbred rats) (財)実験動物中央研究所			
第3会場	609会議室	6	一般口演 一般毒性1 012-07~09 座長 野村 謙	一般口演 一般毒性2 012-10~18 座長 岡崎 修三					ランチョンセミナー7 New Advances Toxicological Assessments *Quantitative Neurobehavioral Assessment in Dog *Cardiovascular Assessment by Telemetry *Updated Regulatory Expectation for Development & Reproductive Toxicology WIL Research Labs (三木産業)			
第4会場	610会議室	6	一般口演 内分泌系1 012-13~15 座長 奥野 泰由	一般口演 内分泌系2 012-16~18 座長 青山 博昭					ランチョンセミナー8 Preclinical Lead Optimisation Technologies - Creative Drug Discovery and Development - ハンティンドン ライフサイエンス(株)			
ポスター・ 展示会場	607・608 会議室	6	ポスタープレゼンテーション 血液系/薬物代謝 P12-01~P12-10 座長 平林 容子・若田 明裕 免疫アレルギー/発癌性/変異原性 P12-11~P12-19 座長 木村 努・三森 国敏							機器展示・ポスター 血液系/薬物代謝 P12-01~P12-10 免疫アレルギー/発癌性/変異原性 P12-11~P12-19		

13	30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30
<p>会長講演 「トキシコロジ－管見」 井上 達 司会：遠藤 仁</p>		<p>シンポジウム2 「分子毒性とトキシコゲノミックス」 オーガナイザ：村松正明・堀井 郁夫 S2-1～S2-5</p>									
		<p>ワークショップ2 「毒性質問箱2001-GLPの国際比較と展望-」 オーガナイザ：渡部 烈・野村 謙・松本 一彦</p>									

■ 司会・座長一覧

■特別講演

司会	演題記号	日程	時間	会場
黒川 雄二	SL-1	6/10	15:00~16:10	第1会場 (国際会議場)
井上 達	SL-2	6/10	16:10~17:20	第1会場 (国際会議場)
首藤 紘一	SL-3	6/11	13:00~14:10	第1会場 (国際会議場)

■会長講演

司会	演題記号	日程	時間	会場
遠藤 仁	CL	6/12	13:00~14:00	第1会場 (国際会議場)

■教育講演

司会	演題記号	日程	時間	会場
前川 昭彦	EL-1	6/10	10:20~11:10	第1会場 (国際会議場)
早川 堯夫	EL-2	6/10	11:10~12:00	第1会場 (国際会議場)
鎌滝 哲也	EL-3	6/11	10:20~11:10	第1会場 (国際会議場)
広瀬 雅雄	EL-4	6/11	11:10~12:00	第1会場 (国際会議場)
菅野 純	EL-5	6/12	10:20~11:10	第1会場 (国際会議場)
林 真	EL-6	6/12	11:10~12:00	第1会場 (国際会議場)

■シンポジウム、ワークショップ

オーガナイザー	演題記号	日程	時間	会場
淀井 淳司	S1	6/11	14:20~17:20	第1会場 (国際会議場)
葛西 宏	S1	6/11	14:20~17:20	第1会場 (国際会議場)
村松 正明	S2	6/12	14:00~17:00	第1会場 (国際会議場)
堀井 郁夫	S2	6/12	14:00~17:00	第1会場 (国際会議場)
大沢 基保	W1	6/11	14:20~17:20	第2会場 (605・606)
澤田 純一	W1	6/11	14:20~17:20	第2会場 (605・606)
渡部 烈	W2	6/12	14:00~17:00	第2会場 (605・606)
野村 護	W2	6/12	14:00~17:00	第2会場 (605・606)
松本 一彦	W2	6/12	14:00~17:00	第2会場 (605・606)

■一般演題 (50音順)

座長	演題記号	日程	時間	会場
青山 博昭	O12-16~O12-18	6/12	9:36~10:12	第4会場 (610)
井上 智彰	O12-04~O12-06	6/12	9:36~10:12	第2会場 (605・606)
井上 博之	P11-01~P11-10	6/11	9:00~9:50	ポスター・機器展示会場 (607・608)
伊原 敏夫	P11-11~P11-20	6/11	9:00~9:50	ポスター・機器展示会場 (607・608)
上野 光一	O11-01~O11-03	6/11	9:00~9:36	第2会場 (605・606)
岡崎 修三	O12-10~O12-12	6/12	9:36~10:12	第3会場 (609)
小川 幸男	P10-09~P10-17	6/10	9:00~9:45	ポスター・機器展示会場 (607・608)
奥野 泰由	O12-13~O12-15	6/12	9:00~9:36	第4会場 (610)
尾崎 博	O10-07~O10-09	6/10	9:00~9:36	第3会場 (609)
小澤 正吾	P11-01~P11-10	6/11	9:00~9:50	ポスター・機器展示会場 (607・608)
北嶋 聡	O10-13~O10-15	6/10	9:00~9:36	第4会場 (610)
木村 努	P12-11~P12-19	6/12	9:00~9:45	ポスター・機器展示会場 (607・608)
澁谷 徹	O11-13~O11-15	6/11	9:00~9:36	第4会場 (610)
島田 力	O11-04~O11-06	6/11	9:36~10:12	第2会場 (605・606)
千葉 百子	P10-09~P10-17	6/10	9:00~9:45	ポスター・機器展示会場 (607・608)
出川 雅邦	O10-01~O10-03	6/10	9:00~9:36	第2会場 (605・606)
沼澤 聡	O12-01~O12-03	6/12	9:00~9:36	第2会場 (605・606)
能美 健彦	O11-16~O11-18	6/11	9:36~10:12	第4会場 (610)
野村 護	O12-07~O12-09	6/12	9:00~9:36	第3会場 (609)
畑尾 正人	O11-07~O11-09	6/11	9:00~9:36	第3会場 (609)
平林 容子	P12-01~P12-10	6/12	9:00~9:50	ポスター・機器展示会場 (607・608)
藤井 儂子	P11-11~P11-20	6/11	9:00~9:50	ポスター・機器展示会場 (607・608)
真板 敬三	O10-16~O10-18	6/10	9:36~10:12	第4会場 (610)
松本 清司	O10-10~O10-12	6/10	9:36~10:12	第3会場 (609)
三浦 克之	O10-04~O10-06	6/10	9:36~10:12	第2会場 (605・606)
三森 国敏	P12-11~P12-19	6/12	9:00~9:45	ポスター・機器展示会場 (607・608)
務台 衛	O11-10~O11-12	6/11	9:36~10:12	第3会場 (609)
吉田 緑	P10-01~P10-08	6/10	9:00~9:40	ポスター・機器展示会場 (607・608)
若狭 芳男	P10-01~P10-08	6/10	9:00~9:40	ポスター・機器展示会場 (607・608)
若田 明裕	P12-01~P12-10	6/12	9:00~9:50	ポスター・機器展示会場 (607・608)

■ ランチョンセミナー

6月10日(日) 第1日

第3会場 (609会議室) 12:00~13:00

1. "Study Tracker" ;
On-Line Data Access System by Client Study Monitors Worldwide
コーバンスインク日本支社

第4会場 (610会議室) 12:00~13:00

2. NOTOX社における毒性試験のトピックス
(Topics in Toxicological Studies at NOTOX)
NOTOX日本事務所

6月11日(月) 第2日

第2会場 (605・606会議室) 12:00~13:00

3. Novel Technique to Develop Neuroprotective Drugs:
From Glaucoma to Alzheimer.
(株) 新日本科学

第3会場 (609会議室) 12:00~13:00

4. Considerations for Nonclinical Evaluation of Dermatologic Drug Products
日本シイベルヘグナー (株)

第4会場 (610会議室) 12:00~13:00

5. Current Issues in Regulatory Immunology and Immunotoxicology
ハンティンドン ライフサイエンス (株)

6月12日(火) 第3日

第2会場 (605・606会議室) 12:00~13:00

6. OutbredRatの国際標準化に向けて
(Approaches to international standardization of outbred rats)
(財) 実験動物中央研究所

第3会場 (609会議室) 12:00~13:00

7. New Advances Toxicological Assessments
*Quantitative Neurobehavioral Assessment in Dog
*Cardiovascular Assessment by Telemetry
*Updated Regulatory Expectation for Development & Reproductive Toxicology
WIL Research Labs (三木産業)

第4会場 (610会議室) 12:00~13:00

8. Preclinical Lead Optimisation Technologies
-Creative Drug Discovery and Development-
ハンティンドン ライフサイエンス (株)

特別講演

特別講演1

8月10日(日) 16:00~16:10

※PL-1

「70年というストーリーサイエンス—個體と歴史への展望—」

講師 藤田 隆 (国立保健科学大学院大学 学長)

会場 2F 大ホール 2F-101

プログラム

特別講演2

8月10日

※PL-2

「A Bold New Direction for Environmental Health Research」

講師 David Greene, National Institute of Environmental Health

Research and Centers for Disease Control and Prevention

会場 2F 大ホール 2F-101

特別講演3

8月11日(月) 13:00~14:00

※PL-3

「21世紀、がん研究の未来をどう描くのか」

講師 山田 隆 (京都大学 大学院 医学部 がん予防・検出学 学長)

会場 2F 大ホール 2F-101

TOXICOLOGY

■ 特別講演

■ 特別講演1

6月10日(日) 15:00~16:10

● PL-1

「私とレギュラトリーサイエンスー回顧と新世紀への展望ー」

内山 充 (国立医薬品食品衛生研究所名誉所長)

司会 黒川 雄二 (佐々木研究所)

■ 特別講演2

6月10日(日) 16:10~17:20

● PL-2

「A Bold New Direction for Environmental Health Research」

Kenneth Olden (Director, National Institute of Environmental Health Sciences and National Toxicology Program U.S.A)

司会 井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ 特別講演3

6月11日(月) 13:00~14:10

● PL-3

「21世紀、がんを克服するためには何が必要か」

黒木 登志夫 (昭和大学腫瘍分子生物学研究所所長、日本癌学会会長)

司会 首藤 紘一 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ 田邊賞受賞講演

司会：須賀 哲弥（東京薬科大学薬学部）
井上 達（国立医薬品食品衛生研究所）

■ 受賞講演1 6月10日（日）14:10～14:30

[Sex-related effect of hemin on cytochrome P450 and drug-metabolizing enzymes in rat liver]

Yasuna Kobayashi, Naomi Ohshiro, Michiya Suzuki, Tadanori Sasaki, Shogo Tokuyama, Takemi Yoshida and Toshinori Yamamoto

J. Toxicol. Sci., 25 (No.3) 213-222 (2000)

小林靖奈、徳山尚吾、吉田武美（昭和大学薬学部）

■ 受賞講演2 6月10日（日）14:30～14:50

[Elevation of steroid 5 α -reductase mRNA levels in rat cerebellum by toluene inhalation: Possible relation to GFAP expression]

Takako Gotohda, Aki Kuwada, Kyoji Morita, Shin-ichi Kubo and Itsuo Tokunaga

J. Toxicol. Sci., 25 (No.3) 223-231 (2000)

後藤田貴子、徳永逸雄（徳島大学医学部）

■ 会長講演

6月12日（火）13:00～14:00

● CL

「トキシコロジー管見」

井上 達（第28回学術年会会長）

司会 遠藤 仁（杏林大学医学部）

■ 教育講演

■ 教育講演1

6月10日(日) 10:20~11:10

● EL-1

「老化と染色体テロメア」

石川 冬木 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)

司会 前川 昭彦 (佐々木研究所)

■ 教育講演2

6月10日(日) 11:10~12:00

● EL-2

「神経幹細胞の同定・分離法の確立と神経再生への挑戦」

岡野 栄之 (慶応義塾大学医学部)

司会 早川 堯夫 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ 教育講演3

6月11日(月) 10:20~11:10

● EL-3

「リスクアセスメントの新しい流れ(不確実係数とdioxin類のTDI決定について)」

大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

司会 鎌滝 哲也 (北海道大学大学院薬学研究科)

■ 教育講演4

6月11日(月) 11:10~12:00

● EL-4

「発がん物質の低用量発がんと適応応答」

福島 昭治 (大阪市立大学大学院医学研究科)

司会 広瀬 雅雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ 教育講演5

6月12日(火) 10:20~11:10

● EL-5

「細胞間結合をめぐる生物学とトキシコロジー」

山崎 洋 (関西学院大学理学部)

司会 菅野 純 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ 教育講演6

6月12日(火) 11:10~12:00

● EL-6

「まちがった結論を導かないための実験データ解析の勘所」

吉村 功 (東京理科大学工学部)

司会 林 真 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ シンポジウム

■ シンポジウム1 6月11日(月) 14:20~17:20

「酸化DNA障害の分子機構」

オーガナイザー：淀井 淳司（京都大学 ウィルス研究所）
葛西 宏（産業医科大学）

● S1-1

Overview：酸化DNA障害とレドックス制御

淀井 淳司（京都大学 ウィルス研究所）

● S1-2

酸化ストレスのマーカー、8-ヒドロキシデオキシグアノシンの測定

葛西 宏（産業医科大学）

● S1-3

環境化学物質による酸化DNA障害：発がん性と生殖毒性における意義

川西 正祐 他（三重大学医学部）

● S1-4

化学物質による酸化ストレスを介した毒性発現機序の無侵襲解析

内海 英雄 他（九州大学大学院薬学研究院）

● S1-5

酸化ストレスによるDNA損傷と生活習慣病の発生

内藤 裕二、吉川 敏一（京都府立医科大学）

● S1-6

チオレドキシソ遺伝子の環境化学物質に対するストレス応答機構

増谷 弘、淀井 淳司（京都大学 ウィルス研究所）

● S1-7

チオレドキシソ過剰発現マウスの環境ストレス耐性

平林 容子、井上 達（国立医薬品食品衛生研究所）

● S1-8

酸化ストレスとG蛋白質

長尾 拓（東京大学大学院薬学系研究科）

■ シンポジウム2 6月12日 (火) 14:00~17:00

「分子毒性とトキシコゲノミクス」

オーガナイザー：村松 正明 (ヒュービットジェノミクス(株))

堀井 郁夫 (日本ロシュ(株)研究所)

● S2-1

ポストゲノム時代のトキシコゲノミクス

村松 正明 (ヒュービットジェノミクス(株))

● S2-2

Genomic methodologies for identifying predictors of drug toxicity

Tom Chu

(Associate Director, Pharmacogenomics Genset Corporation)

● S2-3

医療現場からのトキシコゲノミクス

檜垣 實男 他 (大阪大学大学院医学系研究科)

● S2-4

DNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析によるトキシコゲノミクスの展開

関 直彦 (ヘリックス研究所)

● S2-5

多環芳香族炭化水素による成長ホルモン応答シグナル伝達の阻害とその分子機構

糠谷 学 他 (北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野)

● S2-6

**Genetic Basis of Susceptibility to Environmentally Induced Birth Defects:
Toxicogenomic Approaches to the Identification of High Risk Individuals
and Underlying Mechanisms**

Richard H. Finnell et al.

(Center for Human Molecular Genetics, University of Nebraska Medical Center,
Omaha, NE, USA.)

■ ワークショップ

■ ワークショップ1 6月11日(月) 14:20~17:20

「Chemical Allergy 研究の最近の動向」

オーガナイザー：大沢 基保（帝京大学薬学部）

澤田 純一（国立医薬品食品衛生研究所）

● W1-1

Chemical Allergy研究の課題—生体要因と環境要因

大沢 基保（帝京大学薬学部）

● W1-2

アナフィラキシーの分子生物学

高井 俊行 他（東北大学加齢医学研究所）

● W1-3

化学物質によるアレルギーの誘発機構—ディーゼル排気微粒子の例を中心として—

滝沢 始 他（東京大学医学部附属病院・検査部）

● W1-4

アレルギー発現要因としての薬物代謝

斎藤 嘉朗 他（国立医薬品食品衛生研究所）

● W1-5

新しいアレルギー性試験法の開発（1）

サイトカインを指標とするLocal Lymph Node Assay (LLNA)

柴田 道男（(株)資生堂ライフサイエンス研究センター）

● W1-6

新しいアレルギー性試験法の開発（2）

Popliteal Lymph Node Assay (PLNA) の応用

木村 努 他（三共(株)安全性研究所／製薬協免疫毒性ワーキンググループ）

■ ワークショップ2 6月12日(火) 14:00~17:00

「毒性質問箱2001—GLPの国際比較と展望—」

オーガナイザー：渡部 烈（東京薬科大学薬学部）

野村 護（第一製薬(株)研究企画部）

松本 一彦（鳥居薬品(株)医薬情報部）

■ 一般演題（口演）

■ 肝・消化器系

6月10日（日）9:00～9:36（第2会場）

座長：出川 雅邦（静岡県立大学薬学部）

● 010-01

5-FUを用いたラットにおける消化管障害評価法の検討

○ 森山 賢二、山口 昌宏、近藤 泰史、鈴木 智、河内 泰英、林 泰司
（大鵬薬品工業株式会社 安全性研究所）

● 010-02

アセトアミノフェン（APAP）及び四塩化炭素（CCl₄）投与による肝障害時の毒性指標

○ 山本 敏誠¹、小林 雅典¹、奥田 孝二²、内海 博之²、高木 司郎²、池田 陽一¹、
花田 秀一¹（¹ウェルファイド（株） 開発研究所 安全性研究部、²ウェルファイド（株）
創薬研究所 探索研究部）

● 010-03

イヌにおけるICG負荷試験の条件検討

○ 星谷 達、赤木 圭介、溝口 靖基、松岡 哲也、水口 浩康、長島 吉和、岡庭 梓
（株式会社ボゾリサーチセンター）

■ 腎・尿路系

6月10日（日）9:36～10:12（第2会場）

座長：三浦 克之（大阪市立大学医学部薬理学教室）

● 010-04

ラットにおける尿中ALP、 γ -GT、LDHおよびCRE測定のための基礎的検討

○ 井上 芳巳、江口 文子、水野 英子、諸橋 鉄男、務台 衛
（三菱東京製薬株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所）

● 010-05

セファロリジンによるフリーラジカル性腎障害におけるPKC活性化の関与

○ 幸田 祐佳、玄番 宗一（大阪薬科大学 薬理学）

● 010-06

シクロスポリンA惹起尿細管間質病変における低マグネシウム血症とレニン・アンジオテンシン系の関与

○ 三浦 克之¹、浅井 利大¹、玉田 聡²、田代 孝一郎¹、岡村 幹夫³、仲谷 達也²、
岩尾 洋¹（¹大阪市立大学 医学部 薬理学教室、²大阪市立大学 医学部 泌尿器科学教室、
³大阪市立大学 医学部 第一内科学教室）

■ 循環器系

6月10日(日) 9:00~9:36 (第3会場)

座長：尾崎 博 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

● O10-07

血管壁再現モデルにおけるアドリアマイシン処理による単球浸潤の検討

○ 渡邊 久美子、有馬 和範、岩城 理進、木村 正明
(大正製薬株式会社 開発研究所 安全性研究室)

● O10-08

モルモット単一心室筋の活動電位およびイオン電流に対する非循環器薬剤の作用

○ 永山 伸一、桑野 康一、永田 良一、鬼頭 剛
(株式会社新日本科学 安全性研究所 安全性1部)

● O10-09

ラットの心障害時における血中心臓ホルモンの変動

○ 大野 理絵、宮田 裕人、白根 里加、浅沼 富美子、八木 健一、木村 正明
(大正製薬株式会社 開発研究所 安全性研究室)

■ 血液系

6月10日(日) 9:36~10:12 (第3会場)

座長：松本 清司 (信州大学医学部附属動物実験施設)

● O10-10

毒性試験におけるラットALPアイソザイムの解析

○ 畠山 和久^{1,2}、竹内 敏秀^{2,3}、山口 知里^{2,4}、市川 裕子^{1,2}、牧野 江梨子^{2,5}、川鍋 剛^{2,6}、鈴木 靖郎²、青山 直子²、菰田 ニー⁷ (1) 株式会社ボソリサーチセンター 御殿場研究所、
(2) 安全性評価研究会 ALPアイソザイム分科会、(3) マルホ株式会社 中央研究所、
(4) 田辺製薬株式会社 安全性研究所、(5) 財団法人食品農医薬品安全性評価センター、
(6) 株式会社ヘレナ研究所、(7) 埼玉医科大学 第一生化学)

● O10-11

血小板凝集能の動物種差に関する検討

○ 周 玉、石川 由美、永井 良和、北澤 郁恵、倉田 昌明、山田 弘
(ファイザー製薬株式会社)

● O10-12

Haematological Changes during Normal Pregnancy in New Zealand White Rabbits: A Longitudinal Study

○ Shin-Woo CHA
(Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology)

■ 発生・生殖系

6月10日(日) 9:00~9:36 (第4会場)

座長：北嶋 聡 (国立医薬品食品衛生研究所)

● O10-13

1-ブロモプロバンのラットを用いた生殖・発生毒性の検討

○ 竹内 哲也、奥田 裕計、長野 嘉介、山本 静護、笠井 辰也、西沢 共司、水谷 正寛、松島 泰次郎 (日本バイオアッセイ研究センター)

● O10-14

Flow cytometryを用いたラット精巣毒性検査方法の検討

—EthinylestradiolとAdriamycin、4週間投与の影響—

○ 加藤 千明¹、堀井 郁夫¹、北嶋 聡²、相賀 裕美子²、井上 達²

(¹) 日本ロシュ株式会社 研究所 前臨床科学研究部、²) 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部)

● O10-15

Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) のマウス雌性生殖器に及ぼす影響

○ 曾根 秀子^{1,2}、川野 道宏¹、那須 民江³、米元 純三^{1,2}、遠山 千春^{1,2}

(¹) 国立環境研究所 重点特別研究プロジェクト、²) 科学技術振興事業団 CREST、

³) 信州大学 医学部)

■ 神経系

6月10日(日) 9:36~10:12 (第4会場)

座長：真板 敬三 ((財)残留農薬研究所毒性部)

● O10-16

塩酸イリノテカン(CPT-11)過量投与時の毒性発現における

アセチルコリンエステラーゼ阻害の関与について

○ 三浦 浩蔵、加藤 幾雄、尾上 正治、横倉 輝男 (株式会社ヤクルト本社 中央研究所)

● O10-17

輸送系Lアミノ酸トランスポーターの血液・組織関門における発現と

³⁵S-メチル水銀輸送特性の検討

○ 金 徒慶、車 碩鎬、松尾 洋孝、小林 ゆかり、金井 好克、遠藤 仁

(杏林大学 医学部 薬理学教室)

● O10-18

Functional Observational Battery に関する国内、

海外非臨床試験受託機関へのアンケート調査

○ 清水 賢治、赤池 雅司、西田 信之、谷口 勝彦、前田 康行、森山 智之、西村 千尋、

久世 博、松澤 利明 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

■ 薬物代謝1

6月11日(月) 9:00~9:36 (第2会場)

座長：上野 光一(千葉大学大学院薬学研究院高齢者薬剤学)

● O11-01

ヒトCYP1A1により活性化される変異原物質2-phenylbenzotriazole(PBTA)類によるヒトCYP1A1の誘導

○山崎 義征¹、藤田 健一¹、斎藤 鉄也¹、高橋 芳樹¹、若林 敬二²、鎌滝 哲也¹

(¹北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野、

²国立がんセンター 研究所 がん予防研究部)

● O11-02

Cytochrome P450 1B1 genetic polymorphisms in relation to cancer susceptibilities in humans

○島田 力¹、Soiswngwan Satarug²、Elizabeth Gillam³、Frederick Guengerich⁴、

井上 清¹ (¹大阪府立公衆衛生研究所、²National Research Center for Environmental Toxicology、³University of Queensland、⁴Vanderbilt University)

● O11-03

DMBAの発生毒性に母体と胎児、どちらの薬物代謝酵素が重要か？

○宮田 昌明¹、本木 和子¹、高橋 公一¹、田村 悦子¹、Frank J Gonzalez²、山添 康¹

(¹東北大学 大学院 薬学研究科 薬物動態学分野、²米国国立衛生研究所)

■ 薬物代謝2

6月11日(月) 9:36~10:12 (第2会場)

座長：島田 力(大阪府立公衆衛生研究所)

● O11-04

BCG及びLPSによるCYPダウンレギュレーションにおける炎症性サイトカインの役割解明

○芦野 隆¹、小黒 多希子¹、塩田 清二²、宝来 玲子³、浅野 雅秀³、岩倉 洋一郎³、

吉田 武美¹ (¹昭和大学 薬学部 毒物学、²昭和大学 医学部 第一解剖、

³東京大学 医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター)

● O11-05

Equileninによる異物代謝酵素の誘導

○神野 あすみ、丸山 豊、石塚 真由美、数坂 昭夫、藤田 正一

(北海道大学 大学院 獣医学研究科 環境獣医科学講座 毒性学教室)

● O11-06

NAD(P)H: quinone oxidoreductase₁(NQO₁)の誘導に見られる動物種差の分子機構

○ 伊藤 圭輔、高橋 芳樹、北川 学、鎌滝 哲也
(北海道大学大学院 薬学研究科 代謝分析学分野)

■免疫アレルギー

6月11日(月) 9:00~9:36 (第3会場)

座長：畑尾 正人(資生堂 基盤研究センター薬剤開発研究所)

● O11-07

Brown NorwayおよびFischerラットのアレルゲン感作・吸入に対する生体反応へのホルムアルデヒドの短期曝露の影響

○ 大塚 亮一¹、今岡 浩一²、首藤 康文³、藤江 秀彰³、山口 悟³、春田 純子³、
木村 豊恵³、武田 眞記夫³、中山 裕之¹、原田 孝則³、土井 邦雄¹
(¹ 東京大学 大学院 農学生命科学研究科 獣医病理、² 公衆衛生院、³ (財)残留農薬研究所)

● O11-08

メトキシクロール(MXC)投与ラットの出生仔における胸腺細胞のアポトーシスの発現

○ 竹内 幸子、小坂 忠司、林 宏一、武田 眞記夫、吉田 敏則、真板 敬三、原田 孝則
(財団法人残留農薬研究所)

● O11-09

フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)の継世代的免疫毒性について

○ 上野 光一¹、名倉 典子²、篠崎 裕司²、長谷川 愛²、中村 智徳²、矢野 眞吾²
(¹ 千葉大学 大学院 薬学研究院 高齢者薬剤学講座、
² 千葉大学 大学院 薬学研究院 薬物治療学講座)

■発癌性

6月11日(月) 9:36~10:12 (第3会場)

座長：務台 衛(三菱東京製薬(株)医薬総合研究所安全性研究所)

● O11-10

タモキシフェンで誘発されるラット肝過形成結節形成過程における発がん関連遺伝子の発現変動

○ 笠原 利彦、出川 雅邦(静岡県立大学 薬学部 衛生化学)

● O11-11

DMBA誘発ラット乳腺発癌におけるPCB126胎生期曝露の修飾作用

○ 武藤 朋子¹、和久井 信¹、政岡 俊夫¹、羽野 寛³、古里 征国⁴、赤堀 文昭²
(¹ 麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、² 麻布大学 獣医学部 生物科学総合研究所、
³ 慈恵医科大学 病理、⁴ 杏林大学 医学部 病理)

● 011-12

**p53ノックアウトCBAマウスを用いた子宮発癌モデルにおける
内分泌攪乱化学物質の子宮発癌修飾作用について**

○ 上田 誠¹、三森 国敏^{1,2}、小野寺 博志¹、高木 久宜¹、安原 加壽雄¹、瀧澤 保¹、
広瀬 雅雄¹ (¹ 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、² 東京農工大学 家畜病理)

■ 変異原性1

6月11日(月) 9:00~9:36 (第4会場)

座長：益谷 徹 ((財)食品薬品安全センター秦野研究所遺伝学研究室)

● 011-13

癌原性芳香族アミンの代謝的活性化におけるヒトチトクロームP450の役割

○ 小田 美光¹、Pramod Aryal¹、Elizabeth. M. J. Gillam²、F. Peter Guengerich³、
島田 力¹ (¹ 大阪府立公衆衛生研究所 公衆衛生部 ウイルス課、² クイーンズランド大学、
³ バンダービルト大学)

● 011-14

ヒトとマウスのCYP2Aの毒性学的役割の比較

○ 宮崎 雅史、藤田 健一、鎌滝 哲也 (北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野)

● 011-15

ヒトとラットのCYP2Aの毒性学的機能の比較検討

○ 井上 朋子、藤田 健一、鎌滝 哲也 (北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野)

■ 変異原性2

6月11日(月) 9:36~10:12 (第4会場)

座長：能美 健彦 (国立医薬品食品衛生研究所)

● 011-16

タール系合成食用色素のin vivo遺伝毒性評価

○ 川口 恵未¹、佐々木 有¹、津田 修治²
(¹ 八戸工業高等専門学校 物質工学科、² 岩手大学 農学部 獣医学科)

● 011-17

二級アミン存在下における亜硝酸塩のin vivo遺伝毒性

○ 佐々木 有¹、川口 恵未¹、川口 亜由未¹、土嶺 章子¹、岩間 香代子¹、津田 修治²
(¹ 八戸工業高等専門学校 物質工学科、² 岩手大学 獣医学科)

● 011-18

Punマウスを用いる生体内遺伝子組換えの検出

○ 澁谷 徹、佐藤 昌子、森村 智美、松本 浩孝、須井 哉、原 巧
(財)食品薬品安全センター 秦野研究所)

■ 細胞毒性1

6月12日(火) 9:00~9:36 (第2会場)

座長：沼澤 聡(昭和大学薬学部毒物学教室)

● 012-01

In Vitroラット胎仔初代培養肺スフェロイド培養系による毒性評価系の検討

○ 猪又 晃、井上 智彰、堀井 郁夫
(日本ロシュ(株)研究所 前臨床科学研究部)

● 012-02

In Vitroラット脳スフェロイド培養系のIn Vivoとの類似性

—神経及びグリア系細胞分化及び毒性物質に対する反応—

○ 井上 智彰、堀井 郁夫(日本ロシュ(株)研究所 前臨床科学研究部)

● 012-03

内因性ドパミン神経毒(norsalsolinol)のPC12細胞における細胞内動態

○ 丸山 豊、鈴木 裕子、石塚 真由美、数坂 昭夫、藤田 正一
(北海道大学 大学院 獣医学研究科 環境獣医科学講座 毒性学教室)

■ 細胞毒性2

6月12日(火) 9:36~10:12 (第2会場)

座長：井上 智彰(日本ロシュ(株)日本ロシュ研究所)

● 012-04

ヒト及びラットの初代肝細胞培養系を用いたアポトーシスの予測

○ 鈴木 聡¹、新倉 靖子¹、国嶋 千代子²、及川 寿浩²、佐藤 哲男¹、松本 一彦²
(¹) HAB協議会 霊長類機能研究所、²) 鳥居薬品株式会社)

● 012-05

毒化二枚貝より単離精製された海産毒、ベクテノトキシン-2のアクチン重合阻害作用

○ 尾崎 博、堀 正敏、唐木 英明(東京大学 大学院 農学生命科学研究科 獣医薬理学教室)

● 012-06

4-Hydroxy-2(E)-nonenal エナンチオマーのラットClone 9 細胞に対する細胞毒性

○ 斉藤 博、平塚 明、渡部 烈(東京薬科大学 薬学部 第2衛生化学教室)

■ 一般毒性1

6月12日(火) 9:00~9:36 (第3会場)

座長：野村 護 (第一製薬(株)研究企画部)

● 012-07

ラットの急性肝障害モデルにおけるソルビトール脱水素酵素、グルタミン酸脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼ、血清総胆汁酸の経時的変動

○小田部 耕二、江原 裕子、小泉 妙子、難波 美保、長谷川 妙子、野口 規子、渡部 一人、千葉 修一、浅野 忠、杉本 哲朗、井上 誠
(中外製薬株式会社 安全性研究所)

● 012-08

強制経口投与による長期反復投与毒性試験/がん原性試験におけるFischerラットの突然死について

○大石 巧、北村 泰樹、榎並 倫宣、諏訪 浩一、望月 雅裕、鶴亀 真依子、岡崎 修三
(株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所)

● 012-09

実験動物におけるHDLおよびLDL-コレステロール直接法の比較

○奈良岡 準、田畑 肇、久保 道江、三枝 由紀恵、堺 俊治、白田 眞治
(山之内製薬株式会社 安全性研究所)

■ 一般毒性2

6月12日(火) 9:36~10:12 (第3会場)

座長：岡崎 修三 ((株)ボゾリサーチセンター御殿場研究所)

● 012-10

4-クロロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討

○緒方 英博¹、浜村 政夫¹、古川 浩美¹、小泉 睦子²、鎌田 栄一²、長谷川 隆一²
(¹株式会社パナファーム・ラボラトリーズ、²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室)

● 012-11

2,4-ジニトロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性および無毒性量の比較検討

○山本 譲¹、伊藤 義彦¹、小泉 睦子²、鎌田 栄一²、長谷川 隆一² (¹財団法人畜産生物科学安全研究所 安全性研究部、²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価室)

● 012-12

4-ニトロフェノールナトリウムの新生児および若齢ラットにおける発現毒性および無毒性量の比較検討

○鷹野 正生¹、榎並 倫宣¹、小泉 睦子²、鎌田 栄一²、長谷川 隆一²
(¹株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所、²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価室)

■ 内分泌系1

6月12日(火) 9:00~9:36 (第4会場)

座長：奥野 泰由 (住友化学工業(株)生物環境科学研究所)

● 012-13

クロルベンゼン類のメチルスルホン代謝物のラット血清中サイロキシン濃度の低下作用

加藤 善久、○伊藤 由里子、寺田 由香、山崎 友朗、新村 康彦、木村 良平
(静岡県立大学 薬学部 薬剤学教室)

● 012-14

1,3-Dinitrobenzeneによる雄生殖毒性の評価に有用な内分泌学的パラメーターの検討

○滝沢 節子、堀井 郁夫 (日本ロシュ(株)研究所 前臨床科学研究部)

● 012-15

2,2',4',5,5'-Pentachlorobiphenyl及び2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenylの血清中ホルモン濃度に及ぼす影響

加藤 善久¹、○山崎 友朗¹、原口 浩一²、根本 清光³、増田 義人²、出川 雅邦³、木村 良平¹ (¹静岡県立大学 薬学部 薬剤学教室、²第一薬科大学健康化学教室、³静岡県立大学薬学部衛生化学教室)

■ 内分泌系2

6月12日(火) 9:36~10:12 (第4会場)

座長：青山 博昭 ((財)残留農薬研究所毒性第一部生殖毒性研究室)

● 012-16

胎仔期および授乳期の低用量bisphenol A曝露がラット雌性生殖器系に及ぼす影響

○吉田 緑¹、勝田 真一²、渡辺 元³、田谷 一善³、前川 明彦¹
(¹(財)佐々木研究所 病理部、²(財)日本食品分析センター、³東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜生理学教室)

● 012-17

卵巣摘出ラットを用いた子宮肥大試験におけるエストロゲン作用の増強

○小久保 年章¹、平岡 俊景¹、井上 耕三¹、今井 清² (¹富士写真フイルム株式会社 素材試験センター、²財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所)

● 012-18

メトキシクロールの周産期曝露によるラットの性成熟および生殖器系への影響について

○樹富 直哉、渋谷 淳、畝山 智香子、中川 恵子、仁保 直子、高橋 則行、小林 恒雄、広瀬 雅雄 (国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

■ 一般演題（ポスター）

■ 一般毒性／内分泌

6月10日（日）9:00～9:40（ポスター・展示会場）

座長：若狭芳男（株式会社イナリサーチ）

吉田 緑（(財)佐々木研究所）

● P10-01

化学物質由来骨過形成イヌにおける生化学的マーカーの検索

○手鹿 康宏、諸橋 栄介、下 武男、斉藤 明美、高原 栄二、永田 治
（北陸製薬株式会社 研究統括部）

● P10-02

マウスにおける給餌時間制限の毒性パラメーターに及ぼす影響

○岡崎 昌裕、平塚 一幸、佐藤 雅之、仲野 善久、吉田 千春、黒沢 亨、仲由 武實
（明治製薬株式会社 薬品総合研究所 安全性研究所）

● P10-03

ラットの加齢に伴う臨床病理データの推移 —毒性関連データベースの紹介—

○田川 義章^{1,2}、堺 俊治²、船橋 斉²、浅野 哲²、芦田 靖²、市村 英資²、井上 忠志²、
猪又 晃²、太田 純二²、香川 雅孝²、小林 賢一²、田中 剛太郎²、成田 隆博²、
平田 篤由²、古川 雅一²、南 孝則²、吉村 弘之²、渡邊 隆夫²、渡邊 幸彦²

¹株式会社三和化学研究所 総合研究所 開発研究グループ、

²日本製薬工業協会 平成11-12年度基礎研究部会 第二分科会 毒性病理ワーキンググループ）

● P10-04

バラコートラットの血清アンチプロテアーゼおよびセルロプラスミンのマイクロ二次元電気泳動法による解析

○坂口 和子¹、影山 耕一²、折戸 謙介²、白井 明志²、赤堀 文昭²

¹麻布大学 環境保健学部 健康化学、²麻布大学 獣医学部 薬理）

● P10-05

安全性試験におけるラットの甲状腺ホルモン測定の見直し

○古谷 真美、桑形 麻樹子、立花 滋博、新藤 智子、高島 宏昌、小島 幸一
（(財)食品薬品安全センター 秦野研究所）

● P10-06

Linuron投与によるラット前立腺腺葉におけるアポトーシスの誘導

○片山 誠一、岡村 隆之、成見 香瑞範、永井 賢司（三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所）

● P10-07

子宮肥大反応の特性について

○松島 裕子、井上 達、菅野 純

（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部）

● P10-08

Evaluation of the Developmental Toxicity in Rats Exposed to the Environmental Estrogen Bisphenol A in utero

○ JONG-CHOON KIM (Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea)

■ **試験法／統計法／金属・その他**

6月10日(日) 9:00～9:45 (ポスター・展示会場)

座長：千葉 百子 (順天堂大学医学部衛生学教室)

小川 幸男 (国立医薬品食品衛生研究所)

● P10-09

Enhanced OECD Test Guideline 407に基づくMethoxychlorの28日間反復投与毒性試験

○ 岡崎 和志¹、岡崎 修三²、西村 進²、中村 英明²、北村 泰樹²、畠山 和久²、中村 厚²、津田 敏治²、勝亦 俱慶²、西川 秋佳¹、広瀬 雅雄¹

(¹) 国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²) (株)ポプリサーチセンター)

● P10-10

カニクイザルを用いた無拘束静脈内持続投与法の検討

○ 佐藤 伸一、大塚 貴弘、藤原 淳、唐木 桂、木谷 伸一、茅野 理也、若狭 芳男、武藤 紀生 (株式会社イナリサーチ)

● P10-11

げっ歯類を用いた毒性試験から得られる定量値に対する決定樹による統計解析の変遷、特徴および一考察

○ 小林 克己¹、北島 省吾¹、志賀 敦史¹、三浦 大作¹、庄子 明德¹、渡 修明¹、村田 共治¹、井上 博之¹、大村 実²

(¹) 財団法人食品農医薬品安全性評価センター、²) 九州大学 大学院 医学研究院)

● P10-12

子宮肥大試験等、実験動物を用いた相加相乗性の検討の際の統計解析

○ 菅野 純¹、松永 信人²、吉村 功³

(¹) 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部、²) 協和発酵工業株式会社、³) 東京理科大学 工学部)

● P10-13

臨床薬理試験における重篤な有害事象 — 臨試協加盟18施設における3166試験の調査結果 —

○ 菊池 康基¹、浦江 明憲²、木村 良司²

(¹) (株)国際医薬品臨床開発研究所、²) (医)相生会 臨床薬理センター)

● P10-14

All-trans-retinoic acidの抗エストロゲン活性に関する検討

○ 野田 修志、江田 雅雄、三苫 秀雄、武吉 正博、矢可部 芳州、中井 誠、佐脇 正邦、山崎 寛治、高月 峰夫（財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所）

● P10-15

ビバリン酸投与による骨格筋障害は一過性？

○ 田中 宏治、本多 久美、大場 充広、伊藤 正夫、岡元 智文、真鍋 淳（三共株式会社 安全性研究所）

● P10-16

慢性カドミウム中毒カニクイザル腰椎における類骨増加と石灰化前線への鉄沈着

○ 河裾 健志¹、倉田 祥正^{1,2}、土居 卓也¹、勝田 修¹、土谷 稔¹、梅村 孝司²
(¹ 三菱化学安全科学研究所、² 北海道大学 大学院 獣医学研究科 比較病理学教室)

● P10-17

ホルムアルデヒドの経口および吸入曝露による毒性評価と水道水におけるリスクアセスメント

○ 広瀬 明彦¹、鎌田 栄一¹、西川 秋佳¹、紅林 秀雄¹、江馬 眞²、黒川 雄二¹、長谷川 隆一¹（¹ 国立医薬品食品衛生研究所、² 国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所）

■ 循環器／肝・消化器系／腎・尿路系

6月11日（月）9:00～9:50（ポスター・展示会場）

座長：井上 博之（（財）食品農医薬品安全性評価センター）

小澤 正吾（国立医薬品食品衛生研究所）

● P11-01

ラット心筋由来細胞株H9c2細胞を用いたin vitro心筋肥大評価系の確立

○ 浜野 宝子^{1,2}、川村 博美¹、和崎 正彦¹、林 正男²、務台 衛¹、井上 裕章¹
(¹ 三菱東京製薬株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所、
² お茶の水女子大学 大学院 人間文化研究科)

● P11-02

低カリウムおよび低マグネシウム条件下における薬物誘発モルモット乳頭筋のAPD延長作用に関する検討

○ 下里 貴、佐治 大介、六角 香、池田 博信、木村 伊佐美（（株）環境バイリス研究所）

● P11-03

馴化無麻酔サルの呼吸・循環器系に及ぼす薬物の影響（非観血式およびテレメトリー血圧測定と比較）

○ 木谷 伸一、坂本 憲吾、東山 千春、武藤 紀生（株式会社イナリサーチ）

● P11-04

馴化無麻酔イヌの呼吸・循環器系に及ぼす薬物の影響（非観血式および観血式血圧測定と比較）

○ 東山 千春、木谷 伸一、田中 守、関谷 浩司、武藤 紀生（株式会社イナリサーチ）

● P11-05

肝スライス片培養による実験的肝炎モデルの作成

○ 上野 光一¹、今井 清子²、中村 智徳²、矢野 眞吾²（¹千葉大学 大学院 薬学研究院 高齢者薬剤学講座、²千葉大学 大学院 薬学研究院 薬物治療学講座）

● P11-06

ラットにおける高脂肪食誘発性脂肪肝形成の初期変化

○ 久保 道江、三枝 由紀恵、竹内 文乃、田畑 肇、三浦 久樹、奈良岡 準、星野 健二、中野 健二（山之内製薬株式会社 安全性研究所）

● P11-07

アミノ酸負荷による血中非蛋白性窒素と腎障害指標としての血中尿素窒素の変動

○ 浅沼 健太郎、小泉 富彦、小田部 耕二、足立 健児、杉本 哲朗、千葉 修一（中外製薬株式会社 安全性研究所）

● P11-08

マウスを用いたアミノ配糖体の腎毒性

○ 下郡 望、仲野 善久、吉田 千春、佐藤 雅之、三富 奈由、酒井 東日、黒沢 亨、仲由 武寛（明治製薬株式会社 薬品総合研究所 安全性研究所）

● P11-09

グルコースによるラット培養メサンギウム細胞のヨード造影剤に対する反応性の変化

○ 和崎 正彦、杉本 次郎、務台 衛、井上 裕章（三菱東京製薬(株) 安全性研究所）

● P11-10

テトラプロモビスフェノールAの新生児ラットへの投与による腎障害

○ 山口 真樹子¹、伊藤 義彦¹、三森 国敏²、鎌田 栄一³、長谷川 隆一³
（¹財団法人 畜産生物科学安全研究所 安全性研究部、²東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜病理学講座、³国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室）

■神経系/発生・生殖系

6月11日(月) 9:00~9:50 (ポスター・展示会場)

座長: 藤井 儔子 (帝京大学医学部薬理学講座)

伊原 敏夫 (株式会社新日本科学)

● P11-11

Safety Pharmacology: Central Nervous System Assessment of Diazepam in Male Mice

J. Knapp, M. Herberth, G. Schaefer, ○ Christopher P. Chengelis

(WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, OH, U)

● P11-12

Functional Observational Batteryに関する国内製薬企業へのアンケート調査

○ 西田 信之、赤池 雅司、清水 賢治、谷口 勝彦、前田 康行、森山 智之、西村 千尋、久世 博、松澤 利明 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

● P11-13

Functional Observational Batteryに関する国内、海外非臨床試験受託機関へのアンケート調査

○ 清水 賢治、赤池 雅司、西田 信之、谷口 勝彦、前田 康行、森山 智之、西村 千尋、久世 博、松澤 利明 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

● P11-14

合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究 I. 合成ホルモン剤

○ 古川 正敏、須永 昌男、立石 法子、笠原 みゆき、堀川 裕尚、一花 次夫、川島 邦夫 (株式会社化合物安全性研究所 安全性研究部門)

● P11-15

合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究 II. Progesterone 誘導体

○ 木口 雅夫、市戸 等、古川 桂子、高橋 智亜紀、木村 夕希、一花 次夫、川島 邦夫 (株式会社化合物安全性研究所 安全性研究部門)

● P11-16

ES細胞の分化に及ぼすTCDDの影響

○ 高木 篤也、菅野 純、井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所 毒性部)

● P11-17

ラット培養胎児におけるPGE2誘発低血流量の影響

○ 秋田 正治¹、横山 篤²、橘 皓³ (¹鎌倉女子大学 家政学部 栄養学、

²神奈川生命記念財団附属研究所、³東京慈恵会医科大学)

● P11-18

マウスにおける塩化カドミウムの催奇形作用に対するグルタチオンの防御効果

○ 納屋 聖人、原 卓司 (協和発酵工業株式会社 安全性研究所)

● P11-19

モノブチルフタレートの妊娠及び偽妊娠ラットにおける生殖機能に対する影響

○ 江馬 眞、宮脇 英美子 (国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所)

● P11-20

塩化ジブチルスズの偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響

○ 原園 景、江馬 眞 (医薬品食品衛生研究所 大阪支所 生物試験部)

■ 血液系/薬物代謝

6月12日(火) 9:00~9:50 (ポスター・展示会場)

座長: 平林 容子 (国立医薬品食品衛生研究所)

若田 明裕 (山之内製薬(株)創薬安全性研究所)

● P12-01

食餌誘発性高コレステロール血症ラットにおける心血管血液系の初期変化

○ 三枝 由紀恵、田畑 肇、久保 道江、竹内 文乃、奈良岡 準、中野 健二、星野 健二、竹田 奈美子、臼田 眞治 (山之内製薬株式会社 安全性研究所)

● P12-02

カニクイザルにおける血小板凝集能の基礎的検討

○ 岡崎 啓幸、森 康男、Debra LaFramboise、Robert Coxen、Bill Congdon、福崎 好一郎 (SNBL USA, Ltd.)

● P12-03

Is Nrf2 involved in benzene metabolic pathway?

○ 霍 艶、平林 容子、川崎 靖、幸夫 児玉、金子 豊蔵、菅野 純、井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター)

● P12-04

フローサイトメーター(EPICS XL-MCL)を用いた網状赤血球測定に関する基礎検討 II :
コントロール血液Retic-Chexを用いた精度管理方法の検討

○ 三浦 大志郎、尾形 昭子、板野 泰弘、山上 房枝、小池 行也、宇野 洋 (帝人株式会社 医薬開発研究所 安全性研究部)

● P12-05

総合血液学検査装置ADVIA120動物用バージョンの基礎的検討

○ 杉山 豊、向井 大輔、牧野 江梨子、天野 彰子、宇野 冬美、芝田 真希、井上 博之
(財団法人食品農医薬品安全性評価センター)

● P12-06

覚醒ラットへのクエン酸投与による血中カルシウムイオン濃度低下と血圧低下との関係

○ 豊島 茂樹、倍味 繁、川内 佳之、越谷 修、栗栖 和信、川口 義郎、平岡 功
(株式会社大塚製薬工場 鳴門研究所 安全性研究室)

● P12-07

アルカリ性ホスファターゼ(ALP)活性の上昇と薬物代謝酵素誘導

○ 渡辺 大、堀口 浩資、三木 康宏、石井 俊也、山口 裕子、笠原 健一郎、畠山 和久、
斎藤 準、長島 吉和、岡庭 梓 (株式会社ボゾリサーチセンター)

● P12-08

4-(4-Chlorobenzyl)pyridine によるラット肝 cytochrome P450 および薬物代謝酵素の誘導作用

○ 小林 靖奈¹、大城 尚美¹、佐々木 忠徳¹、徳山 尚吾¹、戸部 徹³、吉田 武美²、
山元 俊憲¹ (¹) 昭和大学 薬学部 臨床薬学教室、²) 昭和大学 薬学部 毒物学教室、
³) 昭和大学 薬学部 医薬情報科学教室)

● P12-09

ビスフェノールAのラット肝細胞における代謝とエストロゲン様活性

○ 中川 好男¹、鈴木 俊也²
(¹) 東京都立衛生研究所 毒性部、²) 東京都立衛生研究所 多摩支所)

● P12-10

抗精神病薬ハロペリドールのN-脱アルキル化反応とミトコンドリア毒性

五十嵐 一雄、○ 恩田 香織、糟谷 史代 (神戸学院大学 薬学部 毒性学研究室)

■免疫アレルギー／発癌性／変異原性

6月12日(火) 9:00~9:45 (ポスター・展示会場)

座長：木村 努 (三共(株)安全性研究所)

三森 国敏 (東京農工大学農学部獣医学科家畜病理学講座)

● P12-11

免疫毒性評価における新しい標本作製技法“PLP-AMeX法”の有用性検討

○ 勝山 清加、足立 健児、小川 友美恵、萬 啓悟、杉本 哲朗、鈴木 雅実
(中外製薬株式会社 安全性研究所)

● P12-12

ラットに高コレステロール食を2週間給餌した際の免疫機能に及ぼす影響

○ 星野 健二、三枝 由紀恵、今門 健司、竹内 文乃、田畑 肇、久保 道江、奈良岡 準
(山之内製薬株式会社 安全性研究所)

● P12-13

含窒素系農薬NIPあるいはCNPとフタル酸エステルDBPの併用投与による免疫系への影響

○ 金澤 由基子、太田 亮、古谷 真美、渡辺 美香、小島 幸一、小野 宏
(財)食品薬品安全センター 秦野研究所)

● P12-14

消化管内リボ多糖の実験的自己免疫性関節炎における役割

○ 吉野 伸¹、森 洋樹² (¹神戸薬科大学 薬学部、²北海道医療大学 薬学部)

● P12-15

SERUM ANTIBODY FORMATION UNDER VARIOUS IMMUNIZATION SCHEDULES FOR DELAYED TYPE HYPERSENSITIVITY IN CYNOMOLGUS PRIMATES.

Jeanine Bussiere¹、○ Rafael Ponce²、福崎 好一郎²、Richard Klein²、岡崎 啓幸²
(¹ Immunex Corporation、² SNBL USA, Ltd.)

● P12-16

カニクイザルにおける末梢血リンパ球サブセットの経時変化

○ 和泉 博之、今井 統隆、宮蔭 宏彰 ((株)新日本科学 安全性研究所 安全性2部)

● P12-17

Long-term and medium-term carcinogenicity study of captafol in rats

○ Hyoung-Chim. KIM¹
(¹ Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology、² Chemon Inc、³ Korea Research Institute of Chemical Technology)

● P12-18

骨髓小核試験におけるアクリジン・オレンジ(AO)染色法の標本作製および保存性の検討

○ 白鳥 孝¹、齋藤 由希子¹、宮川 誠¹、林 真²
(¹(株)三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所、²国立医薬品食品衛生研究所)

● P12-19

In vivo comet assayにおいて投与回数が結果に及ぼす影響

○ 關橋 薫¹、釜谷 麻子²、佐々木 有²、河村 公太郎¹、木口 雅夫¹、一花 次夫¹、津田 修治³ (¹株式会社化合物安全性研究所、²国立八戸工業高等専門学校 物質工学科、³岩手大学 獣医学科)

阿藤 浩二

国立環境研究所環境健康部 部長 阿藤 浩二

「食とナノテクノロジーサイエンス」は、食生活の健康や生活の質の向上に活用する食料のナノテクノロジーの最新動向を、食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

特別講演

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。食料の生産から消費まで、産官学連携の視点から紹介する。

PL-1 「私とレギュラトリーサイエンス」—回顧と新世紀への展望—

内山 充

国立医薬品食品衛生研究所 名誉所長

「レギュラトリーサイエンスとは、科学技術の進歩を人の健康や生活のために調整し活用する科学である。既存の基礎科学・応用科学とは目的及び価値観を異にする独自の科学であり、適正な評価と正確な予測を最重要の目標とする。そしてそれは、行政と、それを直接に支援する研究者の使命でもある」。

この発想は私が東北大学で教育研究に携わっていた頃から持っていたものではあるが、その後旧国立衛生試験所に出向する機会を得て具体的な必要性を確信するようになった。「基礎科学や応用科学はそれ自身に目的をもっているが、レギュラトリーサイエンスはそれらを手段としてその上に「国民の健康に資する」という目的をもつ」。これは1987年10月に、国立衛試の研究の性格付けを、副所長として衛試組合ニュースを通じて所内全員に呼びかけたものの一部である。

その後1990年台初頭より現在まで、厚生科学会議、国立研究所長会議、環境トキシコロジーシンポジウム、日本農薬学会、日本学術会議毒科学研連、公衆衛生院や旧予研のセミナー、2,3の国際会議等多くの講演会や、環境情報科学、衛生化学、PDA Journal、Pharmaceutical Technologyその他の雑誌等を通じてこの概念の紹介をしているが、その都度大いに賛同は得られても、アカデミズムの中に根付くには至っていない。

幸い、1991年の「厚生白書」でのレギュラトリーサイエンスの紹介以降、厚生行政の、特に薬事衛生の分野では、技官の間に「行政官は科学者である」という自覚が広まるとともに、行政運営の上でこの精神が生かされている。また、日本農薬学会ではレギュラトリーサイエンス研究会が存続し、日本薬学会でもレギュラトリーサイエンス討論会が毎年の年会で開催されている。1996年10月号のPharmaceutical Technologyの目次には、私の論文についてeditorによる紹介として「The real goal of regulatory bodies worldwide is to strive for unbiased evaluation and sound judgment, an objective that is best served by the disciplined application of skills that the author aptly names regulatory science」と記載されている。

通産省では官房を中心に5年程前から「アクセル型」から「アクセルとブレーキを併せ持つ通産省」への転換を意識する研究会が発足し、政策科学研究所も加わり「技術と社会の適正な関係」を支える政策課題の研究が進み、上記欧米の動向を踏まえて「日本型レギュラトリーサイエンスシステム」構想を検討中という。

アメリカにおけるレギュラトリーサイエンスは、1980年代後半に法学バックグラウンドの科学社会学者ジャサノフにより社会科学的に定義されたのが最初というが、評価や予測の技術としての科学的な定義はない。しかし広範囲の科学性を以って評価する手法はFDA、EPA等の行政判断に生かされているように見える。1994年にイギリスの科学技術政策学者ギボンズ編「The new production of knowledge」が刊行され、和訳「現代社会と知の創造」(小林信一監訳、丸善ライブラリ241)が出版された。科学技術政策や科学論に関する国際学会ではこれが大きな話題になっているとのことだが、知的創造において人間や社会活動との調和の必要性を念頭におくモードへの変換を主張している点でレギュラトリーサイエンスと共通している。

レギュラトリーサイエンスの成果は、新しい基礎科学の総合からのみ生まれるのであり、型通りの仕事や根拠のない憶測や古くからの権威により生まれるのではない。トキシコロジーは、実証主義に止まらず、未然防止に必須な予測と評価の科学を必要とし、かつ実践の場を持っている。我々のレギュラトリーサイエンスは、講演において具体的に紹介するが、ジャサノフのそれにはない新しい科学の設計図を明示している。それが現状改革として新世紀にどのぐらい実現されるかが、今後の大きな課題であり我々の役目である。

My Life in Regulatory Science—Retrospective and Prospects for the New Century—

Mitsuru UCHIYAMA.

Director-General Emeritus of NIHS

Dr. Kenneth Olden, Ph.D.

Director, National Institute of Environmental Health Sciences and
National Toxicology Program U.S.A.

Formal risk assessment of environmental and occupational health standards pose an awesome burden on regulatory agencies. In the U.S. there are instances where it has taken as much as 10-15 years for assessment and implementation of some standards. Risk assessment is so difficult because all stages of the process (hazard identification, dose-response analysis, exposure assessment, and risk characterization) are fraught with uncertainty. Uncertainties lead to acrimonious debates among scientists, industry, and public interest groups about the risks and management strategies proposed. These debates become so intense at times that the public must be confused about what is known and what is assumed. Fundamentally, the problem relates to the quality and completeness of the information and the need to extrapolate from animals to humans and from high- to low-dose exposure levels.

The biotechnology revolution has opened new opportunities for addressing current inadequacies in risk assessment and environmental decision-making. To capitalize on these opportunities, strategic investments need to be made in several areas. The first of these is the development of high-throughput technologies that could accelerate toxicity testing and generate a mechanistic understanding of toxicity. Second, we need to enhance our ability to incorporate individual susceptibility into risk assessments. This susceptibility refers not only to genetic susceptibility, but also to the susceptibilities that might occur in childhood, through aging, through impoverished circumstances, or through gender differences. Third, we need to use improved models and methods to establish a rational basis for testing and regulatory decision-making. The need for these strategic investments has led the National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) to initiate a number of important projects. Among these are the Environmental Genome Project, the Toxicogenomics Center, and numerous programs that evaluate transgenic and alternative animal models for their predictive value in risk assessment methodology.

PL-3

21世紀、がんを克服するためには何が必要か

黒木 登志夫

昭和大学腫瘍分子生物学研究所

1910年代のがんウイルスの発見とタールがんの成功に始まった20世紀、がん研究は飛躍的な進歩を遂げた。特に1980年代に入ってから、がん研究は分子医学の牽引車として、遺伝子レベルでがんのメカニズムを明らかにしてきた。32億の塩基からなるヒトゲノムの全配列は、21世紀の初頭、本年2月に公表された。21世紀のがん研究は、疑いなくゲノム情報を中心にして進むことであろう。

生命にとって大事な遺伝子に変異が蓄積した結果がんになることについては、すでに十分なデータが得られている。しかし、何故、これらの遺伝子に変異を生じたか、遺伝子と環境との相互作用についてのわれわれの知識はまだ限られている。はっきりしているのは、長い人生のなかで、何気ない毎日の生活習慣が積み重ねのなかで、そのような相互作用が生じることである。したがって、がん予防にとってもっとも重要なアプローチは生活習慣の改善であろう。事実、アメリカでは禁煙運動が功を奏し、1990年代に入ってからがんの死亡率、罹患率がともに減少し始めた。わが国においても、決して不可能ではないはずである。

本講演では、21世紀にがんを克服するために何が必要かについて、ゲノム情報、難治性がん対策、がん予防の観点から考えてみたい。

会長講演

CL トキシコロジー管見

井上 達

第28回日本トキシコロジー学会学術年会会長

いま毒性学の原点を、弓矢の鏃に塗布する毒物 (toxicum) を選定する毒物学に置いてこれを第1期とするならば、その第2期は“All substances are poisons ; there is none which is not a poison. The right dose differentiates a poison and a remedy.”の言葉で知られるParacelsusの認識にもとづく、生死以外の多彩な生物反応を“量的”に認識する段階に相当する。この時期は長いが、やがて毒性学は、吸収・分布・代謝・排泄などの経路にそって毒性を(生)化学反応で捉えようとする機運の中で第3期を迎える。

かくして対象領域は、金属毒性や薬物代謝酵素系を介した毒性から、さらに神経系を含む広範な生体内諸器官と薬物との相互作用へと拡大し、確かに毒性の理解は一面では飛躍的な発展を遂げた。しかし第3期の前期とも云うべきここでの毒性に対する生物反応の理解は、飛躍したとはいえこの時期の生化学的認識の進展に較べるならば多分に表面的にとどまった。毒性学が今日各国でこの分野の名称に用いられている“Interdisciplinary Toxicology”、すなわち化学物質と生物の相互作用としての学の領域に育つためには、分子生物学の進展に伴う生命現象のより深い理解を待つ必要があった。これが大きく進展した時期を第3期の後期と呼ぶとすれば、今日の毒性学はそこに源を発している。因みに今日の広範なトランスポーター研究の進展などもその延長線上に位置している。

さて同じ頃新しい流れとして登場したサイトカインとその受容体、さらに核内受容体の領域では、受容体・リガンド反応が毒性学に対してそれまでの毒性学の概念にない課題を持ち込んできた。ここでは従前の薬物作用様式で理解されてきた認識形態に変化が求められた。高用量になるほど強い反応が想定されていた生物反応は時として適用されず、bioavailabilityは作用の強さを必ずしも反映しない。バイオ医薬品に対する効能評価や、内分泌作用をもつ化学物質の性質の理解には、こうした問題が関わっていた。こうして毒性学に於ける種々の領域の解析に、時恰も実用性を帯びてきた生命科学を総合的に取り入れる手法が求められるに至った。

ところで化学物質と生物の多様な相互反応を見るとき、物質による細胞・組織障害の発現機構と、細胞や個体の老化機構との間には密接な関係がある。毒性物質に対する感受性が高い生物は、一般論としては寿命が短いのが通念だからである。悠久の昔、生物が発生して以来、生物の寿命が外界の放射線や紫外線、そして強烈な活性酸素に抗して進化してきたことからすれば、それは当然のことでもある。生物の単位時間当たりの死亡率は年齢とともに指数関数的に増加するので、縦軸に対数目盛で単位時間あたりの死亡率をとり、横軸に年齢をとると、すべての生物の死亡率の変化は右上がりの直線関係を示す(Gompertz-曲線、1825)。その生物学的な意味は、生物が死に向かう際、リスクは多因子の“積”の形の関数関係に収束するということである(老化の多因子積算論)。そしてそれは交通事故や実験発がんのリスクがGauss分布をとることと際だって異なり、様々な毒性が、ゲノムの不安定性を亢進させる形でリスクの亢進を促す、寿命にリンクしたepigenetic eventとしての意味を持つ。つまり毒性学は、生命科学の一つの方法論でもあることが理解される。

このような認識に立って21世紀を迎え、トキシコロジーは第4期を展開しつつある。新しいトキシコロジーのpredicting potentialは、動物や細胞によるトキシコジェノミックス・プロテオミックスの進展によって支えられ、高い確度を獲得する新時代を迎える。しかしその為は何よりも必要なことは、前世紀の毒性学的パラダイムをしっかりと高いレベルに止揚(aufheben)することにある。

教育講演

東京大学理学部化学科化学教育講座

教育講演

TOXICOLOGY

EL-1 老化と染色体テロメア

石川 冬木

東京工業大学大学院生命理工学研究科

個体老化は、さまざまな原因でおこり、決して一義的、一般的な老化機構は存在しない。それは、老化がおこる30歳以降が生殖年齢を過ぎつつある時期であり、老化を目的とする「老化遺伝子」とでもいうべきものは、遺伝子進化の過程で育ちようがないからである。したがって、老化は非常に確率論的な現象であり、個体を構成する多くの臓器・組織は、それぞれ異なった原因とスピードで暦年齢とは全く独立して進行する。

それでは、個体、臓器の老化機構には全く規則正しさがないのであろうか。おそらく、個体には生物種に固有の老化しやすい弱点があり、それがその種の老化の多くを説明するものと考えられる。臓器別に考えた場合、生まれたときに細胞増殖を停止した非再生組織と、一生の間、細胞の死と細胞の新生がバランスよく起こらないと組織を維持できない再生組織に分けて考えることが重要である。

非再生組織では、主として酸化ストレスによってもたらされる細胞を構成する分子の異常を代謝することができないため、次第に「誤り蓄積」が起こる。この「誤り蓄積仮説」によって非再生組織の老化は説明することができよう。

一方、再生組織は、たとえ重大な誤りをもった生体分子が生じても、それを細胞分裂によって生じるふたつの娘細胞のひとつだけに伝えれば、もう一方はその誤りから逃れることができる。従って、もし、再生が無限に行われるのであれば、それはバクテリアや酵母などの単細胞生物と同じように無限に機能を維持することができるであろう。しかし、実際には再生組織を構成する細胞の分裂可能回数は有限であるため、再生組織もついには老化してしまう。

体細胞分裂回数が有限である理由として、染色体末端テロメアの細胞増殖に伴う短小化（末端複製問題）が考えられている。本講演では、テロメアと細胞老化について焦点を合わせて最近の知見を報告したい。

Ishikawa, F. and T. Naito. Why do we have linear chromosomes? - a matter of Adam and Eve. *Mutation Res.*, 434: 99-107 (1999).

Ishikawa, F. Aging clock, the watchmaker's masterpiece. *Cell. Mol. Life Sci.*, 57:698-704 (2000).

Takahashi, Y., M. Kuro-o and F. Ishikawa. Aging mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 12407-12408 (2000).

岡野 栄之

慶應義塾大学医学部生理学

従来、損傷を受けた成体の中枢神経系は、ニューロン自身に分裂能がないために機能再生は不可能であると考えられていた。しかしながら、成人脳における神経幹細胞の存在が示されたことをはじめとし、神経幹細胞に関する研究が急速に進み、事故や神経変性疾患などにより損傷した中枢神経系を再生し、機能修復を行おうという、中枢神経系の再生医学の気運が高まりつつある。

神経幹細胞は、増殖し継代を繰り返すことができる（自己複製能）と同時に、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトという中枢神経系を構成する3種類の細胞を作り出すことができる（多分化能）未分化な細胞として定義される。この多分化能と自己複製能をもつ神経幹細胞が、近年、胎生期のみならず成体からも分離培養、増殖することができるようになり、造血系で古くから証明されているように、幹細胞による損傷した組織の修復が中枢神経系にも適応できるのではないかと期待されるようになった。中枢神経系の再生、再構築への治療を可能にするために1) 内在性の神経幹細胞を活性化させる、2) 神経幹細胞および同細胞から*in vitro*で分化誘導した特定の細胞(例えば、ドーパミン作動性ニューロン)を移植するなどの手法が重要な戦略になると考えられる。我々は、神経幹細胞のprospectiveな同定を可能にするために、神経幹細胞に選択性の高い発現を誘導するNestin遺伝子のエンハンサーの制御下に、Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) を発現させるNestin-EGFP遺伝子を有するトランスジェニックマウスを作成した。我々は、EGFPによる蛍光により、神経幹細胞活性を可視化することにより、神経幹細胞を効率よく分離する方法を確立した。FACSにより分離したEGFP-強陽性を示す細胞は、高率にneurosphereを形成し、高い自己複製能力と多分化能を示し、神経幹細胞のprospectiveな同定が可能となった。また、同Nestin-EGFP遺伝子とFACS法を用い、ヒト胎児脳、成人脳海馬歯状回から神経幹細胞を分離することにも成功した。本講演では、神経幹細胞の分離・同定法の確立と神経幹細胞等の細胞移植による、中枢神経系の変性疾患や損傷の治療の試みに関する我々の研究結果を紹介するとともに、ES細胞や間葉系幹細胞の幹細胞工学を駆使した神経疾患治療法開発に関する将来的な展望と問題点について議論したい。

リスクアセスメントの新しい流れ (不確実係数とdioxin類のTDI決定について)

大野 泰雄

国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

食品添加物や農薬、あるいはその他の化学物質の安全性評価においては主に動物を用いた毒性試験結果をもとに毒性の現れない最も高い用量（最大無毒性量NOAEL）を不確実係数（通常100、毒性の種類によっては1000）で割り、一日あたりの許容量（ADI）や耐容摂取量（TDI）が決められる。この100の値は毒性発現における種差および個人差を考慮し、それぞれに10をあてはめたものである。一方、欧米では以前よりヒト肝臓や組織を用いた研究が盛んに行われ、代謝や組織の薬物感受性についての動物とヒトとの差に関するデータが蓄積されている。また、評価の対象とした化学物質についてヒト組織を用いた実験結果を求める事が非現実的では無くなってきた。そこで、最近IPCSではこの種差或いは個人差の要因をそれぞれ薬物動態に起因する部分と標的臓器における感受性に起因する部分にわけ、それらについて実際に得られた値で補正し、今までよりもきめ細かい評価を行おうと検討している。現在、過去に得られた情報をもとに種差については薬物動態と感受性要因のそれぞれに4および2.5の値を割り付けた。また個人差についてはいずれの要因についても3.16を割り付けた。即ち、もし薬物動態に関するヒトと動物の間の種差がA、個人間の差がBとし、感受性についての情報が未知の場合には全体の不確実係数を $2.5 \times A \times 3.16 \times B = 7.9AB$ としようという提案である。今回の教育講演ではまず、この考えの背景を説明する。

一方、ダイオキシンによる環境や食物汚染は我が国においても大きな問題となり、平成11年の厚生省と環境庁の合同の検討会においてダイオキシンの耐容一日摂取量（TDI）が 4pg/kg/day と決定された。この値は毒性の現れた最低用量時の体内曝露量（body burden）を基準にし、不確実係数を10として計算されたものである。これは主に毒性評価においてcriticalとされた毒性試験結果において最大無作用量が求められていなかったこと、投与用量ではなく体内曝露量を基準にしたので薬物動態における種差は考慮しなくても良いこと、および、セベソなど過去のdioxin曝露事件の調査結果等から、dioxinの毒性に対する感受性がヒトでは最も感受性の高い実験動物と比較し、それよりも高いとは思われなかったことによる。講演ではこのbody burdenを用いた安全性評価とTDI決定にcriticalであったdioxinの毒性について解説する。

福島 昭治

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学講座

環境中には多数の発がん物質が存在し、ヒトがんの発生原因の80%は発がん物質に帰すると考えられている。しかし、職業がんを含め特定の化学物質に曝露されたヒトにおけるがんの発生という事実を除いて、個々の発がん物質ががんの発生にどの程度関与しているか否かは定かではない。化学物質の発がん性は、一般にラット、ないしマウスを用いて最大耐量を含む高用量域での発がん性試験をもって同定され、その結果と変異原性試験の結果を合わせてヒトへの発がんリスク評価を行っている。また、高用量域での用量相関曲線を低用量域に延ばすことにより低用量域での発がん性のヒトへの外挿が行われている。このことが正しいかどうかを科学的に証明することが極めて重要な課題であり、この点を解決することを意図し、新しい手法による発がん実験を行った。

1. 遺伝毒性発がん物質の発がん性

1) 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) の肝発がん性

MeIQxは焼け焦げ中に存在するヘテロサイクリックアミンの一種で、ラットに肝がんを発生させる。21日齢の雄性ラットを用いてMeIQxの低用量を16あるいは32週間経口投与した。肝前がん病変の指標であるglutathione S-transferase placental form (GST-P) 陽性細胞巢の発生は0.001~1ppmでは全く増加せず、10ppm以上で増加を示した。(平坦—立ち上がり曲線)。また、大谷らが開発した高感度遺伝子変異定量法、Thermosequence Cycle End Labeling法による*H-ras*遺伝子の変異率は0.1ppm以上のMeIQx投与で増加した。したがって、MeIQxの発がんにはある程度の無作用量が存在することが強く示唆された。

2. 非遺伝毒性発がん物質の発がん性

1) phenobarbital (PB)の肝発がん性

PBは変異原性陰性の肝発がん物質、あるいは発がんプロモーターである。6週齢の雄性ラットを用いて、ラット肝中期発がん性検索法(伊東法)にて低用量発がん性を検討すると、PBは60~500ppmではGST-P陽性細胞巢の発生を用量に相関して増加させたが、1~7.5ppmの低用量域では対照群のそれより減少し(U字型曲線)、PBの作用には無作用量が存在することが明らかになった。

PBの低用量域では肝におけるCYP3A2の発現低下が認められ、GST-P陽性細胞巢の出現と相関していた。また、肝8-hydroxydeoxyguanine (8-OHdG)の形成レベルは高用量域では高く、低用量域では逆に低下していた。さらに、免疫組織学的にCYP3A2陽性細胞では8-OHdGの形成が認められた。

2) 有機塩素系化合物の肝発がん性

農薬として我が国でかつて使用されていた α -BHCとp,p'-DDT投与によるラット肝GST-P陽性細胞巢の発生は、低用量域ではPBと同様のU字型曲線を示し、発がんに対する無作用量の存在が示された。また、dieldrinの場合には逆U字型曲線を示したものの無作用量の存在が求められた。

α -BHC, p, p'-DDT投与によっても肝におけるCYP3A2の発現は高用量域では高く、低用量域では低いというU字型曲線が示され、肝GST-P陽性細胞巢の出現と相関していた。しかし、IL-1R1, TNF- α R1 mRNAの発現は低用量域では逆U字型曲線を呈していた。

3. 結論

低用量の環境発がん物質に対する生体の反応は高用量とは明らかに異なり、発がん物質には実際上、無作用量が存在することが判明した。また非遺伝毒性発がん物質の低用量では発がんが逆に抑制されるというホルミシス現象の存在が示された。低用量の発がん物質に対して標的細胞は生体の適応応答により調節されていると考えられる。今後、この機作の解明が発がん物質のヒトへのリスク評価にあたって新しい道を開くであろう。

Low Dose Carcinogenicity of Carcinogens and Adaptive Response

Shoji FUKUSHIMA

Department of Pathology, Osaka City University Medical School, Osaka 545-8585, Japan

山崎 洋

関西学院大学理学部

単細胞から多細胞への進化の過程で獲得した機能で重要なものの一つに細胞間コミュニケーションがある。その中でも、ギャップ結合細胞間コミュニケーションは、細胞間のシグナルを細胞外へ排泄せずに直接に隣接細胞へ送りこむ唯一の機構である。ギャップ結合細胞間コミュニケーションは、コネクシンタンパクによって構成される細胞間トンネルであるが、現在まで哺乳類において16種のコネクシン遺伝子の存在が報告されている。従ってギャップ結合で連結されている細胞は、同じシグナルを共有する群として行動し、このような細胞群の集合体として構成される多細胞生物では、ギャップ結合がホメオスタシスを維持していることになる。生体内でこのように重要な役目を担っているギャップ結合に異常が発生すると、さまざまな組織・器官で弊害が引き起こされる事が予想される。これは、コネクシン遺伝子変異によって引き起こされる遺伝性の難聴、白内障、皮膚病、心臓病によって証明された。同様に、マウスから色々なコネクシン遺伝子を欠損させると、癌をはじめさまざまな疾患が引き起こされることからコネクシンがホメオスタシス維持に主要な役目を果たしている事がわかる。

癌細胞は、周囲の細胞とのホメオスタシスを無視していることを示す良い例であり、コネクシンの機能異常が発癌の一つのメカニズムである事が明らかになった。1) 癌のほとんどにギャップ結合コミュニケーション能の低下が見られる、2) 発癌プロモーターの多くがこのコミュニケーションを切断し、抗プロモーターが促進する、3) コネクシン遺伝子を癌細胞へ導入すると、癌細胞の増殖が制御される、などの根拠からコネクシン遺伝子が癌抑制遺伝子のファミリーを形成すると考えられている。最近の研究では、Cx32のノックアウトマウスに肝癌が多発することも報告され、われわれは、Cx32遺伝子のドミナントネガティブ変異遺伝子を肝に特異的に発現させたマウスで、化学発癌感受性の増加を認めた。癌細胞で認められるギャップ結合コミュニケーション低下のメカニズムとして、コネクシン遺伝子の変異はまれであることが分かった。コネクシンが他の細胞接着・結合装置のタンパクと結合すること、あるいは、それら相棒タンパクの機能への影響などが分かって、細胞間接着・結合装置はネットワークを形成しており、相互に依存しているものと考えられ、コネクシンはその中でも重要な役目を果たしているものと思われる。

コネクシンKOマウスに見られるがん以外の色々な異常、コネクシン遺伝子変異による多々の遺伝性疾患から考えて、細胞間コミュニケーション異常ががん以外の色々な疾患発生に関与していることは明らかである。したがって、細胞間コミュニケーションを標的にする物質を同定・研究するトキシコロジーの発展が望まれる。

吉村 功

東京理科大学工学部

本講演では、毒性試験の実験データ解析法について議論する。

一般毒性試験では、動物個体を群にして、各群にそれぞれの処置を施し、対照群における結果との比較で毒性発現の有無、程度、仕組みを考察するのが普通である。観測項目は非常に多いので、各項目ごとに、たとえば有意水準5%のt検定といったものを適用すると、毒性がない場合でも有意差の出る項目ができてくる。かといって、単純に多重比較などの調整をすると毒性を見逃す可能性が高くなる。そこで、統計的処理なるものは形式的におざなりにやっておいて、基本的には自分の勘を頼りにして結論を出す、ということをした。ところがこれには、やはりそれなりの危険がある。実験で偶然現れた傾向にとらわれやすいことと、個人の性格による偏りが出やすいことである。実験家の経験といったものも客観化し、主観的な判断に偏りが生じていないか、吟味する習慣が必要である。

一つのやり方は、ある程度のレベルに達している複数の実験家に、独立に同じ毒性試験データの評価をしてもらい、どれくらい結論が一致するかを調べ、ほぼ共通に合理的と思われる結論の出し方を調べる。このやり方を客観的な解析手順とすればよい。かつてあるグループがその様な試みをしたときの経験では、個人差はかなり大きい、客観化すると検定の有意水準は5%より小さめにした方が、客観的な解析方法と主観的な判断とが近くなる、という結果となった。これは実験条件にもよるので、このような試みをそれぞれの分野で行って、主観的判断による偏りを修正することを試みるのが良い。

特殊毒性試験には、in-vivo実験とin-vitro実験がある。前者では、評価項目がたとえば異常出産率とか皮膚の状態等のように評価項目があらかじめ絞られていることが多い。一般毒性試験のような意味での多重性は少なくなる。しかし用量依存性の吟味が重要になるから、やはり単純な統計的検定は望ましくないことが多い。可能ならば用量反応関係を数学的な関数としてモデル化し、そのモデルの下で、パラメータの値を推定し、信頼区間を構成することが望ましい。信頼区間が構成できない場合でも、ダネット検定等で有意差ありとするだけでなく、p値を求め、他の指標と総合して判断を下す方がよい。

in-vitro実験では、あらかじめ狙いが絞られていて、被験物質が陽性か陰性かだけが注目されていることが多い。この場合には、ダネット検定と傾向検定の合成などが実用的である。手順全体を通して一つの結論を出すことになる。その手順全体での結論の出し方が合理的かどうか重要である。それぞれの試験に応じて合理的な手順を構成しておくことが必要である。毒性評価では、被験物質の用量幅の設定が重要で、これによってdown-turn（頭下がり現象）が現れることがある。これについての対策をあらかじめ定めておくことが重要である。ときには結論を保留して再実験をすることも、手順の中に入れておくべきである。

Some points to prevent experimenters from leading improper conclusions in the data analysis.

Isao YOSHIMURA

Faculty of Engineering, Science University of Tokyo, Tokyo-162-8601, Japan

編者 吉岡 洋

編集 三浦 浩二

シンポジウム 1

遺伝的DNA損傷は、その頻度や修復の効率、部位、トピックの種類と異なる異なる細胞とその組織や臓器で、さらには年齢や環境要因などにより異なる。この損傷は、DNA複製や遺伝子発現に悪影響を及ぼし、がんや神経変性疾患、免疫不全、老化などの原因となる。本シンポジウムでは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

本シンポジウムは、DNA損傷のメカニズム、検出、修復、およびその病理学的意義について最新の知見を共有し、今後の研究動向について議論する。

淀井 淳司

京大・ウイルス研

酸化了的DNA損傷とその防御修復機構の解明は、酸化ストレスの指標となる異常産生物とその測定技術の発見開発と、蛋白性、非蛋白性の抗酸化分子の研究の主として両面から進展してきたが、近年の酸化ストレス応答或いはレドックス制御に関わる細胞内分子群の解明から新たな展開を示している。活性酸素種、NO、各種の抗酸化因子に関する研究は神経系・循環器系疾患、感染症や炎症など医学生物学諸領域で近年ますます重要な課題とされている。生体分子の酸化・還元〔レドックス〕調節機構は、酸化ストレス応答を基礎にした細胞・宿主側の防御のしくみとして注目されており、〔レドックス生命科学〕の産学連携研究委員会も学術振興会事業として発足し、生命情報、創薬基盤、食品機能の方向で基礎応用研究の両面での展開を目ざしている。

私達がレドックス制御の研究に関わった直接の経緯は、〔成人T細胞白血病〕(ATL)の研究過程で、レドックス制御分子のヒトチオレドキシリン〔thioredoxin;TRX〕をADF〔ATL由来因子〕として同定したことによる。TRXは各種の酸化ストレスで発現が誘導されるストレス蛋白で、組み換えヒトチオレドキシリンは、動物実験で心臓、肺などの虚血再灌流での細胞組織傷害を抑制する効果が確認されている。またTRXトランスジェニックマウスは、種々の酸化ストレスに抵抗性を示すことが明らかになっている。虚血による脳梗塞が有意に縮小し、骨髄細胞は放射線、紫外線、化学物質に耐性を示し〔井上・平林ら〕、更に長寿傾向も観察されている。サイトカインや抗癌剤による致死性の実質性肺炎に対してTRXが防御効果を示すのみならず、*Listeria monocytogenes*やウイルス感染への抵抗性をもつことが明らかとなっている。高サイトカイン血症によるマウス致死性肺炎をTRX投与により予防し得ることも明らかとなった。

TRX及び活性部位C-X-Y-Cを共有するTRXファミリー分子群が、酸化還元を調節するレドックス制御分子として細胞内の情報伝達の調節に関わる事が明らかになっている。TRXは、NF κ B, AP-1, PEBP-2, ステロイドホルモンレセプターなどのDNA結合を増強し、転写制御を活性化する。またTRXは各種のストレスで発現が誘導されるストレス蛋白であるが、SP-1, CRE, OREの他、ARE, XREなどの領域が同定され、当初想像されたHeat Shock element (HSE)は存在しない事が判明した。

TRXファミリーに属すTRX2分子は、ミトコンドリア移行シグナルを持ち、ミトコンドリア依存性の細胞死を抑制する機能が明らかになりつつある。DT40細胞を用いてTRX2のknock out細胞を樹立したところ、TRX2発現抑制によってアポトーシスに陥ることが明らかになった。TRX2のミトコンドリア関連標的分子も見い出されアポトーシスの制御に重要な働きを果たす。また、TRX結合蛋白としてTRX binding protein 2 (TBP2)を同定した。TBP-2はvitamin D3 upregulated protein 1 (VDUP-1)と同一のものであり、TBP-2はTRXの活性および発現の抑制因子であった。TBP-2の発現は、HTLV-I感染細胞株では著減しており、さらにHTLV-I細胞株のIL-2依存性と関連があることが明らかになった。また、この蛋白は細胞周期依存性に発現が調節され、Srcがん遺伝子での上皮細胞のトランスフォーメーションに際しても抑制が観察されるので、TBP2/VDUP1がHTLV-I transformationの抑制因子となり治療に応用できる手段になることが考えられる。

今回は、TRX, TRX2などのレドックス制御蛋白の酸化了的DNA障害の防御機構、細胞内情報伝達や細胞の生と死のレドックス制御機構を介して、細胞の分化増殖や感染症防御機構に果たす役割を紹介し、レドックス制御薬の基礎検討と、チオレドキシリンファミリーの酸化ストレスマーカーとしての意義について考察する。

Overview; Oxidative DNA damage and redox regulation.

Junji YODOI

Institute for Virus Research, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

酸化ストレスのマーカー、 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの測定

葛西 宏

産業医大、産業生態科学研究所、職業性腫瘍学

活性酸素はがんや生活習慣病を引き起こすと考えられている。環境化学物質による外因性活性酸素とライフスタイル等により生じる内因性活性酸素とがある。われわれは1984年以来、DNAの酸化損傷のひとつである8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OH-dG)を細胞内酸化ストレスのマーカーとして測定してきた(1)。これまでに発表された8-OH-dGに関する論文数は1000報を越えており、年々研究者の数が増えている。増加の理由として、修復酵素OGG1がヒトや動物細胞に存在することが確認され生物学的意義が高まったこと、HPLCによる8-OH-dG分析法が改善されたこと、細胞レベルの免疫組織化学的検出法が確立したこと等が挙げられる。

動物実験では、例えばディーゼル排気微粒子(DEP)をラット気管内に注入すると発がん標的臓器である肺のDNA中の8-OH-dGの増加が見られた(2)。ラットの肺において活性酸素が発生し修復酵素OGG1 mRNAは上昇したが修復活性は低下したため、その結果として8-OH-dGは上昇したと考えられる。その他、カドミウム(+グルタチオン枯渇)、アゾ色素系発がん物質3'-MeDAB、エタノール(+栄養欠乏食)、アスベスト、投与によりそれぞれ精巣、肝臓、食道、肺においてDNA中の8-OH-dGの上昇が見られた。また培養細胞に対しアスベスト処理を行うと、8-OH-dGの増加のみならず修復活性の上昇、OGG1 mRNAおよびスクレオチド浄化酵素MTH1 mRNAの上昇がみられた。細胞DNA中8-OH-dGの分析は年々精度が増しており、信頼できるデータが得られるようになったが、同時に修復酵素の発現や修復活性を調べることにより正確な酸化ストレスの評価が可能であろう。

ヒトにおける酸化DNA損傷の測定は活性酸素関連疾患の予測のために必要と思われる。われわれは尿中8-OH-dGの分析法を開発し労働環境とライフスタイルの影響を調べた(3)。方法としては2本の高速液体クロマトグラフィーカラムと電気化学検出器を組み合わせた自動分析法を用いた。男性約300人(18-58才)の8-OH-dGの平均値($\mu\text{g/g creatinine}$)は 4.12 ± 1.73 (SD)であった。11倍の個人差がみられた。適度な運動は8-OH-dG値を低下させ、低いBMI、コークス作業、肉体労働、昼夜交代勤務、喫煙、まれな肉摂取は8-OH-dG値を増加させた。このように様々な要因が、生体内活性酸素の発生、防御に関わっていると思われる。尿中8-OH-dGの分析により、ある種の環境化学物質による発がんリスク評価、健康維持のためのライフスタイルの開発などが可能になるとと思われる。

文献

- 1) Kasai, H., Crain, P. F., Kuchino, Y., Nishimura, S., Ootsuyama, A. and Tanooka, H. Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis*, 7, 1849-1851 (1986)
- 2) Tsurudome, Y., Hirano, T., Yamato, H., Tanaka, I., Sagai, M., Hirano, H., Nagata, N., Itoh, H. and Kasai, H. Changes in levels of 8-hydroxyguanine in DNA, its repair and OGG1 mRNA in rat lungs after intratracheal administration of diesel exhaust particles. *Carcinogenesis*, 20, 1573-1576 (1999)
- 3) Kasai, H., Iwamoto-Tanaka, N., Miyamoto, T., Kawanami, K., Kawanami, S., Kido, R. and Ikeda, M. Life style and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage: Effects of exercise, working conditions, meat intake, body mass index, and smoking. *Jpn. J. Cancer Res.*, 92, 9-15 (2001)

Analysis of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative stress

Hiroshi KASAI

Department of Environmental Oncology, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu 807-8555, Japan

環境化学物質による酸化的DNA傷害： 発がん性と生殖毒性における意義

○川西 正祐、及川 伸二、村田 真理子、平工 雄介

三重大学・医学部・衛生学教室

地球規模の環境汚染が生態系に影響を与え、ヒトへの長期微量複合暴露による健康障害が懸念されている。近年、環境化学物質の内分泌攪乱作用により野生生物の生殖行動異常が報告され、またヒトに対しても精子減少などの男性生殖毒性の原因となる可能性が指摘されている。しかし、生殖毒性は内分泌攪乱作用だけによるのではなく、遺伝子損傷作用が相加的または相乗的に関与していることが考えられる。事実、環境発がん物質の中には生殖毒性を示す物質が多数ある。我々はこれまでに多くの発がん物質が活性酸素を介して酸化的にDNAを損傷する機構について研究を積み重ね、発がん性とDNA損傷との間に明らかな相関関係を認めている。また、環境化学物質による生殖毒性発現のメカニズムとして、ホルモン作用攪乱以外に、精子形成不全にはDNA損傷やアポトーシス誘導などの直接的細胞傷害がある。本報告では酸化的DNA傷害性と発がん性・生殖毒性との関係を種々の環境化学物質について検討した最近の研究結果を概説する。

DNA損傷機構や塩基配列特異性の解析は、ヒトがん原遺伝子c-Ha-ras-1およびがん抑制遺伝子p53やp16から変異のホットスポットを含む遺伝子断片をサブクローニングし、5'末端を³²Pでラベルすることにより行った。DNA損傷の塩基配列特異性の解析にはMaxam-Gilbert法を応用し、オートラジオグラムをレーザーデンシトメーターで定量化し解析した。さらに、酸化的DNA損傷のひとつである8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG) の定量は電気化学検出器付HPLCを用いて行った。

女性ホルモンには発がん性があることが知られている。我々は、エストラジオール自身にはDNA損傷性は認められないが、その代謝物であるカテコールエストロゲンは生体内金属の存在下で低濃度で酸化的にDNAを損傷することを明らかにした。一方、カテコールエストロゲンに比べエストラジオールはより強い乳腺細胞増殖作用（エストロゲン活性）を示した。したがって、カテコールエストロゲンはイニシエーションに、エストラジオールはプロモーションに関与すると考えられる。

ニトロベンゼンはアニリンの製造、薬品の精製、ゴムの製造など幅広く使用されており、発がん性および生殖毒性が報告されている。我々は、ニトロベンゼンの代謝物ニトロソベンゼンが2価の銅と生体内還元物質NADHの存在下で酸化的にDNAを損傷することを明らかにした。したがって、ニトロベンゼンの発がん性および生殖毒性にはその代謝物による酸化的DNA損傷が重要な役割を果たしていると考えられる。また、生殖毒性を示すトリニトロトルエンに暴露したラットの精祖細胞のDNAにおいて8-oxodG生成が上昇することを明らかにしている。これらの物質による生殖毒性機構においては酸化的DNA損傷を介した直接的な細胞傷害が重要な役割を果たすと推定される。

トルエンは有機溶剤の中で最も多く環境中に放出されており、近年、トルエンは発がん性および生殖毒性が指摘されている。我々はトルエンの代謝物であるメチルヒドロキノンが2価の銅の存在下で酸化的にDNAを損傷することを明らかにし、トルエンの発がん性および生殖毒性機構を解明した。また我々は、ベンゼン、鉛、ニッケル、ペンタクロロフェノール、ジクロロベンゼンなどの発がん物質の代謝物が活性酸素生成を介して酸化的にDNAを損傷することを明らかにしてきたが、これらの物質は生殖毒性も示す。以上の結果から、発がん性を示す環境化学物質は、酸化的DNA傷害を介して生殖毒性も示す可能性があることが明らかになった。

Role of oxidative DNA damage by environmental chemicals in carcinogenicity and reproductive toxicity.

Shosuke KAWANISHI, Shinji OIKAWA, Mariko MURATA and Yusuke HIRAKU.

Department of Hygiene, Mie University School of Medicine, Mie 514-8507, Japan

化学物質による酸化ストレスを介した毒性発現機序の無侵襲解析 — in vivo、in vitro ESRによる活性酸素・フリーラジカル測定 —

○内海 英雄、竹下 啓蔵*、市川 和洋、鄭 然孫**、韓 眞伊***、金 洙賢

九州大学大学院・薬学研究院・機能分子解析学
(現*放医研、**嶺南大学、***ソウル大学)

活性酸素やフリーラジカルが生理現象や病態・毒性発現に重要な関わりを有することが種々の系で報告されている。しかし、実際に活性酸素やフリーラジカルの発生を捉えたものは極く限られており、酸化ストレスの詳細な実態は明らかでない。生体内フリーラジカル反応は多くの生体分子の影響を受け多様に変化すること、試験管内反応と生物個体での研究結果に不一致が見られることなどから、酸化ストレスの解明には生物個体での無侵襲解析が不可欠である。

ESRは磁気共鳴法の一つで、フリーラジカルを特異的に検出する測定系である。我々は、生体内のフリーラジカル反応を無侵襲解析するためにin vivo ESR・ニトロキシドプローブ法を提案し、種々の酸化ストレス病態モデルに適用してきた。このin vivo ESRではラット程度まで測定可能で、生体内ラジカルの体内分布も画像化できる。その結果、生きた実験動物の種々の部位での活性酸素の発生をリアルタイムで解析でき、病態・毒性発現と活性酸素の係わりを分子レベルで示すことが出来た。本シンポジウムでは、ディーゼルエンジン排気ガス粒子 (DEP) による肺障害、クロロフェノール類 (CPs) による遺伝毒性、肝障害を中心に、in vivoおよびin vitro ESRを用いた解析例を報告する。

DEPを経気投与したマウスに一定時間経過後、ニトロキシドプローブを気管内投与し、肺を中心としてESR測定すると、特徴的な3本の鋭いシグナルが観測される。このESRシグナルは経時的に減衰し、その減衰速度は対照群に較べDEP投与マウス群で有意に亢進した。この亢進は種々のヒドロキシルラジカル消去剤の同時投与で対象群レベルまで抑制される。また、鉄キレート剤やカタラーゼでも抑制されることから、シグナル減衰の亢進が肺胞内で発生したヒドロキシルラジカルによることが明らかとなった。一方、肺障害の指標として肺浮腫をみると、DEP投与群で有意に上昇し、ヒドロキシルラジカル消去剤により肺浮腫は抑制された。従って、肺胞内でDEP投与の早い時期に活性酸素が発生し、これが肺浮腫を引き起こしていることが明らかとなった。

CPsを経口投与したマウスにニトロキシドプローブを尾静脈内投与し、上腹部でのシグナル減衰をみるとCPs処理30分という初期で有意に減衰速度が亢進していた。この亢進はトコフェロール誘導体の処理により抑制されたことから、肝臓を含む上腹部で活性酸素が発生していることが示された。また、培養細胞を用いた小核試験からCPsが活性酸素を発生することで遺伝子障害をもたらすこと、in vitro ESRによりCPsがレドックス反応によりセミキノンラジカルに変換すること、CPsがヒドロキシルラジカルの発生を亢進することも明らかとなった。これらの結果から、CPsから活性酸素が生成し、これが遺伝子損傷や肝機能障害をもたらすことが示された。

以上のように、in vivo ESRによる動物個体を用いた無侵襲解析は、毒性発現における活性酸素や生体内レドックス制御の関与を解明する上で非常に有用である。

参考文献：Toxicol. Letters, 82/83, 561-565 (1995); Free Rad. Biol. Med., 26, 951-960 (1999); *ibid.*, 26, 1209-1217 (1999); *ibid.*, 28, 959-969 (2000); Biophys. J. 79, 3341-3349 (2000); Free Rad. Biol. Med., 30, 516-525 (2001)

Non-invasive analysis of oxidative injuries by chemicals -application of in vivo and in vitro ESR-
Hideo UTSUMI, Keizo TAKESHITA Kazuhiro ICHIKAWA, Yon-sun CHONG, Jin-yi HAN, Su-hyon KIM
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

S1-5

酸化ストレスによるDNA損傷と生活習慣病の発生

○内藤 裕二、吉川 敏一

京都府立医科大学第一内科

生活習慣病の発症の3大要因は、SNPsを含めた遺伝的素因、ライフスタイル、食生活などの生活習慣要因、さらに環境要因である。酸化ストレスに関与する多くの遺伝子が同定され疾患候補遺伝子と考えられているが、多くの生活習慣病が多因子遺伝であり、その解析は難しい。生活習慣のなかには酸化ストレスと密接な関連にあるものが多く、喫煙、飲酒、不適切な食事などにより容易に酸化ストレスは増大する。環境因子のなかにも、活性酸素を発生するものが多数あり、特に活性酸素によるDNA傷害は発痛との関連で極めて重要である。本シンポジウムでは生活習慣病のなかの糖尿病を対象とした最近の臨床成績を提示したい。

糖尿病患者が酸化ストレスの状態にあることは多くの報告より明らかであるが、その酸化ストレス度を評価する臨床指標には議論のあるところである。また、生体内の抗酸化物質は他の抗酸化物質と連携して効果を発揮しており、単独ではなく総合的に抗酸化物質、酸化ストレス度を評価する必要がある。我々は、生体における酸化ストレス状態を評価するために、酸化/還元に関与するバイオマーカーを組み合わせ測定し総合的に評価する試みを行っている（酸化ストレスプロファイル）。本研究の対象は、健常者59名、糖尿病患者90名（1型6名、2型84名）である。早朝空腹時に採血・採尿し以下の項目を測定した。酸化マーカー：尿中8-OHdG、血清過酸化脂質、抗酸化ビタミン：ビタミンC、A、 α -、 δ -、 γ -トコフェロール、カロテノイド：ルテイン、ゼアキサンチン、 β クリプトキサンチン、リコピン、 α カロテン、 β カロテン、その他のバイオマーカー：Serum Total Antioxidant Status (STAS)、尿酸、アルブミン、ビリルビン、ビタミンB12、葉酸、鉄、銅、T-Chol、TG、アポA1、アポB。糖尿病患者では健常者に比較して尿中8-OHdG/Cr、血清過酸化脂質が有意に高値であった。また、糖尿病患者ではSTAS、ビタミンC、ビタミンA/T-Chol、 α -トコフェロール/T-Chol、ルテイン、ゼアキサンチン、リコピン、 α カロテンが有意に低値であった。糖尿病患者において各マーカーと血糖・HbA1cに相関はなかった。尿中8-OHdG/Crと各マーカーとの相関関係についても検討したが、血清過酸化脂質、 α -トコフェロールとの相関関係はなく、ビタミンAとの間に負の相関関係が得られた。

糖尿病患者では抗酸化ビタミン、カロテノイドが低下しており酸化ストレス状態にあると考えられた。8-OHdG (8-OHdG/Cr、8-OHdG mg/h/kg) は尿中に増加しており、糖尿病患者では酸化的DNA損傷が亢進していることが判明した。また、その要因としてビタミンAの低下との相関が観察され、現在の糖尿病食に加えて、抗酸化の面からの食事療法、生活習慣の積極的な指導が必要であると考えられた。

Oxidative DNA damage and life-style disease

Yuji NAITO, Toshikazu YOSHIKAWA

First Department of Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine

Kamigyo-ku, Kyoto 602-8566, Japan

○増谷 弘、Yong-Won Kwon、Yong-Chul Kim、山口 佳美、淀井 淳司

京大・ウイルス研

チオレドキシシン (thioredoxin (TRX)) 系はグルタチオン系と並んで細胞内で酸化還元 (レドックス) 調節により細胞死や細胞周期などの様々な細胞機能の調節に重要な役割を果たしている。また、TRXは様々な転写因子のDNAへの結合を増強する活性があることが報告されている。我々はTRXが、apurinic/apyrimidinic (AP) endonuclease活性を持つDNA修復酵素であり、Jun/Fosファミリーの蛋白を活性化するActivator Protein-1 (AP-1) 活性化因子としても報告されたredox factor-1 (Ref-1) とともにp53を活性化し、p21発現制御を含む細胞周期制御に重要であることをこれまで報告してきた。また、TRXは虚血再かん流障害、UV照射、過酸化水素投与などの様々な酸化ストレスにより発現が誘導され、虚血再かん流障害や様々な酸化ストレスに対して防御的に働く様々な知見が得られている。

構造上多環性芳香族化合物であるダイオキシシンなどの化学物質は発癌、奇形、生殖障害など生体に様々な影響を及ぼすことが近年報告され注目されてきた。これらの化学物質は転写因子であるaryl hydrocarbon receptor (AhR) と結合し、AhRがその認識配列であるxenobiotic responsive element (XRE) に結合することがその作用に必要なことが分かってきたが、これらの物質の生体防御機構への作用・アポトーシス・細胞周期制御における機構についてはまだ明らかになっていない。TRXの発現はHepG2細胞株にてベータナフトフラボン (betanaphthoflavone, BNF) やメチルコラントレン (3-methylcholanthrene, MC) により誘導され、TRXプロモーター上のXRE様配列、SP-1結合配列を含む36塩基がこれらの物質によるTRXの転写活性化に必要な知見を得た。多環性芳香族化合物によるいわゆる環境ストレスに対するTRXの生体防御作用が示唆された。

さらに、これらの研究の過程で、MCがHepG2細胞にアポトーシスを起こす所見が得られた。その機構はAhR依存性であった。さらにMCによるp53セリン15のリン酸化を伴うp53の早期の活性化が観察された。またp38 Map kinaseの阻害剤とp38 Map kinaseのdominant negative mutantを用いた検討より、MCによるアポトーシスにはp38 Map kinase活性化を伴う後期のp53の活性化が重要であることが明らかとなった。一方、BNFはAhR依存性にCyp1A1の誘導を起こし、p38 Map kinaseの活性化を起こすが、アポトーシスは引き起こさず、p53の活性化は認めない。これらのことより活性酸素種の産生だけではなくMC自身の代謝物がアポトーシス誘導に重要な要素になることが示唆される。この多環性芳香族化合物によるアポトーシス誘導機構における、酸化ストレスの関与、DNA損傷、生体防御機構の関与についてさらに検討している。

また、TRXの発現が、生体に酸化ストレスや分化を誘導する物質として用いられてきたヘミン (ferriprotoporphyrin IX) や食品添加物としてその発癌性が問題となったbutylated hydroxyanisole (BHA) の代表的な代謝物であり親電子物質であるtert-Butylhydroquinone (tBHQ) によって赤白血病細胞株であるK562細胞で転写レベルで誘導される知見を得た。次にTRXプロモーター上でこれらの物質に反応する配列を解析したところ、その配列はantioxidant responsive element (ARE) を含むことが明らかになった。定常状態ではNF-E2p45と小Maf蛋白がAREに結合しているが、Nrf2がヘミンやtBHQによりその配列への結合が誘導され、さらに、Nrf2がヘミンやtBHQによる活性化に重要である結果を得た。また、刺激に応じてAREに結合する因子が変化する、というTRX遺伝子のAREの調節機構を明らかにすることができた。TRXは同様にAREを調節領域に有するglutathione S-transferaseなどの第二相薬物代謝酵素群やhemeoxygenase-1と協調してヘムや薬剤による酸化ストレスに対する生体防御に働いていると考えられる。

Mechanism of the regulation of thioredoxin gene expression in response to environmental stressors.
Hiroshi MASUTANI, Yong-Won KWON, Yong-Chul KIM, Yoshimi YAMAGUCHI, Junji YODOI
Institute for Virus Research, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan

○平林 容子、井上 達

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・毒性部

生体は酸化と還元バランスの上に成り立っている。活性酸素種の活用と消去の制禦ならびにそこからの逸脱は、毒性発現機構のメインストリームに位置する。いまこれらの制禦因子の調節遺伝子変異動物や、薬物によって積極的に制禦の攪乱を起こした状態を観察するならば、調節機構の背後に潜む制禦ネットワークの総合バランスとその破綻の結果を個体レベルで見ることができる。例えばp66^{shc}をknockout (KO)したマウスでは、パラコートの投与による生存時間の延長が観察され、はじめて当該因子の活性酸素種による毒性発現機構への関与が明らかとなった (Migliaccio E, et al., Nature 402:309-313, 1999)。

Thioredoxin/Adult T-cell Leukemia-derived factor (TRX/ADF) は、E.coliからヒトに至る諸種で様々な酸化的ストレス応答時に関与するdisulfide reducing proteinのひとつとして知られている。この遺伝子機能の個体レベルでの解析を目的として、淀井ら(京大・ウイルス研)によって作製されたTRX/ADF遺伝子導入(TG)マウスあるいは、当該遺伝子のヘテロ欠失マウスに、パラコートを活性酸素種(ROS)供与体として腹腔内投与した。(以下、TRX/ADF欠失マウスはヘテロ欠失[HKO]、過剰発現マウスは[HTG]と標記し、野生型[WLD]と比較する。尚、ホモ欠失は胎生致死。ホモTGは実験の簡略のため用いなかった。)パラコート投与の結果、生存率はいずれも、TRX/ADFの遺伝子量依存性であった(500mg/kg投与後3時間の生存率は、HKO, 0%、WLD, 20%、HTG, 100%; 100mg/kg投与後2週間ではHKO, 0%、WLD, 6%、HTG, 30%)。標的組織としての造血変化に注目すると、パラコート50mg/kgの投与により、末梢血や脾重量がWLDで減少するのに対して、HTGでは反転し、100%を越えた(♀末梢血: WLD, 64.8%、HTG, 125.9%)。但し、オスの場合、WLDでの末梢血の減少はHTGでも緩徐に留まるのみであった(40mg/kg投与の末梢血: WLD, 30.1%、HTG, 50.1%)。次に造血幹細胞レベルを見ると、以上のような傷害変化に対する反応と符合して、HKOでもWLDでもそれぞれ250%及び180%(32mg/kg投与後3時間)と反転増加の傾向を見たのに対して、HTGでは変化が認められなかった。

この実験では先に述べたp66^{shc}KOマウスに引き続いて、酸化的ストレスの緩和現象をin vivoレベルでも観察することができた。一般的には、酸化的ストレスは、しばしば培養細胞の応答性や、リコンビナント蛋白の個体投与実験などから演繹可能ではあるが、生体内では酸化的ストレス応答のカスケードの中で様々な因子が複合的に関与するため、一因子変異による変化を個体レベルで観察することはしばしば困難であり、従って、今回の結果はユニークなものと考えられる。

このTRX/ADFは、増谷ら(京大・ウイルス研)の報告にもあるとおり、異物代謝にも関連することがわかってきた。即ち、TRX/ADFの発現調節領域には、ダイオキシン類が結合するaryl hydrocarbon receptor (AhR)の認識配列、xenobiotic responsive element (XRE)様配列が見いだされている。TCDDは酸化的stressorとしても知られ、TRX/ADFの発現をダイオキシンとその受容体が制禦する事は合目的的とも考えられる。そこで、実際にTRX/ADFの過剰発現状態におけるTCDDの影響を観察すると、WLDで観察される白血球数・骨髄細胞数・造血前駆細胞の減少が、いずれもHTGでは緩和されることがわかった(TCDD 20 µg/kgの単回腹腔内投与1日後: 白血球数75.0%、92.4%; 骨髄細胞数73.2%、115.8%; 顆粒球マクロファージコロニー64.4%、100%)。ここでWLDではTCDDの投与に対して、無処置群と処置群のAhR-mRNAの発現に差異はみられなかったが、HTGではこれが半減していた。尚、AhRのmRNAの発現量は、WLD・HTG共に無処置では有意差はない。この背景は明らかではないが、HTGで造血細胞・前駆細胞の数の減少が緩和されたことは、過剰なTRX/ADFによるAhRのnegative feedbackを介した感受性低下という形での生体防御の可能性を示唆する結果として興味深い。

Resistance to environmental stress in mouse carrying over-expression of gene for Thioredoxin/Adult T-cell Leukemia-derived factor

Yoko HIRABAYASHI, Tohru INOUE

Biological Safety Research Center, NIHS, Tokyo-158-8501, Japan.

S1-8 酸化ストレスとG蛋白質

長尾 拓

東京大学大学院薬学系研究科薬効安全性学

活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) の生成は酸化ストレスの原因の一つである。心筋においては、ROSが虚血再灌流やサイトカイン刺激により生成し、アポトーシスや心肥大形成に関与することが報告されている。Extracellular signal-regulated kinase (ERK) はmitogen activated protein (MAP) kinase familyの一つであり、酸化ストレスはSrcチロシンキナーゼや低分子量Gタンパク質Rasを介してERKを活性化するとされている。しかし、ROSによるERKにおける最初の標的分子については何ら解析されてこなかった。

ラット新生仔の心室筋にGタンパク質の $\beta\gamma$ サブユニット ($G\beta\gamma$) の機能を阻害する β アドレナリン受容体キナーゼのカルボキシル末端 (β ARK-ct) を、アデノウィルスを作成し発現させた。酸化ストレスを模倣する過酸化水素 (H_2O_2) 1 mMを10分間処置することにより、ERKは最大の活性化を示した。 H_2O_2 を処置する前にあらかじめ β ARK-ctを発現させておくと、 H_2O_2 刺激によるERK活性化は約70%抑制された。しかし、プロテインキナーゼCを直接活性化するホルボールエステル (PMA) 処置によるERK活性化は、 β ARK-ctの発現により何ら影響を受けなかった。次に各種阻害剤の効果を調べた。ホスファチジルイノシトール-3-リン酸キナーゼ (PI3K) の阻害剤であるワートマンニンとLY294002は、用量依存的に H_2O_2 処置によるERK活性化を抑制した。さらにチロシンキナーゼ阻害剤であるゲニスタイン (10 μ M) 処置も H_2O_2 刺激によるERK活性化を抑制した。さらにゲニスタイン感受性のチロシンキナーゼの一つSrc、PI3Kおよび β ARK-ctの関係を調べると、 H_2O_2 刺激に続いてPI3K、Srcチロシンキナーゼの活性化が引き起こされ、最終的にERK活性が上昇することが示された。次に、細胞膜標品を用いて [35 S] GTP γ Sの結合活性を測定すると、 H_2O_2 刺激により細胞膜への [35 S] GTP γ S結合活性は濃度依存的に増加した。そこでどの種類のGタンパク質が H_2O_2 刺激により活性化されるか調べるため、精製した三量体Gタンパク質 (G_i , G_o , G_s) を用いて [35 S] GTP γ S結合活性を測定した。 G_i , G_o への [35 S] GTP γ S結合活性は H_2O_2 刺激10分後から増大したが、 G_s への [35 S] GTP γ S結合活性は増加しなかった。三量体Gタンパク質は α , β , γ の3つのサブユニットからなっており、百日咳毒素 (Pertussis toxin; PTX) は三量体の状態にあるGタンパク質のみをADPリボシル化する。 G_o 蛋白質の α サブユニット ($G_o\alpha$) を H_2O_2 (300 μ M) 刺激し、 $G\beta\gamma$ の存在下でADPリボシル化を行うと、ADPリボシル化の程度は減少した。これに対し、 $G\beta\gamma$ を H_2O_2 (300 μ M) 刺激した後、 $G_o\alpha$ を加えPTXによるADPリボシル化を行っても、ADPリボシル化の減少は観察されなかった。したがって $G_o\alpha$ が H_2O_2 刺激により修飾を受け、 $G\beta\gamma$ から解離することが明らかとなった。心筋では、虚血再灌流時にもROSが産生されることが報告されている。虚血再灌流を模倣する低酸素・再酸素化処理を培養心筋細胞に与えると、ERK活性が無処置時と比べて約4倍に増加した。この活性化は H_2O_2 除去剤であるカタラーゼにより抑制され、 β ARK-ctの発現によっても抑制された。以上の結果から、心筋細胞において虚血再灌流時に産生されるROSが G_i/o 蛋白質を活性化し、遊離した $G\beta\gamma$ がERKを活性化することが示唆された。

今回の結果は、酸化ストレスによるERK活性化の標的分子がGタンパク質 (G_i , G_o) の α サブユニットであることを初めて明らかにした報告である。またラット新生仔心室筋細胞において、 $G_o\alpha$ の活性化により遊離した $\beta\gamma$ サブユニットがPI3KやSrcを介してERKを活性化することを明らかにした。この結果は、これまで受容体でしか活性化されないと信じられてきたGタンパク質の概念を打ち破るものであり、またこれまで毒性の面のみが強調されてきたROSが細胞の保護に働く経路をも活性化しうることを示した報告でもある。

Oxidative stress and G protein.

Taku NAGAO

Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan

村松 正明

ヒュービットジェノミクス (株)

ヒトのゲノム配列の全貌が、およそ10年の国際協力プロジェクトの結果、ほぼ解明された。マウスは今年中、ラットも来年中にはヒトと同程度に明らかにされる予定である。これら30億文字からなるゲノム情報の登場により、本格的なポストゲノム時代が到来する。生命科学のあらゆる研究分野に大きな情報革命の波が押し寄せてくることになる。今後はこれらのゲノム情報をいかに有効活用できるか、トキシコロジーの分野においてもポストゲノム時代の研究戦略が必要となる。ここで重要になると考えられるのが以下の項目である。

- 1) バイオインフォマティクス Bioinformatics
- 2) 機能ゲノム学的解析 Functional Genomics
- 3) プロテオーム解析 Proteomics
- 4) 遺伝子多型性の解析 Polymorphism

バイオインフォマティクスはゲノムの一次配列情報から如何に多くの情報を抽出するかが課題となってくるであろう。ヒトの遺伝子数が30000個程度と予想外に少ないことがわかったが、これもゲノム配列から遺伝子部分を抽出するツールがあったからである。まだ機能のわからない遺伝子の機能を配列や立体構造の相同性解析を行ってin silicoで予測する分野はwet labでの研究方向や研究対象を絞り込んで行くのにますます重要になってくる。また現在一番求められているのは遺伝子のアノテーションである。アノテーションは注釈と訳されるが、要するに電子的な遺伝子百科事典を想定して、それがもつ多次元の情報をどのように編纂していくかという作業である。遺伝子の項目はすでにある。その遺伝子について知りたいこと、関連することが、系統的に引き出せるようにする必要がある。トキシコロジー関連情報をこの中にリンクさせる必要があるであろう。

機能ゲノム学Functional Genomicsは遺伝子の機能をゲノムレベルで解析する方法の総称である。代表的なものにDNAチップによる遺伝子発現解析がある。今回のゲノム解読でほぼ全ての遺伝子が出揃ったことで、網羅的な解析が可能になる基盤ができた。遺伝子の発現パターンを経時的変化を追うことにより、新しい細胞内のパスウェイが明らかにされて行くであろう。トキシコロジーも遺伝子発現のパターンを共通の通貨として語られるようになるかもしれない。

プロテオームは遺伝子産物であるタンパク質の全貌を体系的に研究する分野である。タンパク質の基本構造は高々1000種類程度であるという予測があり、ゲノムから予測されるタンパク質を網羅的に発現し、NMRで解析して基本構造のカタログを作成するプロジェクトが進められている。

遺伝子多型についてはゲノム解析の副産物として見い出されてきた一塩基多型 (SNP) が注目されている。SNPは数百から千塩基にひとつの割合で存在し、すでにヒトゲノム中におよそ三百万ヶ所が同定されている。SNPは他の遺伝子多型より高密度で存在し、判定や情報処理が容易なために疾患や薬剤反応性に関する遺伝子を探索するのに重要なマーカーとなる。日本でも日本人の標準データベースを作る大きな国家プロジェクトが着々と進んでいる。これらは薬剤の副作用の事前判定など臨床に直結する可能性が高く、おおいに利用して行くべきであろう。

ヒュービットジェノミクスでは、ヒトの臨床サンプルを用いたSNP解析を通じて疾患関連遺伝子や薬剤代謝・反応性遺伝子を発見し、創薬や臨床応用へむけての取り組みを展開させる予定である。

Toxicogenomics in the Post-genome era

Masaaki MURAMATSU

HuBit Genomix, Inc. Tokyo, 102-0092, Japan

S2-2

Genomic methodologies for identifying predictors of drug toxicity

Tom Chu, MD & PhD

Associate Director, Pharmacogenomics
Genset Corporation

One of the problems facing the pharmaceutical industry is the high cost of drug development, which is partially due to the low probability of drugs completing the development process. This failure can be attributed to issues of efficacy and toxicity. Toxicity can sometimes be predicted early in the development process, but frequently is not appreciated until a drug reaches clinical trials. Detecting toxicity at this stage is costly because of the expense of clinical trials and the fact that such drugs are unlikely to be marketed. Identifying the cause of drug toxicity is frequently difficult, further reducing the possibility that development of these drugs will be continued. To address this issue, we suggest an approach that considers drug toxicity as a multifactorial trait involving the interactions of multiple genes as well as environmental exposures. Genetic polymorphisms have often been hypothesized as factors that predispose some individuals towards toxicity from certain compounds. This talk will outline methodologies to identify polymorphisms that are associated with drug toxicity, and the preliminary results of such a program will be described.

○榎垣 實男、勝谷 友宏、大石 充、栗木 宏実、萩原 俊男

大阪大学大学院加齢医学講座

ヒトゲノム構造配列の概要が明らかにされたことから、臨床現場においても薬剤の効果と副作用を予知する遺伝薬学研究に弾みがついている。ここでは先進国で最も患者数の多い循環器疾患について分子遺伝学的な病態と薬物の相互作用についてまとめたい。まず高血圧は複数の遺伝子と環境因子の相互作用によって発症する多因子病であるため、降圧薬の効果と副作用の予知も難しい。これまでに患者個人のさまざまな遺伝子多型と降圧薬の効果に関する数多くの報告がなされているが、いずれも確立されていない。我々は大阪大学医学部の高血圧専門外来に通院中の本態性高血圧患者299名について、レニン-アンジオテンシン系遺伝子多型と降圧プロファイルの関係についてレトロスペクティブな検討を行った。その結果、これら遺伝子多型が降圧薬の選択に何らかの影響を与えた痕跡は認められなかった。しかしアンジオテンシン変換酵素遺伝子DD型の患者は、その他の遺伝子型の患者に比して、アンジオテンシン変換酵素阻害薬の使用の有無に関わらず、収縮期血圧の降下度が悪いことが明らかになった。この理由は不明であるが、少なくともアンジオテンシン変換酵素遺伝子がDD型の患者は降圧薬治療において難治性であることが示唆された。次いでアンジオテンシン変換酵素阻害薬と冠動脈形成術（PTCA）後の再狭窄予防について報告する。PTCA後再狭窄にはレニン-アンジオテンシン系が関与していることがヒトおよび動物の研究で報告されているが、アンジオテンシン変換酵素阻害薬による再狭窄の予防は白人を対象とした大規模介入試験（MERCATOR / MARCATOR試験）では成功していない。しかし、同時期に行われた日本人を対象とした研究（Yamabe et al. Coron Artery Dis 1995）では再狭窄予防に成功している。この相反する結果の説明に、われわれはアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型頻度の人種間差（ACEのDD型頻度は日本人では白人に比して半分以下と少なく、逆にII型は日本人は白人の2倍以上多い）が関与していると考えた。われわれの研究の結果PTCA後再狭窄の程度はプラセボ投与群ではACE遺伝子多型と関連しないが、II型はその他の遺伝子型に比して有意にアンジオテンシン変換酵素阻害薬イミダプリルによる予防効果（損失血管径: II 0.63mm, ID+DD 1.12mm, $P<0.05$ ）があることが明らかとなり、このような遺伝子頻度の人種差が臨床的な薬物の有効性に影響したと考えられた。このように患者の遺伝子型をあらかじめ知ることによって、テーラーメイド医療が現実のものになりつつある。最後に、レニン-アンジオテンシン系遺伝子以外の例として、肥満および気管支喘息、心不全に関係することが知られている β_2 交感神経受容体遺伝子のグルタミン27グルタミン酸多型について述べる。一般的に肥満とともに血圧が上昇することが知られており、体重コントロールは高血圧治療の重要な柱のひとつとされている。しかし体重と血圧の関係に個人差があることは臨床家の経験するところであった。本調査ではグルタミン酸27ホモの者は、その他の遺伝子型の者に対して体重-血圧相関曲線の傾きが2倍急であることが分かった（Glu27ホモ; $SBP=2.5BMI+79$, Gln27ホモ; $SBP=1.2BMI+101$ ）。このようなヒトは、肥満による血圧上昇が著しいため特に食事に注意を要するが、逆にダイエットにもよく反応する可能性を示唆するものである。

以上、レニン-アンジオテンシン系遺伝子多型を中心に、薬物の効果と副作用に関する個別化医療の可能性をまとめた。現時点では降圧薬を中心とした循環器薬の有害作用をベッドサイドで予知することは難しいが、将来は各種遺伝子型プロフィールを重要な診療情報のひとつとして活用する時代がくるものと期待されている。

Toxicogenomics and pharmacogenomics at the bedside

Jitsuo HIGAKI, Tomohiro KATSUYA, Mitsuru OHISHI, Hiromi RAKUGI, Toshio OGIHARA

Department of Geriatric Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, B6, 2-2 Yamada-oka, Suita, 565-0871, JAPAN

関 直彦

ヘリックス研究所第3研究部門

2001年2月12日、国際ヒトゲノムプロジェクトと米国のベンチャー企業セセラジェノミックス社が共同記者会見を開催し、ヒトゲノムの解読に成功したことを公表した。各々の詳細な解析データについては、国際ヒトゲノムプロジェクトがNature誌2月15日号で、セセラジェノミックス社はScience誌2月16日号で見ることができる。我々はずいぶん30億塩基対からなるヒト遺伝暗号の全てを手にした訳で、ヒトゲノム解析研究は構造解析からそれをいかに利用し活用していくか大きなターニングポイントを迎えている。またこのプロジェクトで明らかになった点は、「ヒトゲノム中に存在する遺伝子は3万個程度である」と言うことである。この事実はヒトなどの高等生物は線虫やショウジョウバエのわずか2倍程度の遺伝子を駆使して、精巧な遺伝子ネットワークを形成し、実に多彩な生命現象に適応していることを示している。このような背景のなか、ポストゲノムシークエンス時代では今までのように遺伝子を個々にとらえるだけではなく、ゲノム中に埋没しているすべての遺伝子の機能とそのネットワークの網羅的解明に主眼がおかれるようになる。そもそも遺伝子の発現は生体において、時間的かつ空間的に厳密に調節されているにもかかわらず、その実体は不明瞭であり、どの様にして遺伝子ネットワークを探るのが今後の大きな課題である。

DNAマイクロアレイ (DNAチップ) は、ポストゲノムシークエンス時代において、包括的な遺伝子発現モニタリングやゲノムの変異、多型性の検出を可能にする重要なテクノロジーとして注目されている。最近、DNAマイクロアレイを用いて病型診断ができることを報告した論文や、抗癌剤の選択方法を予測する論文が発表され、いよいよこの技術が実際の医療に応用できることが示されつつある。

我々は数年前から遺伝子資源であるヒト、マウス、サルなどの完全長cDNAの収集を行い、独自にcDNAマイクロアレイの作製を行っている。現在、我々が取り組んでいるcDNAマイクロアレイを用いた解析プロジェクトには大きく分けて以下の二つがある。一つは遺伝子の網羅的スクリーニング方法としての使い方である。この例としては、組織特異的発現をする遺伝子の探索、あるいは癌遺伝子や転写因子などのターゲット遺伝子により支配を受けている遺伝子群の探索である。この使い方はマイクロアレイの使い方として全く正論であり、今後多くの情報を我々に提供するものと思われる。もう一つは、疾患群ごとにマイクロアレイにより遺伝子発現のパターンを探り、そのパターンに基づく診断学の確立である。この新しい分野への挑戦には、大量の検体数をその研究に合ったマイクロアレイを作製して解析するシステム化が必須である。また、得られた大量のデータをどのように解析し、絞り込んでいくかも重要な問題である。さらにこれらの解析には従来の病理学の情報も必須であり、分子生物学者、臨床医、バイオインフォマティクスの連携チームが共同して研究を行うことが必要である。遺伝子発現パターンによる診断法は、将来的には毒性学の分野においても応用できるものと思われる。当日は我々のcDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析プロジェクトについて紹介するとともに、解析例について我々のデータを示したい。実際にin-houseでアレイを作製し、発現解析を行ってみるとまだまだこの技術は発展途上のものであり、解決しなくてはならない問題も多いことを実感する。しかしながら、数千から数万個の遺伝子のノーザン解析 (expression profile) をスライドガラス1枚でしかも数日でできるcDNAマイクロアレイ技術は画期的なものであり、今後さらに洗練されていくことは間違いないと思われる。

多環芳香族炭化水素による成長ホルモン応答 シグナル伝達の阻害とその分子機構

○糠谷 学¹、高橋 芳樹¹、Frank J Gonzalez²、鎌滝 哲也¹

¹北海道大学 大学院薬学研究科 代謝分析分野、

²Laboratory of Metabolism, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, MD 20892, USA

【目的】ダイオキシン類や3-メチルコランスレン (MC) などの多環芳香族炭化水素 (Ah) は、発がんや肝障害、成長遅延、体重減少を引き起こす。Ahは、CYP1A1やCYP1A2などの薬物代謝酵素を誘導することが知られている。しかし、これらの酵素の誘導だけでは、Ahの多岐にわたる毒性発現を説明することは困難である。Ahの毒性発現は、ダイオキシン受容体 (AhR) を介して起こると考えられている。そこで、我々は、新たなAhR標的遺伝子を探索し、その分子機構を明らかにすることによりAhの毒性発現機構を解明することを目的とした。【方法】無処置のC57BL/6マウスとMCを投与したC57BL/6Jマウスの肝における遺伝子の発現パターンをdifferential display法により比較した。さらに、遺伝子発現の差異により引き起こされる生体への影響についても検討した。【結果および考察】MCにより発現が抑制される遺伝子として、成長ホルモン (GH) 応答遺伝子であるmajor urinary protein (MUP) 遺伝子が得られた。また、MCを投与したAhR欠損マウスでは、MUP遺伝子の発現は抑制されなかった。したがって、MUP遺伝子の発現の抑制はAhRに依存的であった。MUP遺伝子の発現は、GHレセプターを介するJAK-STATシグナル伝達系によって制御されている。MC投与によりこのシグナル伝達系を構成するGHRおよびJAK2 mRNAの発見が消失した。これにより、GH応答に関与しているJAK-STATシグナル伝達が、MCにより抑制されることが明らかになった。これは、Ahの毒性発現に見られる成長遅延や体重減少を説明する機構と考えられる。

Disruption of Growth Hormone Signal Caused by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

Manabu NUKAYA¹, Yoshiki TAKAHASHI¹, Frank J GONZALEZE², Tetsuya KAMATAKI¹

¹Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido, Japan, ²Laboratory of Metabolism, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, MD 20892, USA¹

GENETIC BASIS OF SUSCEPTIBILITY TO ENVIRONMENTALLY INDUCED BIRTH DEFECTS: TOXICOGENOMIC APPROACHES TO THE IDENTIFICATION OF HIGH RISK INDIVIDUALS AND UNDERLYING MECHANISMS.

○RH Finnell, L. Tang, B. Wlodarczyk and J G-van Waes.

Center for Human Molecular Genetics, University of Nebraska Medical Center,
Omaha, NE, USA.

INTRODUCTION: Human populations are exposed to a broad range of complex environmental mixtures, including arsenicals, in food, air and water. There is insufficient data currently available in the literature to predict the negative impact that genetic differences in susceptibility may have on pregnancy outcomes following such exposures in sensitive individuals. These factors emphasize the need to understand the mechanism(s) by which exogenous compounds interact with critical aspects of early embryonic development. We examined the developmental hazards associated with exposure to a series of selected exogenous contaminants, including sodium arsenate and pharmaceutical compounds that compromise methylation pathways in a genetically sensitive murine model in which the folate transport genes (*Folbp1*, *Folbp2*, *RFC1*) have been inactivated (knocked out) by genetic manipulations.

OBJECTIVE: The aim of this research program has been to understanding the mechanisms by which selected genotypes render specific individuals susceptible to birth defects following *in utero* exposure to environmental or pharmaceutical compounds.

RESULTS: Depending upon the *Folbp* genotype and environmental conditions *in utero*, these embryos present with vastly different phenotypes. The *Folbp1* nullizygous embryos die by gestational day 10 with lethal malformations that include: neural tube defects (NTDs), cleft lip and palate, and cardiac defects. Heterozygous *Folbp1* dams were subsequently supplemented with either folic acid (25, 12.5 or 6.25 mg/kg body weight) by oral gavage for one week prior to mating and continued until such time that the dam was sacrificed and the embryos/fetuses collected for morphological evaluation. The incidence of NTDs and craniofacial defects among the nullizygous pups was folate dose-dependent. A complete phenotypic rescue was obtained in over 75% of the nullizygous embryos at the highest supplementation concentration. At the lower folic acid concentrations, the nullizygotes survived to term but presented with a variety of congenital defects. In addition, preliminary studies suggest that DNA obtained from embryos lacking one or more functional *Folbp1* alleles show evidence of a highly significant hypomethylation. Thus, the impact of the folate deficiency on the expression of critical downstream genes may be due to these observed changes in the global methylation patterns. This was particularly true for the dams treated with teratogenic concentrations of either valproic acid or sodium arsenate. The *Folbp2* nullizygous embryos were phenotypically normal even when the dam was stressed by receiving a very low folate diet. However, when *Folbp2* mutant dams were subjected to teratogenic concentrations of arsenate, the embryos were exquisitely sensitive and presented with a consistent pattern of malformations. This was in line with the elevated homocysteine concentrations observed among the untreated *Folbp2* dams.

CONCLUSIONS: Embryos with genetically manipulated folate transport genes are uniquely susceptible to the induction of birth defects. This is an excellent model to use with genetic microarray technologies in order to identify downstream genes that are responsible for altering the pathway of normal embryogenesis.

Supported by grants from the National Institutes of Health (DE13613, HL55940, and ES09106)

ワークショップ 1

大沢 基保

帝京大学・薬学部

薬物を含む化学物質（以後「化学物質」と記す）は、ハプテンとして抗原性を得るとアレルゲンとして即時型や遅延型のアレルギー反応を誘起する場合がある。一方、それ自体がアレルギー反応の対象となるのではなく、他のアレルゲンに対する生体反応の誘発を促進するアジュバントあるいはアジュバント様の作用を示す場合（一般にはこの場合が多いと考えられる）がある。Chemical Allergyは厳密に解釈すると、化学物質に対する特異的なアレルギー反応を指すものであるが、ここでは化学物質によるアレルギー反応の誘発と促進作用を含めて考える。本ワークショップでは、化学物質による即時型アレルギーの例を中心に、5人の演者の方々の研究を通して、Chemical Allergyにおける生体側の要因と物質側の要因についてその概念と研究方法を整理し、Mechanism-oriented researchのためのヒントを得ることを目的としている。

Chemical Allergyについて生じる基本的な疑問は、アレルゲンとなる化学物質に対してすべての個体がアレルギー反応や症状を示すわけではないこと、また、ハプテンとなるすべての化学物質がアレルギー反応を生じるわけではないこと、である。これらの問題には生体の感受性の差、化学物質の代謝特性、化学物質の生体成分との反応性などが関与している。このことは、アレルギー反応の種差の問題とともに化学物質のアレルゲン性予測を難しいものになっている。

生体の感受性には、遺伝的要因や生理的要因が大きく関係する。遺伝的要因の一つとして、アレルギー障害の発現にIgEやIgG1の受容体（FcεRとFcγR）の遺伝型が関与していることが明らかになってきている。一方、生理的要因としてアレルギー反応の仲介因子であるサイトカインの役割が注目され、アジュバント様物質（例：ディーゼル排気微粒子）がサイトカイン・プロファイルの変化を生じることが知られてきた。さらに、遺伝的・生理的要因として化学物質の代謝に関わるP450の分子種や代謝能がアレルギーの誘発要因として重視されている。今後これらの要因はアレルゲン性を有する化学物質の取り扱いや薬物の治療方針を決める際に必要な基本的な個人情報になることが予想される。

一方、化学物質のアレルゲン性を予測することは、医薬品の開発や治療現場において必須な情報であるが、遅延型アレルギーにくらべ即時型アレルギー、とくにアナフィラキシー（頻度は低いが重篤である）の誘発性を予測することは難しい。それは、信頼性が高く簡便な試験法が確立されていないためであるが、アレルゲンに関しては構造活性相関が得がたいこと、感受性やアレルギー症状の発現部位（皮膚や呼吸器）に差があることなどによる。これらの困難さを克服しようとする試みとして、Local lymph node assayやPopliteal lymph node assayを応用した試験法開発の試みがなされつつある。将来の試験法開発においては、生体側の感受性要因を考慮に入れそれら因子を指標として活用することが、信頼性の向上のためにも求められるであろう。

これらの課題に関連する各演者のご発表に大いに期待するところです。

An introductory overview - Intrinsic and extrinsic factors associated with chemical allergy.

Motoyasu OHSAWA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University, Sagamiko, Kanagawa 199-0195, Japan

W1-2 アナフィラキシーの分子生物学

○高井俊行、氏家あづさ、湯浅貴恵、小野栄夫

東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野、科学技術振興事業団CREST

Fc受容体 (FcR) はIgEおよびIgG免疫複合体を介する生体防御に重要な役割を担うと考えられる。我々はFcεRI、FcγRI、FcγRIIIなど、複数の活性化型FcRの発現が消失したFcRγ鎖欠損 (FcRγ^{-/-})、FcγRIII欠損 (RIII^{-/-})、そして抑制型のFcRと考えられるFcγRIIB欠損 (RIIB^{-/-}) の3種のノックアウトマウスを作製し、アレルギーや自己免疫を制御する因子としてのFcRの役割を解析してきた。その結果、FcRγ^{-/-}ではI型~III型アレルギーが減弱、消失することから、補体経路よりもFcRを介するエフェクター細胞の活性化が自己免疫疾患やアナフィラキシーの発症に圧倒的優位に機能することが示された。逆にRIIB^{-/-}ではエフェクター細胞の活性化が促進されることから、アレルギーや自己免疫疾患におけるFcγRIIBの抑制機能が重要であることが窺える。つまり私達の得た成果は、活性化アミノ酸配列モチーフであるimmunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) を有する活性化型FcR (FcγRIIIなど) と抑制性モチーフimmunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) を持つFcRであるFcγRIIBの機能的バランスによりアレルギー、自己免疫の発症がコントロールされていることの発見である。

さて、即時型アレルギーの最初のエフェクター細胞として重要と考えられるマスト細胞上には、マウスの場合FcεRIの他に、低親和性FcγRであるFcγRIIBとFcγRIIIが発現しており、各FcRのクロストークを解析する上で好都合である。IgE欠損マウスの解析から、IgEがアナフィラキシーの発症に不可欠ではなく、IgGとFcγR群によるマスト細胞活性化の経路がはたらくことも重要であると思われるが、それではFcγRIIBとFcγRIIIはどのようにマスト細胞の活性を制御しているのであろうか。われわれはRIIB^{-/-}においてIgG1による全身性アナフィラキシーが強く誘導されることを見出した。またRIII^{-/-}では逆にその応答が極端に減弱したため、IgG1を介するアナフィラキシーはFcγRIIIとFcγRIIBによってそれぞれ正と負に調節されていることが示された。また意外なことに、IgEを介する全身性アナフィラキシーもRIIB^{-/-}で促進され、RIII^{-/-}で減弱することが分かった。これはFcγRIIBとFcγRIIIがin vitroにおいても、in vivoにおいても低親和性IgEレセプターとして働いていることを示唆するものであり、FcγRIIB/IIIはIgGのみならずIgE免疫複合体を介する即時型アレルギーの発症をもコントロールしている可能性が指摘された。さらにマスト細胞のFcγRIIIを介したI型とIII型アレルギー反応における、チロシンキナーゼLynの役割を、RIIB^{-/-}をコントロールとして、LynとFcγRIIB二重欠損マウス (Lyn/RIIB^{-/-}) の応答性を評価することにより検討したところ、IgG誘導性アナフィラキシーはLyn要求性であり、アルサス反応はLyn欠損でも観察されることから、FcγRIIIを介したアレルギー反応経路には、Lyn依存性と非依存性の2種の経路があることが示唆された。

以上、IgG/FcγR系とも言うべき免疫システムが、IgEに対する応答も含めてアナフィラキシーの発症を制御していることが示された。

Molecular mechanisms of anaphylactic responses.

Toshiyuki TAKAI, Azusa UJIKE, Takae YUASA, Masao ONO

Department of Experimental Immunology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Seiryō 4-1, Sendai 980-8575, Japan

化学物質によるアレルギーの誘発機構 —ディーゼル排気微粒子の例を中心として—

○滝沢 始¹、斉藤 好信^{2,3}、菅原 勇²、大川 隆行⁴、河崎 伸⁴、橋本 修⁵、
権 寧博⁵、久次米 公誠⁵、丸岡 秀一郎⁵、吾妻 安良太³、高橋 卓夫³、
阿部 信二³、松島 綱治⁶、中原 一彦¹、工藤 翔二³

¹東京大学医学部附属病院検査部、²結核研究所分子病理、³日本医科大学第四内科、

⁴東京大学医学部呼吸器内科、⁵日本大学医学部第一内科、⁶東京大学医学部分子予防医学

【背景と目的】ディーゼルエンジン排気微粒子（以下DEP）は、都市部における浮遊粒子状大気汚染物質として、呼吸器系への影響が注目され、特に気管支喘息やアレルギー性鼻炎の発症や増悪との関連が示唆されている。そこで、DEPが吸入されて気道・肺胞系で接触する細胞として、気道上皮細胞と肺胞マクロファージを対象に選び、そのサイトカイン発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】1) *in vitro*での検討：ヒト気管支上皮細胞株BEAS-2B、細径気管支鏡にて採取・培養したヒト気管支上皮細胞を、ホルモン添加培養液にて培養し、種々の濃度のDEPを添加して、サイトカイン発現への影響をELISA、ノーザンブロット法、run-on assay、RT-PCR法で調べた。また、これらサイトカイン遺伝子発現に重要な意義をもつ転写因子としてNF- κ Bなどの活性化も検討した。DEPの曝露は、粒子を培養液にけん濁する従来の方法の他に、より実際に近似の、エンジン排気を希釈ののち細胞に曝露する新しい系においても検討した。肺胞マクロファージは、マウスの気管支肺胞洗浄で得たもの、及び細胞株RAW264.7を用いた。2) *in vivo*での検討：マウスをDE曝露チャンバー内にて、一日8時間、週5日曝露して、肺のサイトカイン発現への影響を検討した。

【結果】1) ヒト気道上皮細胞での結果：DEPは非毒性濃度で用量依存的なIL-8、RANTES、IL-6及びエオタキシンのサイトカインをタンパク、遺伝子発現レベルで増強した。IL-8 mRNAレベルについては、ノーザンブロット法、run-on assayにより転写スピードの増強を認めた。抗オキシダント剤のN-アセチルシステインによりDEPの作用は減弱した。新システムでは培養器内濃度100 μ g/m³程度において明らかなサイトカイン誘導が観察され、生体での環境に近似の条件と推定された。2) マウス肺胞マクロファージとその細胞株では、短期曝露ではIL-8など一部のサイトカインの発現増強をみたものの、検討した大部分のサイトカインでは、抑制性効果を示した。3) マウスの吸入曝露系では、肺組織mRNAでみた場合、IL-1 β 、TNF α 、IL-6などの炎症性サイトカインの多くが抑制されたのに比べ、IL-4、IL-10の遺伝子誘導が認められた。

【考察】DEPは、ヒト気道上皮細胞への急性影響では、気道炎症に関連の深い各種サイトカインの発現を増強し、しかも、この過程にはオキシダントが関与していることが示唆された。一方、肺胞マクロファージでは、むしろこうしたサイトカインの発現を抑制する傾向を認めた。気道上皮が気道局所において、炎症を惹起する方向を示すのに比べ、マクロファージはむしろ鎮静する方向に作用すると推察できる結果であった。マウスの長期（一ヶ月以上）吸入曝露系を用いた*in vivo*の検討では、上記の炎症性サイトカインの遺伝子発現はむしろ抑制され、最近Th2リンパ球由来のサイトカインとして注目を集めているIL-4、IL-10の誘導が認められた。このことは、DEPの長期曝露は、アレルギー性炎症を気道に引き起こす可能性を示唆するものである。実際、マウスでの検討で、単独の吸入や気管内投与によって、好酸球性の気道炎症が誘発されること、抗原との投与で、IgE抗体の誘導が起こることが報告されており、今回みとめられたサイトカイン遺伝子発現のプロフィールも、アレルギー性気道炎症発症に深く関与するものであると考えられる。我々は、こうした影響を起こす成分についても検討しており、気道上皮細胞のIL-8遺伝子誘導能は、ベンゼン抽出分画が重要という結果を得ている。今後、より低濃度、長期の曝露系において、DEPのサイトカイン発現への作用機構を追究したいと考える。

Effect of Pollutants on Allergic Airway Responses: Studies with Diesel Exhaust Particles (DEP) *in vitro* and *in vivo*.

Hajime TAKIZAWA, Yoshinobu SAITO, Isamu SUGAWARA, Takayuki OHTOSHI, Shin KAWASAKI, Shu HASHIMOTO, Norihiro GON, Kousei KUJIME, Shuichiro MARUOKA, Arata AZUMA, Takuo TAKAHASHI, Shinji ABE, Kouji MATSUSHIMA, Kazuhiko NAKAHARA, Shoji KUDOH

Department of Laboratory Medicine, Tokyo University, School of Medicine, Tokyo 113-8655, Japan

W1-4 アレルギー発現要因としての薬物代謝

○齋藤 嘉朗、小澤 正吾*、佐伯 真弓、村山 典恵*、手島 玲子、澤田 純一

国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部、*安全性生物試験研究センター 薬理部

多くの医薬品や化学物質（以下、医薬品等）が発疹等のアレルギー症状を引き起こすことが知られている。大部分の医薬品等は低分子物質であり、それ自体抗原とはなり得ず、タンパクなどの生体高分子と結合することによりハプテン抗原となりうる。ペニシリンGやトリメリチン酸等、その分子自体が化学反応性に富む場合は直接タンパクと反応できる。一方、非ステロイド系抗炎症剤、抗てんかん薬、およびサルファ剤等、多くの医薬品等は生体内で代謝を受ける過程で反応性に富んだ中間体となり、これがタンパクその他の細胞成分と結合し、付加体を形成して抗原となる。結合したタンパクは分解後、医薬品等が結合したペプチドとして主要組織適合性複合体（MHC）分子と結合して細胞表面に提示され、これをT細胞が認識することにより、T細胞の増殖およびサイトカインの産生等が起こるものと考えられている。即ち、代謝活性化による医薬品等のタンパクへの付加は、アレルギー発症を左右する重要な因子であると考えられる。

生体内において医薬品等はチトクロムP450（CYP）や各種抱合酵素により代謝される。ヒトにおいては、基質特異性の異なる約20種類のP450分子種の発現が報告されており、医薬品等のタンパクへの付加反応を引き起こす分子種も個々の医薬品等により異なることが知られている。以下に2つ例を示す。

1) サルファ剤の一種であるスルファメトキサゾールは、投与患者の2-8%でアレルギー性副作用を起こすことが知られている。N-アセチル転移酵素（NAT）により生成するN-アセチル体は安定であるが、CYP2C9により生成するN4位の水酸化体は酸化等によりニトロソ体となる。N4位水酸化体およびニトロソ体は非酵素的にタンパクへ付加することが示されている。

2) 抗てんかん薬カルバマゼピンは、投与患者の約3%において発疹等のアレルギー症状を起こすことが知られている。主代謝経路はCYP3A4による安定な10、11位エポキシ体の生成およびそれに引き続くエポキシドヒドロラーゼによるジオール体の生成であるが、2、3位のジオール体も見出されている。この反応中間体である2、3位のエポキシ体は不安定なアレンオキシドであり、この代謝物がタンパクと結合すると考えられている。本タンパク付加体形成においては、CYP1A1および1A2の活性が高いことが報告されている。

これらP450各分子種や抱合酵素の発現量とその活性には、遺伝子多型等に起因する著しい個体差がみられることから、医薬品等のタンパク付加体形成、さらにアレルギーの発症は、安定代謝物と不安定代謝物を生成するこれらP450分子種や抱合酵素の発現および活性のバランス等により決定されるという仮説が考えられている。実際、例1のスルファメトキサゾールを含む合剤による副作用発症患者では、遺伝子多型によりNAT活性の低い人が多いことが知られている。本講演では、これらを含めた知見を概観した後、抗不整脈薬メキシレチンのタンパク付加体形成に関与するチトクロムP450分子種等に関する演者らの結果を報告したい。

また、これら薬物代謝酵素の主要発現部位は肝臓であるが、近年、皮膚細胞においてもCYP1A1、1B1、2E1およびNAT1等の発現が報告されており、実際にヒト正常培養角化細胞においてスルファメトキサゾールのN4位の水酸化およびNアセチル化が起こることが報告されている。演者らもヒト正常皮膚培養細胞（角化細胞、繊維芽細胞、メラニン細胞）において、上記P450分子種およびCYP3A5等の発現をRT-PCR法により確認しているので、あわせて報告する。

Drug metabolism as a factor of chemical allergy

Yoshiro SAITO, Shogo OZAWA, Mayumi SAEKI, Norie MURAYAMA, Reiko TESHIMA, Jun-ichi SAWADA

National Institute of Health Sciences, Tokyo 158-8501, Japan

新しいアレルゲン性試験法の開発 (1) サイトカインを指標とするLocal Lymph Node Assay (LLNA)

柴田 道男

(株) 資生堂 ライフサイエンス研究センター

化学物質等の細胞性免疫応答に基づく接触アレルギーを評価する方法として、モルモットを使用する Maximization Test 等が汎用されている。これに対し、使用動物数の削減や試験期間の短縮を目指してマウスを用いた Local Lymph Node Assay (LLNA) が開発され、スクリーニング方法としてだけでなく、OECDガイドラインNo.406 (皮膚感作性) にも記載され、感作性試験としての評価を得るに至っている。LLNAはモルモットを使用する方法に比べ検出感度が低い反面、評価が客観的であり、広範な免疫学的基礎データを得ることもできる利点がある。また、動物福祉の観点からも望ましい試験法と考えられる。我々は、LLNAの変法として、アイトープを使用せずに、リンパ節細胞から放出されるIL-2量をELISAで測定する *ex vivo* LLNA法を既に報告している^{1), 2)}。さらに *ex vivo* LLNA法の感度をさらに高めるために、感作性の成立に関与する種々のサイトカインのリンパ節細胞における遺伝子発現を指標とする方法を開発した³⁾。予備検討として trinitrochlorobenzene (TNCB) で感作誘導したリンパ節細胞のIL-2の発現をRT-PCRで検出した結果、GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) 発現量の変動が大きく、内部標準として使用できなかった。そこで、新たにラット poly(A)+RNA を外部標準として添加することで細胞集団全体での発現量の補正を行う改良法を確立した。本法の特長は、リンパ節細胞のIL-2、IL-4などのサイトカイン遺伝子の発現増加率を、外部標準として添加するラット poly(A)+RNA 中の GAPDH mRNA 量で補正するという点、および蛍光プローブを用いるリアルタイムPCR法によって目的とするサイトカインの遺伝子発現量を精度よく測定する点である。

C3H/HeNマウス (メス8-12週令) の両耳介皮膚 (背側) に被験物質を3日間連続塗布して感作誘導し、投与開始6日目にも塗布して再誘導した。翌日、頸部リンパ節から細胞浮遊液を調製し、24時間、48あるいは72時間培養後の細胞からRNA溶液を調製した。RNA調製の段階で外部標準RNAとして5 ngのラット poly(A)+RNA を加えた。cDNAを合成後、リアルタイムPCR法による遺伝子発現の定量を行った。得られた結果はラット GAPDH の発現量で補正し、溶媒対照群の細胞全体の遺伝子発現に対する増加率として表した。さらに所属リンパ節重量とリンパ節細胞のCD4陽性細胞比の変化率を組み合わせた新しい指標CSI (Corrected Stimulation Index for cytokine mRNA expression) を用いて感作性を評価する方法も考案した⁴⁾。本実験系を用いてハプテンの経皮的投与がリンパ節でのサイトカインの誘導に及ぼす影響について検討するため、種々の感作性を持つ化学物質についてそのサイトカイン発現量と *in vivo* での感作性の強さの比較を行った。IL-2の発現誘導活性の測定に加え、IL-4の発現誘導活性も測定することにより、細胞性免疫の誘導だけでなく、ハプテンの持つ潜在的な体液性免疫系の誘導能の有無も予知できる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Hatao, M., Hariya, T., Katsumura, Y. and Kato, S. *Toxicol.* 98, 15-22 (1995)
- 2) Hariya, T., Hatao, M. and Ichikawa, H. *Fd. Chem. Toxicol.* 37, 87-93 (1998)
- 3) Shibata, M., Hariya, T., Hatao, M., Ashikaga, T. and Ichikawa, H. *Toxicol.Sci.* 49, 290-296 (1999)
- 4) Hariya, T., Hatao, M., Shibata, M., Ashikaga, T. and Ichikawa, H. *Environ. Dermatol.* 5, 92-101 (1998)

Determination of cytokine mRNA expression in modified Local Lymph Node Assay

Michio SHIBATA.

Shiseido Life Science Research Center, Yokohama 223-8643, Japan

W1-6

新しいアレルギー性試験法の開発 (2) Popliteal Lymph Node Assay (PLNA) の応用

○木村 努¹⁾、間 哲生¹⁾、永見 和之、渡辺 潔、田中 一三、入江 弘之、
横田 忠、須田 明子、中村 和市

日本製薬工業協会、医薬品評価委員会、基礎研究部会、第2分科会、
免疫毒性ワーキンググループ (三共 安全性研究所¹⁾)

[目的] マウス膝窩リンパ節測定法 (popliteal lymph node assay: PLNA) は、化学物質をマウスのfoot pad皮下に投与した後、膝窩リンパ節の重量または細胞数増加を指標に自己免疫誘発性物質の検出法として考えられてきた方法である。この方法は従来のアジュバントを併用する抗原性試験とは異なり薬物を単独で皮下に投与する簡便な方法である。この試験法においてヒトに対して感作性を有する物質が、マウスの膝窩リンパ節の増殖反応をもたらすという報告があることより、今回約35種の薬剤につきA/JマウスまたはBALB/cマウスを用いたPLNAに関して製薬協の免疫毒性ワーキンググループが行った共同研究の結果を示す。またPLNAをアレルギー性予知試験として使用する際の問題点および今後の課題を取り上げる。

[方法] A/JマウスまたはBALB/cマウスの片方の後肢足蹠皮下に薬剤を、反対側の後肢には溶媒を投与し、投与後7日目に膝窩リンパ節を採取し、cellularity indexを算出した。さらに、初回投与後10日に2回目の投与を行いその2日後に膝窩リンパ節を採取し二次応答を調べた。同時に一部の化合物では、フローサイトメトリーによるリンパ球サブセットの解析を行い、一次応答時と二次応答時のリンパ節の組織学的検査を行った。

[結果] 本法が臨床でのアレルギー学的副作用を示す化合物の一部と相関性を持つことが示唆された。また、アレルギー性物質では二次応答が一次応答に比べ迅速かつ高応答であったが、刺激性物質ではこの現象は認められなかった。さらに、リンパ球サブセットの解析の結果、アレルギー性物質の投与後は二次応答時にB細胞の比率が上昇したが、刺激性物質では顕著な変化は認められなかった。なお、従来PLNAでは高分子物質の反応は認められないといわれていたが、今回ウシ血清アルブミンの2回投与により、cellularity indexの上昇およびB細胞の比率の上昇が認められた。さらに、組織学的検査によりPcGおよびCETなどのアレルギー性物質の投与によりPLNに胚中心の形成が認められ、本反応が抗原特異的变化であると考えられた。

[考察] PLNAの原法では、薬物の代謝物が感作性の本体である場合には検出できない問題点がある。また、用量設定の難しさについても考慮すべきと言える。なお、本評価系で使用するマウス系統の選択も重要と考えられる。さらにPLNAの成績をどの様に利用出来るのか、今後更なる検討が必要である。

Application of the mouse popliteal lymph node assay to immunotoxicological evaluation of drugs. T. Kimura¹⁾, T. Aida¹⁾, K. Nagami, K. Watanabe, K. Tanaka, H. Irie, M. Yokota, A. Suda, K. Nakamura. Immunotoxicology Working Group, Preclinical Evaluation Subcommittee, Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association; Sankyo Co., Ltd.¹⁾

E3 毒理学 毒理学 毒理学

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

ワークショップ 2

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

毒理学雑誌2001 — 6.11の国際比較と展望

TOXICOLOGY

松本 一彦*1、野村 護*2、渡部 烈*3

*1鳥居薬品(株) 医薬情報部、*2第一製薬(株) 研究企画部、*3東京薬科大学 薬学部

新医薬品開発がグローバル化していく中で医薬品規制は1989年の第1回規制整合化国際会議 (ICH) から11年もの間、日米、欧三極の新医薬品の承認審査資料に関連する規制のハーモナイゼーションを図る国際会議として精力的に継続している。最終合意に達した内容はICHガイドラインとして発表され、わが国では新薬申請資料作成の際に従うべきガイドラインとして通知され、国内規制に取り込まれている。とくに毒性試験はICHに基く国際的な合意による試験の共通化が行われてきた。それは、地球的レベルで新薬の早期提供が前提にあり、無駄な試験を実施しないという経済的な面ならびに試験動物数の削減という動物愛護の面からも多くの人達の支持を得てきた。しかし、国際的にハーモナイズしている筈のGLP試験がICHのステップ5で各国の運営にまかされる段階で意外と食い違いがみられ、現場での混乱がみられる。今回の毒性質問箱ではそこに焦点を絞り、ハーモナイズしない理由、レギュレーションサイドへの要望などをとりあげ、ディベートを試みたい。

I. 毒性試験の実施タイミング

1. 抗癌剤の生殖発生毒性試験

海外ではCytotoxicな抗癌剤はP I、P II、P IIIの前に試験実施は要求されないが、日本では要求されている。毒性が発現するとわかっているものは臨床に入る前に実施の必要はないのでは？

2. 抗原性試験

本試験はガイドラインもなく、国際的に統一した意見もない。日本では早期に試験を実施しているが、意味があるのか？ また、最近ではモルモットのアナフィラキシー試験に代わり、マウス膝窩リンパ節試験 (PLNA) が国際的に汎用されつつあるが、その有用性とタイミングは？

II. トキシコキネティクスの国際比較

試験施設の異なるTK成績も毒性試験最終報告書に取りこまなくてはならないとする日本の行政指導と海外の実状は異なる。トキシコキネティクスに関する国際的なハーモナイズはこれで十分だろうか？ 企業責任としてのTK考察報告書を作成すれば良いのでは？

III. 毒性試験法の不協和音

1. 生化学検査の問題点

ビリルビン測定は海外ではルーチンには入っていない。しかし、日本ではかなりの施設がルーチンに実施している。動物におけるビリルビン測定の意義とタイミングについても一度討議してみたい。その他、LAP、 γ -GTP、LDHなどの実験動物での測定意義は？。

2. 染色体異常試験法の問題点

遺伝毒性試験方法は海外と日本で微妙に違っている。染色体異常に使用する細胞の種類とか濃度の問題で困ったことは？ 比較的ハーモナイズがうまくいっていると考えられている遺伝毒性分野での問題を提起してみる。

IV. 新薬申請に関する行政と企業間のギャップ

例えば、一般的に生殖試験ではウサギが2種動物の1つとして選択されているが、抗生物質などでウサギを用いることが不適切な場合、日本ではウサギをもちいた試験の実施が要求されている。その意味を含めて、行政への疑問点を挙げてみたい。行政側に立った企業の言い分、企業側に立った行政側の意見などフロアーからの意見を踏まえたディベートができることを望んでいる。

010-01

5-FUを用いたラットにおける消化管障害評価法の検討

○森山賢二、山口昌宏、近藤泰史、鈴木 智、河内泰英、林 泰司

大鵬薬品工業株式会社 安全性研究所

【目的】5-FU系制癌剤をヒトあるいは実験動物に投与すると消化管障害を誘発することが知られている。消化管障害の評価法は、便の性状を観察するのが主たる方法であるため、同障害を定量的に評価することは困難である。今回、5-FUを用いてラットに消化管障害を惹起させ、有用な障害マーカーを検索した。【方法】ラットに5-FU 270mg/kgを経口単回投与または5-FU 100mg/kgを経口反復投与した。単回投与では投与後2, 4, 10日に、反復投与では投与開始後2日および下痢発現期に小腸水分吸収量の測定、小腸絨毛AIP活性の測定および病理組織学的検査を実施し、対照群と比較した。【結果・まとめ】単回投与では下痢の発現はみられなかったものの、投与後4日では小腸水分吸収量（対照群の-221%）は減少した。投与後2日および10日には著変みられなかった。反復投与では、投与4日に重度な下痢が発現し、同時期の小腸水分吸収量（対照群の-188%）および小腸絨毛AIP活性（対照群の66%）は減少したが、投与開始後2日では著変はみられなかった。また、単回および反復投与ともに病理組織学的検査において、5-FU投与群では小腸絨毛の軽度から中等度な萎縮がみられた。5-FUによるラットの消化管障害時には小腸水分吸収量あるいは小腸絨毛AIP活性は著明に変動したことから、消化管障害の定量的な評価に有用であると考えられた。

Investigation for parameters to 5-FU-induced digestive tract injury in rats

Kenji MORIYAMA, Masahiro YAMAGUCHI, Yasufumi KONDOU, Satoshi SUZUKI, Yasuhide KOUCHI, Taiji HAYASHI, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. Drug Safety Research Lab.,

010-02

アセトアミノフェン (APAP) 及び四塩化炭素 (CCl₄) 投与による肝障害時の毒性指標

○山本敏誠¹、小林雅典¹、奥田孝二²、内海博之²、高木司郎²、池田陽一¹、花田秀一¹

¹ウェルファイド(株) 開発研究所 安全性研究部、²ウェルファイド(株) 創薬研究所 探索研究部

【目的】APAP又はCCl₄をラットに投与した際に生じる肝障害の毒性指標について検討した。【方法】SD系ラットに、APAPの300~2000mg/kgを5日間経口投与して24時間後に解剖、又は1000mg/kgを単回投与して1~24時間後に解剖した。また、CCl₄の0.1~0.5mL/kgを単回腹腔内投与して24時間後に解剖した。解剖時に血液及び肝臓を採取し、血清ALT、肝GSH及び過酸化脂質(MDA)を測定した。肝臓からtotal RNAを抽出し、各種mRNAの発現をRT-PCRにより解析した。【結果】APAPの5日間投与では、300mg/kg以上で肝GSHが低下し、2000mg/kgで血清ALTが上昇した。単回投与では、投与1時間後から肝GSHが低下し、投与24時間後に血清ALTが上昇した。CCl₄では0.25mL/kgよりMDAが増加及び血清ALTが上昇した。mRNAについては、APAPの1000mg/kgの5日間投与及びCCl₄の0.5mL/kg投与により、炎症、ストレス応答等に関連したIL-1 β 、TNF α 、HSP等の発現が増強した。更にAPAPでは代謝酵素、CCl₄では酸化ストレス、肝再生等に関連したiNOS、HGF等の発現が増強した。【考察】APAP又はCCl₄による肝障害を、GSH又はMDAは血清ALTと同程度に検出した。また、両物質による肝障害時には共通のmRNAの発現が増強するとともに、各物質に特徴的なmRNAの発現も増強した。以上、GSH、MDA及びmRNAの解析は肝障害の検出と発現機序を考察する上で、有用な指標となる可能性が示唆された。

Toxicological markers for hepatotoxicity induced with acetaminophen (APAP) and carbon tetrachloride (CCl₄)

Toshinobu YAMAMOTO¹, Masanori KOBAYASHI¹, Kouji OKUDA², Hiroyuki UTSUMI², Shiro TAKAGI², Yoichi IKEDA¹, Shuichi HANADA¹, ¹Safety Evaluation, Pharmaceutical Research Division, WelFide Corporation, Hyogo, Japan, ²Drug Discovery Laboratories, Pharmaceutical Research Division, WelFide Corporation, Osaka, Japan

010-03

イスにおけるICG負荷試験の条件検討

○星谷 達、赤木圭介、溝口靖基、松岡哲也、水口浩康、長島吉和、岡庭 梓

株式会社ボゾリサーチセンター

目的：イスあるいはサルを用いた毒性試験では、結果の個別別評価が重要であり、従来、試験開始前値を基準値として試験期間中の値を評価してきた。しかし、検査項目によっては、より詳しい検査が必要と考えられるものがある。今回は、その1例として肝機能に関するICG負荷試験について検討した。方法：10～12箇月齢のビーグル犬15頭を用い、ICG (0.5mg/kg) 静脈内投与、1、5、15及び30分後に採血、停滞率を算出した。その内、5頭には代表的な胆管系傷害物質である *a*-naphthylisothiocyanate (以下、ANIT) を投与し、ICG排泄能の動きを追跡した。結果：無処置 (投与前) ビーグル犬 (n=15) のICG停滞率は5、15及び30分後にそれぞれ62.5、21.2及び6.8%であった。ANIT投与後 (n=5) では、ICG停滞率は投与の進行と共に著しく上昇、投与1週後の値 (5、15及び30分後) は81.3、53.9及び31.6%、同じく投与3週後の値は90.3、68.6及び52.4%となった。まとめ：ヒトの場合、15分後の停滞率の正常値は10%以下とされており、無処置ビーグル犬の場合もほぼ同様であった。胆管系傷害モデル動物では、各検査時点を通じてICG排泄の遅延が明らかであった。従って、一般の被験物質の場合には、ANITより胆管系傷害作用が軽微と考えられるので、少なくとも15分あるいは30分後の検査結果で判定するのが望ましいと考えられた。

Liver function test by indocyanine green (ICG) in beagle dogs

Toru HOSHIYA, Keisuke AKAGI, Yasumoto MIZOGUCHI, Tetsuya MATSUOKA, Hiroyasu MIZUGUCHI, Yoshikazu NAGASHIMA, Azusa OKANIWA, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan

010-04

ラットにおける尿中ALP, γ -GT, LDHおよびCRE測定のための基礎的検討

○井上芳巳、江口文子、水野英子、諸橋鉄男、務台 衛

三菱東京製薬株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所

【目的】尿中酵素は腎障害マーカーとして有用であることが知られている。今回我々はラット尿中酵素を測定するにあたり検体処理過程の安定性を検討した。尚、酵素活性をCREで補正することも考慮し、CREについても同様に検討した。【方法および結果】CD(SD)IGSラット雄6週齢の尿 (氷冷下5時間蓄尿) を使用し、ALPはp-ニトロフェニルリン酸基質法で、 γ -GTは γ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法で、LDHはUVレート法で、CREはヤッフ法で測定した。保存安定性：尿を室温(23~25℃)および冷蔵(4℃)保存で1, 2, 3, 4, 5, 6, 24時間後に、冷凍(-30℃)保存で7, 10, 14, 17, 21日後に測定した。室温保存ではALP活性値の低下が1時間後から、 γ -GT活性値の低下が24時間後に認められた。冷蔵保存ではALPおよび γ -GT活性値の低下は室温保存に比べて軽減された。冷凍保存では3酵素とも著しい活性低下が認められた。CREはいずれの条件でも安定であった。攪拌の影響：尿をミキサーで30または60秒攪拌したが全項目で影響は認められなかった。遠心の影響：尿を1500rpmで5分間または3000rpmで10分間遠心した。両条件ともALPおよび γ -GT活性値の低下が認められた。希釈による影響：尿を精製水または生理食塩液で2, 4, 8, 16倍希釈して測定した。精製水と生理食塩液で差は認められなかった。 γ -GT, LDH, CREは希釈により活性値/濃度 (原尿換算値) の上昇が、ALPは活性値の低下が認められた。

Stability studies for urinary ALP, gamma-GT, LDH and creatinine measurement in rats

Yoshimi INOUE, Fumiko EGUCHI, Hideko MIZUNO, Tetsuo MOROHASHI, Mamoru MUTAI, Toxicology Laboratory Research Center, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc., Chiba, Japan

010-05

セファロリジンによるフリーラジカル性腎障害におけるPKC活性化の関与

○幸田祐佳、玄番宗一

大阪薬科大学 薬理学

【目的】我々はラット腎皮質切片を用いてセファロリジン(CER)による腎細胞障害へのフリーラジカルの関与について報告した。フリーラジカル産生と細胞内シグナル伝達系との関わりが示唆されている。今回CERによるフリーラジカル性腎障害におけるプロテインキナーゼC (PKC)の関与について検討した。【方法】SD系雄性ラットにCER(1.2g/kg)を投与し、一定時間後に腎からミトコンドリア、サイトゾルそしてマイクロソームを調製後、PKC活性および発光測定装置を用いて活性酸素産生能(CLA依存性化学発光)を測定した。また、腎障害の指標として、血漿尿素窒素(BUN)と血漿クレアチニン値を測定した。【結果】CER投与後早期(1時間半後)に腎皮質のサイトゾルのPKC活性が減少し、ミトコンドリアにおけるPKC活性および化学発光の増大がみられた。マイクロソームでは、それらに変化はなかった。CER投与24時間後においてBUNおよび血漿クレアチニン値の増大がみられたが、PKC阻害薬であるH-7を投与することにより、CERによるBUNおよび血漿クレアチニン値の上昇は軽減された。【結論】CER投与後早期に、ミトコンドリアにおいてPKCの活性化が生じ、活性酸素産生の促進を引き起こすことにより腎障害を誘発する可能性が考えられる。

Participation of PKC in free radical-induced injury in kidney of rats treated with cephaloridine

Yuka KOHDA, Munekazu GEMBA, Division of Pharmacology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences, Osaka, Japan

010-06

シクロスポリンA惹起尿細管間質病変における低マグネシウム血症とレニン・アンジオテンシン系の関与

○三浦克之¹、浅井利大¹、玉田 聡²、田代孝一郎¹、岡村幹夫³、仲谷達也²、岩尾 洋¹

¹大阪市立大学 医学部 薬理学教室、²大阪市立大学 医学部 泌尿器科学教室、

³大阪市立大学 医学部 第一内科学教室

【目的】我々は前回の本学会においてCsA投与に伴う低マグネシウム(Mg)血症を改善することにより、尿管の萎縮をとまなう腎尿細管間質の線維化病変が著しく抑制されることを報告した。今回は線維化病変に関与することが知られているレニン・アンジオテンシン系の抑制薬を用い、低Mg血症改善効果と比較検討した。【方法】実験にはラットCsA慢性腎毒性モデルを用い、さらに高Mg食投与群、アンジオテンシン変換酵素阻害薬ベナゼプリル投与群、vehicle投与群との間で腎機能、組織学的ならびに遺伝子発現の検討を行った。【結果および考察】CsAの4週間皮下投与(15mg/kg/day)投与により腎皮質尿管の萎縮と尿管間質の線維化が観察された。間質に浸潤するマクロファージ数は1, 2, 4週と経時的に増加した。これらの組織学的変化は高Mg食でほぼ完全に抑制されたのに対し、ベナゼプリルでは抑制は部分的であった。マクロファージ走化因子であるオステオポンチンおよびMCP-1のmRNAはCsA投与により発現の亢進が認められたが、高Mg食により著しく抑制されたのに対し、ベナゼプリルの効果は軽度であった。線維化促進サイトカインであるTGF- β の遺伝子発現においても同様の結果が認められた。クレアチニンクリアランスはCsA投与により低下したが、ベナゼプリルで全く改善しないのに対し、高Mg食では軽減された。これらの結果から、低Mg血症改善に伴うCsA腎障害改善効果にはレニン・アンジオテンシン系の抑制以外の機序があることが明かとなった。

Role of hypomagnesemia and renin-angiotensin system in pathogenesis of cyclosporine A-induced tubulo-interstitial injury

Katsuyuki MIURA¹, Toshihiro ASAI¹, Satoshi TAMADA², Koichiro TASHIRO¹, Mikio OKAMURA³, Tatsuya NAKATANI², Hiroshi IWAO¹, ¹Department of Pharmacology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ²Department of Urology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ³First Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan

010-07

血管壁再現モデルにおけるアドリアマイシン処理による単球浸潤の検討

○渡邊久美子、有馬和範、岩城理進、木村正明

大正製薬株式会社 開発研究所 安全性研究室

【目的】 ヒト臍帯静脈血管内皮細胞、臍帯静脈血管平滑筋細胞及びコラーゲンから構築した血管壁再現モデルを用いて、単球接着・浸潤を指標にしてアドリアマイシン (ADR) の作用を検討した。その結果から、ヒト血管障害性予測評価法としての応用の可能性を検討した。【方法】 (1)コラーゲン層、(2)血管平滑筋細胞層、(3)血管内皮細胞層(4)血管壁再現モデルに対し、単球遊走因子であるfMLP (10^{-8} M) 処理後、単球 (ヒト末梢血単核球) を作用させ、各モデルに対する単球接着及び浸潤数を比較した。次に血管壁再現モデルに対し、ADR ($0\sim 1.25\mu\text{M}$) を24時間処置し、単球を作用させ、同様に単球の接着及び浸潤数をカウントした。【結果及び考察】 fMLP誘発単球浸潤は4種のモデルのうち、ヒト血管壁再現モデルで感度が最も高かった。ADR処置した血管壁再現モデルへの単球の接着及び浸潤は、処置濃度に依存して増加した。以上の結果から、これまで単層培養では確認することの出来なかった単球浸潤を血管壁再現モデルでは捉えることが可能であり、血管刺激性誘発物質であるADRにおいても炎症反応を再現できたことから、この血管壁再現モデルは、刺激性を予測する上で有用なモデルになることが示唆された。

The evaluation of adriamycin induced monocyte migration in the vascular endothelial and smooth muscle cell co-culture model

Kumiko WATANABE, Kazunori ARIMA, Yoshinobu IWAKI, Masaaki KIMURA, Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Ohmiya, Saitama, Japan

010-08

モルモット単一心室筋の活動電位およびイオン電流に対する非循環器薬剤の作用

○永山伸一、桑野康一、永田良一、鬼頭 剛

株式会社新日本科学 安全性研究所 安全性1部

【目的】 臨床に用いられている非循環器系の薬剤の中で催不整脈作用を有するものが数多く報告されている。このような危険性を回避するため開発の早い時期から催不整脈作用の評価が望まれている。今回我々はpatch-clamp法を用いてモルモット単一心室筋の活動電位 (AP) およびイオン電流に対する非循環器薬剤の作用を検討した。【実験方法】 体重300~500gのモルモットを用いた。摘出した心臓をコラゲナーゼを含む Ca^{2+} freeのTyrode液でLangendorff装置を用いて灌流し、KB液中に遊離させた。【成績および総括】 催不整脈作用を有する非循環器薬剤として注目されている抗ヒスタミン剤astemizole及びterfenadineについて検討した。Astemizoleは30nMから3 μM で濃度依存的にAPD₉₀の延長を示したが、terfenadineの延長作用は弱かった。また、terfenadineはastemizoleより強い静止膜電位(RMP)の低下作用を発現した。Astemizole及びterfenadineは、 I_{Kr} については、 I_{Kr} の選択的阻害薬E-4031と同様に抑制した。これらの成績より、催不整脈作用を評価するにあたり、terfenadineのようなRMPの強い低下作用を有する薬剤は、活動電位の延長が見られにくい傾向が考えられ、 I_{Kr} に対する作用まで検討する必要性が示唆された。すなわち、patch-clamp法を用い活動電位だけでなく、イオン電流を測定することで、より正確な催不整脈作用の評価が可能である。さらに、いくつかの薬剤の成績も合わせて発表する。

Effects of non-cardiovascular drugs on action potentials and ion currents in guinea pig ventricular myocytes

Shinichi NAGAYAMA, Koichi KUWANO, Ryoichi NAGATA, Go KITO, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Kagoshima, Japan

010-09

ラットの心障害時における血中心臓ホルモンの変動

○大野理絵、宮田裕人、白根里加、浅沼富美子、八木健一、木村正明

大正製薬株式会社 開発研究所 安全性研究室

【目的】第27回本学会において心臓ホルモンの一つであるbrain natriuretic peptide(BNP)の血中変動は、薬物投与によるラット心障害時の指標になり得ることを報告した。今回は同じく心臓ホルモンである血中atrial natriuretic peptide (ANP)についても検討し、BNPの変動と比較したので報告する。【方法】SD(IGS)系雄性ラットにisoproterenol(ISO)の2mg/kgを静脈内、desipramine(DES)の45mg/kgを腹腔内に各々単回投与後、経時的に採血した。血液は断頭により採取し、aprotinin、EDTA-2Naで処理した血液を遠心分離し、得た血漿についてANP、BNPを測定した。測定はRIA法(Peninsula.Lab.)により行った。【結果及び考察】ISO投与群では対照群に比べ血中ANP、BNP共に高値を示した。一方、DES投与群では、血中ANPの低値、BNPの高値が認められたことから、各薬物投与による血中の変動パターンに相違のあることが明らかとなった。ラットにおいて血中ANP、BNPは薬物の各様な心臓への影響を把握する指標になり得ると考えられた。

Changes in plasma concentrations of natriuretic peptides in rats with cardiac injury

Rie OHNO, Hiroto MIYATA, Rika SHIRANE, Fumiko ASANUMA, Ken-Ichi YAGI, Masaaki KIMURA, Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama, Japan

010-10

毒性試験におけるラットALPアイソザイムの解析

○畠山和久¹、竹内敏秀^{2,3}、山口知里^{2,4}、市川裕子^{1,2}、牧野江梨子^{2,5}、川鍋 剛^{2,6}、鈴木靖郎²、青山直子²、菰田二一⁷

¹株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所、

²安全性評価研究会 ALPアイソザイム分科会、³マルホ株式会社 中央研究所、

⁴田辺製薬株式会社 安全性研究所、⁵財団法人食品農医薬品安全性評価センター、

⁶株式会社ヘレナ研究所、⁷埼玉医科大学 第一生化学

【目的】安全性評価研究会 ALPアイソザイム分科会は各種実験動物におけるALPアイソザイムの分析法や評価法の確立を目的として活動中である。今回、ラットにおけるALPアイソザイムの解析法について検討したので報告する。

【方法】ラット血清中のALPアイソザイムについて、1)セルロースアセテート膜電気泳動法 (TITAN III:ヘレナ研究所)、2)ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法 (AlkPhor SYSTEM:常光)、3)ALP 阻害剤レバミゾール及び小麦胚芽由来レクチンを用いた生化学的な定量法 (Walter E. Hoffmann et al(1994): Toxicologic Pathology, 22, pp633-638.) を用い、胆汁鬱滞時の肝由来ALPの変化、成長に伴う骨由来ALPの変化、食餌と小腸由来ALPの変化などについて検討した。

【結果および考察】正常ラットの血清中には主に骨由来および小腸由来のALPアイソザイムがみられたが、実際の毒性試験では薬剤の投与により、これらALPアイソザイムの増減に加え種々の変化を呈するものと考えられた。また、いずれの分析法にも長所と短所があり、単独でALPアイソザイムを正確に鑑別出来るものではなかった。

したがって、由来臓器の特定は複数の方法を用いて総合的に行う必要があると考えられた。

Analysis of the rat ALP isozyme in the toxicity study

Kazuhiisa HATAYAMA¹, Toshihide TAKEUCHI^{2,3}, Chisato YAMAGUCHI^{2,4}, Yuko ICHKAWA^{1,2}, Eriko MAKINO^{2,5}, Tsuyoshi KAWANABE^{2,6}, Yasuo SUZUKI², Naoko AOYAMA², Tsugikazu KOMODA⁷, ¹Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan, ²ALP isozyme Working Group, Safety Evaluation Forum, Tokyo, Japan, ³R&D Laboratories, Maruho, Kyoto, Japan, ⁴Safety Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Osaka, Japan, ⁵Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides, Shizuoka, Japan, ⁶Helena Laboratories Co., Ltd., Saitama, Japan, ⁷First Department of Biochemistry, Saitama Medical School, Saitama, Japan

010-11

血小板凝集能の動物種差に関する検討

○周 玉、石川由美、永井良和、北澤郁恵、倉田昌明、山田 弘

ファイザー製薬株式会社

動物血小板を用いた安全性評価系の確立を目的とし、実験動物血小板の凝集惹起物質に対する反応性及び凝集機構の差異について検討した。まず、血液凝固系において中心的役割を担うトロンビン、ADP及びPAFの刺激に対する動物洗浄血小板の凝集感受性の相違について調べた。結果は、トロンビンの刺激に対する凝集感受性はウサギ>モルモット>ラット、ADPの刺激に対してはモルモット>ラット>ウサギ、PAFの刺激に対してはウサギ>モルモット>ラットの順であった。続いて、ADP分解酵素であるアピラーゼを用い、各動物血小板凝集におけるADP放出の役割について調べた。結果は、トロンビン及びADP誘導の凝集に対し、アピラーゼの抑制強度はモルモット>ラット>ウサギの順であった。PAF誘導の凝集に対するアピラーゼの抑制強度もモルモットにおいて顕著に認められ、ウサギでは軽度のみみられるのみであった。さらに、血栓溶解酵素剤であるt-PAをADPで惹起したウサギ及びラット多血小板血漿 (PRP) に添加したところ凝集が軽度に抑制され、モルモットPRPでは逆に凝集が著明に促進された。以上より、用いた3種の実験動物では、血小板内ADPが関与する凝集機構に差異が存在することが示唆された。また、ADP及びプラスミンが関与する凝固線溶系に対する薬物の安全性評価においては、モルモット血小板がヒトの血小板の代替になり得る可能性が示された。

Comparison of platelets aggregation among the experimental animals

Yu ZHOU, Yumi ISHIKAWA, Yoshikazu NAGAI, Ikue KITAZAWA, Masaaki KURATA, Hiroshi YAMADA, Pfizer Pharmaceuticals Inc.

010-12

Haematological changes during normal pregnancy in New Zealand white rabbits: A longitudinal study

○Shin-Woo CHA

Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology

The present study was undertaken to investigate changes in haematology parameters over the course of normal pregnancy in New Zealand White rabbits. Blood samples were collected on gestational days (GD) 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28. Red blood cell counts and haemoglobin concentrations on GD 20-28 were lower than those of normal non-pregnant rabbits. These values fluctuated slightly between GD 0 and 12 and subsequently decreased to reach a nadir on either GD 24 or 28. Haematocrit values in pregnant rabbits also decreased slightly in the third trimester, but the difference was not statistically noticeable. Mean corpuscular volume in pregnant rabbits increased gradually during the course of gestation and was larger on GD 24 than that in non-pregnant rabbits. There were no differences in mean corpuscular haemoglobin and mean corpuscular haemoglobin concentration between pregnant and non-pregnant rabbits. Platelet counts on GD 24-28 were lower than that of normal non-pregnant rabbits. These values increased slightly in the first half of gestation and then decreased to reach a nadir on GD 28. Total white blood cell and lymphocyte counts on GD 24 were lower than those of normal non-pregnant rabbits. These values increased maximally by GD 4 and then decreased progressively to a nadir on GD 24. No significant differences were observed in the numbers of neutrophils, eosinophils, basophils, and monocytes between pregnant and non-pregnant rabbits. These data can be used not only as a historical database for the effective evaluation of data from reproductive toxicology studies, but also as a contribution to biological characterization of New Zealand White rabbits.

Haematological changes during normal pregnancy in New Zealand white rabbits: A longitudinal study

Shin-Woo CHA, Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea

010-13

1-ブロモプロパンのラットを用いた生殖・発生毒性の検討

○竹内哲也、奥田裕計、長野嘉介、山本静護、笠井辰也、西沢共司、水谷正寛、松島泰次郎

日本バイオアッセイ研究センター

フロン代替物質である2-ブロモプロパン (2-BP) によるヒトへの生殖障害が明らかになった。1-ブロモプロパン (1-BP) でも同様の生殖障害が指摘されているが、毒性についてはまだ知見に乏しい。そこでOECDテストガイドライン422 (反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験) に準拠した試験を実施し、主に生殖・発生への影響を検討した。1-BPは94、188、375、750及び1,500ppmの濃度で、交配前から交配後 (雌では妊娠19日まで) にかけて1日6時間毎日、吸入により雌雄ラットに投与した。1-BP投与により、750ppm以上で精巣上体重量の低下や精巣の精原細胞壊死、精巣上体中の精子数減少及び精子運動能の低下、また、着床率や産児数の減少が認められた。これらの生殖毒性に加え、雄の750ppm以上で肝臓の中心性脂肪変性の出現、1,500ppmでは雌雄ともに投与3週より著しい後肢の麻痺が観察された。

Reproductive and developmental toxicity of 1-bromopropane in rats

Tetsuya TAKEUCHI, Hirokazu OKUDA, Kasuke NAGANO, Seigo YAMAMOTO, Tatsuya KASAI, Tomoshi NISHIZAWA, Masahiro MIZUTANI, Taijiro MATSUSHIMA, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan

010-14

Flow cytometryを用いたラット精巣毒性検査方法の検討 — EthynylestradiolとAdriamycin、4週間投与の影響—

○加藤千明¹、堀井郁夫¹、北嶋 聡²、相賀裕美子²、井上 達²

¹日本ロシュ株式会社 研究所 前臨床科学研究部、²国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

[目的] 我々は、DNA量と細胞の大きさにより精巣細胞を分類する手法を検討し、前回(第27回)の本学会にてcyclophosphamide(CP)を用いた結果について報告した。異なる精巣障害像を示す薬剤についても検討するため、Ethynylestradiol(EE)とAdriamycin(ADR)について検討した。[方法] EEは、0、3、10 mg/kgの用量で9週齢SD系統雄ラットに4週間、経口投与した。一方、ADRについては、0、1、2 mg/kg用量で6週齢のSD系統雄ラットに4週間(1回/week)、静脈内投与を行った。各投与動物より解離精巣細胞を調製し、Flow cytometryを用いてDNA量と細胞の大きさにより各精巣細胞を分類・定量し、その障害像を調べた。[結果及び考察] 精巣細胞は、DNA量により、Sub-n(成熟精子)、n(精細胞)、2n(体細胞、精原細胞 etc.)、4n(精母細胞 etc.)に分かれ、細胞の大きさにより、さらにL(小型)とR(大型)に分けられる。EE、4週間投与により、2n-L以外の分画は投与群で著明に減少していた。一方、ADR、4週間投与後はn-R、2n-L、2n-R、4n-L及び4n-Rが減少しており、精原細胞から精細胞までが障害を受けていることが示唆された。前回のCPの結果を含め、Flow cytometryを用いてDNA量と細胞の大きさにより精巣細胞を分類する方法は、簡便に、かつ精度よく精巣の障害像を把握できることが示された。本研究は、Human Science総合研究事業の一環として実施した。

The assessment of dual parameter flow cytometry analysis to detect the testicular toxicity caused with ethynylestradiol and adriamycin in rats

Chiaki KATOH¹, Ikuo HORII¹, Satoshi KITAJIMA², Yumiko SAGA², Tohru INOUE², ¹Department of Preclinical Science, Nippon Roche Research Center, Kanagawa, Japan, ²Department of Toxicology, Biological Safety Research Center, NIHS, Tokyo, Japan

010-15

Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) のマウス雌性生殖器に及ぼす影響

○曾根秀子¹、川野道宏¹、那須民江³、米元純三^{1,2}、遠山千春^{1,2}

¹国立環境研究所 重点特別研究プロジェクト、²科学技術振興事業団 CREST、³信州大学 医学部

DEHPはperoxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) に結合し、PPAR α の標的遺伝子発現に影響を与えることが知られている。また、精巣毒性を誘発することが知られているが、雌性生殖への影響に関しては十分な研究がなされていない。そこで我々は、DEHPによる雌性生殖への影響とPPAR α の関与について、継世代曝露の影響を検討した。0.05%のDEHP混餌飼料 (80 mg/kg/day相当) をPPAR α (+/+)及びPPAR α (-/-)マウスの3世代 (F0-F2) に渡り自由摂食させた。F0の12週齢からDEHP食曝露を開始し、F0の36週齢、F1及びF2は16週齢で解剖した。各世代とも、卵巣、精巣、肝臓及び脳を採取した。各臓器中より全RNAを抽出し、定量的real-time RT-PCRによってestrogen Receptor (ER)のmRNA発現量を測定した。その結果、DEHP投与群においては、control群に比べPPAR α (+/+)マウス卵巣のER発現量がF1及びF2で有意に抑制した。一方、PPAR α (-/-)においては、DEHPの曝露による影響は認められなかった。さらに、精巣、肝臓及び脳におけるERのmRNA発現量にもDEHPの曝露による影響は認められなかった。さらに、F0及びF1の血清estradiolレベル、F2のaromatase mRNAの発現量を測定したところ、いずれもPPAR α (+/+)のDEHP曝露群で上昇し、PPAR α (-/-)のDEHP曝露群では曝露による影響が認められなかった。以上の結果より、testosteroneからestradiolへの変換酵素であるaromataseのmRNA発現の上昇が、estradiolレベルを上げ、その結果ER発現が抑制的に制御を受けたものと考えられた。更に、これらの経路の変化はPPAR α を介しているものと考えられた。

Effects of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on reproductive organs of female mice

Hideko SONE¹, Michihiro KAWANO¹, Tamie NASU³, Junzou YONEMOTO^{1,2}, Chiharu TOHYAMA^{1,2}, ¹National Institute for Environmental Studies, ²JST CREST, ³Shinshu University, School of Medicine

010-16

塩酸イリノテカン (CPT-11) 過量投与時の毒性発現におけるアセチルコリンエステラーゼ阻害の関与について

○三浦浩蔵、加藤幾雄、尾上正治、横倉輝男

株式会社ヤクルト本社 中央研究所

目的抗癌剤塩酸イリノテカン (CPT-11) 過量投与時の臨床的な毒性中和方法を確立するため、CPT-11の急性毒性発現におけるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) の阻害作用の関与とその作用を寛解することにより毒性中和が可能であるかマウスを用いて検討した。方法動物は5週齢のSlc:ddy系雄性マウスを用いた。CPT-11過量投与による毒性発現に対する各種薬剤の中和効果を検討するため、過量のCPT-11と各種薬剤を混合し、マウスの尾静脈内に投与後、毒性発現を観察した。薬剤はAChE阻害剤の中和剤であるアトロピンをはじめとし、プラリドキシムヨウ化メチル、臭化プロバンテリン、塩酸トリヘキシフェニジル、乳酸ビペリデン、塩化ツボクラリン及び臭化ヘキサメトニウムを用いた。またCPT-11投与後の脳内アセチルコリン量はHPLCを用いて測定した。結果・考察CPT-11過量投与時の毒性発現に対して、アトロピン及び他のいずれの薬剤も中和効果を示さなかった。一方AChE阻害剤であるフィズスチグミンによる毒性発現はアトロピンで完全に抑制された。また脳内アセチルコリン量は、フィズスチグミン投与による増加に比し致死量のCPT-11を投与した場合でも、はるかに低い値を示した。以上のことから、CPT-11過量投与時の毒性発現においてAChE阻害作用の関与は少ないと考えられた。

Correlation between an inhibition of acetylcholinesterase and a lethal toxicity induced by overdose-injection of irinotecan hydrochloride (CPT-11)

Kouzou MIURA, Ikuo KATO, Masaharu ONOUE, Teruo YOKOKURA, Yakult Central Institute for Microbiological Research

010-17

輸送系Lアミノ酸トランスポーターの血液・組織関門における発現と³⁵S-メチル水銀輸送特性の検討

○金 徒慶、車 碩鎬、松尾洋孝、小林ゆかり、金井好克、遠藤 仁

杏林大学 医学部 薬理学教室

アミノ酸輸送系Lは、大型の中性アミノ酸の細胞膜透過を担当するトランスポーターであり、一般の細胞に栄養素としてのアミノ酸を供給する他、血液・脳関門や胎盤関門などの血液・組織関門を介するアミノ酸透過の通路となる。その基質選択性が広いことから、アミノ酸類似化合物も透過し、L-DOPA等の薬物の細胞膜透過経路としても知られている。また、水俣病の起因物質であるメチル水銀は、生体内においてシステインと非酵素的に容易に反応し、メチオニンと類似構造をもつ化合物を生成するため、輸送系Lを透過し体内に分布すると考えられてきた。今回我々は、輸送系Lに相当する2種のトランスポーターLAT1、LAT2およびその機能発現に必要な補助因子4F2hcに対する特異抗体を作製し、ラットおよびヒトの血液・組織関門における存在を免疫組織化学的に検討した。その結果、LAT1、LAT2、4F2hcともに、血液・脳関門を形成する脳毛細血管内皮細胞および胎盤関門を形成する合体絨毛細胞に存在することが明らかになった。また、メチル水銀システイン抱合体の³⁵S-標識体を合成し、ツメガエル卵母細胞に発現させたLAT1およびLAT2を用いて輸送実験を行なったところ、両者ともメチル水銀システイン抱合体を高親和性に輸送することが明らかになった。本研究により、LAT1およびLAT2は、メチル水銀の血液・組織関門透過の経路として重要な役割を果たすことが示された。

Expression of system L amino acid transporters in the blood-tissue barriers and the transport of ³⁵S-methylmercury

Do Kyung KIM, Seok Ho CHA, Hirota Matsuuo, Yukari Kobayashi, Yoshikatsu Kanai, Hitoshi Endou, Department of Pharmacology and Toxicology, Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan

010-18

Functional Observational Batteryに関する国内、海外非臨床試験受託機関へのアンケート調査

○清水賢治、赤池雅司、西田信之、谷口勝彦、前田康行、森山智之、西村千尋、久世 博、松澤利明

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】神経行動毒性の一次評価法であるFunctional Observational Battery (FOB:機能観察試験)の実施状況について、国内および海外の非臨床試験受託機関(CRO)の現状を把握する目的でアンケート調査をおこなった。【調査方法】化学物質安全性試験研究受託研究機関協議会加盟23社及び海外CRO 22社を対象にアンケート調査を実施し、国内CRO 15社および海外CRO 13社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】FOBの情報入手に関しては、国内CROでは、製薬企業と比較して情報の入手が早く、海外CROでは国内よりも更に入手時期が早かった。情報入手先は、国内ではEPAもしくはOECDガイドラインであったが、海外ではさらに専門雑誌から入手しているとの回答も多くみられた。FOB受託経験のあるCROは、国内ではほぼ半数、海外では3/4であり、被験物質は国内・海外CROともに化学物質についての受託が一番多かった。しかし、国内で開発医薬品を使用したのは2社であったのに対し、海外ではほとんどの施設で開発医薬品を用いてFOBを実施していた。国内・海外CROともに、EPA及びOECDガイドラインの適用には大筋では問題ないと考えているが、細部については修正が必要だとしている。毒性試験、安全性薬理試験のどちらにFOBを組み入れるかについては意見が分かれた(国内・海外CROともに、ほぼ1:1)。使用動物種としては、第一選択としてラットがあげられた。

Questionnaire survey of functional observational battery in domestic and foreign non-clinical contract research organizations

Kenji Shimizu, Masashi Akaike, Nobuyuki Nishida, Katsuhiko Taniguchi, Yasuyuki Maeda, Tomoyuki Moriyama, Chihiro Nishimura, Hiroshi Kuse, Toshiaki Matsuzawa, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

011-01

ヒトCYP1A1により活性化される変異原物質2-phenylbenzotriazole(PBTA)類によるヒトCYP1A1の誘導

○山崎義征¹、藤田健一¹、斎藤鉄也¹、高橋芳樹¹、若林敬二²、鎌滝哲也¹

¹北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野、²国立がんセンター 研究所 がん予防研究部

[目的] 2-Phenylbenzotriazole (PBTA) 類は河川水から新規に単離された変異原物質である。演者らはPBTA類がヒトCYP1A1によって特異的に活性化されることを見出した。ヒトCYP1A1は肝には常在的にはほとんど発現しない。本研究では、PBTA類が自らの活性化に関与するCYP1A1を誘導するか否かを検討した。[方法・結果] ベンゼン環の4位に結合した窒素の置換基が異なる2種類のPBTA類 (PBTA-1 [-N(C²H⁴OCH₃)₂] およびPBTA-2 [-N(C²H₅)C²H⁴CN]) について検討した。ダイオキシン類などによりCYP1A1の発現が誘導される細胞株である、ヒト肝がん由来HepG2細胞をPBTA類に曝露し、CYP1A1 mRNAの発現量をS1マッピング法により定量した。CYP1A1 mRNAの発現量は0.1 μMから1 μMの範囲でPBTA類の濃度依存的に増加した。ダイオキシン類などは芳香族炭化水素受容体 (AhR)/AhR核移行因子 (Arnt) 複合体の形成を誘導する。形成した複合体はCYP1A1遺伝子の5'-上流領域の異物応答配列 (XRE) に結合しmRNAの発現を誘導する。PBTA類によるAhR/Arnt複合体のXREへの結合の誘発を、HepG2細胞の核抽出液を用い、XREをプローブとしたゲルシフトアッセイにより検討した。PBTA類で処理したHepG2細胞の核抽出液を用いたときにXREのシフトバンドが検出された。さらに、スーパーシフトアッセイによりこのバンドはAhR/Arnt複合体であることを明らかにした。以上、PBTA類が AhR/Arnt複合体を介してヒトCYP1A1を誘導することを明らかにした。

Induction of human CYP1A1 by 2-phenylbenzotriazoles (PBTAs) which are metabolically activated by CYP1A1

Yoshiyuki YAMAZAKI¹, Ken-Ichi FUJITA¹, Tetsuya SAITO¹, Yoshiki TAKAHASHI¹, Keiji WAKABAYASHI², Tetsuya KAMATAKI¹,
¹Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan, ²Cancer Prevention Division, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan

011-02

Cytochrome P450 1B1 genetic polymorphisms in relation to cancer susceptibilities in humans

○島田 力¹、Soisungwan Satarug²、Elizabeth Gillam³、Frederick Guengerich⁴、井上 清¹

¹大阪府立公衆衛生研究所、²National Research Center for Environmental Toxicology、
³University of Queensland、⁴Vanderbilt University

Eight human cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) allelic variants, substituted at residues 48, 119, and 432, were expressed in *Escherichia coli* together with human NADPH-P450 reductase and their catalytic specificities towards oxidation of 17β-estradiol and benzo[a]pyrene were determined. The results suggest that these CYP1B1 protein variants may have altered catalytic specificity with 17β-estradiol and benzo[a]pyrene and may influence susceptibilities of individuals towards carcinogens of endogenous and exogenous origin. Polymorphisms of CYP1B1 gene were then analysed in thirty-six lung cancer patients who underwent thoracic surgery at the hospital in Brisbane and thirty-five non-cancer cases drawn from the sample of Queensland residents. A statistically significant higher frequency of CYP1B1*2 mutant allele was found in the lung cancer sample group (17%) compared to the control sample group (3%). This may suggest increased lung cancer risk in people who have homozygous CYP1B1*2 mutant allele of the CYP1B1 gene.

Cytochrome P450 1B1 genetic polymorphisms in relation to cancer susceptibilities in humans

Tsutomu SHIMADA¹, Soisungwan SATARUG², Elizabeth GILLAM³, Frederick GUENGERICH⁴, Kiyoshi INOUE¹,
¹Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka, Japan, ²National Research Center for Environmental Toxicology, Brisbane, Australia Centre for Environmental Toxicology, Australia, ³University of Queensland, St. Lucia, Australia, ⁴Vanderbilt University, Nashville, USA

011-03

DMBAの発生毒性に母体と胎児、どちらの薬物代謝酵素が重要か？

○宮田昌明¹、本木和子¹、高橋公一¹、田村悦子¹、Frank J. GONZALEZ²、山添 康¹

¹東北大学 大学院 薬学研究科 薬物動態学分野、²米国立衛生研究所

発生毒性は化学物質の暴露される個体（母体）と毒性が発現する個体（胎児）が異なるため、機序解明には母体胎児間での化学物質の代謝、動態の解析が非常に重要である。本研究では毒性発現にcytochrome P450 (CYP)とmicrosomal epoxide hydrolase (mEH)の関与が示唆される7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)の発生毒性における母体と胎児の薬物代謝酵素の役割についてmEH欠損(-/-)マウスとその野生型(+/+)マウスを用いて検討した。胎児線維芽細胞の細胞毒性の検討によりCYP, mEHによる代謝物であるDMBA-3,4-diolがDMBAの毒性発現における活性中間体であることが示された。DMBAの発生毒性試験において野生型マウスはmEH欠損マウスに比べて有意に強い胎児毒性を示した。一方mEH欠損マウスの産んだ欠損型(-/-)とヘテロ型(+/-)の胎児では毒性発現に有意な差は認められなかった。HPLC解析により、DMBA処理した妊娠野生型マウスの血漿中および肝臓、胎盤ミクロソームによるDMBA代謝物中にDMBA-3,4-diolが検出されたが、欠損マウスでは認められなかった。また胎児肝臓ミクロソームではいずれのマウスでもDMBA-3,4-diolは検出されなかった。以上の結果よりDMBAによる発生毒性の発現には母体側でのmEHの関与する代謝が重要であることが示唆された。

Which is involved in DMBA-induced developmental toxicity, maternal or embryonic metabolizing enzyme?

Masaaki MIYATA¹, Kazuko MOTOKI¹, Koichi TAKAHASHI¹, Etsuko TAMURA¹, Frank J. GONZALEZ², Yasushi YAMAZOE¹,

¹Division of Drug Metabolism and Molecular Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Sendai, Japan,

²National Institutes of Health, Bethesda, USA

011-04

BCG及びLPSによるCYPダウンレギュレーションにおける炎症性サイトカインの役割解明

○芦野 隆¹、小黑多希子¹、塩田清二²、宝来玲子³、浅野雅秀³、岩倉洋一郎³、吉田武美¹

¹昭和大学 薬学部 毒物学、²昭和大学 医学部 第一解剖、

³東京大学 医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター

【目的】シトクロムP450ダウンレギュレーションには、様々なサイトカインが深く関与していると言われているが、個々のサイトカインにおける役割は解明されていない。そこでCYPダウンレギュレーションと各サイトカインとの関連性を明らかにする目的で、BCG又は、LPSを炎症性サイトカイン欠損マウス(KO)に投与し比較検討を行った。【方法】本実験には、IL-1 α / β KO、IL-6KO、TNF α KOマウス及びwildマウスを用い、BCGまたはLPSを腹腔内投与した。【結果及び考察】BCGをwildマウスに投与したところCYP3A11 mRNAで著明なダウンレギュレーションが見られた。この結果からサイトカイン欠損マウスで検討を行ったところ、IL-6KOでBCGのCYPダウンレギュレーション効果がほとんど消失するという結果が得られた。しかし、LPS投与では、IL-6KOにおいてもCYPダウンレギュレーションが見られた。次にIL-6シグナル伝達に必要なSTAT1/3リン酸化を検討した。その結果IL-6KOでは、BCG、LPSどちらの投与でもSTAT3のリン酸化は起こらなかったが、STAT1のリン酸化はLPS投与だけでわずかながら生じていた。これらの結果より、IL-6がBCGのCYPダウンレギュレーションの主要なサイトカインになっていること、またBCGとLPSの作用の違いにSTAT1のリン酸化が一部関与していることが示唆された。

A role of inflammatory cytokine in CYP down-regulation caused by BCG or LPS

Takashi ASHINO¹, Takiko OGURO¹, Seiji SHIODA², Reiko HORAI³, Masahide ASANO³, Yoichiro IWAKURA³, Takemi YOSHIDA¹,

¹Dep. Biochem. Toxicol. Sch. Pharmaceut. Sci., Showa Univ., Tokyo, Japan, ²Dep. Anatomy Sch. Med., Showa Univ., Tokyo, Japan, ³Inst. Med. Sci., Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan

011-05

Equileninによる異物代謝酵素の誘導

○神野あすみ、丸山 豊、石塚真由美、数坂昭夫、藤田正一

北海道大学 大学院 獣医学研究科 環境獣医学講座 毒性学教室

【目的】 Equileninは妊馬の尿中に排出される10種のエストロゲンのうちの1種であり、馬の抱合型エストロゲン製剤（プレマリン）は女性の閉経後のホルモン補充療法に用いられている。Equileninはその平面構造がBenzo(a)pyreneと類似していることから、Ah受容体 (AhR)に結合しcytochrome P450 (CYP) 1A subfamilyに代表されるAhR介在性の異物代謝酵素を誘導することが予想される。本実験ではEquileninによる CYP1A分子種の誘導をin vivo、in vitroで検討した。【成績】 AhRのリガンドに対する感受性系統 (C57BL)と非感受性系統 (DBA)マウスを用いてEquileninによるcyp1aの誘導効果を比較した。Benzo(a)pyreneによるCyp1aの誘導はC57BLで顕著であったがDBAではほとんど見られなかった。これに対しEquilenin投与群では、肝ミクロソームにおいて両系統共にCyp1a蛋白の発現量、酵素活性の濃度依存的な増加がみられた。【考察】 in vivoで得られた結果よりEquileninによるCyp1a分子種の誘導は、多環式芳香族炭化水素、多塩素化芳香族炭化水素などで報告されているAhR介在性の一般的な誘導機構とは別の機序で起こることが予想される。マウスAhRとEquileninのbinding assayにより、この可能性を検討中である。またomeplazoleなどによるCYP1A分子種の誘導はAhR非依存性であり、この誘導にはチロシナーゼ系が関与することが報告されている。EquileninによるCyp1a分子種の誘導にはリン酸化シグナルも関与しているのかもしれない。

Induction of P450 isozymes by equine estrogen, equilenin

Asumi JINNO, Yutaka MARUYAMA, Mayumi ISHIZUKA, Akio KAZUSAKA, Shoichi FUJITA, Laboratory of Toxicology, Department of Environmental Veterinary Sciences, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

011-06

NAD(P)H: quinone oxidoreductase¹ (NQO¹)の誘導に見られる動物種差の分子機構

○伊藤圭輔、高橋芳樹、北川 学、鎌滝哲也

北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野

【目的】 NAD(P)H: quinone oxidoreductase¹ (NQO¹)は、複素環アミンの代謝的活性化に関与し、ダイオキシンなどの多環芳香族炭化水素 (Ah)によってその発現が誘導される。しかし、モルモットではAhを投与してもNQO¹が全く誘導されず、たばこ煙中の複素環アミンに対する発がん感受性も低いことが知られている。そこで本研究では、NQO¹の誘導における動物種差の原因を分子レベルで解明することを目的とした。【方法・結果】 Ahによる誘導的発現に関与する異物応答配列 (XRE)はモルモットNQO¹遺伝子上にも存在していた。このXREをプローブとしてゲルシフトアッセイを行ったところ、Ahによる誘導を媒介するAhR/Arnt複合体は、このXREに対して結合活性を示した。しかし、このXREをルシフェラーゼ遺伝子に連結したレポータープラスミドをヒト肝がん由来HepG2細胞に導入しても、Ahによる転写活性化は認められなかった。HepG2細胞由来の核抽出液を用いてゲルシフトアッセイを行ったところ、このXREにはAhR/Arnt複合体以外の未知の因子が結合した。この因子に由来するシフトバンドは、抗Sp1抗体の添加によりスーパーシフトした。以上の結果より、モルモットではNQO¹遺伝子のXREにSp1が結合し、AhR/Arnt複合体が結合できなくなった結果、本遺伝子がAhにより誘導されず、複素環アミンに低感受性を示す可能性が示された。

Molecular mechanism of species difference seen in NAD(P)H: quinone oxidoreductase¹ (NQO¹) induction

Keisuke ITOH, Yoshiki TAKAHASHI, Manabu KITAGAWA, Tetsuya KAMATAKI, Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan

011-07

Brown NorwayおよびFischerラットのアレルギー感作・吸入に対する生体反応へのホルムアルデヒドの短期曝露の影響

○大塚亮一¹、今岡浩一²、首藤康文³、藤江秀彰³、山口 悟³、春田純子³、
木村豊恵³、武田眞記夫³、中山裕之¹、原田孝則³、土井邦雄¹

¹東京大学 大学院 農学生命科学研究科 獣医病理、²公衆衛生院、³(財)残留農薬研究所

【目的】我々は、今回近年問題となっているHCHOの喘息への影響と、呼吸器系粘膜のHCHOに対する反応性の違いとの関連を検討するため、HCHOに対する感受性の異なるBrown NorwayおよびFischer344ラットを用いてアレルギー吸入に対する反応へのHCHO短期曝露の影響について検討した。【材料と方法】6週齢雄のBN/CrjおよびF344/DuCrjラットに対し、HCHO水溶液または蒸留水(HCHO群、DW群)の5日間曝露の直後から間をおいてオボアルブミン(OVA)生理食塩水溶液を鼻部曝露して感作・曝露した。検索項目としては血清中IgE抗体レベルの定量と、呼吸器系組織についてHE染色標本に対して、顕微鏡観察をおこなった。【結果と考察】総および特異的IgE抗体レベルを定量した結果、F344ラットではHCHO群で総IgEレベルがDW群に比べて有意に増加していたのに対し、BNラットでは両群に有意な差は認められなかった。顕微鏡観察の結果では、両系統でHCHO群とDW群間に差は認められなかった。以上の結果より、IgE産生に関してはBNラットよりもF344ラットにおいて、HCHOによる産生増強作用が強く認められることが示唆された。現在、炎症やアレルギーに関与するといわれているサイトカイン類のmRNAについてRT-PCRを用いた検討をおこなっている。

The effects of formaldehyde inhalation on the responses to allergen challenge in Brown Norway and Fischer 344 rats

Ryoichi OHTSUKA¹, Koichi IMAOKA², Yasufumi SHUTOH³, Hideaki FUJIE³, Satoru YAMAGUCHI³, Junko HARUTA³, Toyoe KIMURA³, Makio TAKEDA³, Hiroyuki NAKAYAMA¹, Takanori HARADA³, Kunio DOI¹, ¹Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, Tokyo, Japan, ²National Institute of Public Health, Tokyo, Japan, ³Institute of Environmental Toxicology, Mitsuoka, Japan

011-08

メトキシクロール (MXC) 投与ラットの出生仔における胸腺細胞のアポトーシスの発現

○竹内幸子、小坂忠司、林 宏一、武田眞記夫、吉田敏則、真板敬三、原田孝則

財団法人残留農薬研究所

【目的】MXCは有機塩素系農薬の一つで、エストロゲン様作用により内分泌機能を攪乱することで近年注目されている。以前に実施した繁殖試験において、F1仔動物に胸腺の萎縮を主徴とする変化がみられ、免疫系組織に影響を及ぼすことが確認された。本研究では、MXCの幼若期曝露による胸腺細胞への影響をflow cytometry (FCM)およびreal time RT-PCR法により検討した。

【方法】SDラット(雄11週、雌8週齢)にMXC (0、100、500および1000 ppm)を6週間にわたり混餌投与し、投与3週目より交配を開始した。得られた雌雄のF1仔を生後2週および3週時に屠殺した。FCMにより胸腺リンパ球サブセットの分類(FITC-CD3、PE-CD8a、Cy-chrome-CD4)、ならびにFITC-dUTPを用いたTUNEL法によりアポトーシス細胞を検出した。さらに、残りの胸腺組織からtotal RNAを抽出し、TNF- α 、IL-6、TGF- β の発現量をRT-PCR法により検索した。

【結果および考察】幼若ラットにMXCを投与することにより胸腺細胞のアポトーシスが用量依存的に誘発された。これらの影響は生後2週時の雌で顕著であり、雌雄ともCD4+8+細胞の減少がみられ、これらのサブセットを標的細胞としていることが推察された。また、これらの影響は生後3週時には回復しており、雄では影響が長く残る可能性が示唆された。RT-PCRの結果、生後2週時ではTNF- α 、IL-6、TGF- β の発現量に差は認められなかった。現在、Fas、Fas-L、Estrogen receptorについて検索中である。

Apoptosis of thymic lymphocytes in immature rats by postnatal Methoxychlor exposure

Yukiko TAKEUCHI, Tadashi KOSAKA, Koichi HAYASHI, Makio TAKEDA, Toshinori YOSHIDA, Keizo MAITA, Takanori HARADA, The Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan

011-09

フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)の継代的免疫毒性について

○上野光一¹、名倉典子²、篠崎裕司²、長谷川愛²、中村智徳²、矢野眞吾²

¹千葉大学 大学院 薬学研究院 高齢者薬理学講座、²千葉大学 大学院 薬学研究院 薬物治療学講座

【目的】医療の現場において、塩化ビニル製医療用具から可塑剤の溶出が最近問題となっている。そこで我々は点滴セットなどのプラスチック製医療用具の可塑剤であるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)に着目し、継代的な免疫毒性について検討した。【方法】SD系ラットを用い、自家交配させた。DEHP(0.1~1.5g/kg/day)は器官形成期あるいは妊娠後期から離乳まで母獣に1日1回経口投与した。1. 胎仔、母乳中へのDEHP及びMEHPの移行量、2. 抗体産生能(PFC)に及ぼす影響、3. リンパ球幼若化反応の及ぼす影響、4. 遅延型過敏反応に及ぼす影響、5. フローサイトメトリーによるリンパ球表面抗原の解析【結果】1. 母獣に1g/kg/day妊娠後期に7日間投与したとき、胎仔にMEHPが存在し胎盤通過することがわかった。2. 器官形成期からの投与のF1雄で、PFC数の減少傾向が、F1雌でPFC数の増加傾向が見られた。妊娠後期からの投与では、F1雄でPFC数の増加傾向、雌で減少傾向が見られた。3. リンパ球幼若化反応に対しても投与時期や性差が見られ、変動した。4. 遅延型過敏反応に対しては妊娠後期からの投与のF1雌に有意な亢進が見られた。5. フローサイトメトリーによるリンパ球表面抗原の解析では、有意な変化は認められなかった。【結論】妊娠期から授乳期にかけて母獣が摂取したDEHPは仔に移行することが明らかになり、成長後の免疫機能が影響を受けることが示唆された。

Reproductive immunotoxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in rats

Koichi UENO¹, Noriko NAKURA², Yuji SHINOZAKI², Ai HASEGAWA², Tomonori NAKAMURA², Shingo YANO², ¹Geriatric Pharmacology & Therapeutics, Chiba University, Chiba, Japan, ²Molecular Pharmacology & Pharmacotherapeutics, Chiba University, Chiba, Japan

011-10

タモキシフェンで誘発されるラット肝過形成結節形成過程における発がん関連遺伝子の発現変動

○笠原利彦、出川雅邦

静岡県立大学 薬学部 衛生化学

【目的】タモキシフェン投与により誘発されるラット肝過形成結節形成と各種発がん関連遺伝子の発現との関連性を明らかにすることを目的とした。【方法】5週齢の雌SDラットに、タモキシフェン(20 mg/kg body/day)を単回あるいは2週間、12週間又は52週間連続的に経口投与した。投与各時期の動物を屠殺後、肝臓を摘出し、O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT)、apurinic/aprimidinic endonuclease (APE)、c-myc、cyclin D1、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、cyclin Bおよびcdc2 kinaseの遺伝子発現をRT-PCRを用いて測定した。【結果及び考察】タモキシフェン投与12週間後までは肉眼的な肝組織異常は観察されず、52週間投与によりはじめて肝過形成結節を認めた。一方、DNA修復酵素遺伝子MGMTの発現量は、タモキシフェン単回投与で増加がみられ、その増加は過形成結節形成まで継続した。また、APEの発現は2週間および12週間投与で増加したが、過形成結節形成時には対照群レベルにまで低下した。がん原遺伝子のc-myc、S期増殖マーカーのPCNAおよびG1/S期の制御遺伝子cyclin D1の発現量は、2週間から増加が見られ、過形成結節形成時に最大となった。また、G2/M期の制御遺伝子(cyclin Bやcdc2 kinase)は単回投与で増加が見られ、その増加は2週間および12週間投与で一旦減弱するが、その後、52週間投与時の特に非過形成結節部で著しい増加が見られた。以上の結果をもとに、タモキシフェンによる肝過形成結節形成と発がん関連遺伝子の発現との関連性を考察する。

Changes in the expression of the genes relating to chemical carcinogenesis during tamoxifen-induced hepatocarcinogenesis in rats

Toshihiko KASAHARA, Masakuni DEGAWA, Department of Molecular Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

011-11

DMBA誘発ラット乳腺発癌におけるPCB126胎生期曝露の修飾作用

○武藤朋子¹、和久井信¹、政岡俊夫¹、羽野 寛³、古里征国⁴、赤堀文昭²

¹麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、²麻布大学 獣医学部 生物科学総合研究所、
³慈恵医科大学 病理、⁴杏林大学 医学部 病理

【目的】 Co-PCBsは、環境中に高濃度に分布し胎盤・授乳を經由して移行することから次世代への影響が示唆されている。他のダイオキシン類に関する動物発癌実験は数多く行われ、発癌の過程が明らかにされつつあるのに対し、PCBに関する毒性の報告は未だに不十分である。そこで、Co-PCB胎生期曝露が7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) 誘発乳腺発癌へ如何なる影響を及ぼすかについて検討した。【方法】 SD(slc)ラット妊娠10-16日目までPCB126を0.25ug、2.5ng(投与群)、0g(対照群)/kg/day経口投与した。その後、生後50日目のF1雌にDMBAを20mg単回経口投与、その17週後まで実験病理学的に検討した。【結果】 17週での投与群の乳腺腫瘍発生率は、高い傾向を示したが有意差は認められなかった。乳腺腫瘍の経時的累積発生度の検討から、投与群では対照群と比べ腫瘍発生時期の遅延と延長が認められた。投与群の腫瘍では、高い発育進展度や、高いPCNA Indexを示し、浸潤度も亢進していた。また、腫瘍のDNA Ploidyの検討では、投与群でAneuploidを示す腫瘍が増加していた。BLISS (Bacus Lab. Inc.)を用いた形態計測で、高いNuclear Gradeが認められた。全Parametersは、0.25ugの方が2.5ng に比べ高値を示した。【総括】 PCB126胎生期曝露の次世代におけるDMBA誘発ラット乳腺発癌では、乳腺腫瘍の発生時期の遅延と延長、及び乳腺腫瘍の悪性度の亢進を示した。さらに高濃度曝露についても検討中である。

In utero and lactational exposure of 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl modulate the DMBA-induced rat mammary carcinogenesis

Tomoko MUTO¹, Shin WAKUI¹, Toshio MASAOKA¹, Hiroshi HANO³, Masakuni FURUSATO⁴, Fumiaki AKAHORI², ¹Comparative Toxicology Laboratories, Azabu University, School of Veterinary Medicine, Kanagawa, Japan, ²Research Institute of Biosciences, Azabu University, Kanagawa, Japan, ³Department of Pathology, The Jikei University, School of Medicine, Tokyo, Japan, ⁴Department of Pathology, Kyorin University, School of Medicine, Tokyo, Japan

011-12

p53ノックアウトCBAマウスを用いた子宮発癌モデルにおける
内分泌攪乱化学物質の子宮発癌修飾作用について

○上田 誠¹、三森国敏^{1,2}、小野寺博志¹、高木久宜¹、安原加壽雄¹、瀧澤 保¹、広瀬雅雄¹

¹国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²東京農工大学 家畜病理

【はじめに】 近年弱いエストロゲン作用を示す内分泌攪乱化学物質(EDCs)の健康への影響が懸念されている。我々はp53ヘテロ欠損CBAマウスにN-ethyl-N-nitrosourea (ENU)を単回投与すると高率に子宮腫瘍が誘発され、その後ethinylestradiol (EE)を与えると子宮腫瘍の発生頻度が増加するが、弱いエストロゲン作用を有するMethoxychlor、Bisphenol A、きなこには子宮発癌修飾作用がないことを報告してきた。今回、本モデルを用いてEDCsであるGenistein (GE)、Nonylphenol (NP)およびAtrazine (AT)の子宮発癌修飾作用について検討したので、これまで得られた結果を含め、EDCsの本モデルにおける子宮発癌修飾作用について報告する。

【方法】 雌p53(+/-)マウスに対してENU120mg/kgを単回腹腔内投与し、その1週間後よりGE (25, 250ppm)、NP (25, 250ppm)、AT (400ppm)を2週間混餌投与して子宮腫瘍への修飾作用について検討した。なお対照群にはENU投与後、基礎食を投与した。【結果・まとめ】 対照群では子宮内膜肉腫が高頻度に認められ、強いエストロゲン作用を有するEE投与群ではその発生頻度ならびに子宮腫瘍のPCNA陽性率の増加が観察された。EDCs投与群ではいずれの被験物質とも子宮腫瘍の発現状況に対照群との差は認められなかった。以上より弱いエストロゲン作用を有するEDCsには子宮発癌に対し修飾作用のないことが示唆された。

Modifying effects of EDCs on ENU-induced uterine carcinogenesis in p53-deficient CBA mice

Makoto UEDA¹, Kunitoshi MITSUMORI^{1,2}, Hiroshi ONODERA¹, Hisayoshi TAKAGI¹, Kazuo YASUHARA¹, Tamotsu TAKIZAWA¹, Masao HIROSE¹, ¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Laboratory of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

011-13

癌原性芳香族アミンの代謝的活性化におけるヒトチトクロームP450の役割

○小田美光¹、Pramod Aryal¹、Elizabeth M. J. Gillam²、F. Peter Guengerich³、島田 力¹

¹大阪府立公衆衛生研究所 公衆衛生部 ウイルス課、²クイーンズランド大学、³バンダービルト大学

【目的】昨年度、ヒトチトクロームP-450(CYP)1A2とNADPH-P450還元酵素(OR)及びサルモネラのO-アセチル転移酵素(O-AT)を細胞内で発現する*umu*試験菌株は、芳香族アミンの遺伝子毒性を簡便に検出できることを報告した。今回、新たに他の6種類のヒトCYP分子種を導入した*umu*試験菌株を開発し、それらの菌株を用いて芳香族アミンの代謝的活性化におけるヒトCYPの関与について検討した。

【方法】2-アミノフルオレン(2-AA)、2-アミノアントラセン(2-AA)、2-ナフチールアミン(2-NA)、Glu-P-1、IQ、MeIQ、MeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2、PhIPについて検討した。7種類のヒトP450分子種(CYP1A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4)とOR及びO-ATを同時に発現する*umu*試験菌株を用いて、*umuC*遺伝子の発現を指標にして調べた。

【結果と考察】全てのヘテロサイクリックアミンと2-AA、2-AFは、CYP1A2を発現する菌株で検出された。IQは、CYP1A1とCYP1A2の両菌株で検出された。Trp-P-1とTrp-P-2の場合は、全ての菌株によって検出された。しかしながら、2-NAは全ての菌株で検出されなかった。これらの結果から、ヒトCYP1A2は、主に癌原性芳香族アミンの代謝的活性化に関与していることが示唆される。

Role of human P-450 enzymes in the metabolic activation of carcinogenic aromatic amines

Yoshimitsu ODA¹, Pramod ARYAL¹, Elizabeth M. J. GILLAM², F. Peter GUENGERICH³, Tsutomu SHIMADA¹, ¹Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka 537-0025, Japan, ²Queensland University, Queensland, Australia 4072, ³Vanderbilt University, Sch. Med., Tennessee, 37232 U.S.A.

011-14

ヒトとマウスのCYP2Aの毒性学的役割の比較

○宮崎雅史、藤田健一、鎌滝哲也

北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野

【目的】マウスにはCYP2A4、CYP2A5およびCYP2A12のCYP2A分子種が存在する。それぞれのCYP2Aのアミノ酸配列はヒトCYP2A6と83、85および69%の相同性を示す。CYP2A6は4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)などのたばこ煙中のN-ニトロソアミン類を代謝的に活性化する。そこで*in vivo*におけるCYP2AのN-ニトロソアミンの代謝的活性化における役割を検討することを目的とし、本研究ではマウスCYP2AのN-ニトロソアミン類の変異原活性化における役割を検討し、CYP2A6と比較することを目的とした。【方法】マウスの各CYP2AとNADPH-CYP還元酵素(OR)を同時に発現するサルモネラ菌YG7108株を樹立した。まず、サルモネラ菌YG7108株に発現した各CYP2Aが酵素活性を有するか否かをそれぞれの分子種に典型的な基質を用いて検討した。続いて、樹立したサルモネラ菌を用いて変異原性試験を行い、マウスの各CYP2Aがたばこ煙中に含まれる7種類のN-ニトロソアミン類を活性化するか否かを検討した。CYP2A6との比較にはCYP2A6とORを同時に発現するサルモネラ菌YG7108株を用いた。【結果】サルモネラ菌に発現したマウスの各CYP2Aは典型的な基質に対して触媒活性を示した。変異原性試験の結果、CYP2A4およびCYP2A5は、CYP2A6に比べてNNKを効率よく活性化することを明らかにした。NNK以外のN-ニトロソアミン類の活性化におけるCYP2A4およびCYP2A5の寄与はCYP2A6と同程度、またはそれ以下であった。CYP2A12はN-ニトロソアミン類を活性化しなかった。以上、N-ニトロソアミン類の活性化におけるマウスCYP2Aの毒性学的役割を解明した。

Comparison of the toxicological roles of mouse CYP2A with human CYP2A6

Masafumi MIYAZAKI, Ken-Ichi FUJITA, Tetsuya KAMATAKI, Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan

011-15 ヒトとラットのCYP2Aの毒性学的機能の比較検討

○井上朋子、藤田健一、鎌滝哲也

北海道大学 大学院 薬学研究科 代謝分析学分野

【目的】CYP2A1およびCYP2A3はラットに発現するCYP2A分子種である。CYP2A1は主に肝臓に、CYP2A3は肺および鼻腔粘膜に発現している。本研究では、たばこ煙中のN-ニトロソアミン類の活性化におけるラットCYP2Aの機能を明らかにし、ヒトCYP2A6と比較することを目的とした。【方法】ラットCYP2A1およびCYP2A3のそれぞれを発現するサルモネラ菌YG7108株を樹立した。樹立した菌株におけるCYPの発現が最大になる培養条件を検討した。Isopropyl- β -D(-)-thiogalactopyranoside (IPTG) 添加後の培養時間をパラメーターとした。サルモネラ菌株に発現したCYPの酵素活性を、それぞれの分子種の典型的な基質を用い検討した。樹立したサルモネラ菌株を用いて変異原性試験を行い、ラットCYP2Aがたばこ煙中のN-ニトロソアミン類を代謝的に活性化するか否かを検討した。当研究室にて樹立したCYP2A6を発現するサルモネラ菌YG7108株を用いた変異原性試験の結果と比較した。【結果】CYP2A1はIPTG添加後18時間、CYP2A3は12時間において最大量発現した。CYP2A1の発現量は240 nmol/L culture、CYP2A3の発現量は140 nmol/L cultureであった。サルモネラ菌YG7108株に発現したCYP2A1はテストステロン7 α -水酸化酵素活性を、CYP2A3はクマリン7-水酸化酵素活性を有していた。CYP2A3は、4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanoneおよびN-nitrososornicotineをCYP2A6より強く変異原活性化した。CYP2A1はN-ニトロソアミン類を代謝的に活性化しなかった。以上、たばこ煙中のN-ニトロソアミン類の変異原活性化におけるラットCYP2A分子種の毒性学的機能を明らかにした。

Comparison of toxicological function of human and rat CYP2A

Tomoko INOUE, Ken-Ichi FUJITA, Tetsuya KAMATAKI, Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan

011-16 タール系合成食用色素のin vivo遺伝毒性評価

○川口恵未¹、佐々木有¹、津田修治²

¹八戸工業高等専門学校 物質工学科、²岩手大学 農学部 獣医学科

わが国で一般に用いられている合成食用色素の中には染色体異常試験で陽性となるものの、in vivoの遺伝毒性が検討されていないものが少なからず存在する。Azo化合物である赤色2号(Amaranth)については、結腸で強い遺伝毒性を示すことを既に報告した。ここでは、赤色2号も含め、我が国で使用されている指定食品添加物の中から、azo型、xanthene型、triphenylmethane型の食用色素12種のin vivo遺伝毒性をマウス多臓器で詳細に検討した。各食用色素を2000mg/kgを最高用量として経口投与し、3、8、24時間後に屠殺し、8臓器のDNA損傷をComet assayで検出した。陽性となったものについては、低用量域で投与し、遺伝毒性が認められなくなる最高用量を求めた。Azo型色素の赤色2号、102号、黄色4号には結腸で強い遺伝毒性が認められた。Xanthene型の食用色素ではハロゲン化した赤色104号、赤色105号に胃と結腸で強い遺伝毒性が認められた。これらの遺伝毒性のNOAELは1 mg/kgという低い用量であり、癌原性azo化合物であるButter Yellowのそれにほぼ匹敵するものであった。また、赤色102号、黄色4号で着色されている市販の漬け物が漬かっていた液を20 ml/kgで投与したところ、結腸にDNA損傷が認められた。なお、Triphenylmethane型の食用色素は検討した8臓器で陰性であった。このような結果から、合成食用色素の毒性について再検討の必要性が考えられる。

Evaluation of in vivo genotoxicity of synthesized food colors by the comet assay with mouse multiple organs

Satomi KAWAGUCHI¹, Yu F. SASAKI¹, Shuji TSUDA², ¹Hachinohe National College of Technology, Aomori, Japan, ²Iwate University, Morioka, Japan

011-17

二級アミン存在下における亜硝酸塩のin vivo遺伝毒性

○佐々木有¹、川口恵未¹、川口亜由未¹、土嶺章子¹、岩間香代子¹、津田修治²

¹八戸工業高等専門学校 物質工学科、²岩手大学 農学部 獣医学科

食品添加物として加えられた亜硝酸塩は、魚や肉に多く含まれるアミン類と酸性下で反応してN-nitrosoamineを生ずる。N-Nitrosoamineの多くは肝癌原性であるが、骨髄小核法では遺伝毒性の検出が困難な化合物である。そのため、二級アミン存在下における亜硝酸塩のin vivo遺伝毒性は未だ検出されていない。今回、comet assayによって二級アミン存在下における亜硝酸塩のin vivo遺伝毒性をマウス多臓器で検討した。亜硝酸ソーダを二級アミン(Dimethylamine、Morpholine、Proline)と同時にマウスに経口投与し、3、24時間後に屠殺し、8臓器のDNA損傷をComet assayで検出した。亜硝酸ソーダおよび用いた二級アミンには遺伝毒性が認められなかった。しかし、亜硝酸ソーダを二級アミンを同時に投与すると、肝に強い遺伝毒性が認められた。その他、消化管系にも遺伝毒性が認められた。この遺伝毒性は、亜硝酸ソーダを還元分解するvitamin Cを同時に投与することで完全に抑制された。以上の結果は、亜硝酸ソーダとアミン類から体内で生成するN-nitrosoamineの遺伝毒性を世界で初めて証明したものである。一般に、化学物質の安全性評価は単独物質として行われる。しかしながら、亜硝酸ソーダのように、添加対象物質と反応する可能性が考えられる場合は、それらの相互作用を考慮に入れた形での評価の必要性が示唆される。

Evaluation of in vivo genotoxicity of N-nitrosoamines derived from sodium nitrite and secondary amines

Yu F. SASAKI¹, Satomi KAWAGUCHI¹, Ayumi KAWAGUCHI¹, Shoko TSUCHIMINE¹, Kayoko IWAMA¹, Shuji TSUDA²,

¹Hachinohe National College of Technology, Aomori, Japan, ²Iwate University, Morioka, Japan

011-18

Punマウスを用いる生体内遺伝子組換えの検出

○渡谷 徹、佐藤昌子、森村智美、松本浩孝、須井 哉、原 巧

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所

[目的] 遺伝子組換えを含む遺伝的不安定性は、化学物質や放射線による発癌、催奇形および生殖細胞の変異など、種々の毒性的事象の原因の1つと考えられている。

Pun マウスはC57BL/6を背景とし、P遺伝子が重複しているため、高い頻度で遺伝子内組換えを起こし野生型に復帰するp unstable遺伝子をホモに持つマウスである。

[方法] ENU および芳香族炭化水素DMBAを用いてspot test を実施した。雄はPunホモ型を、雌は Pun/+へのヘテロ型を用いて交配し、その発生10.5日にENUあるいはDMBAを経胎盤投与した。この系では、p^{un}からPへの復帰突然変異(Mrev)およびPからpへの前進突然変異(Mfor)を同時に観察出来る。また発生10.5 日にはマウスの毛色を規定する原色素細胞は約200個あるので、それを基に誘発突然変異率を算定した。

[結果および考察] 体細胞でのPunの自然復帰突然変異率は非常に高く 32×10^{-5} であった。ENU あるいはDMBA投与による誘発復帰突然変異率はいずれも用量に依存して上昇した。前進突然変異率は、ENUでは用量に依存して上昇したが、DMBAでは明らかではなかった。そこで、これまでにPWマウス(a/a, b/b, c^{ch}/c^{ch}, d se/d se)を用いてENUおよび DMBAについて実施したspot testでの誘発突然変異率を用いて比較した。

ENUによるMrev/Mfor は用量に依存して明瞭に低下したが、DMBAでは用量に伴った明らかな変化は認められなかった。このことは、遺伝子内組換えは、DMBAにおいてENUよりも高率に誘発されていることを示している。

Intragenic recombinations by chemicals using Pun mice

Tohru SIBUYA, Masako SATO, Tomomi MORIMURA, Hirohisa MATSUMOTO, Hajime SUI, Takumi HARA, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Kanagawa, Japan

012-01

in vitroラット胎仔初代培養肺スフェロイド培養系による毒性評価系の検討

○猪又 見、井上智彰、堀井郁夫

日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部

今回我々はラット胎仔初代培養肺細胞にスフェロイド (SP) 培養法を応用し、肺SP形成過程における構成細胞について組織的に検索するとともに、bleomycin (BLM) およびpepleomycin (PEP) 処理により肺SPにおいて認められた病理組織学的変化について比較検討を行なったので報告する。SDラット胎仔より摘出した肺から単離細胞分散液を調製し、ロータリーシェイカー上で培養を開始した。培養開始後経時的に肺SPの組織標本作製し、HEおよびPAS染色、気管支線毛上皮細胞のマーカースとして抗beta-tubulin抗体、クララ細胞蛋白マーカーとして抗UPI抗体、さらに抗PCNA抗体を用い免疫組織化学的染色を行なった。また、培養開始後10日目に培養液中にBLMまたはPEPを添加し、各々の肺SPの組織標本作製し、病理組織学的変化の比較を行なった。回転培養開始後3日目より単離肺細胞が再凝集し、7日目には表面上皮細胞が配列し、内部に上皮細胞で覆われた管腔を有するSPが形成された。各種染色、免疫組織化学的検索の結果、SP形成過程において細気管支上皮細胞およびII型肺胞上皮細胞がSP表面および内部にそれぞれ分布し、分化することが示唆された。また、BLM/PEP処理により、上皮細胞の変性、壊死および間質浮腫等の組織学的変化が認められたが、これらはin vivoおよび他のin vitro評価系での結果を反映しており、肺毒性作用を有する化合物のin vitro評価系として有用であると考えられた。本学会では他の肺上皮細胞マーカーおよび電子顕微鏡学的検索結果について併せて報告する予定である。

Investigation of in vitro evaluation system using fetal rat lung cell spheroids for a toxicity evaluation system

Akira INOMATA, Tomoaki INOUE, Ikuo HORII, Department of Preclinical Science, Nippon Roche Research Center, Kanagawa, Japan

012-02

in vitroラット脳スフェロイド培養系のin vivoとの類似性
— 神経及びグリア系細胞分化及び毒性物質に対する反応 —

○井上智彰、堀井郁夫

日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部

創薬早期に行う毒性評価法の一つとしてIn vitroの培養系がよく応用されるが、生体外に細胞を取り出したことによる、細胞機能の変化や環境の変化によってIn vivoと異なった反応を示していないことを確認しておくことは重要である。今回、ラット脳スフェロイド (SP) 培養系について、培養開始後の分化抗原発現、及び神経毒性物質に対する反応について、In vivoと比較したので報告する。ラット胎仔終脳から調製した単細胞浮遊液を回転培養することにより、SPを形成させた。培養期間による細胞分化をGlial fibrillary acidic protein (GFAP), S-100 protein, 2', 3'-Cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase, Acetylcholinesteraseを免疫組織化学的に染色することによって、In vivoでの胎仔から成体までの発現と比較したところ、各分化抗原の発現は、ほぼ平行していた。一定期間培養し分化した後に、神経毒性物質として知られる6-Aminonicotinamide (6-ANA) に暴露し、各細胞の反応を比較したところ、In vivoと同様にAstrocytesの空胞化とGFAP発現の上昇が起きていた。以上の結果より、本ラット脳SP培養系は、In vivoでの脳の分化を反映し、一定期間培養し分化したSP培養系は、6-ANAに対して、成体の脳における反応と同様の変化を示し、神経毒性物質のIn vitroでの毒性評価に重要な系であると考えられた。

Similarity of an in vitro rat brain spheroid culture system to the in vivo brain: Differentiation of neural and glial cells and reactions to toxic compounds

Tomoaki INOUE, Ikuo HORII, Department of Preclinical Science, Nippon Roche Research Center, Kamakura, Japan

012-03

内因性ドパミン神経毒(norsalsolinol)のPC12細胞における細胞内動態

○丸山 豊、鈴木裕子、石塚真由美、数坂昭夫、藤田正一

北海道大学 大学院 獣医学研究科 環境獣医学講座 毒性学教室

【目的】パーキンソン病は黒質ドパミン神経細胞の選択的な変性・脱落によって発生する神経変性疾患である。その原因物質の一つとして内因性ドパミン神経毒6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines(DHTIQs)が疑われている。DHTIQsの神経細胞傷害作用については報告があるが、神経伝達物質分泌に対する影響はあまり明らかにされていない。我々は本学会第26回学術年会においてDHTIQsの一種であるnorsalsolinol(NS)の前処置がPC12細胞からのドパミン分泌を抑制することを報告した。今回、PC12細胞におけるNSの細胞内動態について新たな知見が得られたので報告する。【成績】NSの細胞内への取り込みは細胞外Na⁺の除去やGBR-12909の前処置により抑制されることから、ドパミントランスポーター(DAT)の関与が考えられた。この取り込みはDATの内因性基質であるドパミンにより競合的に抑制された。細胞ホモジネートのショ糖密度勾配遠心法により、ドパミンとNSは同一画分に局在していることが明らかとなった。また、NSは精製分泌顆粒に濃度依存性に取り込まれた。この取り込みはドパミン存在下、あるいはreserpineの前処置によって抑制されたことから、分泌顆粒性モノアミントランスポーター(VMAT)の関与が考えられた。【考察】NSはDATを介してPC12細胞内に取り込まれることが明らかとなった。また、細胞内に取り込まれたNSはVMATを介して分泌顆粒に分布することが明らかとなった。NSによるドパミン分泌抑制はDAT、およびVMAT両者のドパミン取り込み抑制が関与する可能性が考えられた。

Intracellular dynamics of endogenous dopaminergic neurotoxin (norsalsolinol) in PC12 cells

Yutaka MARUYAMA, Yuko SUZUKI, Mayumi ISHIZUKA, Akio KAZUSAKA, Shoichi FUJITA, Laboratory of Toxicology, Department of Environmental Veterinary Sciences, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

012-04

ヒト及びラットの初代肝細胞培養系を用いたアポトーシスの予測

○鈴木 聡¹、新倉靖子¹、国嶋千代子²、及川寿浩²、佐藤哲男¹、松本一彦²

¹HAB協議会 霊長類機能研究所、²鳥居薬品株式会社

【はじめに】アポトーシスは細胞がプログラムされた細胞死であるが、物理学的または化学的にアポトーシスが誘導されることが知られている。化学的手法としてはPeroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α, γ の活性化が機序の一つとして考えられている。アポトーシスの進行過程ではクロマチンDNAがヌクレオソーム単量体に断片化して、電気泳動ではラダーとして検出される。本研究では、ラットおよびヒトへパトサイトに薬剤を添加して培養し、24時間後にDNAを抽出し、そのラダー化を解析することにより、肝障害の評価系としてヒトへパトサイトの有用性について検討を行った。【方法】米国NDRIよりInternational Partnershipに基づいて供与されたヒト肝臓を用い、常法にしたがってコラーゲナーゼ灌流法によりへパトサイトを単離した。単離へパトサイトは、トリパンブルー染色で、生細胞数を計測し、10%FBS含有培養液中で、コラーゲンコート培養プレートに播種した。その後、培地を無血清培地に換え、検鏡し接着率を観察した。この単離へパトサイト培養系を用い、数種の薬剤を添加し24時間後にDNAを抽出し、そのラダー化に関して検討を行った。【結果および考察】ラットへパトサイトに10~100nMのPhorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)およびPPAR α, γ を活性化することが知られている薬剤を添加し、24時間後にアガロース電気泳動法によりDNAの断片化が認められた。PPAR α の応答性には種差が存在していることが知られているため、現在、ヒトへパトサイトを用いて検討中である。

Apoptotic changes in the cultured human and rat hepatocytes

Satoshi SUZUKI¹, Yasuko NIKURA¹, Chiyoko KUNISHIMA², Toshihiro OIKAWA², Tetsuo SATOH¹, Kazuhiko MATSUMOTO²,
¹HAB Biomedical Research Institute, Chiba, Japan, ²Torii Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

012-05

毒化二枚貝より単離精製された海産毒、ペクテノトキシン-2のアクチン重合阻害作用

○尾崎 博、堀 正敏、唐木英明

東京大学 大学院 農学生命科学研究科 獣医薬理学教室

【目的】 養殖ホタテ貝の毒化の原因物質として単離精製・構造決定されたペクテノトキシン-2(PCTX-2)は、多数のエーテル環とラクトン環を持つマクロライド化合物であり、種々の癌化細胞株に細胞毒性を示すことが報告されている。本研究は、PCTX-2の生物活性作用を明らかにすることを目的とした。【方法】 摘出ラット胸部大動脈平滑筋を用いて、収縮張力に対するPCTX-2の作用を検討した。ウサギ骨格筋より単離精製したG-アクチンのビレン蛍光ラベル体を用いたアクチン重合による蛍光強度変化と、微小ステンレスボールの落下速度によるF-アクチン溶液の粘稠度を測定することにより、アクチン重合度に対するPCTX-2の作用を検討した。【結果と考察】 PCTX-2は、ラット大動脈における72.7 mM KClおよび1 μ Mフェニレフリン収縮を濃度依存性に抑制し、その50%抑制濃度はそれぞれ、0.33および0.29 μ Mであった。PCTX-2と同様のラクトン環を持つ海産毒には海綿由来のミカロライド Bがあり、アクチン重合阻害作用を持つ。そこで、アクチンの重合に対するPCTX-2の効果を検討した。PCTX-2は、ビレン蛍光ラベルしたG-アクチンの、重合に伴う蛍光強度増強速度とその最大蛍光を濃度依存性に抑制した。また、PCTX-2は濃度依存性にF-アクチンの粘稠度を低下させた。PCTX-2とアクチンのストイキオメトリーについて検討したところ、ミカロライドBが1:1のモル比でG-アクチンに結合するのに対して、PCTX-2は1:4のモル比でG-アクチンと結合することが示唆された。

Actin depolymerizing action by marine toxin, pectenotoxin-2

Hiroshi OZAKI, Masatoshi HORI, Hideaki KARAKI, The University of Tokyo, Japan

012-06

4-Hydroxy-2(E)-nonenal エナンチオマーのラットClone 9 細胞に対する細胞毒性

○齊藤 博、平塚 明、渡部 烈

東京薬科大学 薬学部 第2衛生化学教室

【目的】 4-Hydroxy-2(E)-nonenal (HNE)は、生体内膜脂質過酸化反応に伴いラセミ体として生成する強毒性 α, β -不飽和アルデヒドである。ごく最近演者らは、HNEエナンチオマーの解毒代謝、また解糖系酵素の不可逆的阻害における立体選択性 ((S)>(R))を初めて明らかにした。これまで、HNEの細胞毒性研究は全てラセミ体で行われ、HNEエナンチオマーを用いた研究は皆無であった。そこで演者らは、両HNEエナンチオマーの細胞毒性発現メカニズム解明の一環として、(R)-および(S)-HNEの細胞毒性について検討した。【方法】 細胞培養、細胞質画分の調製ならびにHNE代謝関連酵素活性の測定は既報に準拠した。HNEエナンチオマーの細胞毒性ならびにApoptosisおよびNecrosis細胞の検出は常法に従った。【結果・考察】 1) (R)-および(S)-HNEの細胞毒性をMTT法により測定した結果、IC₅₀ (μ M)は(S)(5.1) < (R)(15.6)であった。また、両エナンチオマーのIC₅₀付近(2.5-10 μ M)における細胞死は全てApoptosisに起因しており、(S)体は(R)体の1/4の濃度(2.5 μ M)で顕著にApoptosisを誘導した。2) Clone 9細胞質中のHNE-GSH抱合活性は、(S) > (R)の立体選択性が確認されたがK_m値は非常に高く(>87.5 μ M)、V_{max}/K_m値も極めて低値を示した。また、HNEに対するADH活性は低く、ALDH活性は認められなかった。以上の結果より、HNEの細胞毒性とApoptosis誘導効果には、(S) > (R)の顕著な差が認められ、その差が、Clone 9細胞中における両エナンチオマーの解毒反応の差異に起因するのではないことが明らかとなった。

Cytotoxicity of 4-hydroxy-2(E)-nonenal enantiomers in rat clone 9 cells

Hiroshi SAITO, Akira HIRATSUKA, Tadashi WATABE, Department of Drug Metabolism and Molecular Toxicology, Tokyo University of Pharmacy and Life Science, Tokyo, Japan

012-07

ラットの急性肝障害モデルにおけるソルビトール脱水素酵素、
グルタミン酸脱水素酵素、5'ヌクレオチダーゼ、血清総胆汁酸の経時的変動

○小田部耕二、江原裕子、小泉妙子、難波美保、長谷川妙子、野口規子、渡部一人、
千葉修一、浅野 忠、杉本哲朗、井上 誠

中外製薬株式会社 安全性研究所

【目的】 International Harmonization of Clinical Pathology Testing (IHCPT)において安全性試験で推奨される臨床検査の勧告案が1996年に発表された。この中には日本では一般的に普及していない肝検査として、肝細胞障害指標であるソルビトール脱水素酵素 (SDH) とグルタミン酸脱水素酵素 (GLDH)、肝胆道系障害指標である5'ヌクレオチダーゼ (5'N) と血清総胆汁酸 (TBA) が含まれている。これらの検査の有用性を調べる目的で、昨年の本学会で発表したイヌに引き続き、今回はラットの急性肝障害を誘発して、その経時的変動を従来検査と比較検討した。【方法】 肝細胞障害モデルとして10%塩酸D-ガラクトサミン水溶液 (150mg/kg・腹腔内)、胆汁うっ滞モデルとして25mg/ml α -ナフチルイソチオシアン酸オリーブ油溶液 (50mg/kg・経口) をそれぞれ8週齢のラット (Slc:SD) 雄6例に単回投与した。投与前および投与後12時間、1、2、3、5、7、10、14日に同一個体より経時的に採血して、血清中のSDH、GLDH、5'N、TBAおよびAST、ALT、ALP、 γ -GTP、ビリルビンを日立自動分析装置H-7170を用いて測定した。【結果】 両モデルに共通して、SDHとGLDHはASTおよびALTと類似した推移を示したが、4項目の中ではGLDHの回復が遅く、感度 (上昇率) に優れていた。また、TBAは逸脱酵素にはほぼ平行して変動した。胆汁うっ滞モデルにおいて、5'NはALPと類似した推移を示し、感度についてはALPよりは優れているが、 γ -GTPよりは劣っていた。TBAはビリルビンに比べて早期にピークを示したが、感度は劣っていた。

Time-course changes of rat serum sorbitol dehydrogenase, glutamyl acid dehydrogenase, 5'Nucleotidase and total bile acid during acute liver injury

Kouji OTABE, Yuko EBARA, Taeko KOIZUMI, Miho NANBA, Taeko HASEGAWA, Noriko NOGUCHI, Kazuto WATANABE, Syuuichi CHIBA, Tadashi ASANO, Tetsuro SUGIMOTO, Makoto INOUE, Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

012-08

強制経口投与による長期反復投与毒性試験/
がん原性試験におけるFischerラットの突然死について

○大石 巧、北村泰樹、榎並倫宣、諏訪浩一、望月雅裕、鶴亀真依子、岡崎修三

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所

Fischer (F344) ラットは、その扱い易さや長期飼育での高生存率により長期毒性、特にがん原性試験に繁用されている。しかし、1997年以降当施設で実施 (実施中) の金属製胃ゾンデを用いた長期反復経口投与毒性試験あるいはがん原性試験において、Fischerラット (F344/Du Crj) の突然死が頻発する事例を経験した。該当試験はがん原性試験3試験と26週間反復投与毒性試験1試験の4試験である。このうち動物実験が終了したがん原性試験1試験での突然死の発生率は雄7% (7/220例) と雌10% (22/220例)、26週間反復投与毒性試験では、雌雄とも1% (いずれも1/93例) であった。死亡例における共通点は、1) 雄より雌での発生頻度が高い、2) 発生は投与20週以降で、特に投与26週以降で頻度が高い、3) 死亡前の一般状態に異常がない、4) 剖検では咽喉頭部に餌が詰まっているのみで、死因となる病変がない、5) 死亡時の体重が群内での最低かそれに近い値、などである。この突然死の原因については明らかではないが、1994年のLaboratory Animal Scienceに金属製胃ゾンデを用いたF344ラットがん原性試験において死亡が頻発したことが報告されており、死亡状況などが当施設で経験した死亡例と類似していた。この報告では、死因は金属胃ゾンデによる咽喉頭部の物理的侵襲が引き起こした燕下障害であると推定している。したがって、当施設での突然死も同様の原因で発生している可能性があり、F344ラットを用いた反復強制経口投与毒性試験では、金属製胃ゾンデの使用は避けるべきと考えられた。

Sudden death observed in a long-term/carcinogenicity study in Fischer rats administered by gavage

Takumi OHISHI, Yasuki KITAMURA, Tomonori ENAMI, Koichi SUWA, Masahiro MOCHIZUKI, Maiko TSURUKAME, Shuzo OKAZAKI, Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan

012-09

実験動物におけるHDLおよびLDL-コレステロール直接法の比較

○奈良岡準、田畑 肇、久保道江、三枝由紀恵、堺 俊治、臼田眞治

山之内製薬株式会社 安全性研究所

【緒言】 前回の発表で直接法により求めたラットのLDLコレステロール(LDL-CHO)が、超遠心法あるいは電気泳動法による測定値と乖離することを報告した。今回、他の動物種において知見を得るために、HDLコレステロール(HDL-CHO)およびLDL-CHO直接法試薬について、7動物種の血漿を用いて性能評価を行い、毒性試験への有用性を検討した。【材料および方法】 マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イス、サルおよびヒトの血漿を用いて、HDL-CHOおよびLDL-CHO直接法試薬各4種類の反応曲線、同時再現性、希釈直線性、抗凝固剤の影響、電気泳動法との相関について比較検討を行った。【結果および考察】 HDL-CHO直接法については、モルモットの同時再現性において試薬間に差が生じた以外は、いずれの試薬を用いても基本性能において概ね良好な結果が得られた。LDL-CHO直接法については、反応曲線、希釈直線性および同時再現性において、必ずしも良好な結果が得られないものが散見され、この結果は前回のラットにおける報告と一致した。またHDL-CHOおよびLDL-CHO直接法とも、乳び検体においては電気泳動法との相関性が悪く、この結果はヒトでの報告と一致した。以上のことから、毒性試験においてLDL-CHO直接法による測定を行う際には、電気泳動法などの従来法を併用するなどの注意が必要と考えられた。

Comparison of HDL- and LDL-cholesterol direct assays in laboratory animals

Hitoshi NARAOKA, Hajime TABATA, Michie KUBO, Yukie SAEGUSA, Toshiharu SAKAI, Shinji USUDA, Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

012-10

4-クロロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討

○緒方英博¹、浜村政夫¹、古川浩美¹、小泉睦子²、鎌田栄一²、長谷川隆一²

¹株式会社パナファーム・ラボラトリーズ、²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室

【目的】 現代生活の中で化学物質は必要不可欠であり、その安全性の担保は重要課題である。日本国内で生産または輸入される新規化学物質は、化審法に基づいて分解性試験等の他、蓄菌類を用いる28日間反復投与試験が要求されるが、不特定多数のヒトが暴露される可能性があるにも関わらず、通常の安全性試験では若齢動物(Young Adult)が用いられ、乳幼児に特に配慮した試験は実施されていない。今回、化学物質の安全性評価作業の基礎情報を得る目的で、4-クロロフェノールを用いた28日間反復投与試験および新生児投与試験を実施し、発現する変化を比較した。

【材料及び方法】 4-クロロフェノール(CAS No. 106-48-9)はコーンオイルに溶解して使用した。動物はCrj:CD(SD)IGSラットを用い、28日間投与試験では20、100、500 mg/kg/dayを6週齢から、新生児試験では12、60、300 mg/kg/dayを4日齢から21日齢まで経口投与して一般毒性学的検索を行った。新生児試験では、一部の動物を12週齢(28日間投与試験での回復期間終了と同時期)まで飼育して検索し、更に発育分化、感覚機能についても検査した。

【結果及び考察】 28日間投与試験では500 mg/kgで振戦、頻呼吸、流涎および白血球数増加、100 mg/kgから尿量増加、新生児試験では300 mg/kgで振戦、肝重量増加がみられ、無毒性量はそれぞれ20および60 mg/kgと考えられた。若齢動物及び新生児ともに振戦が観察され、ほぼ同程度の毒性発現が認められたが、新生児においてはさらに肝への影響も見られたことより、その代謝の違いが示唆された。

The toxicity profiles and NOELs of 4-chlorophenol in juvenile and young adult rats

Hidehiro OGATA¹, Masao HAMAMURA¹, Hiromi FURUKAWA¹, Mutsuko KOIZUMI², Eiichi KAMATA², Ryuichi HASEGAWA²,
¹Panapharm Laboratories Co., Ltd., Kumamoto, Japan, ²Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

012-11

2,4-ジニトロフェノールの新生児および若齢ラットにおける
発現毒性および無毒性量の比較検討

○山本 譲¹、伊藤義彦¹、小泉睦子²、鎌田栄一²、長谷川隆一²

¹財団法人畜産生物科学安全研究所 安全性研究部、²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価室

【目的】化審法の28日間反復投与毒性試験に用いる動物の週齢は、人では10歳程度に相当し、乳幼児に対する安全性が確認されていない。この安全性を確保するためには、授乳期の動物を用いて毒性の程度や種類を検討する必要がある。本研究では、2,4-ジニトロフェノール(純度85.2%、含水量13.9%)を新生児期から反復投与し、5週齢を用いた反復投与試験結果と比較検討した。【材料及び方法】本被験物質は、1%メチルセルロース水溶液に懸濁して投与した。両試験ともSD系雌雄ラットを用い、反復投与試験では化審法ガイドラインに従って実施し、新生児試験では4から21日齢まで強制経口投与し、一般状態、血液学・生化学、器官重量及び病理組織学検査を行った。一部の動物は12週齢(28日間反復投与試験での回復期間終了と同時期)まで飼育し、同様の検査を行った。【結果及び考察】28日間反復投与試験では自発運動の低下、腹臥姿勢及び浅速呼吸などがみられ、無毒性量は10mg/kg/dayと判断された。新生児試験では体重増加抑制、胸腺の絶対・相対重量の減少、腎臓及び心臓相対重量の増加がみられ、無毒性量は10mg/kg/dayであった。これらの変化はいずれも休業により回復した。以上の結果、新生児及び若齢動物で毒性の種類は異なるものの、新生児での無毒性量は若齢動物と同じ程度であった。これは2,4-ジニトロフェノールの毒性発現が即効性で、代謝が速やかに進行することが一因と推定される。

Comparative study on toxicological profile and no observed adverse effect level of 2,4-dinitrophenol in newborn and young rats

Yuzuru YAMAMOTO¹, Yoshihiko ITOH¹, Mutsuko KOIZUMI², Eiichi KAMATA², Ryuichi HASEGAWA², ¹Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology, Sagami-hara, Kanagawa, Japan, ²Division of Risk Assessment, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

012-12

4-ニトロフェノールナトリウムの新生児および若齢ラットにおける
発現毒性および無毒性量の比較検討

○鷹野正生¹、榎並倫宣¹、小泉睦子²、鎌田栄一²、長谷川隆一²

¹株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所、²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価室

【目的】化審法における28日間反復投与毒性試験(以下、28日試験)には、5-6週齢の若齢動物が用いられている。一方、最も急激に成長し、化学物質の有害作用を受けた場合にはそれが生涯にわたって影響する可能性がある新生児期の動物は対象となっていない。すでに、多くの化学物質についての28日試験の成績が蓄積されており、これと新生児試験の結果との比較が可能になれば、蓄積データをより一層有益に活用できると考えられる。そこで化学物質に対する新生児から幼児期の安全性確保のための研究の一環として、4-ニトロフェノールナトリウムを新生児期から反復投与し、28日試験の結果との比較検討を行った。【材料及び方法】4-ニトロフェノールナトリウムは0.5% CMC-Na水溶液に懸濁し、28日試験では6週齢の雌雄SD系SPFラットに60、160、400及び1,000 mg/kg/dayを、新生児試験では4日齢の雌雄SD系SPFラットに21日齢まで80、110及び160 mg/kg/dayを強制経口投与した。なお、全ての試験は化審法GLP下で行った。【結果及び考察】28日試験では1,000 mg/kgで雌雄ほぼ全例が中毒死し、400 mg/kgでは雄に腎好酸性小体が出現したため、無毒性量は雄で160 mg/kg/day、雌で400 mg/kg/dayであった。一方、新生児試験では160 mg/kgで雄に一時的ながら体重増加抑制みられ、無毒性量は雄で110 mg/kg/day、雌で160 mg/kg/day以上と考えられた。以上の結果から、本試験における4-ニトロフェノールナトリウムの無毒性量は、若齢動物と新生児の間で大きな違いはないと判断された。

Comparative study on toxicological profile and no observed adverse effect level of 4-nitrophenol in newborn and young rats

Masao TAKANO¹, Tomonori ENAMI¹, Mutsuko KOIZUMI², Eiichi KAMATA², Ryuichi HASEGAWA², ¹Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan, ²Div. of Risk Assessment, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

012-13

クロルベンゼン類のメチルスルホン代謝物のラット血清中サイロキシン濃度の低下作用

加藤善久、○伊藤由里子、寺田由香、山崎友朗、新村康彦、木村良平

静岡県立大学 薬学部 薬剤学教室

【目的】クロルベンゼン類のメチルスルホン(MeSO₂)代謝物のラット血清中甲状腺ホルモンに及ぼす影響について検討した。

【方法】Sprague-Dawley系雄性ラットに、クロルベンゼン類のMeSO₂誘導体を腹腔内投与し、血清中総サイロキシン(total T₄)及び甲状腺刺激ホルモン(TSH)濃度、肝臓のUDP-glucuronosyltransferase(UDP-GT)活性及び肝臓中MeSO₂体濃度を測定した。

【結果・考察】今回検討した8種類のMeSO₂誘導体のうち、3,5-dichlorophenyl methyl sulfone(3,5-DCPSO₂Me)及び2,3,5-trichlorophenyl methyl sulfone(2,3,5-TCPSO₂Me)(各50 μmol/kgを1日1回2日間)を投与すると、最終投与後1日及び2日に血清中total T₄濃度は顕著に低下した。しかし、両化合物とも血清中TSH濃度の変化は認められなかった。3,5-DCPSO₂Me(5、12.5、25及び50 μmol/kg 1日1回2日間)用量を変えて投与した場合、最終投与後2日に、肝臓中3,5-DCPSO₂Me濃度は投与量に伴って増加した。また、血清中total T₄濃度の低下は5 μmol/kgの低用量から認められ、用量の増加に伴って血清中total T₄濃度の低下、4-nitrophenol-UDP-GT活性の増加が認められた。この時、血清中total T₄濃度と4-nitrophenol-UDP-GT(UGT1A6)活性との間に有意な相関が認められた。さらに、3,5-DCPSO₂Me及び2,3,5-TCPSO₂MeはT₄を基質とした時のUDP-GT活性を有意に増加させた。

これらの結果から、3,5-DCPSO₂Me及び2,3,5-TCPSO₂Meには血清中T₄濃度の低下作用があることが示された。また、3,5-DCPSO₂Meが肝臓のUGT1A1及びUGT1A6を誘導することによってT₄の代謝亢進を引き起こし、これが血清中T₄濃度の低下の一因になることが示唆された。

Reduction of serum thyroxine concentration by methylsulfonyl metabolites of chlorobenzenes in male rats

Yoshihisa KATO, Yuriko ITO, Yuka TERADA, Tomoaki YAMAZAKI, Yasuhiko SHINMURA, Ryohei KIMURA, Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan

012-14

1,3-Dinitrobenzeneによる雄生殖毒性の評価に有用な内分泌学的パラメーターの検討

○滝沢節子、堀井郁夫

日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部

【目的】生殖毒性を内分泌学的に評価することは、日内変動、フィードバックシステム、ダウンレギュレーション等のために簡単ではなく、理論通りの結果を示すとは限らない。しかし、生殖器官は内分泌学的に制御されていることから、その影響は大きく、我々は雄生殖毒性を評価する上で、有意義で評価可能な血中パラメーターの検索を行った。

【方法】今回、SD-Slc雄ラット(8週齢)に1,3-Dinitrobenzeneを0(溶媒:オリブ油)、1、2および4 mg/kg/dayの用量で1または2週間反復投与を行った。投与終了時に血清ホルモン濃度(FSH, LH, Prolactin, total-Testosterone, Pro alpha-C, Inhibin B)を測定すると共に、雄生殖臓器の病理組織学的検査を行った。

【成績】血清InhibinB濃度の減少が2-1W群(2 mg/kg/day, 1週間)、4-1W群および4-2W群において観察された。4-2W群においては血清Pro alpha-Cおよびtotal-Testosterone濃度の減少も観察された。血清FSH, LHおよびprolactin濃度には、いずれの投薬群においても有意な変化は認められなかった。病理組織学的検査においては、精巣の精細管における精子形成細胞の変性や巨細胞の形成、精巣上体の管腔に変性した精子形成細胞が観察された。

【結論】これらの結果より、血清InhibinB濃度は1,3-Dinitrobenzen投与によって誘導された雄生殖毒性を評価するための有用なパラメーターの一つであることが示唆された。現在、細胞毒性を示す抗腫瘍剤を用いて検討を行っているので合わせて報告する。

Significant endocrinological parameter for assessment of male reproductive toxicity induced by 1,3-Dinitrobenzene

Setsuko TAKIZAWA, Ikuo HORII, Department of Preclinical Science, Nippon Roche Research Center, Kanagawa, Japan

012-15

2,2',4',5,5'-Pentachlorobiphenyl及び2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenylの
血清中ホルモン濃度に及ぼす影響

加藤善久¹、○山崎友朗¹、原口浩一²、根本清光³、増田義人²、出川雅邦³、木村良平¹

¹静岡県立大学 薬学部 薬剤学教室、²第一薬科大学 健康化学教室、³静岡県立大学 薬学部 衛生化学教室

【目的】ラット、マウスに2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl(PentaCB)及び2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenyl(HexaCB)を投与し血清中ホルモン濃度に与える影響について検討した。

【方法】PentaCB及びHexaCB(各342 μ mol/kg)を、Wistar系雄性ラット(体重150~200 g)あるいはddy系雄性マウス(体重27~39 g)にそれぞれ腹腔内投与し、経時的に血清中総テストステロン、総サイロキシシン(total T₄)、総トリヨードサイロニン(total T₃)及び甲状腺刺激ホルモン(TSH)濃度を測定するとともに、肝臓のUDP-glucuronosyltransferase(UDP-GT)活性を測定した。

【結果・考察】血清中テストステロン濃度はPentaCB及びHexaCBを投与したいずれの動物においても有意な変化は認められなかった。一方、血清中total T₄濃度は、両PCBsを投与したラット、マウスではいずれも同程度の持続した低下が認められた。また、血清中total T₃濃度は、PentaCBを投与したラットでは投与後1日に、HexaCBを投与した両動物では投与後4日に、それぞれ有意な低下が認められた。血清中TSH濃度は、HexaCBを投与したマウスでは投与後1日に低下を示したが、2日には回復した。UGT1A6活性は、いずれの動物においてもPCBs投与による影響はほとんど見られなかった。

以上の結果から、PentaCB及びHexaCBは、ラット、マウスの血清中テストステロン濃度、TSH濃度に対してほとんど影響を及ぼさないが、血清中total T₄濃度を顕著に低下させる作用があることが明らかとなった。また、これらのT₄濃度の低下機序は、UDP-GT活性の増加だけでは説明が難しく、今後さらなる検討が必要である。

Effects of 2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl and 2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenyl on serum hormone levels in rats and mice

Yoshihisa KATO¹, Tomoaki YAMAZAKI¹, Koichi HARAGUCHI², Kiyomitsu NEMOTO³, Yoshito MASUDA², Masakuni DEGAWA³, Ryohei KIMURA¹, ¹Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan, ²Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka, Japan, ³Department of Molecular Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan

012-16

胎仔期および授乳期の低用量bisphenol A曝露がラット雌性生殖系に及ぼす影響

○吉田 緑¹、勝田真一²、渡辺 元³、田谷一善³、前川明彦¹

¹(財)佐々木研究所 病理部、²(財)日本食品分析センター、
³東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜生理学教室

プラスチックの原料として広く用いられているbisphenol A(BPA)は弱いエストロゲン様作用を持つ内分泌攪乱化学物質の1つであるが、胎児期、授乳期の低用量曝露による影響の有無は報告者によって異なり一致した見解を得ていない。我々はヒトの健康へのリスク評価の一環として胎仔期・授乳期の低用量BPA曝露が雌性生殖系に及ぼす影響を検討するために、妊娠0日から哺育20日までのCrj:Donryuラットに0、0.006、6mg/kgのBPAを6週間強制経口投与し仔の成熟期(8週齢)まで観察した。BPA群に生まれた雌の仔の体重、膈開口時期と対照群との間に差は認められず、性周期も正常で排卵数も対照群と同様であった。また、性成熟前より観察した何れの雌性生殖系の臓器重量並びに形態学的所見に異常は認められなかった。血液・組織内のBPA濃度を測定した結果、離乳日(哺育21日目)の母動物の血清中濃度は6mg/kg群で有意に増加したが0.006mg/kgでは増加せず、哺育10日目の母乳および生後10日から28日齢までの仔の血清、肝臓中濃度においても対照群との間に有意差は観察されなかった。また対照群の母動物の血清、母乳および仔の血清、肝臓中からもBPAが検出された。以上の結果より、0.006および6mg/kgの低用量BPAの胎児期および授乳期曝露は成熟期までの雌ラット生殖系に何ら影響を及ぼさないと考えられた。

Effects of in utero and lactational exposure to low-doses of bisphenol A on the reproductive system in female rats

Midori YOSHIDA¹, Shin-Ichi KATSUDA², Gen WATANABE³, Kazuyoshi TAYA³, Akihiko MAEKAWA¹, ¹Department of Pathology, Sasaki Institute, Tokyo, Japan, ²Japan Food Research Laboratories, Tokyo, Japan, ³Laboratory of Veterinary Physiology, Tokyo University of Agriculture and Technology

012-17

卵巣摘出ラットを用いた子宮肥大試験におけるエストロゲン作用の増強

○小久保年章¹、平岡俊景¹、井上耕三¹、今井 清²

¹富士写真フイルム株式会社 素材試験センター、²財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所

子宮肥大試験はエストロゲン様作用物質を検出する手法の一つとして様々な検討が行われている。今回、化学物質A、B、Cについて卵巣摘出2週間後の7週齢雌ラットを用い、物質A70あるいは700mg/kg、物質B50あるいは500mg/kg、物質C70あるいは700mg/kgをそれぞれ1日1回、3日間経口投与した。またエチニルエストラジオール（EE）（50 μ g/kg）と物質A（700mg/kg）、EEと物質B（500mg/kg）、EEと物質C（700mg/kg）をそれぞれ1日1回、3日間併用投与し、最終投与翌日に子宮重量の測定を行って子宮重量の変化を比較した。その結果、物質A単独投与では700mg/kg投与群で明らかな子宮重量の増加、物質B単独投与では500mg/kg投与群でわずかな子宮重量の増加がみられたが、物質C単独投与では子宮重量に変化はみられなかった。一方、EEを併用投与すると単独投与で子宮重量増加が認められた物質A、B群だけではなく、単独投与で子宮重量増加がみられなかった物質C投与群においてもEE単独投与でみられた子宮重量増加より明らかに高い重量増加が認められた。子宮肥大試験でのEEと化学物質の併用投与は、化学物質にアンタゴニストとしての作用の有無を確認するためのものとされている。今回の実験により、EEと化学物質を併用投与するとEEの作用を増強させる物質があることが明らかとなり、今後この増強作用のメカニズム解析は子宮肥大試験の課題の一つであると考えられる。

Enhanced estrogenic responses in uterotrophic assay of ovariectomized rats

Toshiaki KOKUBO¹, Toshikage HIRAOKA¹, Kozo INOUE¹, Kiyoshi IMAI², ¹Material Safety Test Center, Fuji Photo Film Co., Ltd., Kanagawa, Japan, ²Food and Drug Safety Center, Kanagawa, Japan

012-18

メトキシクロールの周産期曝露によるラットの性成熟および生殖器系への影響について

○榎富直哉、渋谷 淳、畝山智香子、中川恵子、仁保直子、高橋則行、小林恒雄、広瀬雅雄

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【緒言】哺乳類で性ホルモンの作用により脳の性分化が生じる胎児期から新生児期初期の間に外因性にホルモン作用を有する物質に曝露された場合には、脳の性分化が障害され性成熟後の生殖障害の生じる可能性が考えられる。本実験では、内分泌かく乱作用の疑われるメトキシクロール(MC)をラットに経胎盤および経乳曝露し、児動物への影響を評価した。【方法】SD(IGS)ラットに妊娠15日から出生後10日までの間、MCを24、240、1200ppmの用量で混餌投与した。その後は無処置のまま飼育し、一部の児動物を生後3週に解剖した。残りの児動物は春期発動期および性周期を確認し、生後11週に解剖した。各解剖時の児動物の内分泌関連器官について、肉眼的観察および器官重量の測定を行った。【成績】1200ppm群では投薬期間中の母動物の摂餌量および体重増加量、児動物の出生時体重および体重増加量の低下が認められた。投薬終了後の児動物の体重増加量は対照群と同程度であった。春期発動期は雌では早期化、雄では遅延を認めた。性周期は発情間期あるいは発情期の延長が認められた。生後3週時の剖検では精巣および卵巣重量の低値が認められ、11週時には卵巣重量の低値（卵巣の小型化）および子宮重量の高値が認められた。24および240ppm群ではMCの影響は認められていない。【結論】現在、病理組織学的検索を行い詳細を検討しているが、MCの1200ppm群では内分泌影響を示唆する種々の変化が認められ、周産期曝露により生殖器系に不可逆的な影響が生じることが示された。

Effects of perinatally exposed methoxychlor on the sexual development and reproductive system in rats

Naoya MASUTOMI, Makoto SHIBUTANI, Chikako UNEYAMA, Keiko NAKAGAWA, Naoko NIHO, Noriyuki TAKAHASHI, Tsuneo KOBAYASHI, Masao HIROSE, Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P10-01

化学物質由来骨過形成イヌにおける生化学的マーカーの検索

○手鹿康宏、諸橋栄介、下 武男、斉藤明美、高原栄二、永田 治

北陸製薬株式会社 研究統括部

【目的】化合物Aの毒性試験において、イヌの大腿骨骨髓腔に、骨芽細胞の増生を伴った骨過形成が認められた。イヌにおいて化合物由来の骨過形成が認められた例は少ない。そこで、骨代謝のマーカーである血中オステオカルシン、血中骨型アルカリホスファターゼ、尿中デオキシビリジノリンを測定し、この病変についての生化学的な検討を行なった。

【方法】雄ビーグル犬（例数5頭）に、化合物Aを50mg/kgの用量で4週間反復経口投与した。1週毎に血液及び尿を採取し、血中オステオカルシン、血中骨型アルカリホスファターゼ、尿中デオキシビリジノリンをELISAキットを用いて測定した。さらに剖検の後、大腿骨の病理組織検査を行なった。

【結果】化合物A投与により、血中骨型アルカリホスファターゼの上昇が投与1週時から、尿中デオキシビリジノリンの上昇が投与4週時に認められた。血中オステオカルシンについては、投与2週時から上昇傾向のみを示した。病理組織検査の結果、大腿骨に骨過形成が認められた。

【考察】血中オステオカルシン、血中骨型アルカリホスファターゼ、尿中デオキシビリジノリンのいずれのマーカーも上昇あるいは上昇傾向を示したことから、これらマーカーの有用性が確認できた。3つのマーカー中、血中骨型アルカリホスファターゼは、投与初期から有意に上昇したことにより、イヌにおける骨過形成のマーカーとして最も有用であると示唆された。

Study on biochemical markers in chemical-induced hyperostosis in dog

Yasuhiro TEGA, Eisuke MOROHASHI, Takeo SHIMO, Akemi SAITO, Eiji TAKAHARA, Osamu NAGATA, Research Division, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Fukui, Japan

P10-02

マウスにおける給餌時間制限の毒性パラメーターに及ぼす影響

○岡崎昌裕、平塚一幸、佐藤雅之、仲野善久、吉田千春、黒沢 亨、仲由武賢

明治製薬株式会社 薬品総合研究所 安全性研究所

【目的】化合物の毒性を直接作用に起因した変化と間接作用による二次的な変化とに区別しプロファイルすることは、安全性評価の上で有用である。二次的な変化の要因としては栄養状態、ストレス及びホルモン作用などが考えられる。マウスに給餌時間の制限を行うことで、これらの要因に関連した非特異的变化を検索したので報告する。【方法】雄性マウス(ICR系、5週齢)に、6時間(16:00~22:00)、12時間(22:00~10:00)及び18時間(16:00~10:00)の絶食を14日間施し、体重、摂餌量測定、臨床生化学検査、血液学的検査及び病理検査を実施した。【結果・考察】12及び18時間絶食群で、試験4日目まで摂餌量の減少に伴い体重の減少が認められたが、4日目以降は回復に転じた。臨床生化学及び血液学的検査では、18時間絶食群でTG、グルコースの減少、Na、Clの増加がみられた他、AST、ALTの上昇傾向ならびに白血球数減少が認められた。病理検査では、18時間絶食群の肝臓で肝細胞内グリコーゲンの減少と脂肪蓄積がみられ、胸腺では退行性変化が観察された。以上のように、給餌時間を制限することにより、マウスの摂餌行動に適応が生じ、肝臓及び胸腺に組織学的な変化を伴う影響が認められることが明らかになった。これらの変化は、サーガディアンリズムの変調に関連したホルモンの不均衡などが成因と推察され、毒性評価の際の非特異的变化として有用な情報と考えられた。

Influence of restricted feeding on toxicological parameters in mice

Masahiro OKAZAKI, Kazuyuki HIRATUKA, Masayuki SATO, Yoshihisa NAKANO, Chiharu YOSHIDA, Tohru KUROSAWA, Takemi NAKAYOSHI, Toxicology Lab., Meiji Seika Kaisha Ltd., Yokohama 222-8567, Japan

P10-03

ラットの加齢に伴う臨床病理データの推移 — 毒性関連データベースの紹介 —

- 田川義章^{1,2}、堺 俊治²、船橋 齊²、浅野 哲²、芦田 靖²、市村英資²、
井上忠志²、猪又 晃²、太田純二²、香川雅孝²、小林賢一²、田中剛太郎²、
成田隆博²、平田篤由²、古川雅一²、南 孝則²、吉村弘之²、渡邊隆夫²、渡邊幸彦²

¹株式会社三和化学研究所 総合研究所 開発研究グループ、

²日本製薬工業協会 平成11-12年度基礎研究部会第二分科会 毒性病理ワーキンググループ

【データベースの構築】臨床病理データと病理組織所見との関係を調べるため、既に公表された毒性試験論文をもとにDBを構築した。「薬理と治療」(1990~98年)、「基礎と臨床」(1990~97年)、「The Journal of Toxicological Sciences」(1997・98年)に掲載されたラット・イスの52週間までの反復投与試験から、臨床病理データ(血液学的検査および血液生化学的検査)あるいは病理組織所見に変化がみられた試験を選び出し、臨床病理検査(項目、投与群・対照群の平均値、有意差の有無など)、病理組織学的検査(所見、臓器名など)、試験条件(種、系統、投与量、投与期間など)、その他(薬物、薬効分類、著者など)を抽出した。DBおよびその検索システムはMS Access2000を用いて構築した。【DB利用例】本DBは検索結果をExcelファイルに展開するマクロも有しており、ある病理組織所見がみられる場合に変動する臨床病理データを調べたり、その逆を調べたりできるだけでなく、Excelファイルを利用・加工することによって様々な使用方法が可能である。その一例として、対照群の臨床病理データを検討したところ、SD系雄性ラットでは投与期間の延長、すなわち加齢によりALPが減少し、T-Cholが上昇していた。測定方法や施設間格差が存在すると考えられるが、このような使用方法も有意義であることが示された。学会ではその他のいくつかの利用例も紹介したい。

Effects of age on clinical pathology in rats. Use of a repeat-dose toxicity study database

Yoshiaki TAGAWA^{1,2}, Toshiharu SAKAI², Hitoshi FUNABASHI², Satoshi ASANO², Yasushi ASHIDA², Eiji ICHIMURA², Tadashi INOUE², Akira INOMATA², Junji OHTA², Masataka KAGAWA², Kenichi KOBAYASHI², Gotaro TANAKA², Takahiro NARITA², Atsuyoshi HIRATA², Masakazu FURUKAWA², Takanori MIMAMI², Hiroyuki YOSHIMURA², Takao WATANABE², Yukihiko WATANABE², ¹Developmental Research Group, Central Research Laboratory, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd., Hokusei-cho, Inabe-gun, Mie, Japan, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P10-04

パラコートラットの血清アンチプロテアーゼおよび
セルロプラスミンのマイクロ二次元電気泳動法による解析

- 坂口和子¹、影山耕一²、折戸謙介²、白井明志²、赤堀文昭²

¹麻布大学 環境保健学部 健康化学、²麻布大学 獣医学部 薬理

パラコート(PQ)誘発肺線維症発現において種差が存在し、そのメカニズムは未だ解明されていない。今回はPQラットについて、生体内コラーゲンの増加に関与しているアンチプロテアーゼタンパク質(α_2 マクログロブリン： α_2 Mおよび α_1 アンチトリプシン： α_1 AT)と急性相タンパク質のセルロプラスミン(Cp)を指標に、マイクロ二次元電気泳動法を用いて検討した。

【方法】PQ 7 mg/kgをSlc:Wistar雄ラット(6週齢)11匹に6-9日間毎日皮下投与した。PQの投与は体重の減少が2日間連続して認められた時点で中止し、投与後10日目に試料を採取した。血清 α_2 Mの分子種および α_1 ATならびにCpの測定はマイクロ二次元電気泳動法で行った。PQ処置ラットは体重減少後生存した群(1群)、体重の減少と悪急性中毒徴候を示し、死の転帰をとると判断し、切迫屠殺した群(2群)、および一般状態と体重に変化のみられなかった群(3群)に群分けした。対照群には生食を2ml/kg皮下投与した。【結果】ほとんどの個体(10/11)は悪急性死もしくはPQ中毒徴候を示した。3群ラット(1/11)では α_2 M-1および α_2 M-4の著しい増加が認められた。一方、2群ラットでは α_2 M-1の顕著な増加が認められた。また、3群において生存したラットで体重の減少が持続した個体では α_2 M-2、 α_2 M-3が減少し、体重の回復がみられた個体では α_2 M-2、 α_2 M-3、 α_2 M-4および α_1 ATの著しい減少が認められた。1群、2群、3群では特異的な α_2 M分子種および α_1 ATの増減が大きく関与していることが示唆された。一方、PQ毒性発現にCpの関与は小さいことが伺われた。

Changes detected in serum antiproteases and ceruloplasmin in paraquat poisoned rat using micro two-dimensional electrophoretic analysis

Kazuko SAKAGUCHI¹, Kouichi KAGEYAMA², Kensuke ORITO², Mitsuyuki SHIRAI², Fumiaki AKAORI², ¹Department of Health Care Chemistry, College of Environmental Health, Azabu University, ²Department of Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Azabu University

P10-05

安全性試験におけるラットの甲状腺ホルモン測定の見直し

○古谷真美、桑形麻樹子、立花滋博、新藤智子、高島宏昌、小島幸一

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所

【目的】内分泌器官を標的とした薬物の開発や、内分泌器官に影響を与えるおそれのある環境中化学物質のスクリーニング等で用いられるラットについて、各種ホルモンの変動を捉えることは有用である。今回、甲状腺機能のスクリーニング検査となる甲状腺刺激ホルモン(TSH)、サイロキシン(T4)、トリヨードサイロニン(T3)及び甲状腺ホルモンの変動をより正確に反映するといわれている遊離T4 (FT4) と遊離T3 (FT3)の測定について検討した。【方法】動物はCrj:CD(SD)IGS雌雄(11~12週齢)ラットを用い、雌については性周期を観察して、採血日を調整し、得られた血液を測定に使用した。TSHはラット用を、T4、T3、FT4及びFT3は、いずれもヒト用の市販測定キットを用いた。各項目について、数種あるキットの中から既報の報告データとの相対性、添加回収率、日差変動、同時再現性、希釈直線性等を比較検討した。【結果】FT4及びFT3においては、血清中濃度が低い検体の場合には、検体使用量と試薬の混合比を変えるなどの工夫が必要であった。ラットのFT3はキットによって検出限界に大きな差があった。T4とT3は一部の事項で制限はあるが、ヒト用キットでの測定が可能であった。T4、T3、FT4及びFT3の各々の値及びその比であるFT4/T4とFT3/T3も既報と同等であった。TSHは所定の方法を若干改変することで測定が可能であった。化学物質等が甲状腺機能に与える変動を捉えることができるものと考えられる。

The evaluation of rat thyroid hormones in toxicological study

Mami FURUYA, Makiko KUWAGATA, Shigehiro TACHIBANA, Tomoko SHINDO, Hiromasa TAKASHIMA, Kohichi KOJIMA, Food and Drug Safety Center, Hatano Research Institute, Kanagawa, Japan

P10-06

Linuron投与によるラット前立腺腺葉におけるアポトーシスの誘導

○片山誠一、岡村隆之、成見香瑞範、永井賢司

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】ラットの前立腺腺葉は、アンドロジェンに対して鋭敏に応答し、去勢後の前立腺腺葉中のアンドロジェン依存性細胞は、血中テストステロンレベルの減少に伴い、急速にアポトーシスを起こすことが知られている。今回、我々は、弱いAndrogen receptor (AR) antagonistとして報告されているLinuronを用いて、ラットの前立腺腺葉におけるアポトーシス誘導能について評価した。【方法】SD系雄性ラットを10週齢で去勢し、Linuron (25, 50, 100 mg/kg)あるいは陽性対照としてFlutamide (5 mg/kg, AR antagonist)を3日間反復経口投与し、同時にtestosterone propionate (0.3 mg/kg)を皮下投与した。最終投与後24時間に前立腺腺葉細胞を単離・固定後、fluorescein-dUTPを用いたTUNEL反応によってDNA鎖分解物を標識し、アポトーシス細胞の割合(TUNEL index)をフローサイトメーター(EPICS XL, BECKMAN COULTER)で解析した。また、Propidium iodideによりDNA染色を行い、細胞周期毎のアポトーシス細胞の割合を算出した。【結果】Flutamide群では、前立腺腺葉重量が対照群の67.5%まで有意に減少し、アポトーシス細胞の有意な増加が認められた。Linuron群では、前立腺腺葉重量が100 mg/kg群で対照群の82.1%まで減少したが、統計学的に有意な変化ではなかった。これに対し、アポトーシス細胞の割合は、Linuron 50 mg/kg以上の群で有意な増加が認められた。これらの結果から、Linuronは、アンドロジェン依存性細胞のアポトーシスを*in vivo*で誘導することが明らかとなった。

Induction of apoptosis in the rat ventral prostate following linuron exposure

Seiichi KATAYAMA, Takayuki OKAMURA, Kazunori NARUMI, Kenji NAGAI, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan.

P10-07

子宮肥大反応の特性について

○松島裕子、井上 達、菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部

【目的】子宮肥大試験にてestrogen作用を有する物質の反応性を検討するための至適条件を17 β -estradiol(E₂)を陽性対照として1)未成熟動物および卵巣摘出動物、2)動物の週齢、3)術後の期間、4)最終投与から屠殺までの時間、5)濃度と投与期間について検討した。【材料・方法および結果】1)未成熟及び成熟卵巣摘出ラットにE₂を3, 7, 14日間投与した結果、卵巣摘出動物の方が感度が良かった。2)6週齢と3ヶ月齢ラットにE₂を反復投与した結果、若い方が感度が良かった。3)卵巣摘出による子宮萎縮を術後12週目まで追った結果、4週目まで徐々に萎縮した。4)卵巣摘出ラットにE₂を7日間投与し、最終投与後15分~24時間目まで経時的に子宮重量を測定した結果、投与後6時間目から増加し14時間目まで持続したが、24時間後もとに戻った。5)卵巣摘出マウスにE₂を用量を振って投与し、1~14日目まで経時的に子宮重量を測定した。子宮の有意な重量増加は、E₂高用量群では1日目、中用量群は3日目、低用量群は7日目からみられた。低用量では投与期間に比例し重量増加がみられた。【考察】E₂皮下投与では、子宮肥大反応は未成熟動物より卵巣摘出後3週間位置いた若い動物の方が感度が良かった。E₂低濃度では投与期間に比例し子宮重量が増加した。これらの条件は、経口投与による場合でも成り立つものと思われる。

Basic properties of uterotrophic response

Yuko MATSUSHIMA, Tohru INOUE, Jun KANNO, Division of Cellular & Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences, Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

P10-08

Evaluation of the developmental toxicity in rats exposed to the environmental estrogen bisphenol A in utero

○Jong-Choon KIM

Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea

Bisphenol A (BPA) is an essential component of epoxy resins used in the lacquer lining of metal food cans, as a component of polycarbonates, and in dental sealants. The present study was conducted in an attempt to evaluate the adverse effects of the environmental estrogen BPA on initiation and maintenance of pregnancy and embryofetal development after maternal exposure during the entire period of pregnancy in Sprague-Dawley rats. BPA was administered by gavage to mated females from day 1 to 20 of gestation at dose levels of 0, 100, 300, and 1000 mg/kg. All females were subjected to caesarean section on day 21 of gestation and their fetuses were examined for external, visceral, and skeletal abnormalities. At 1000 mg/kg, significant toxic effects including abnormal clinical signs, decreased body weight, and reduced food intake were observed in pregnant rats. An increase in the pregnancy failure was also found in the successfully mated females. In addition, increased embryonal deaths, increased postimplantation loss, reduced litter size and fetal weight, and decreased fetal ossification centers of several skeletal districts were seen. On the contrary, no significant changes induced by BPA were detected in the number of corpora lutea and implantation sites. There were no abnormalities observed by fetal morphological examinations. At 300 mg/kg, suppressed maternal body weight, decreased food intake, and reduced body weight of male fetuses were seen. There were no adverse signs of either maternal toxicity or developmental toxicity at 100 mg/kg. It was concluded that BPA administration during the entire period of pregnancy produced pregnancy failure, postimplantation loss, fetal developmental delay, and severe maternal toxicity, but no embryofetal dysmorphogenesis for oral exposure at a dose level of 1000 mg/kg in rats.

Evaluation of the developmental toxicity in rats exposed to the environmental estrogen bisphenol A in utero

Jong-Choon KIM, Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea

P10-09

Enhanced OECD Test Guideline 407に基づくMethoxychlorの28日間反復投与毒性試験

○岡崎和志¹、岡崎修三²、西村 進²、中村英明²、北村泰樹²、畠山和久²、中村 厚²、津田敏治²、勝亦俱慶²、西川秋佳¹、広瀬雅雄¹

¹国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²(株)ボゾリサーチセンター

【目的】弱いエストロゲン作用を有する有機塩素系殺虫剤Methoxychlorを改良型OECD TG407ガイドラインに従ってラットに28日間反復経口投与し、内分泌攪乱物質検出のための試験法としての有用性を検討した。【方法】7週齢のCrj:CD(SD)IGSラット雌雄各40匹を1群10匹の各4群に配した。Methoxychlorはコーン油に溶解または懸濁して0、20、100及び500mg/kg/dayの用量で強制経口投与した。雄は、投与回数を28回とし、最終投与の翌日に全生存動物を剖検した。雌は、膣スメア法により投与14日目から性周期を観察し、28回投与の翌日から4日間の間で発情休止期に相当する日に剖検し、剖検前日まで投与を行った。また、持続発情を示した動物は28回投与の翌日に剖検した。主な検査項目として、性周期観察の他、体重及び摂餌量測定、血液学検査、血液生化学検査、血清ホルモン値の測定、精子検査、器官重量測定及び病理組織学検査を行った。【結果】血清ホルモン値、器官重量、病理組織学検査、雌の性周期観察及び雄の精子検査において、雌雄の内分泌器官に対するMethoxychlorの作用が検出された。その中でも副生殖器官の器官重量と病理組織学検査において感度よく検出され、特に雄の乳腺では、一般毒性的な変化がみられない低用量までMethoxychlorの作用が検出された。

A repeated 28 days oral dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the enhanced OECD test guideline 407 for screening endocrine-disrupting chemicals

Kazushi OKAZAKI¹, Shuzo OKAZAKI², Susumu NISHIMURA², Hideaki NAKAMURA², Yasuki KITAMURA², Kazuhisa HATAYAMA², Atushi NAKAMURA², Toshiharu TUDA², Tomoyoshi KATSUMATA², Akiyoshi NISHIKAWA¹, Masao HIROSE¹,
¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Bozo Research Center Incorporation, Shizuoka, Japan

P10-10

カニクイザルを用いた無拘束静脈内持続投与法の検討

○佐藤伸一、大塚貴弘、藤原 淳、唐木 桂、木谷伸一、茅野理也、若狭芳男、武藤紀生

株式会社イナリサーチ

【目的】サルにおける長時間の静脈内持続投与として、ケージ外にポンプを置くテザー法と動物にポンプを装着し無拘束で投与する方法がある。今回、無拘束の静脈内持続投与法を検討し、当施設で先に実施したテザー法による持続投与結果と比較したので報告する。【方法】カニクイザル5匹(4~5才)を用い、麻酔下で中心(内頸)静脈にシリコンカテーテルを留置した。カテーテルの他端は皮下を通して背部から出し、インフュージョンポンプに接続した。ポンプと生理食塩液(総重量約600g)の入ったジャケットを動物に装着し、留置手術の2ないし4日後から生理食塩液を28日間持続的に静脈内に注入した。投与速度は前半14日間は2.5mL/h、後半14日間は5mL/hとした。一般状態を毎日観察し、体重および血圧測定、心電図検査、血液学的検査および血液生化学的検査を週1回実施した。【成績】ジャケットが接触する頸部皮膚に傷が認められた1例で白血球増加がみられたが、他の動物では全身状態、体重、血圧、心電図、血液および血液生化学的検査値に異常は認められなかった。テザー法の静脈内持続投与と成績と比較した結果、全身状態、体重、血液検査値に差はなかった。【考察】カテーテル留置手技、投与操作、検査成績に問題はなく、無拘束サルの長時間静脈内持続投与が可能であると考えられた。本法ではテザー法と異なり投与中でも心電図検査などが容易であり、目的に応じて両投与法を使い分けることによって有用な結果が得られるものと判断された。

Experimental technology of intravenous infusion in non-restrained cynomolgus monkeys

Shin-Ichi SATO, Takahiro OTSUKA, Atsushi FUJIWARA, Katsura KARAKI, Shin-Ichi KITANI, Masaya CHINO, Yoshio WAKASA, Norio MUTO, Ina Research Inc.

P10-11

げっ歯類を用いた毒性試験から得られる定量値に対する決定樹による統計解析の変遷、特徴および一考察

○小林克己¹、北島省吾¹、志賀敦史¹、三浦大作¹、庄子明德¹、渡 修明¹、村田共治¹、井上博之¹、大村 実²

¹財団法人食品農医薬品安全性評価センター、²九州大学 大学院 医学研究院

【目的】決定樹が採用されて20年が経過し、その間種々の経路を辿った手法が発表され使用されている。今回、これら決定樹をその特徴によって分類し、考察を加えることで第二種の過誤を防ぐ決定樹構築のために寄与したい。【方法】我が国で最初の山崎ら(1981)の決定樹[1]、これを改良したタイプ[2]、浜田ら(1998)のタイプ[3]、小林ら(2000)のタイプ[4]及び日本製薬工業会(2000)のタイプ[5]などを対象として、分類・考察を行った。【結果】その特徴から、(1)等分散検定にBartlettの検定(BT-検定)を設定しているもの[1, 2, 3, 4]としていないもの[5]、(2)parametric検定で分散分析を設定しているもの[1, 2]としていないもの[3, 4, 5]、(3)non-parametric検定で検出力の低いDunnnettの検定を採用しているもの[1, 2, 3]と代わりに検出力の高いSteelの検定を採用しているもの[4, 5]、(4)定量値の変換を含めた複雑な経路を含むもの[1, 2, 3]と単純なもの[4, 5]などに分類できる。【考察】BT-検定は、分散が異なった群が1群でも存在すると検出力が極めて高く、長期試験では定量値の35~50%で有意差(p<5%)が認められ、検出力の低いnon-parametric検定を選択することになる。第二種の過誤を防ぐには、等分散検定にLevene(平均値との差)またはBrown-Forsythe(中央値との差)の検定を採用し、また、群間比較は検出力の高いSteelの検定を使用すればより多くの定量値自体を統計学的に吟味することができると考える。

Trend and characteristic of the decision tree for selecting hypothesis-testing procedures for quantitative data obtained in the toxicity study of the rodents

Katsumi KOBAYASHI¹, Shogo KITAJIMA¹, Atsushi SHIGA¹, Daisaku MIURA¹, Akinori SHOJI¹, Nobuaki WATARI¹, Kyoji MURATA¹, Hiroyuki INOUE¹, Minoru OMURA², ¹An-Pyo Center, Shizuoka, Japan, ²Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka, Japan

P10-12

子宮肥大試験等、実験動物を用いた相加相乗性の検討の際の統計解析

○菅野 純¹、松永信人²、吉村 功³

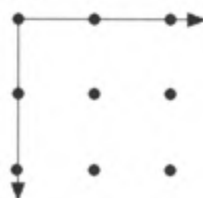
¹国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部、
²協和発酵工業株式会社、³東京理科大学 工学部

環境化学物質の生体影響の評価に際して、複合暴露による相互作用が相加的、相乗あるいは拮抗的であるかを検討する必要がある。ところが、相加性の定義は難しく、また、群数や群あたりの動物数の設定の制限が厳しい動物実験では有効な実験計画法の系統的な提案はなされていなかった。ここでは、子宮肥大試験を例に、実験計画とデータ解析の統計処理手法を提案する。すなわち、単独物質の用量反応曲線の線形化に基づいて、同時反応曲面が平面かどうかで評価すること、結果の解析には単独反応曲面から構成した平面と複合物質の同時反応の差を評価指標とすること、を提案した。シミュレーションにより、不等分散性に対して頑健であることが示された。実験計画としては、図1の様な一般的な要因実験のパターンを採用せず、図2の様な三角形領域を採用する。解析には(1)単独の用量反応曲線の線形化、(2)応答曲面の推定、(3)併用群の予測値と実測値の差について検定を行う。

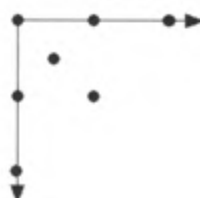
A statistical analysis method for synergism using in vivo assay systems

Jun KANNO¹, Nobuhito MATSUNAGA², Isao YOSHIMURA³, ¹Division of Cellular and Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Ube, Japan, ³Department of Engineering, Science University of Tokyo, Tokyo, Japan

(図1)



(図2)



P10-13

臨床薬理試験における重篤な有害事象 — 臨試協加盟18施設における3166試験の調査結果 —

○菊池康基¹、浦江明憲²、木村良司²

¹(株)国際医薬品臨床開発研究所、²(医)相生会 臨床薬理センター

臨床試験において被験者の安全性をいかに確保するかは、最重要課題の一つである。特に、臨床第I相試験のように健常人を被験者とする試験は、被験者に薬物投与を受ける必然性がなく、ヒトでの安全性情報がないか、あっても極めて少ないことから、患者対象の試験とは異なる面が多い。臨床試験に伴う有害事象発現の可能性の評価と発現時の迅速な対応・処置、報告と再発防止策はきわめて重要である。そこで、国内における健常人対象の試験の大半を実施している臨床試験受託事業協会（臨試協）加盟施設で、過去6年間にさかのぼって有害事象の発現状況について調査した。方法と結果：臨試協加盟の18施設で1993年1月から1998年9月までに実施した健常人を対象とした臨床薬理試験（生物学的同等性試験を含む）3,166試験について、重篤な有害事象の発現状況を調査した。その結果、総被験者47,935例中、投与薬剤との関連が否定できない重篤な有害事象は5例に認められ、発現率は0.01%であった。これらの症状は、ショック、アレルギー、低血圧、急性肝炎等で、転院治療を要した症例も含めいずれも回復し、不可逆的障害を残した例は見られなかった。有害事象の発現率については欧米でいくつかの報告があるのみである。今回、重篤な有害事象について0.01%という極めて低い発現率が得られたことは、国内のこれら試験が安全性に十分に配慮して実施されていることを実証するものである。

Incidence of serious adverse events in clinical pharmacological studies

Yasumoto KIKUCHI¹, Akinori URAE², Ryoji KIMURA², ¹InCROM Institute, Osaka, Japan, ²Soseikai Clinical Pharmacology Center

P10-14

All-*trans*-retinoic acidの抗エストロゲン活性に関する検討

○野田修志、江田雅雄、三苦秀雄、武吉正博、矢可部芳州、中井 誠、佐脇正邦、山崎寛治、高月峰夫

財団法人化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所

All-*trans*-retinoic acid (RA)は、胚、胎児の発育において重要な役割を担う一方、催奇形性物質としても知られている。RAはヒト乳がん由来細胞株であるMCF-7において、増殖抑制効果示すことが報告されていることから、我々はOECDより提案されている試験法に従い、RAを5、25mg/kg/dayの用量でimmature rat uterotrophic assayを行い、RAの*in vivo*における作用について検討した。その結果、5mg/kg以上の群で子宮重量の有意な減少がみられ、RAが本assayにおいて抗エストロゲン活性を示すことが確認された。一方、RAとestrogen receptor (ER)との相互作用を解析する目的で、ER α を用いたcompetitive binding assay及びreporter gene assayを行い、RAのER結合能及びEREを介するreporter 遺伝子活性化能を調べた。その結果、RAはreporter gene assayではantagonist活性がみられたにも関わらず、ER α competitive binding assayではERへの結合性を示さなかった。これらのことから、RAはリガンド-受容体結合を介さない作用機序によって、抗エストロゲン活性を示した可能性が示唆された。本研究は平成12年度METIの受託事業によって行われたものである。

Anti-estrogenic activity of all-*trans*-retinoic acid

Syuji NODA, Masao KOHDA, Hideo MITOMA, Masahiro TAKEYOSHI, Yoshikuni YAKABE, Makoto NAKAI, Masakuni SAWAKI, Kanji YAMASAKI, Mineo TAKATUKI, Chemicals Assessment Center, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan.

P10-15

ピバリン酸投与による骨格筋障害は一過性？

○田中宏治、本多久美、大場充広、伊藤正夫、岡元智文、真鍋 淳

三共株式会社 安全性研究所

化学物質の投与初期に惹起された障害が、投与を継続するにも関わらず投与終了時には検出されないことがある。これは標的器官が化学物質の毒性に対して何らかの耐性を獲得したことを示唆する。今回、骨格筋障害を惹起することが知られているピバリン酸ナトリウム (PIV) をイヌに3箇月間反復投与したところ、このような耐性獲得を示唆する知見が得られた。イヌ (ビーグル、雌雄) にPIV (120mg/kg) を3箇月間反復静脈内投与した (n=3)。投与期間中にクレアチンキナーゼ (CK: 1回/週) を測定し、剖検後大腿直筋を含む数カ所の骨格筋の病理組織学的検査を行った。PIVの投与により、投与1箇月過ぎからCKの著しい上昇 (雄: 投与前の約500倍, 雌: 投与前の約15倍) が認められた。しかし、PIVの投与を継続したにも関わらずCKは減少し、雄では途中剖検時にはピーク時の約1/10以下、雌では投与期間終了時には正常値レベルまで低下した。骨格筋の病理組織学的検査では、多くの骨格筋の変性/壊死が観察され、その程度は途中剖検例でより重篤であった。さらに、障害後の筋線維の再生像が散見された。以上のことから、PIV投与により骨格筋は障害されるがその変化は一過性で、投与の継続により骨格筋は本実験処置に耐性を獲得したことが示唆された。今回観察された耐性の獲得には、筋線維の再生およびPIV代謝・解毒能の変化が関与している可能性が考えられる。

The skeletal muscle injury induced by sodium pivalate is reversible?

Kohji TANAKA, Kumi HONDA, Mitsuhiro OBA, Masao ITO, Tomofumi OKAMOTO, Sunao MANABE, Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo, Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P10-16

慢性カドミウム中毒カニクイザル腰椎における類骨増加と石灰化前線への鉄沈着

○河堀健志¹、倉田祥正^{1,2}、土居卓也¹、勝田 修¹、土谷 稔¹、梅村孝司²

¹三菱化学安全科学研究所、²北海道大学 大学院 獣医学研究科 比較病理学教室

【目的】我々は、カニクイザルの慢性カドミウム (Cd) 中毒症モデルについて、吉木法染色標本を用いた定量的解析の結果、類骨の増加が著しいことを報告した。また、ラット慢性Cd中毒症モデル動物では、類骨の増加は、石灰化前線への鉄沈着の増加を伴うことを報告した。今回、Villanueva bone染色 (VB) およびPrussian blue染色 (PB) 標本について、類骨および鉄沈着の定量的解析を行ったので報告する。

【方法】卵巣摘出カニクイザルにCdCl₂を0, 1.0および2.5mg/kgの用量で13~15ヶ月間反復静脈内投与し、非脱灰腰椎のVBおよびPB標本を作製した。VB標本については、Bone volume (BV) およびOsteoid volume (OV) を測定し、OV/BVを算出後、吉木法染色標本の解析結果と比較した。また、PB標本については、BVおよび石灰化前線のFe volume (FeV) を測定し、FeV/BVを算出した。

【結果および考察】VB標本では、0, 1.0および2.5mg/kgの平均OV/BVが、それぞれ3.5, 34.3および30.9%で、Cd投与により9~10倍の増加が認められ、吉木法染色標本と同様な結果 (12~15倍の増加) が得られた。また、PB標本では、平均FeV/BVが、それぞれ0.35, 2.76および0.59%で、Cd投与により2~8倍の増加が認められた。カニクイザルにおいてもラットと同様に石灰化前線への鉄沈着の増加が認められ、類骨増加への関与が示唆された。

Increased osteoid volume and iron deposition of the lumbar vertebra in a chronic cadmium toxicosis model of cynomolgus monkeys

Takeshi KAWASUSO¹, Yoshimasa KURATA^{1,2}, Takuya DOI¹, Osamu KATSUTA¹, Minoru TSUCHITANI¹, Takashi UMEMURA²,
¹Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan, ²Laboratory of Comparative Pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

P10-17

ホルムアルデヒドの経口および吸入曝露による毒性評価と水道水におけるリスクアセスメント

○広瀬明彦¹、鎌田栄一¹、西川秋佳¹、紅林秀雄¹、江馬 真²、黒川雄二¹、長谷川隆一¹

¹国立医薬品食品衛生研究所、²国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所

【目的】飲料水の消毒副生成物の1つであるホルムアルデヒドは、経口摂取されるのみならず、水道水の様々な使用形態により気化することにより、吸入曝露を受けることが想定される。しかし、WHOや日本における水質基準の設定には、吸入による曝露評価がほとんど考慮されていない。そこで、経口摂取に加えて、吸入曝露によるホルムアルデヒドの毒性評価を行うことは、飲料水の安全性を確保するうえで非常に重要なことである。

【方法】本研究では、WHOや日本における基準設定の根拠となった毒性情報に最新の知見を加え、ホルムアルデヒドの毒性評価を経口摂取と吸入曝露に分けて行い、それぞれに対するTDIや許容気中濃度を算定した。さらに、我が国で平成6～8年度に行われた水道浄水中ホルムアルデヒド検出結果を用いて曝露評価を行い、飲料水に対する安全性を評価した。

【結果および考察】経口摂取においては、発がん性は認められず一般毒性に基づく耐容1日摂取量は0.15mg/kg/dayと算定された。吸入曝露における許容気中濃度は、一般毒性として0.037mg/m³、発がん性として0.031mg/m³と算出された。これらを基に水道水中のホルムアルデヒドの安全性評価を行った結果、経口摂取に関しては現在の検出値は基準値を十分に下回っており安全性は保たれていた。また、吸入曝露についてもミスト曝露による不確定要素はあるものの、現段階では我が国の水道水のホルムアルデヒド濃度は概ね問題のないレベルであると結論できた。

Risk assessment for formaldehyde in drinking water via oral and inhalation exposure

Akihiko HIROSE¹, Eiichi KAMATA¹, Akiyoshi NISHIKAWA¹, Hideo KUREBAYASHI¹, Makoto EMA², Yuji KUROKAWA¹, Ryuichi HASEGAWA¹, ¹National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Osaka Branch, National Institute of Health Sciences, Osaka, Japan

P11-01

ラット心筋由来細胞株H9c2細胞を用いたin vitro心筋肥大評価系の確立

○浜野宝子^{1,2}、川村博美¹、和崎正彦¹、林 正男²、務台 衛¹、井上裕章¹

¹三菱東京製薬株式会社 医薬総合研究所 安全性研究所、²お茶の水女子大学 大学院 人間文化研究科

心臓への過剰な血行力学的負荷や液性因子によるストレスが長時間持続すると適応機構が破綻し、心肥大から心不全に移行することが知られている。また近年、Kannel等により心肥大が虚血性心疾患あるいは不整脈による突然死の独立した危険因子であることが報告された。これまでにラット初代培養心筋細胞へ心筋肥大時に特異的に増加する蛋白質であるMyosin light chain-2 (MLC-2) promoter/Luciferase vectorを導入した細胞を用いて、薬剤誘発性心筋肥大の検出が試みられている。私たちは、ラット心筋細胞株 (H9c2細胞)の利用の可能性を検討するため、従来の初代培養心筋細胞を用いた場合と比較した、ラット心筋細胞株およびラット初代培養心筋細胞にMLC-2 promoter/Luciferase vectorをトランジェントに導入し、心筋肥大作用が報告されているEndothelin-1 (ET-1)、Norepinephrine (NE)、Phorbol ester phorbol12-myristate 13-acetate (PMA)を48時間曝露した。その結果、心筋細胞株のMLC-2 promoter活性はET-1、NE、およびPMAの刺激により濃度依存的に上昇した。また、その上昇は初代培養細胞に比べ再現性よく確認できた。以上より、確立した心筋細胞株は薬剤の心筋肥大作用の検出に有用であると考えられた。

Development of the in vitro assay for drug-induced myocardial hypertrophy

Takako HAMANO^{1,2}, Hiromi KAWAMURA¹, Masahiko WASAKI¹, Masao HAYASHI², Mamoru MUTAI¹, Hiroaki INOUE¹, ¹Toxicology Laboratory, Research Center, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc., Chiba, Japan, ²Graduate School of Humanities and Sciences, Ochanomizu University, Tokyo, Japan

P11-02

低カリウムおよび低マグネシウム条件下における薬物誘発モルモット乳頭筋のAPD延長作用に関する検討

○下里 貴、佐治大介、六角 香、池田博信、木村伊佐美

(株)環境バイリス研究所

【目的】薬物によるQT延長は、致死性の不整脈である+ (4.7 mM)、Mg²⁺ (1.3 mM) のTyrode液または低K⁺ (2.7 mM)、Mg²⁺ (0.3 mM) のTyrode液で安定させた後、微小電極を刺入して活動電位波形を記録した。APD₉₀の変動が±5 msec以内に安定したところで薬物 (erythromycin, cisaprideおよびprobucol) の灌流を開始し、1用量につき30分間測定を行った。【結果および考察】Tyrode液のカリウムおよびマグネシウム濃度を低下させることにより正常K⁺、Mg²⁺のTyrode液と比較して各薬物のAPD延長作用は増大した。以上の結果から、正常なカリウムおよびマグネシウム条件下では捕らえづらいような薬物のAPD延長作用を低カリウムおよび低マグネシウム条件下で検出できる可能性が示唆された。

Investigation of drug-induced APD prolongation in guinea pig papillary muscles under the condition of low extracellular potassium and magnesium concentrations

Takashi SHIMOSATO, Daisuke SAJI, Kaori MUSUMI, Hironobu IKEDA, Isami KIMURA, Environmental Biological Life Science Research Center Inc., Shiga, Japan

P11-03

馴化無麻酔サル呼吸・循環器系に及ぼす薬物の影響 (非観血式およびテレメトリー血圧測定と比較)

○木谷伸一、坂本憲吾、東山千春、武藤紀生

株式会社イナリサーチ

無麻酔動物を用いる呼吸・循環器系の試験では呼吸、血圧、心電図が動物の馴化の程度により変化するため、薬物の作用を正確に捉えられないことがある。今回、モンキーチェア保定および測定装置の装着に充分馴化した動物を用いた場合にこれらのデータがどのように評価できるか各種薬物を用いて検討した。また、血圧については観血式の測定 (テレメトリー) の他に動物に対する侵襲の少ない非観血式の測定についても比較した。カニクイザルの雄3頭以上を用いた。まず、モンキーチェアに保定する訓練を2ヶ月以上行った後、テレメトリーの心電図用電極および血圧測定用カテーテルを体内に留置した。次いで、非観血式血圧測定用カフおよび一回換気量測定用アタッチメント (マスク) の装着の馴化を1週間程度行った。馴化の程度はモンキーチェア保定後の心拍数および血圧が一定レベルに減少することを指標として判断した。馴化終了後、動物をモンキーチェアに保定した状態でβ遮断薬、抗不整脈薬および抗ヒスタミン薬等をそれぞれ投与し、一回換気量および呼吸数を呼吸流量計で、血圧および心拍数を非観血式血圧測定機およびテレメトリーで、また心電図をテレメトリーでそれぞれ経時的に測定した。これらの成績について報告する。

Effects of drugs on respiratory and cardiovascular systems in trained, conscious monkeys. (Comparison between indirect and telemetry measurements of blood pressure)

Shin-Ichi KITANI, Kengo SAKAMOTO, Chiharu HIGASHIYAMA, Norio MUTO, Ina Research Inc., Ina, Japan

P11-04

馴化無麻酔イヌの呼吸・循環器系に及ぼす薬物の影響（非観血式および観血式血圧測定との比較）

○東山千春、木谷伸一、田中 守、関谷浩司、武藤紀生

株式会社イナリサーチ

無麻酔動物を用いる呼吸・循環器系の試験では呼吸、血圧あるいは心電図に及ぼす薬物の変化が動物の馴化の程度に大きく影響されることがある。今回、測定環境に十分に馴化した動物を用いた場合にこれらのデータがどの様に評価できるか各種薬物を用いて検討した。また、血圧については観血式の測定（動脈留置したカテーテルから直接測定）のほかに動物に対する侵襲の少ない非観血式の測定についても比較した。5匹のイヌ（Kbl:HBD）を用いた。無麻酔の状態に動物に横臥位の姿勢をとらせ、四肢に針電極を、尾根部に非観血式血圧測定用カフを、吻には呼吸ピックアップを付けた1回換気量測定用アタッチメント（マスク）を装着し、毎日30分～1時間ずつ2週間以上にわたって呼吸・循環機能を測定する訓練を繰り返した。訓練後、動物の大脚動脈に血圧測定用カテーテルを留置して、非観血方式に加え、観血方式での血圧測定も同時に行うことにより、 β 遮断薬、抗不整脈薬あるいは抗ヒスタミン薬等をそれぞれ投与し、1回換気量は呼吸流量計で、血圧は非観血式血圧測定器およびポリグラフを介し、呼吸数および心電図はポリグラフを介してそれぞれ経時的に測定した。馴化訓練初期では動物が落ち着かず1時間経過後にも安定したデータが得られなかったが、約2週間経過後にはいずれの動物においても、数分のうちに安定したデータの採取が可能となった。ソタロール、キニジンなどの薬物投与による1回換気量、血圧、心拍数および心電図の変化を捉えることができた。

Effect of drugs on respiratory and cardiovascular systems trained, conscious dogs. (Comparison between indirect and direct measurements of blood pressure)

Chiharu HIGASHIYAMA, Shin-Ichi KITANI, Mamoru TANAKA, Kouji SEKIYA, Norio MUTO, Ina Research Inc., Ina, Japan

P11-05

肝スライス片培養による実験的肝炎モデルの作成

○上野光一¹、今井清子²、中村智徳²、矢野眞吾²

¹千葉大学 大学院 薬学研究院 高齢者薬理学講座、²千葉大学 大学院 薬学研究院 薬物治療学講座

【目的】我々は、これまでラット肝細胞スフェロイド培養法を用いバクテリア死菌—LPS肝障害モデルの作製に成功している。今回、肝機能の維持の良いラット肝スライス片培養法を作成し、劇症肝炎モデルの作製を試みた。【方法】9週齢のSD系雄ラットを用いた。バクテリア死菌静注4日後に肝スライス片を作製し、常時通気可能な回転培養器で培養した。ガスは95%O₂+5%CO₂を用いた。慣らし培養後にLPSを培地内に添加し逸脱酵素活性を測定し、肝障害の指標にした。【結果】バクテリア死菌感作ラット肝スライス片培養の培養液内にLPSを添加しても有意な逸脱酵素活性の上昇は認められなかった。しかしながら、バクテリア死菌感作ラット肝非実質細胞をスライス片培養液に加え、LPSを添加すると逸脱酵素活性は有意に上昇した。このことから、肝実質細胞を傷害するだけのサイトカインが遊離されていないことが考えられた。さらに、サイトカイン量や未処置ラット肝スライス片培養に感作ラット非実質細胞を加えた結果についても併せて報告する。

An alternative hepatitis model using the rat liver slice preparation and dynamic organ culture

Koichi UENO¹, Kiyoko IMAI², Tomonori NAKAMURA², Shingo YANO², ¹Geriatric Pharmacology & Therapeutics, Chiba University, Chiba, Japan, ²Molecular Pharmacology & Pharmacotherapeutics, Chiba University, Chiba, Japan

P11-06

ラットにおける高脂肪食誘発性脂肪肝形成の初期変化

○久保道江、三枝由紀恵、竹内文乃、田畑 肇、三浦久樹、奈良岡準、星野健二、中野健二

山之内製薬株式会社 安全性研究所

【目的】ラットを用いて、高脂肪食給餌による脂肪肝形成の初期変化を臨床病理学および病理組織学的に検討した。【方法】6週齢のF344雄ラットに、コール酸、コール酸・ラードおよびコール酸・ラード・コレステロール（CHO）を配合した3種類の飼料を2週間給餌した。給餌開始3, 12, 36, 60時間, 7および14日後に肝機能検査および組織学的検査を行った。正常飼料に代えた際の変化の回復性についても検討した。【結果】いずれの飼料においても、血中GLDH, GPT, α -GST, GOT, LDH, SDH等の肝酵素マーカーに給餌開始12~60時間をピークとする一過性の上昇変化が認められた。変化は2種のCHO無添加食群で顕著であり、特に36および60時間給餌後のGLDH値は対照群の1000倍に達した。1週間給餌後には肝の脂肪化が観察されるものの、12~60時間後の肝臓には電顕的検査においても組織学的な変化は認められなかった。一方、CHO添加食群では、LDL分画の増加に基づく血中総CHOの上昇がみられた。肝臓には微小な脂肪滴の蓄積が12時間給餌後には小葉中心性に、60時間後には小葉全域に観察された。肝の脂肪化は給餌期間の延長とともに進展した。2週後には肝細胞全体に大小の脂肪滴が認められ、肝臓は肉眼的にも退色および肥大し、肝重量は対照群に比べ40%増加した。上記の変化はいずれも正常飼料に代えることにより回復する可逆性変化であった。

Early hepatic changes during the development of fatty liver in rats fed a high-fat diet

Michie KUBO, Yukie SAEGUSA, Ayano TAKEUCHI, Hajime TABATA, Hisaki MIURA, Hitoshi NARAOKA, Kenji HOSHINO, Kenji NAKANO, Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

P11-07

アミノ酸負荷による血中非蛋白性窒素と腎障害指標としての血中尿素窒素の変動

○浅沼健太郎、小泉富彦、小田部耕二、足立健児、杉本哲朗、千葉修一

中外製薬株式会社 安全性研究所

【目的】生体内に負荷したアミノ酸は、脱アミノされアンモニアを生じる。その大部分は、肝臓の尿素サイクル系酵素により尿素に変換される。一方、血中非蛋白性窒素（NPN）に含まれる尿素窒素、クレアチニン（CRN）は、含窒素物質の終末代謝産物であり腎臓を介して排泄されるため、腎機能指標として使用されている。そこで、アミノ酸大量負荷時に、腎障害の有無でNPNとその終末代謝産物がどのような変動を示すかを検討した。【方法】ビーグル犬（各群雌4例）に、4500mg/kg/dayの塩酸リジン（Lys）とアミノ酸輸液モリヘパミン（MH）、同容量の生理食塩液を3日間静脈内持続投与し、血中の腎機能指標の検査、病理学的検査を実施した。【結果】Lys群で尿細管の中等度な壊死が認められた。BUNは、MH群で投与後に対照群の3倍に増加し、その値は持続した。Lys群のBUNは投与後から増加し、投与後3日には対照群の7倍に達した。CRNはLys群でのみ投与後2日から増加した。BUN/CRNは、投与期間を通じMH群で30前後、Lys群で20前後であった。BUN/NPNは、MH群で高値が持続し、Lys群で一過性に減少した。CRN/NPNの変動は認められなかった。【結論】アミノ酸大量負荷時のBUN/NPNは、腎障害の有無で異なる変動を示した。また、腎障害が生じてもBUN/CRN比<10とはならず、大量負荷されたアミノ酸が腎前性因子として大きく影響すると考えられた。

Changes of non-protein nitrogen and blood urea nitrogen as a renal failure parameter by the amino acid load

Kentaro ASANUMA, Tomihiko KOIZUMI, Kouji OTABE, Kenji ADACHI, Tetsuro SUGIMOTO, Syuichi CHIBA, Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P11-08

マウスを用いたアミノ配糖体の腎毒性

○下郡 望、仲野善久、吉田千春、佐藤雅之、三富奈由、酒井東日、黒沢 亨、仲由武實

明治製薬株式会社 薬品総合研究所 安全性研究所

【緒言】 マウスではアミノ配糖体の腎毒性が発現し難いといわれ、病理組織学的変化に関する報告は少ない。一方、ラットでは腎毒性が強く発現し、尿中NAGの上昇、BUNの増加に加えて近位尿細管に特異的な病理組織学的変化が認められる。そこでマウスとラットの腎臓に対するアミノ配糖体の作用がどのように異なるのか、ゲンタマイシン(GM)を用いて検討した。【方法】 ICR系雌マウス(8週齢)にGMの120mg/kgを4日間腹腔内反復投与し、尿量、尿中NAGおよびBUNの測定、腎臓の病理組織学的検査(HE染色、PAM染色)および超微形態学的検査(電顕)、腎臓中GM濃度測定を実施し、ラットと比較した。【結果および考察】 マウスでは尿中NAGが上昇(250%)するもののBUNに変化はなく、近位尿細管上皮細胞の壊死などの明確な細胞障害は認められなかった。しかし、近位尿細管上皮細胞内にはPAM染色陽性の褐色顆粒が増加し、電顕ではそれに対応してミエリン様構造物の蓄積を含むライソゾームの増加が確認された。一方、ラットで尿中NAGが同程度(200%)上昇する条件ではBUNの増加、ミエリン様構造物の明確な蓄積を含むライソゾームの著しい増加および近位尿細管上皮細胞の壊死・脱落が認められた。このとき、ラットの腎臓中GM濃度はマウスの約2倍高かった。以上のように、マウスでもラットと同様に近位尿細管上皮細胞へのGMの蓄積、ライソゾームの増加・変性、尿中NAGの上昇という腎毒性発現の過程をとるが、マウスではGMの蓄積程度が弱いことから細胞障害には至り難いと考えられた。

Nephrotoxicity of aminoglycoside in mice

Nozomi SHIMOGOORI, Yoshihisa NAKANO, Chiharu YOSHIDA, Masayuki SATO, Nayu MITOMI, Toki SAKAI, Tohru KUROSAWA, Takemi NAKAYOSHI, Toxicology Lab., Meiji Seika Kaisha., Ltd., Yokohama, Japan

P11-09

グルコースによるラット培養メサンギウム細胞のヨード造影剤に対する反応性の変化

○和崎正彦、杉本次郎、務台 衛、井上裕章

三菱東京製薬 安全性研究所

糖尿病は造影剤による腎障害発生の危険因子の一つと考えられているが、その機序は不明である。糖尿病患者の腎臓では高血糖によってメサンギウム細胞に形態および機能変化が起こることが知られている。そこで本試験では、ラットの培養メサンギウム細胞(MC)を標準あるいは高糖の培養液で前培養し、イオン性ヨード造影剤ウログラフィン(URO)と非イオン性ヨード造影剤オムニパーク(OMU)に対するMCの反応を細胞生存率(neutral redの取り込み)で評価した。また、D- α -tocopherol(Toc)を高糖の前培養液あるいは造影剤暴露溶液に加え、抗酸化作用の効果を検討した。さらに、造影剤に暴露されたMC内過酸化物質をFACSで分析した。その結果、両造影剤は標準糖濃度の前培養で濃度依存的にMCの生存率を低下させた。両造影剤の暴露によってMC内の過酸化物質は増加した。高糖状態での前培養は両造影剤によって低下した生存率をさらに低下させた。Tocは高糖前培養によるUROのMC生存率の低下を改善し、URO自体の細胞生存率低下も抑制した。一方、OMUの細胞毒性に対しTocは効果を示さなかった。以上、本試験において高糖状態は造影剤の毒性作用に対するMCの反応を増加させた。高糖状態によるMCのUROへの反応性変化、またURO自体の毒性作用に酸化的ストレスの関与が示唆された。OMUはUROとは異なる経路で細胞毒性を示すと考えられた。

Glucose alters the susceptibility of mesangial cells to contrast media

Masahiko WASAKI, Jiro SUGIMOTO, Mamoru MUTAI, Hiroaki INOUE, Toxicology Laboratory, Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals, Inc., Chiba, Japan

P11-10

テトラブロモビスフェノールAの新生児ラットへの投与による腎障害

○山口真樹子¹、伊藤義彦¹、三森国敏²、鎌田栄一³、長谷川隆一³

¹財団法人畜産生物科学安全研究所 安全性研究部、

²東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜病理学講座、³国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室

【はじめに】テトラブロモビスフェノールA (TBBPA) は、樹脂や接着剤等の難燃剤として広く用いられている化学物質で、離乳後の比較的成熟したラットを用いる通常の毒性試験では、問題とすべき毒性は認められていない。今回、TBBPAの乳幼児に対する安全性を確認するため、新生児ラットへの反復投与による哺育期投与毒性試験を行った。【材料および方法】1群雌雄各12匹のSD系ラットの新生児に、里親との同居下で、4から21日齢までの18日間、TBBPAを0、40、200及び600mg/kg/dayで反復経口投与し、22日齢(3週齢)で各群の半数を解剖した。残りの半数は21日齢で離乳させて観察を続け、85日齢(12週齢)で解剖した。また、5週齢のラットに、TBBPAを0、2000及び6000mg/kg/dayで18日間反復経口投与し、哺育期投与により認められた毒性変化を指標として、齢による感受性差を調べた。【結果】22日齢解剖動物において、600mg/kg群で腎臓重量の顕著な増加が認められ、病理組織学検査では、200mg/kg以上の群の腎臓に、多発性嚢胞が観察された。85日齢解剖動物では、腎臓の変化は回復傾向を示した。5週齢からの18日間投与では、腎臓に変化は認められず、齢による明らかな感受性差が認められた。

Kidney damage induced by administration of tetrabromobisphenol A in newborn rats

Makiko YAMAGUCHI¹, Yoshihiko ITO¹, Kunitoshi MITSUMORI², Eiichi KAMATA³, Ryuichi HASEGAWA³, ¹Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology, Kanagawa, Japan, ²Laboratory of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan, ³Division of Risk Assessment, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P11-11

Safety pharmacology: Central nervous system assessment of diazepam in male mice

J. Knapp, M. Herberth, G. Schaefer, ○Christopher P. Chengelis

WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, OH, USA

The most recent ICH guidance document (S7) for CNS testing recommends that motor activity, behavior changes, coordination, sensory/motor reflex responses and body temperature be conducted on pharmaceuticals as a first tier evaluation. Therefore, the activity of diazepam was characterized in male mice, using a series of behavioral and physiological tests. Diazepam was administered once orally at doses of 0, 3, 10, or 30 mg/kg (10 mice/treatment group) for all tests. Clinical observations included impairment of gait and a lowered arousal level. Hexobarbital-induced sleep times were increased in a dose-responsive manner. Diazepam produced quantitative reductions in spontaneous ambulatory and nonambulatory activity levels and decreased body temperature. Thresholds for pentylenetetrazol-induced convulsions and acetic acid-induced writhing were increased after pre-treatment with diazepam. Aerial righting reflex and neuromuscular function (grip strength) were reduced. Sensorimotor reactivity (auditory startle) was not affected by administration of diazepam at any dose. In conclusion, alterations in central nervous system function were reliably detected in male mice using this battery of tests.

Safety pharmacology: Central nervous system assessment of diazepam in male mice

J. KNAPP, M. HERBERTH, G. SCHAEFER, CHRISTOPHER P. CHENGELIS, WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, OH, USA

P11-12

Functional Observational Batteryに関する国内製薬企業へのアンケート調査

○西田信之、赤池雅司、清水賢治、谷口勝彦、前田康行、森山智之、西村千尋、久世 博、松澤利明

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】神経行動毒性の一次評価法であるFunctional Observational Battery (FOB：機能観察試験)の実施状況について、国内製薬企業の現状を把握する目的でアンケート調査をおこなった。【調査方法】日本製薬工業協会加盟93社を対象にアンケート調査を実施し、74社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】FOBは良く知られており、その情報入手先は約半数の企業ではICH安全性薬理ガイドライン案であり、次いでEPAまたはOECDガイドラインであった。一方、FOBについて情報を持たない企業が約20%あった。FOBを実施または申請に用いた経験のある企業は約10%であったが、一般/安全性薬理試験として行われているためか全て単回投与で実施されていた。また、大半の企業で高用量(毒性量)を使用しており、FOBを神経毒性評価法として実施していることによると思われる。被験物質は特定の薬効群に限定されていなかったが、神経系への影響あるいは機能障害が疑われる場合にFOBを実施していた。一方、全ての薬物についてFOBを実施している企業もあり、何らかのメリットがあるものと思われる。現在のFOBの検査項目については、実施している企業の過半数が十分であると考えていた。FOBを毒性試験に組み入れるべき、安全性薬理試験に組み入れるべき、あるいはいずれにも組み入れる必要がないという意見はほぼ同数であった。使用動物種としては、約50%の企業が周辺データが豊富、経済的あるいは扱いやすいなどの理由でラットが適していると回答した。

Questionnaire survey of functional observational battery in pharmaceutical industries in Japan

Nobuyuki NISHIDA, Masashi AKAIKE, Kenji SHIMIZU, Katsuhiko TANIGUCHI, Yasuyuki MAEDA, Tomoyuki MORIYAMA, Chihiro NISHIMURA, Hiroshi KUSE, Toshiaki MATSUZAWA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P11-13

Functional Observational Batteryに関する国内、海外非臨床試験受託機関へのアンケート調査

○清水賢治、赤池雅司、西田信之、谷口勝彦、前田康行、森山智之、西村千尋、久世 博、松澤利明

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】神経行動毒性の一次評価法であるFunctional Observational Battery (FOB：機能観察試験)の実施状況について、国内および海外の非臨床試験受託機関(CRO)の現状を把握する目的でアンケート調査をおこなった。【調査方法】化学物質安全性試験研究受託研究機関協議会加盟23社及び海外CRO22社を対象にアンケート調査を実施し、国内CRO15社および海外CRO13社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】FOBの情報入手に関しては、国内CROでは、製薬企業と比較して情報の入手が早く、海外CROでは国内よりも更に入手時期が早かった。情報入手先は、国内ではEPAもしくはOECDガイドラインであったが、海外ではさらに専門雑誌から入手しているとの回答も多くみられた。FOB受託経験のあるCROは、国内ではほぼ半数、海外では3/4であり、被験物質は国内・海外CROともに化学物質についての受託が一番多かった。しかし、国内で開発医薬品を使用したのは2社であったのに対し、海外ではほとんどの施設で開発医薬品を用いてFOBを実施していた。国内・海外CROともに、EPA及びOECDガイドラインの適用には大筋では問題ないと考えているが、細部については修正が必要だとしている。毒性試験、安全性薬理試験のどちらにFOBを組み入れるかについては意見が分かれた(国内・海外CROともに、ほぼ1:1)。使用動物種としては、第一選択としてラットがあげられた。

Questionnaire Survey of Functional Observational Battery in Domestic and Foreign Non-clinical Contract Research Organizations

Kenji SHIMIZU, Masashi AKAIKE, Nobuyuki NISHIDA, Katsuhiko TANIGUCHI, Yasuyuki MAEDA, Tomoyuki MORIYAMA, Chihiro NISHIMURA, Hiroshi KUSE, Toshiaki MATSUZAWA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P11-14

合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究 I. 合成ホルモン剤

○古川正敏、須永昌男、立石法子、笠原みゆき、堀川裕尚、一花次夫、川島邦夫

株式会社化合物安全性研究所 安全性研究部門

妊娠後期の胎児が、ホルモン作用を有する化学物質に曝露された場合、胎児の性分化が障害され、性分化異常（男性化症、女性化症）が惹起されることが知られている。今回は、経口避妊薬に使用されているethinylestradiol (EE)、mestranol (M)の高用量投与による性分化異常（女兒の男性化）の発現を、雌ラット胎児の泌尿生殖中隔 (UVS) の短縮を指標にして検討した。合成卵胞ホルモン剤は、妊娠16日目から19日までの4日間、母ラットに経口投与した。合成卵胞ホルモン剤の投与量は、高用量ビルに使用されている割合を考慮してEEでは0.35、0.7および1.4mg/rat、Mでは0.25、0.5および1mg/ratとした。妊娠20日に摘出した胎児をブアン液で2週間固定した後、腰部の連続矢状断切片を作りH-E染色を施し、1mmを10等分したマイクロメーターを組み込んだ実体顕微鏡下でUVSの長さを計測した。EEおよびMの投与によりUVSは用量依存的に短縮し、男性化が観察された。EEに対するMの相対効力は3.54（信頼限界0.21~58.67）であった。EEのC-3位へのmethyl etherの導入は、男性化作用を増強することが明らかとなった。

Virilizing activities of synthetic hormones in female rat fetuses: I. Estrogens

Masatoshi FURUKAWA, Masao SUNAGA, Noriko TATEISHI, Miyuki KASAHARA, Hironao HORIKAWA, Tsuguo IKKA, Kunio KAWASHIMA, Safty Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd., Sapporo, Japan

P11-15

合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究 II. Progesterone誘導体

○木口雅夫、市戸 等、古川桂子、高橋智重紀、木村夕希、一花次夫、川島邦夫

株式会社化合物安全性研究所 安全性研究部門

黄体ホルモン剤は、不整月経の治療あるいは流産防止などに使用されているが、妊娠期間中に合成黄体ホルモン剤の適用を受けた母胎から生まれた女兒に、男性化を惹起することが知られている。今回は、progesteroneとその誘導体における男性化作用を、雌ラット胎児の泌尿生殖中隔 (UVS) の短縮を指標にして検索した。黄体ホルモン剤としてprogesterone (P)、retroprogesterone (rP)、medroxyprogesterone (MP)、megestrol acetate (MA)、chlormadinon acetate (CA) による男性化を、妊娠16日目から19日までの4日間、母ラットに経口投与した。妊娠20日に摘出した雌胎児のUVSの長さを計測した。P、rPおよびCAではUVSの短縮は観察されず、男性化作用は認められなかった。MPおよびMAの投与によってUVSの短縮が観察された。PのC-6位へのメチル基およびC-17位へのアセトキシ基の導入は、男性化作用を発現し、MPの $\Delta 6$ 二重結合はMPの男性化作用を減弱させ (MA)、MAのC-6位メチル基のクロルへの置換は男性化作用を消失させた。これらの結果からC-6位へのメチル基は男性化作用発現に必須であり、C-6位クロルおよびC-17位アセトキシ基は男性化作用発現に必ずしも必要ではないことが明らかとなった。

Studies on virilizing activities of synthetic hormones in female rat fetuses: II. Progesterone and derivatives

Masao KIGUCHI, Hitoshi ICHINOHE, Keiko FURUKAWA, Chiaki TAKAHASHI, Yuki KIMURA, Tsuguo IKKA, Kunio KAWASHIMA, Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd., Sapporo, Japan

P11-16

ES細胞の分化に及ぼすTCDDの影響

○高木篤也、菅野 純、井上 達

国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

【目的】発生初期の胎児は小さく、かつ、培養も出来ないため、一般に解析が難しい。一方、ES細胞から形成される胚様体 (Embryoid body: EBと略す) は胎児の卵筒胚 (egg cylinder, 5~7日胚) に近似しており、主に発生学の分野で発生初期胎児への影響を調べるために利用されている。そこで、このES細胞培養系を用いてTCDDの初期発生過程への影響を検索した。【方法】ES細胞 (E14-2a) をゼラチンコートDish上で培養後、LIF (leukemia inhibitory factor) を除いたES培地で、20 μ l当たり800個の割合で混ぜ、dishの蓋の裏にマイクロビペットのせて(hanging drop法)、培養した。TCDDは10nMの濃度で添加した。4、6及び9日後にRNAを抽出し、それぞれ初期発生における分化マーカーとして、臓器内胚葉: Hepatocyte nuclear factor-4 (HNF-4)、中胚葉: Brachyury及びFlk-1、ニューロンNeurofilament-120 (NF-120) 及び心臓形成に関与する事が知られている転写因子GATA-4を、また、AhRとCyp1A1の発現をそれぞれRT-PCR法で検出した。【結果】各種分化マーカーとも対照群及びTCDD添加群で種々の発現パターンを示した。臓器内胚葉とニューロンのマーカーの発現は群間で明らかな差は認められなかったが、中胚葉のマーカーであるBrachyury及びFlk-1とGATA-4がTCDDにより増加傾向が示した。AhR及びCyp1A1の発現は4日培養後で強く、その後減少した。以上の結果、TCDDは発生初期において、中胚葉特に、心臓 (GATA-4) 及び血球・血管系 (Flk-1) の遺伝子の発現を増化させる可能性が示唆された。

Effects of TCDD on the mouse embryonic stem cells in culture

Atsuya TAKAGI, Jun KANNO, Tohru INOUE, Cellular & Molecular Toxicology Division, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P11-17

ラット培養胎児におけるPGE₂誘発低血流量の影響

○秋田正治¹、横山 篤²、橋 皓³

¹鎌倉女子大学 家政学部 栄養学、²神奈川生命記念財団附属研究所、³東京慈恵会医科大学

【目的】器官形成期のラット胎児を妊娠母体から取り出して試験管内で培養すると顎顔面において血管が細かく分枝して胎児の発育に伴い伸展する。前回の発表では培養ラット胎児の鰓弓側部血管の萎縮と催奇形性について検討した。本実験においては、頭部、鰓弓側部の血管の血流量の低下と奇形発現の関連性について更に追求した。血管萎縮作用とそれに伴う血流量の低下作用はPGE₂処理で発現させる。【方法】ラット胎児の培養方法は自動送気型胎児培養装置を用いて、胎齢11日のラット胎児を48時間培養した。培養24時間で卵黄嚢開放を行い2時間培養する。その後5分間に渡ってレーザードップラー血流量測定装置を用いて血流量を測定する。PGE₂の処理は10 μ g/mlの処理で培養液中に48時間添加し続けた。【結果】PGE₂処理群は鰓弓側部の血管が40%、頭部血管は25%の萎縮を対照群に比較して有意に発現した。血流量も鰓弓側部で30%、頭部血管で18%の低下を示した。その結果、培養終了時での胎児総蛋白量は30%、胎児頂殿長は20%、胎児体節数は10%の低下を、それぞれ血流低下群において示した。また、催奇形性はPGE₂処理群においては下顎の低成長、前頭部の隆起抑制、上顎の形態異常、口唇裂、曲尾、前肢の低形成が多発した。これら奇形発現部位は、心臓の方向から見ると血管が萎縮した場所の末端部にあった。以上のことから、これら発現した奇形と血流量低下現象との関連性が示唆され、現在は血管拡張による血流量増加実験を試みている。

The effects of PGE₂-induced low blood flow on cultured rat embryos

Masaharu AKITA¹, Atsushi YOKOYAMA², Akira TATIBANA³, ¹The Department of Housekeeping, Kamakura Women's University, Kanagawa, Japan, ²Kanagawa Life Science Research, Kanagawa, Japan, ³The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan

P11-18

マウスにおける塩化カドミウムの催奇形作用に対するグルタチオンの防御効果

○納屋聖人、原 卓司

協和発酵工業株式会社 安全性研究所

グルタチオン(GSH)は生体内異物に対して解毒作用を有する物質であり、マウスにGSHを前処置(静脈内投与)した場合には5-フルオロウラシルや塩化カドミウム(Cd)の催奇形作用が抑制されることを我々はすでに確認している。今回はGSHを経口的に前処置する場合に、Cdの催奇形作用が軽減されるか否かを検討した。Slc:ICRマウスを交配(膣栓発見日=0日)し、妊娠9、10、11日にGSHの150、300、600mg/kgを1日1回、強制経口投与した。妊娠11日にGSHを投与したのちにCdの3.5mg/kgを腹腔内に投与した。妊娠17日に母動物を屠殺して胎児をとり出し、外部異常(特に口蓋裂、口蓋ヒダの異常)を観察した。妊娠11日にCdを単独投与した場合での口蓋裂、口蓋ヒダの異常の発現率はそれぞれ23.5%、11.8であった。GSHの150、300、600mg/kgを前処理した場合の異常発現率は27.6%、10.0%(150mg/kg)、29.3%、8.0%(600mg/kg)、17.9%、2.1%(600mg/kg)であった。以上のことから、GSHを経口的に前処置することでCdの催奇形作用、特に口蓋ヒダの異常に対して抑制効果を発揮することが確認できた。

Protective effects of glutathione, on teratogenicity of cadmium chloride in mice

Masato NAYA, Takuji HARA, Toxicological Research Laboratories, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Ube, Japan

P11-19

モノブチルフタレート of 妊娠及び偽妊娠ラットにおける生殖機能に対する影響

○江馬 眞、宮脇英美子

国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所

我々は先に、可塑剤として使われているdibutyl phthalate (DBP)及びbutyl benzyl phthalate (BBP)をラットの妊娠初期に投与したとき胚致死作用を示し、偽妊娠ラットにおいては脱落反応を抑制することを明らかにした。今回は、DBP及びBBPの主要な代謝物であるmonobutyl phthalate (MBuP)のラットにおける生殖機能に対する影響について、妊娠及び偽妊娠ラットを用いて検討した。ラットの妊娠0日(精子発見日)から妊娠8日まで250、500、750または1000mg/kgのMBuPを経口投与し、妊娠20日に胚/胎児に対する影響を調べた。1000mg/kg投与群において、着床数及び生存胎児数の有意の減少、着床前及び着床後の胚死亡率の有意の上昇がみられた。次に、偽妊娠4日に脱落膜反応を惹起した偽妊娠ラットを用いて、MBuPの子宮機能に対する影響を検討した。偽妊娠0日(膣栓発見日)から偽妊娠8日まで250、500、750または1000mg/kgのMBuPを経口投与し、偽妊娠9日に子宮重量を測定し脱落膜腫形成の指標とした。1000mg/kg投与群の子宮重量は対照群に比べて有意に低く、MBuPによる脱落膜反応の抑制が示された。以上の結果から、MBuPによる妊娠初期における早期の胚致死作用には子宮における脱落膜反応の抑制が関与していることが示唆された。

Reproductive effects of monobutyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats

Makoto EMA, Emiko MIYAWAKI, National Institute of Health Sciences, Osaka Branch, Osaka, Japan

P11-20

塩化ジブチルスズの偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響

○原園 景、江馬 眞

医薬品食品衛生研究所 大阪支所 生物試験部

【目的】 ジアルキルスズ化合物は、塩化ビニールの光や熱に対する安定化剤やポリウレタンフォームの製造時に触媒として使われている。塩化ジブチルスズ (DBTCI) は、妊娠中期に投与したときには催奇形作用を示すことが知られている。以前の実験において、ラットの妊娠0-3日に投与したとき7.6mg/kg以上の投与量で妊娠率の低下が、妊娠4-7日に投与したとき3.8mg/kg以上の投与量で着床後胚死亡率の上昇が観察された (Reprod. Toxicol. 14, 451-456, 2000)。今回、DBTCIの子宮機能に対する影響を調べるため、偽妊娠ラットを用いて検討した。【方法】 精管結紮した雄ラットと交配することにより偽妊娠を誘導した。偽妊娠0-3日または4-7日に3.8, 7.6, 15.2mg/kgのDBTCIを強制経口投与した。偽妊娠4日に子宮内膜を機械的に刺激することにより脱落膜反応を誘導した。偽妊娠9日に子宮重量を測定し脱落膜反応の指標とした。【結果】 偽妊娠0-3日にDBTCIを投与したとき、偽妊娠9日における子宮重量および卵巣重量は7.6mg/kg以上の投与量で有意に減少した。偽妊娠4-7日に投与したとき、子宮重量は7.6mg/kg以上の投与量で有意に減少した。妊娠ラットにおいて妊娠率を低下させるのと同じ用量で脱落膜反応の抑制が観察されことから妊娠率の低下には母体の脱落膜反応の抑制が関与していることが示唆された。着床後胚死亡に関しては母体に対する作用以外に胚に対する作用の可能性も考えられた。

Effects of dibutyltin dichloride on the decidual cell response in pseudopregnant rats

Akira HARAZONO, Makoto EMA, Division of Biological Evaluation, National Institute of Health Sciences, Osaka branch, Osaka, Japan

P12-01

食餌誘発性高コレステロール血症ラットにおける心血管血液系の初期変化

○三枝由紀恵、田畑 肇、久保道江、竹内文乃、奈良岡準、中野健二、星野健二、竹田奈美子、白田眞治

山之内製薬株式会社 安全性研究所

【目的】 疾患モデル動物を用いて毒性評価を行う際には、そのモデル動物の生物学的特性を知ることが重要である。今回、高脂血症モデルとして汎用される食餌誘発性高コレステロール血症ラットの心血管血液系に対する影響について、血液学的、生理学および病理組織学的に検討した。【方法】 6週齢のF344雄ラットに、2%コレステロール(CHO)・10%ラード・1%コラーゲン配合飼料を自由摂食させ、体重、摂餌量、摂水量、体脂肪率、深部温、皮膚表面温、血圧、心電図、毛細血管血流、血液流動性、血液粘度、血算、凝固および血漿生化学検査を行った。給餌1, 3, 7, 14および28日には剖検し、心血管系の組織学的検査を行った。また、正常飼料にかえた際の回復性についても検討した。【結果および考察】 給餌直後からLDL分画の増加に基づく血中総CHO値の上昇がみられ、給餌開始3時間後には対照群の2倍に、1週間後には10倍に達した。血液粘度の上昇、血液流動性、皮膚末梢血管血流および皮膚表面温の低下等の微細小循環障害がみられたものの、体重、体脂肪率、深部温、血圧、心電図、血算値等に影響は認められず、組織学的にも心血管系に変化はみられなかった。また、正常飼料にかえることによりいずれの変化も回復した。以上の結果より、CHO配合飼料はラットに高CHO血症を容易に発症させるものの、短期間であれば、心血管血液系に対する影響は小さいことが示唆された。

Early blood and cardiovascular system changes in rats with diet-induced hypercholesterolemia

Yukie SAEGUSA, Hajime TABATA, Michie KUBO, Ayano TAKEUCHI, Hitoshi NARAOKA, Kenji NAKANO, Kenji HOSHINO, Namiko TAKEDA, Shinji USUDA, Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

P12-02

カニクイザルにおける血小板凝集能の基礎的検討

○岡崎啓幸、森 康男、Debra LaFramboise、Robert Coxen、Bill Congdon、福崎好一郎

SNBL USA, Ltd.

カニクイザル血小板の凝集能についてPLATELET AGGREGATION CHROMOGENIC KINETIC SYSTEM (PAKS-4, Helena Laboratories, USA) を用いて基礎的検討を行った。まず、Adenosine Diphosphate (ADP)、Collagen (COL) 及び Epinephrine (EPI) を添加して最大凝集能 (%) を求め、ヒト血小板との比較を行った。その結果、ADPの5、10、20 μ M 添加時の平均値は、ヒトでそれぞれ78.9、85.9及び85.8、サルでは66.8、84.1、87.4であった。COL (10 μ g/mL) 添加では、ヒトで94.4、サルでは89.5、一方、EPI (300 μ M) ではヒトで81.8、サルでは11.5であった。ADP及びCOL添加による凝集ではヒトとサルはほぼ同様であったが、EPIでは差がみられ、サルの感受性が低かった。次に、サル血小板について、日内変動並びに食事による影響をADP (20 μ M) 及びCOL (10 μ g/mL) 添加時の最大凝集能 (%) を求めて検討した。日内変動 (9時、13時及び16時30分の3回) は、ADP添加時でそれぞれ68.3、60.7、65.9、COLでは94.3、99.6、92.0であり、また、食前と食後1時間値は、ADP添加時でそれぞれ58.7、51.2、COLでは89.5、93.2であった。いずれの条件でも血小板凝集能に明らかな影響はみられなかった。

Basic trials on platelet aggregation in cynomolgus monkeys

Keikou OKASAKI, Yasuo Mori, Debra LaFramboise, Robert Coxen, Bill Congdon, Koichiro Fukuzaki, SNBL USA, Ltd., Everett, WA, USA

P12-03

Is Nrf2 involved in benzene metabolic pathway?

○霍 艶、平林容子、川崎 靖、児玉幸夫、金子豊蔵、菅野 純、井上 達

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部

OBJECTIVE: Nrf2 is a transcriptional factor, of which target genes are related to the second-phase detoxifying enzymes. Nrf2 gene has been cloned and knock out mouse was produced, which revealed that they were sensitive to the acute toxicity of some chemical substances such as butylated hydroxytoluene. Benzene is known to be a major ultimate leukemogen for human. We have some background data for the mechanism of benzene leukemogenicity. Accordingly, we decided to evaluate any relationship between Nrf2 and benzene metabolic pathway. METHODS: The mice were housed in 1.3m³ chambers into which the benzene-laden air was introduced. The wild and Nrf2 KO mice were divided into none-treated and benzene-exposed groups, respectively. The experimental groups were exposed to 300 ppm of benzene, 6 hours/day, 5 days/week for 2 weeks; the none-exposed control mice were maintained under the same conditions without benzene inhalation. After 2-week inhalation of benzene, mice were killed and cells were harvested from the femoral bone marrow. The number of cells was counted and CFU-GMs were assayed. RESULTS: In the present study, in Nrf2 KO mouse groups, both the bone marrow cellularity and the number of CFU-GM were significantly decreased comparing to the wild groups regardless of benzene inhalation. On the other hand, benzene inhalation induced a significant decrease in marrow cellularity as well as CFU-GM in both Nrf2 KO and wild mice, and the case of CFU-GM was more prominent than the cellularity. CONCLUSION: Our study revealed that Nrf2 KO mice are sensitive to benzene hemato-toxicity. Nrf2 gene is involved in benzene metabolic pathway and the present result can explain, in part, the mechanism of benzene toxicity.

Is Nrf2 involved in benzene metabolic pathway?

Yan HUO, Yoko HIRABAYASHI, Yasushi KAWASAKI, Yukio KODAMA, Toyozo KANEKO, Jun KANNO, Tohru INOUE, Division of Cell and Molecular Toxicology, Center for Biological Safety Research, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P12-04

フローサイトメーター (EPICS XL-MCL) を用いた網状赤血球測定に関する基礎検討 II :
コントロール血液Retic-Chexを用いた精度管理方法の検討

○三浦大志郎、尾形昭子、板野泰弘、山上房枝、小池行也、宇野 洋

帝人株式会社 医薬開発研究所 安全性研究部

【序】フローサイトメーターを用いる網状赤血球率測定において、コントロール血液としてRetic-Chexを用いるX-R管理方法の検討を試みたので、その結果を報告する。

【材料及び方法】コントロール血液にはStreck Laboratories社製Retic-Chex(網状赤血球率が高、中、低となるように調製されたレベル1、レベル2、レベルの3種)を用いた。血液をReic-STAT2カラー染色試薬で染色後、網状赤血球測定システム(reticOne System)を搭載したベックマン・コールター社製EPICS XL-MCLを用いて網状赤血球率を求めた。目視法では、塗抹標本を作製後、プレッシャー・ニューメチレンブルー/ライト染色を行った。

【結果】

フローサイトメーターと目視法の相関性：Retic-Chexの網状赤血球率を目視法とフローサイトメーター法とで比較したところ、良好な相関性(相関係数 $r^2 = 1.00$)が認められた。

Retic-Chexの安定性：レベル1~3の各4ロットについて、開封後1ヶ月まで網状赤血球率を継続的に測定したが、ほぼ一定の測定値が得られ、サンプルの安定性に問題はなかった。

X-R管理方法の検討：5日間で蓄積した20データ分のX及びRから 2σ 、 3σ を算出して管理値を設定した。レベル1~3の各6ロットについて、管理値設定後1ヶ月まで網状赤血球率を継続的に測定したが、管理値を外れることはなかった。

【結論】フローサイトメーターを用いる網状赤血球率測定において、Retic-Chexを用い5日間で20データを蓄積して管理値を設定し、X-R管理を実施することが可能である。

Basic examination of reticulocytes count using flow-cytometer (EPICS XL-MCL) II: A study of quality control method using Retic-Chex as control material

Daishiro MIURA, Shoko OGATA, Yasuhiro ITANO, Fusae YAMAGAMI, Yukiya KOIKE, Hiroshi UNO, Teijin Institute for Bio-Medical Research, Hino, Tokyo, Japan

P12-05

総合血液学検査装置ADVIA120動物用バージョンの基礎的検討

○杉山 豊、向井大輔、牧野江梨子、天野彰子、宇野冬美、芝田真希、井上博之

財団法人食品農薬品安全性評価センター

【目的】バイエル メディカル社製総合血液学検査装置ADVIA120の動物バージョンの基本性能を確認し、毒性試験での有用性を確認する。【材料および方法】相関性試験：ラット、マウスおよびイヌについて貧血動物を含め100サンプル以上用意し、既存機種(H*1E Ver.3.0)および目視法(白血球分類値、網赤血球率)との相関を検討した。同時再現性試験：無処置イヌ血液を5検体用意し20回以上の反復測定を行った。直線性試験：無処置ラットおよびイヌ血液を用いCBC項目について検討した。また、異常例について装置情報と塗抹標本との一致性について検討した。【結果】相関性試験：従来機種である、H*1Eとの相関はおおむね良好な値を示した。目視法との比較：白血球分類で単球比率が低い値を示したが、その他の項目および網赤血球率は良好な相関を示した。同時再現性試験および直線性試験についても良好な値を示した。異常例の比較検討：白血病および貧血例では塗抹標本情報との一致性を示した。【考察】相関係数が良好な値を示し、両機種間の差は認められないと判断した。PLTについてはADVIA120が高い傾向を示したが、検出領域の拡大によるものと思われた。目視との相関も比較的良好であり、特に異常例などの検出力は高く、毒性試験での有用性が示唆された。また、網赤血球のMCVなど網赤血球パラメータについてマウス(CD-1)にアニリンを投与した結果も併せて報告する。

A basic evaluation on the ADVIA120 hematology system for multi-species

Yutaka SUGIYAMA, Daisuke MUKAI, Eriko MAKINO, Akiko AMANO, Fuyumi UNO, Maki SHIBATA, Hiroyuki INOUE, An-Pyo Center, Shizuoka, Japan

P12-06

覚醒ラットへのクエン酸投与による血中カルシウムイオン濃度低下と血圧低下との関係

○豊島茂樹、倍味 繁、川内佳之、越谷 修、栗栖和信、川口義郎、平岡 功

株式会社大塚製薬工場 鳴門研究所 安全性研究室

【目的】クエン酸は血液保存液や輸液製剤の安定化剤として広く使用されている。しかし、大量輸血のように静脈内に急速投与する場合には、クエン酸中毒が起こる。クエン酸中毒症状として血圧低下、心電図異常（QT延長）などがみられ、これらは血中のカルシウムイオン濃度が低下するためと考えられている。ところが、中毒症状が発現する目安となるクエン酸やカルシウムイオンの血中濃度、クエン酸の無影響投与速度などの情報は十分でないことから、クエン酸の投与速度と血圧、血中クエン酸及びカルシウムイオン濃度等との関係について検討した。【方法】SD系雄性ラットの静脈内に、覚醒下でクエン酸溶液（クエン酸とクエン酸三ナトリウムの混合液）の1、2及び3mmol/kgを1時間で投与し、血圧及び心拍数を投与終了後60分まで測定した。また、血中のクエン酸、カルシウムイオン濃度及び総カルシウム濃度を、投与前、投与終了時及び投与終了後60分に測定した。【成績】循環器系への影響として、3mmol/kg/hrで心拍数減少傾向及び血圧低下がみられたが、2mmol/kg/hrでは影響はなかった。よって、循環器系に対するクエン酸の無影響投与速度は2mmol/kg/hrと考えられた。血中のクエン酸濃度は投与速度に依存して上昇、逆にカルシウムイオン濃度は低下した。また、カルシウムイオン濃度が0.8mmol/Lより低くなると循環器系への影響が発現すると推察された。

Relationship between decrease in ionized blood calcium level and blood pressure induced by citrate infusion in conscious rats

Shigeki TOYOSHIMA, Shigeru MASUMI, Yoshiyuki KAWAUCHI, Osamu KOSHITANI, Kazunobu KURISU, Yoshiro KAWAGUCHI, Isao HIRAOKA, Division of Drug Safety Evaluation, Naruto Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc., Tokushima, Japan

P12-07

アルカリ性ホスファターゼ (ALP) 活性の上昇と薬物代謝酵素誘導

○渡辺 大、堀口浩資、三木康宏、石井俊也、山口裕子、笠原健一郎、畠山和久、齋藤 準、長島吉和、岡庭 梓

株式会社ボゾリサーチセンター

目的：毒性試験では被験物質投与によって種々な検査を通じ、ALP活性の上昇のみが記録され、目立った組織傷害の認められない例を時折経験している。この場合に、肝肥大、肝細胞のスリガラス様変化及び薬物代謝酵素（以下、DME）の誘導を認めることが多いので、われわれはALP活性上昇とDME誘導が関係あるものと考え、その毒性学的意義を明らかにする目的で、モデルとして代表的なDME誘導剤であるPhenobarbital（以下、PB）をイスに反復投与し、検索している。方法：10～12箇月齢ビーグル犬5頭にPBを1週間ごとに20、40、60mg/kgの用量で漸増経口投与、毎週1回通常の毒性試験と同様の検査を実施、3週間後に殺処分、病理検査を行っている。結果：全検査を通じ、明らかな変化はALP活性にのみ認められた。ALP活性（IU/L、平均、範囲）は投与開始前値117（78～176）から投与進行に伴って上昇、1週後203（128～367）、2週後541（335～1084）であり、2週間投与後の値は投与開始前値の2.28～6.15倍となった。病理検査で肝重量高値、肝肥大及び滑面小胞体増生を反映すると考えられる肝細胞質の好酸性均質化（スリガラス様変化）が認められた。まとめ：検索は進行中であるが、観察された所見は、非特異的なものでPBの毒性というよりは、むしろDMEの誘導に関連した可能性が高いと考えられる。

Elevation of alkaline phosphatase level and induction of drug metabolizing enzymes

Dai WATANABE, Kohsuke HORIGUCHI, Yasuhiro MIKI, Toshiya ISHII, Yuko YAMAGUCHI, Kenichiro KASAHARA, Kazuhisa HATAYAMA, Hitoshi SAITOH, Yoshikazu NAGASHIMA, Azusa OKANIWA, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan

P12-08

4-(4-Chlorobenzyl)pyridine によるラット肝 cytochrome P450 および薬物代謝酵素の誘導作用

○小林靖奈¹、大城尚美¹、佐々木忠徳¹、徳山尚吾¹、戸部 敏³、吉田武美²、山元俊憲¹

¹昭和大学 薬学部 臨床薬学教室、²昭和大学 薬学部 毒物学教室、
³昭和大学 薬学部 医薬情報科学教室

【目的】我々はこれまで、多くのイミダゾールおよびピリジン系化合物がラット肝cytochrome P450 (P450) を誘導することを明らかにしてきた。そこで今回、4-(4-chlorobenzyl)pyridine (4-CBP) を用い、P450および薬物代謝酵素に与える影響について検討した。【方法】4-(4-chlorobenzyl)pyridineは東京化成より購入した。実験動物はWistar系雌雄ラットを用いた。4-CBPは0.1 mmol/kgから0.8mmol/kgの範囲で腹腔内に単回投与し、投与後24時間でミクロソームを調製し、P450含量および薬物代謝酵素活性を測定した。またWestern blot法により、誘導されるCYP分子種 (CYP2B1, 2E1, 3A2, 2C11, 2C12) を測定した。【結果および考察】4-CBPの投与量の増加に伴って顕著なP450誘導作用が認められた。しかしながら、P450依存薬物代謝酵素活性は高投与量で顕著な減弱を示した。Western blotの結果、4-CBPはCYP2B1, CYP3A2およびCYP2E1を誘導したが、CYP2C11およびCYP2C12は誘導しなかった。*In vitro*の反応系に4-CBPを添加した結果、benzphetamine N-demethylaseは強く阻害されたが、dimethylnitrosamine N-demethylase活性は変化しなかった。以上の結果、4-CBPはP450誘導作用を有することが明らかになった。

Effect of 4-(4-chlorobenzyl)pyridine on rat hepatic microsomal cytochrome P450 and drug-metabolizing enzymes in vivo and in vitro

Yasuna KOBAYASHI¹, Naomi OHSHIRO¹, Tadanori SASAKI¹, Shogo TOKUYAMA¹, Takashi TOBE³, Takemi YOSHIDA², Toshinori YAMAMOTO¹, ¹Department of Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan, ²Department of Biochemical Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan, ³Department of Medicinal Information, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan

P12-09

ビスフェノールAのラット肝細胞における代謝とエストロゲン様活性

○中川好男¹、鈴木俊也²

¹東京都立衛生研究所 毒性部、²多摩支所

【目的】エポキシ樹脂、ポリカーボネート等の原料モノマーであるビスフェノールA (BPA)は、内分泌かく乱作用が疑われている環境化学物質のひとつである。この実験ではBPAの遊離肝細胞における代謝とその代謝中間体のひとつである3-ヒドロキシBPA(3-OH-BPA)のエストロゲン様作用を*in vitro*で検討した。【方法】BPAをラット遊離肝細胞に加えたのち、経時的に反応液の代謝物をHPLC及びマススペクトルで確認した。ついでBPA及び3-OH-BPAのエストロゲン様活性をエストロゲン受容体(ER)陽性MCF-7細胞の増殖能とヒトER α への競合的結合能により測定した。【結果/考察】BPAは濃度(0-1.0mM)及び時間(0-3時間)に依存して肝細胞に障害を与え、同時に細胞内アデニンヌクレオチドの枯渇を伴った。低毒性濃度(0.25mM)のBPAは肝細胞で速やかにBPA-グルクロン酸抱合体、BPA-硫酸抱合体、3-OH-BPA-硫酸抱合体に代謝された。一方、遊離の3-OH-BPAは反応1時間後細胞液において1-2 μ Mに達し、以後同濃度範囲を維持した。BPAと3-OH-BPAはヒトER α に対して濃度依存的な競合結合反応を示し、IC₅₀値は各々約1 \times 10⁻⁵Mと5 \times 10⁻⁵Mであった。またMCF-7細胞増殖能はBPA>3-OH-BPAであったが、同細胞に対して3-OH-BPAの毒性はBPAより低濃度で惹起した。これらの結果は、BPAによるエストロゲン様活性はその代謝物より親物質に依存し、代謝中間体の3-OH-BPAの細胞毒性は親化合物より強いことを示唆した。

Metabolism of bisphenol A in isolated rat hepatocytes and estrogenic activity of a hydroxylated metabolite in MCF-7 cells

Yoshio NAKAGAWA¹, Toshinari SUZUKI², ¹Department of Toxicology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan, ²Tama Branch Laboratory, TMRLPH, Tokyo, Japan

P12-10

抗精神病薬ハロペリドールのN-脱アルキル化反応とミトコンドリア毒性

五十嵐一雄、○恩田香織、糟谷史代

神戸学院大学 薬学部 毒性学研究室

【目的】抗精神病薬ハロペリドール (HP) の服用によるパーキンソニズムや遅発性ジスキネージアなどの副作用発現はよく知られている。HPの代謝物としてビリジニウム代謝物の報告は、その副作用発現との関連で注目されている。我々はHPによる副作用発現機構を解明するために、この代謝物以外に副作用発現に関連する活性代謝物の検索研究を進めている。今回、HPの主たる代謝経路であるN-脱アルキル化反応について、動物の各組織ミクロソーム画分を用いてその活性を比較検討した。また、N-脱アルキル化代謝物による脳組織ミトコンドリアの電子伝達系阻害について検討した。【方法】各動物から肝、腎、肺および脳組織を摘出し、ミクロソーム画分を調製後、NDAPHを含む系で酵素反応を行った。生成物4-Chlorophenylpyridine(CPP)をHPLC/蛍光検出法で測定した。CPP関連化合物数種を用いて、脳組織ミトコンドリア内NADH酸化反応阻害を調べた。【結果・考察】HPのN-脱アルキル化体としてCPP生成活性は、どの動物種でも認められ、肝以外に脳組織において比較的高い活性が観察された。またこの活性はラットやウサギにおいて高い活性が認められた。肺組織においてはウサギにのみ観察された。次に脳組織ミトコンドリア画分を用いたNADH酸化反応阻害は、HPにおいて高い阻害が認められ、パーキンソニズム惹起物質MPP+の約140倍の活性が、N-脱アルキル化体CPPでは約80倍の活性が観察された。この結果は、HPによる副作用発現機構を解明する上で、興味あるものと考えられる。

N-dealkylation derived from haloperidol in animals and inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by its N-dealkylated products

Kazuo IGARASHI, Kori ONDA, Fumiyo KASUYA, Laboratory of Biochemical Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kobegakuin University, Kobe, Japan

P12-11

免疫毒性評価における新しい標本作製技法“PLP-AMeX法”の有用性検討

○勝山清加、足立健児、小川友美恵、萬 啓悟、杉本哲朗、鈴木雅実

中外製薬株式会社 安全性研究所

【目的】病理形態学的な免疫毒性評価技法の検討として、一般毒性試験に汎用されるラット、サルを対象に免疫系細胞表面マーカーに対する抗体を凍結標本についてパネル化すると共に、PLP固定とAMeX法を組み合わせた新しいパラフィン標本作製技法“PLP-AMeX法”の有用性を検討した。【材料および方法】ラット、カンクイザルの脾臓、胸腺からPLP固定-凍結包埋法、PLP-AMeX法により薄切標本作製した。各種市販抗体を用いてTリンパ球 (CD3, 4, 8)、Bリンパ球、マクロファージの各マーカーを免疫組織化学的に検出した。また、ギムザ染色、トルイジン青染色、ALP酵素組織染色により好酸球、好塩基球、好中球についても検出した。【結果および考察】ラット、サルともに、T、B、マクロファージの各マーカーを凍結標本で良好に検出する市販抗体を選定することができた。同抗体を用いてPLP-AMeX標本での染色性を検討した結果、ごく一部の抗体で染色強度の減弱がみられたが、いずれも染色可能であった。PLP-AMeX標本は凍結標本に比べて明らかに形態保持が良く、通常ホルマリン固定-パラフィン標本と同様に細部の形態観察が可能であった。ギムザ染色、トルイジン青染色についても、通常のパラフィン標本と同一の手順で染色可能であった。また、ALP活性も良好に保持されていた。以上の結果から、PLP-AMeX法は免疫毒性評価に有用な標本作製技法と考えられた。

The combination of fixation using PLP fixative and embedding in paraffin by the AMeX method is useful for histopathological studies in assessment of immunotoxicity

Kiyoka KATSUYAMA, Kenji ADACHI, Yumie OGAWA, Keigo YOROZU, Tetsuro SUGIMOTO, Masami SUZUKI, Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P12-12

ラットに高コレステロール食を2週間給餌した際の免疫機能に及ぼす影響

○星野健二、三枝由紀恵、今門健司、竹内文乃、田畑 肇、久保道江、奈良岡準

山之内製薬株式会社 安全性研究所

【目的】ラットにコレステロールを含む高脂肪食を与えて免疫機能に対する影響を検討した。【方法】6週齢のF344雄ラットに10%ラード・1%コール酸を配合した飼料、10%ラード・1%コール酸・2%コレステロールを配合した飼料、および対照として通常食（CRF-1）を2週間にわたって自由摂食させた。給餌開始の2週間後、免疫機能検査として、ヒツジ赤血球（SRBC）に対するIgM抗体産生能および脾臓細胞のNK活性を測定した。また、臨床病理検査および免疫系組織（胸腺、脾臓、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節および骨髄）の病理学的検査を行った。【結果および考察】ラード・コール酸を配合した飼料を与えたラットでは、体重増加の抑制が認められた。胸腺および脾臓の重量にも低下がみられたが、相対重量では変化はなく、SRBCに対するIgM抗体価には影響は認められなかった。一方、ラード・コール酸に加えてコレステロールを配合した飼料を与えたラットでは、血中コレステロールの顕著な増加が認められた。体重には影響はみられなかったが、胸腺および脾臓は肥大し、その重量は増加していた。抗体産生能にも変化がみられ、SRBCに対するIgM抗体価は約2倍に上昇していた。しかし、SRBC免疫の有無にかかわらず、胸腺、脾臓、リンパ節および骨髄には組織学的な変化は認められなかった。脾臓細胞のNK活性については、予備的な成績ではあるが、大きな変化は認められなかった。以上のように、2週間の高コレステロール食はラットの抗体産生能を亢進させることが示唆された。

Effects of 2-week high-cholesterol diet on the immune function of rats

Kenji HOSHINO, Yukie SAEGUSA, Kenji IMAKADO, Ayano TAKEUCHI, Hajime TABATA, Michie KUBO, Hitoshi NARAOKA, Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

P12-13

含窒素系農薬NIPあるいはCNPとフタル酸エステルDBPの併用投与による免疫系への影響

○金澤由基子、太田 亮、古谷真美、渡辺美香、小島幸一、小野 宏

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所

【目的】含窒素系農薬であるニトロフェン（NIP）およびクロロニトロフェン（CNP）やプラスチックの可塑剤であるジブチルフタレート（DBP）は、RBL-2H3細胞を用いたin vitroの実験で、ヒスタミンなどの脱顆粒促進作用を有することが知られて来ており、その作用から、in vivoで免疫系に影響を及ぼすことが推測される。今回我々は、これらNIPあるいはCNPと、DBPとの併用投与を行い、免疫系への影響を検討したので報告する。【方法】実験には6週齢のNC/Nga系マウス（雄）を用いた。コーン油、NIP 0.1mgあるいはCNP 0.1mgを4日毎に4回皮下投与した3群を設け、各群の半数にコーン油を、残りの半数にはDBP10mgを12日間連続経口投与して、6群（N=7）を設定した。各群3匹にSRBCを静脈内投与し、4日後に脾細胞を用いてPFC assayを行い、残りの4匹についてLTT（BrdU assay）およびNK assayを行った。また、全例について、脾臓、胸腺重量および総IgM濃度を測定した。【結果】NIP投与により、PFC数の減少、総IgM濃度の上昇、LTTにおけるLPSに対する反応性の低下が認められた。CNP投与により、脾細胞数の減少、LTTにおけるLPSに対する反応性の低下が認められた。DBP投与による免疫系への影響は認められなかったが、NIPとの併用投与で相対脾臓細胞数の上昇が、CNPとの併用投与で総IgM濃度の低下が認められ、含窒素系農薬の免疫系への影響をDBPが変化させる可能性が示唆された。

Effects of NIP and CNP co-administered with DBP on immunological parameters

Yukiko KANAZAWA, Ryo OHTA, Mami FURUYA, Mika WATANABE, Kohichi KOJIMA, Hiroshi ONO, Food and Drug Safety Center, Hatano Research Institute, Kanagawa, Japan

P12-14

消化管内リポ多糖の実験的自己免疫性関節炎における役割

○吉野 伸¹、森 洋樹²

¹神戸薬科大学 薬学部、²北海道医療大学 薬学部

消化管内リポ多糖 (LPS) の自己免疫性関節炎における役割について検討した。自己免疫性関節炎モデルとして、マウスにおけるコラーゲン関節炎 (collagen-induced arthritis, CIA) を用いた。CIAは抗原II型コラーゲンで免疫することによって発症させ、LPSはCIA発症後に経口的に投与した。その結果、LPS投与によって関節炎の増悪がみられた。組織学的には、関節滑膜の腫脹、フィブリン形成、好中球、単核細胞の滑膜組織への浸潤、軟骨の破壊がLPS投与群においてより著明であった。また、LPS投与動物においてはII型コラーゲンに対する抗体IgGおよびIgG2a産生が促進しており、種々のサイトカイン、例えば、IL-12、IFN-gamma、IL-1beta、TNF-alphaの分泌が著しかった。LPSによるCIAの増悪はLPS活性阻害薬であるポリミキシンBによって有意にブロックされた。大腸菌のみならず、他の種々のグラム陰性菌由来のLPSおよびlipid AによってもCIAは増悪された。慢性関節リウマチなどの自己免疫性関節炎では一般に寛解と再燃を繰り返すが、本実験結果は腸管に存在する多くのグラム陰性菌から産生されるLPSが自己免疫性炎症疾患の悪化に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。

Role for lipopolysaccharide in the digestive tract in experimental autoimmune arthritis

Shin YOSHINO¹, Yoki MORI², ¹Department of Pharmacology, Kobe Pharmaceutical University, Kobe, Japan, ²Department of Immunology and Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Hokkaido, Japan

P12-15

Serum antibody formation under various immunization schedules for delayed type hypersensitivity in cynomolgus primates

Jeanine Bussiere¹、○Rafael Ponce²、福崎好一郎²、Richard Klein²、岡崎啓幸²

¹Immunex Corporation、²SNBL USA, Ltd.

Evaluation of delayed-type hypersensitivity (DTH) provides an *in vivo* assessment of antigen presentation, cellular trafficking, formation of memory T-cells, antigen-specific cell activation, and cellular recruitment. We tested four alternative DTH methods in four groups of three cynomolgus monkeys each with variation in immunization injections involving tetanus, diphtheria, trichophyton, Candida, and keyhole limpet hemocyanin (KLH). We show that there is a weak association between formation of anti-tetanus and anti-KLH antibodies (as measured by ELISA) and DTH response at the site of antigen challenge. Preliminary experiments associating serum cytokines with DTH response and antibody formation are also presented.

Serum antibody formation under various immunization schedules for delayed type hypersensitivity in cynomolgus primates

Jeanine BUSSIERE¹, Rafael PONCE², Koichiro FUKUZAKI², Richard KLEIN², Keikou OKAZAKI², ¹Immunex Corporation, Seattle, WA, USA, ²SNBL USA, Ltd. Everett, WA, USA

P12-16

カニクイザルにおける末梢血リンパ球サブセットの経時変化

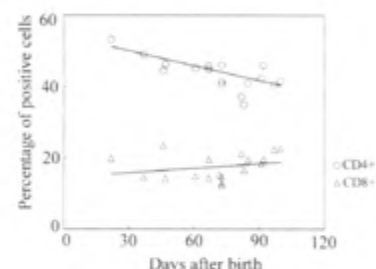
○和泉博之、今井統隆、宮高宏彰

(株)新日本科学 安全性研究所 安全性2部

ヒトにおいて、免疫能の成熟に伴う出生後の種々のパラメータ変動に関しては、いくつかの報告があるもののその詳細は未だ明らかではない。我々は中国産由来のカニクイザルでT細胞（ヘルパーT細胞、サブプレッサー/細胞障害性T細胞）陽性率およびB細胞陽性率について、離乳期から性成熟期にあたる6ヶ月～5年齢において測定を行ったが明確な傾向を見るに至らなかった。そこで今回授乳期にあたる生後1, 2, 3ヶ月の中国産由来のカニクイザルから採血し、CD3, CD4, CD8, およびCD20に対する標識抗体を添加しフローサイトメータを用いて各陽性細胞の出現率の推移について解析した。その結果、生後から6ヶ月にかけてCD3陽性細胞率、CD20陽性細胞率に関しては明確な傾向は見られなかったが、CD4陽性細胞率が若干減少し、CD8陽性細胞率は増加する傾向が示唆された。今回は多個体別の測定による結果であるが、今後同一個体での経時変化を追跡する予定である。

A chronological change of lymphocyte subsets in peripheral blood of cynomolgus monkeys

Hiroyuki IZUMI, Noritaka IMAI, Hiroaki MIYAJIMA, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Kagoshima, Japan



P12-17

Long-term and medium-term carcinogenicity study of captafol in rats

○金 亨津¹

¹Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology,

²Chemon Inc, ³Korea Research Institute of Chemical Technology

Captafol was administered at dietary levels of 0 (control), 50, 240 or 1,200 ppm in male SD rats and 0, 60, 300 or 1,500 ppm in female SD rats for 104 weeks, and then all animal were maintained without captafol for futher 4 weeks until sacrificed. Hepatocellular carcinomas were found in 18 of 49 male rats treated with 1,200 ppm and in 37 of 50 female rats treated with 1,500 ppm. Other groups showed no hepatocellular carcinoma. Renal cell carcinomas were found in 7 of 50 male rats treated with 1,200 ppm. Other groups showed no renal cell carcinoma. In medium-term study, male F344 rats were initially given a single i.p. injection of diethylnitrosamine and after 2 weeks on basal diet, received two i.p. injection of D-galactosamine at the end of weeks 2 and 5, and were fed a diet containing of 0 or 1,500 ppm of captafol for weeks 3-8. Positive results regarding increased numbers and areas of GST-P+ liver cell foci, and increased PCNA-labelling indices of renal tubule cells were observed in rats treated with captafol. In conclusion, captafol induced hepatocellular carcinoma in both sexes of rats and renal cell carcinoma in male rats, and showed carcinogenic potential in the present medium-term bioassay protocol.

Long-term and medium-term carcinogenicity study of captafol in rats

Hyoun-Chin KIM¹, ¹Biopotency Evaluation Lab, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejon, Korea, ²Chemon Inc, Yonginsu, Korea, ³Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon, Korea

P12-18

骨髄小核試験におけるアクリジン・オレンジ(AO)染色法の標本作製および保存性の検討

○白鳥 孝¹、齋藤由希子¹、宮川 誠¹、林 真²

¹(株)三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所、²国立医薬品食品衛生研究所

【目的】従来、AO染色による骨髄小核試験は、1個体あたり数枚の骨髄塗末標本を作製する必要があること、AO染色した標本の長期保存ができない等の問題があった。今回、10%中性ホルマリン固定した骨髄細胞懸濁液を冷蔵保存し、観察直前にAO染色および標本作製を行う方法を考案して、経時的に標本観察を行い保存性の確認を行ったので報告する。【被験物質】Cyclophosphamide(CP)【方法】動物は7週齢の雄性SD/IGSラットを使用した。CPの20mg/kgを腹腔内投与し、投与後24時間に大腿骨より骨髄細胞を採取した。骨髄細胞を10%中性ホルマリン固定後、冷蔵保存した。骨髄細胞の採取日を保存0日として、経時的に保存180日まで観察直前にAO染色および標本作製した。観察はB2励起の蛍光顕微鏡下で1個体あたり、多染性赤血球2000個中の小核出現数および赤血球1000個中の多染性赤血球出現数を求めた。【結果および結論】骨髄細胞懸濁液の保存0日に対して保存3、15、30および60日で陰性対照およびCP群のいずれにおいても小核出現頻度および多染性赤血球出現頻度について変化は見られなかった。以上の結果から、10%中性ホルマリン固定による骨髄細胞懸濁液は60日間の保存安定性を有することが確認された。また、標本の質を下げることなく、従来の標本作製操作と比べて大幅に時間短縮され、効率化が計れた。現在、マウス骨髄細胞について検討を行っており、この結果についても合わせて報告する。

Investigation of both long-term storage and specimen preparation of acridine orange staining in bone marrow micronucleus test

Takashi SHIROTORI¹, Yukiko SAITOU¹, Makoto MIYAGAWA¹, Makoto HAYASHI², ¹Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Kashima, Japan, ²National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P12-19

In vivo comet assayにおいて投与回数が結果に及ぼす影響

○關橋 薫¹、釜谷麻子²、佐々木有²、河村公太郎¹、木口雅夫¹、一花次夫¹、津田修治³

¹株式会社化合物安全性研究所、²国立八戸工業高等専門学校、³岩手大学

従来、in vivo遺伝毒性試験は高用量単一投与で行われることが多く、我々のin vivo Comet assayのデータもそのようにして得られたものである。しかし、癌原性は低用量長期投与によって検出され、投与用量と投与期間は両試験で大きく乖離している。このことが遺伝毒性と癌原性で標的臓器が一致しない一因となる可能性があり、癌原性用量における連続投与での多臓器遺伝毒性の検出を試みた。20種の癌原物質について、雄マウスに癌原性試験で用いられている一日あたり用量を24時間間隔で3回投与し、その24時間後に屠殺し、8臓器のDNA損傷をComet assayで検出した。その結果、癌原性用量の単回投与で陽性であるが3回投与で陰性になる臓器、その逆の臓器、また投与回数による差が見られない臓器が認められた。特に、消化管は3回投与で陰性(単回では陽性)、肝は3回投与で陽性(単回では陰性)となることが多く、癌原性標的臓器に連投効果が認められる傾向にあった。一般に、マウスの発癌率は肝で高く消化管で低いが、連投に対する挙動の相違と何らかの関連がある可能性も考えられる。このような違いは、各臓器における癌原性物質の蓄積の違い、代謝・解毒の違い、DNA損傷の修復能の違いなど、様々な要因が関連しているものと考えられる。以上ことから、in vivo Comet assayにおける低用量連続投与の意義を考察する。

Multiple dosing in the Comet assay with mouse multiple organs

Kaoru SEKIHASHI¹, Asako KAMAYA², Yu SASAKI², Koutaro KAWAMURA¹, Masao KIGUCHI¹, Tsuguo IKKA¹, Shuji TSUDA³, ¹Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd., Sapporo, Japan, ²Hachinohe National College of Technology, ³Iwate University

演者索引 (日本名)

<あ>			
間 哲生	W1-6	井上 智彰	012-01、012-02
青山 直子	010-10	井上 朋子	011-15
赤池 雅司	010-18、P11-12、P11-13	井上 裕章	P11-01、P11-09
赤木 圭介	010-03	井上 博之	P10-11、P12-05
赤堀 文昭	011-11、P10-04	井上 誠	012-07
秋田 正治	P11-17	井上 芳巳	010-04
浅井 利大	010-06	猪又 晃	012-01、P10-03
浅沼 健太郎	P11-07	今井 清子	P11-05
浅沼 富美子	010-09	今井 清	012-17
浅野 哲	P10-03	今井 統隆	P12-16
浅野 忠	012-07	今岡 浩一	011-07
浅野 雅秀	011-04	今門 健司	P12-12
芦田 靖	P10-03	入江 弘之	W1-6
芦野 隆	011-04	岩尾 洋	010-06
吾妻 安良太	W1-3	岩城 理進	010-07
足立 健児	P11-07、P12-11	岩倉 洋一郎	011-04
阿部 信二	W1-3	岩間 香代子	011-17
天野 彰子	P12-05		
有馬 和範	010-07		
<い>			
五十嵐 一雄	P12-10	<う>	
池田 博信	P11-02	上田 誠	011-12
池田 陽一	010-02	上野 光一	011-09、P11-05
石井 俊也	P12-07	氏家 あづさ	W1-2
石川 冬木	EL-1	臼田 眞治	012-09、P12-01
石川 由美	010-11	内山 充	PL-1
石塚 真由美	011-05、012-03	内海 英雄	S1-4
和泉 博之	P12-16	内海 博之	010-02
板野 泰弘	P12-04	畝山 智香子	012-18
市川 和洋	S1-4	宇野 洋	P12-04
市川 裕子	010-10	宇野 冬美	P12-05
市戸 等	P11-15	梅村 孝司	P10-16
市村 英資	P10-03	浦江 明恵	P10-13
一花 次夫	P11-14、P11-15、P12-19		
伊藤 圭輔	011-06	<え>	
伊藤 正夫	P10-15	江口 文子	010-04
伊藤 由里子	012-13	榎並 倫宣	012-12、012-08
伊藤 義彦	012-11、P11-10	江原 裕子	012-07
井上 清	011-02	江馬 眞	P10-17、P11-19、P11-20
井上 耕三	012-17	速藤 仁	010-17
井上 忠志	P10-03		
井上 達	CL、S1-7、010-14、P10-07、 P11-16、P12-03	<お>	
		及川 伸二	S1-3
		及川 寿浩	012-04
		大石 巧	012-08
		大石 充	S2-3
		大沢 基保	W1-1

大城 尚美	P12-08	数坂 昭夫	O11-05、O12-03
太田 純二	P10-03	糟谷 史代	P12-10
太田 亮	P12-13	片山 誠一	P10-06
大塚 貴弘	P10-10	勝田 修	P10-16
大塚 亮一	O11-07	勝田 真一	O12-16
大利 隆行	W1-3	勝亦 俱慶	P10-09
大野 泰雄	EL-3	勝谷 友宏	S2-3
大野 理絵	O10-09	勝山 清加	P12-11
大場 充広	P10-15	加藤 幾雄	O10-16
大村 実	P10-11	加藤 千明	O10-14
岡崎 和志	P10-09	加藤 善久	O12-13、O12-15
岡崎 啓幸	P12-02、P12-15	金井 好克	O10-17
岡崎 修三	O12-08、P10-09	金澤 由基子	P12-13
岡崎 昌裕	P10-02	金子 豊蔵	P12-03
尾形 昭子	P12-04	鎌田 栄一	O12-10、O12-11、O12-12、 P10-17、P11-10
緒方 英博	O12-10	鎌滝 哲也	S2-5、O11-01、O11-06、 O11-14、O11-15
岡庭 梓	O10-03、P12-07	釜谷 麻子	P12-19
岡野 栄之	EL-2	唐木 桂	P10-10
岡村 隆之	P10-06	唐木 英明	O12-05
岡村 幹夫	O10-06	川内 佳之	P12-06
岡元 智文	P10-15	川口 亜由未	O11-17
小川 友美恵	P12-11	川口 恵未	O11-16、O11-17
荻原 俊男	S2-3	川口 義郎	P12-06
奥田 孝二	O10-02	河崎 伸	W1-3
奥田 裕計	O10-13	川崎 靖	P12-03
小黑 多希子	O11-04	川島 邦夫	P11-14、P11-15
尾崎 博	O12-05	河裾 健志	P10-16
小澤 正吾	W1-4	川鍋 剛	O10-10
小田 美光	O11-13	川西 正祐	S1-3
小田部 耕二	O12-07、P11-07	川野 道宏	O10-15
小野 宏	P12-13	河村 公太郎	P12-19
小野 栄夫	W1-2	川村 博美	P11-01
尾上 正治	O10-16	菅野 純	P10-07、P10-12、P11-16、 P12-03
小野寺 博志	O11-12		
折戸 謙介	P10-04		
恩田 香織	P12-10		
 <か>		 <き>	
香川 雅孝	P10-03	木口 雅夫	P11-15、P12-19
影山 耕一	P10-04	菊池 康基	P10-13
笠井 辰也	O10-13	北川 学	O11-06
葛西 宏	S1-2	北澤 郁恵	O10-11
笠原 健一郎	P12-07	北嶋 聡	O10-14
笠原 利彦	O11-10	北島 省吾	P10-11
笠原 みゆき	P11-14	木谷 伸一	P10-10、P11-03、P11-04

北村 泰樹	012-08、P10-09	小林 賢一	P10-03
鬼頭 剛	010-08	小林 恒雄	012-18
金 徒慶	010-17	小林 雅典	010-02
金 亨津	P12-17	小林 靖奈	P12-08
木村 伊佐美	P11-02	小林 ゆかり	010-17
木村 努	W1-6	蒔田 二一	010-10
木村 豊恵	011-07	権 寧博	W1-3
木村 正明	010-07、010-09	近藤 泰史	010-01
木村 夕希	P11-15		
木村 良司	P10-13	<さ>	
木村 良平	012-13、012-15	斎藤 明美	P10-01
<<>		斎藤 鉄也	011-01
久次米 公誠	W1-3	斎藤 準	P12-07
久世 博	010-18、P11-12、P11-13	斎藤 博	012-06
工藤 翔二	W1-3	齋藤 由希子	P12-18
国嶋 千代子	012-04	斎藤 好信	W1-3
久保 道江	012-09、P11-06、P12-01、 P12-12	齋藤 嘉朗	W1-4
倉田 昌明	010-11	佐伯 真弓	W1-4
倉田 祥正	P10-16	三枝 由紀恵	012-09、P11-06、P12-01、 P12-12
栗栖 和信	P12-06	相賀 裕美子	010-14
紅林 秀雄	P10-17	酒井 東日	P11-08
黒川 雄二	P10-17	堺 俊治	012-09、P10-03
黒木 登志夫	PL-3	坂口 和子	P10-04
黒沢 亨	P10-02、P11-08	坂本 憲吾	P11-03
桑形 麻樹子	P10-05	佐々木 忠徳	P12-08
桑野 康一	010-08	佐々木 有	011-16、011-17、P12-19
<け>		佐治 大介	P11-02
玄番 宗一	010-05	佐藤 伸一	P10-10
<こ>		佐藤 哲男	012-04
小池 行也	P12-04	佐藤 昌子	011-18
小泉 妙子	012-07	佐藤 雅之	P10-02、P11-08
小泉 富彦	P11-07	佐藤 正邦	P10-14
小泉 睦子	012-10、012-11、012-12	澤田 純一	W1-4
江田 雅雄	P10-14	<し>	
幸田 祐佳	010-05	塩田 清二	011-04
河内 泰英	010-01	志賀 敦史	P10-11
小久保 年章	012-17	篠崎 裕司	011-09
小坂 忠司	011-08	芝田 真希	P12-05
越谷 修	P12-06	柴田 道男	W1-5
小島 幸一	P10-05、P12-13	渋谷 淳	012-18
小林 克己	P10-11	渋谷 徹	011-18
		島田 力	011-13、011-02
		清水 賢治	010-18、P11-12、P11-13

下 武男	P10-01	高橋 公一	O11-03
下郡 望	P11-08	高橋 卓夫	W1-3
下里 貴	P11-02	高橋 智亜紀	P11-15
周 玉	O10-11	高橋 則行	O12-18
首藤 康文	O11-07	高橋 芳樹	S2-5、O11-01、O11-06
庄子 明德	P10-11	高原 栄二	P10-01
白井 明志	P10-04	田川 義章	P10-03
白根 里加	O10-09	滝沢 節子	O12-14
白鳥 孝	P12-18	瀧澤 保	O11-12
新藤 智子	P10-05	滝沢 始	W1-3
神野 あすみ	O11-05	竹内 文乃	P11-06、P12-01、P12-12
新村 康彦	O12-13	竹内 哲也	O10-13
		竹内 敏秀	O10-10
		竹内 幸子	O11-08
<す>		竹下 啓蔵	S1-4
須井 哉	O11-18	竹田 奈美子	P12-01
菅原 勇	W1-3	武田 眞記夫	O11-07、O11-08
杉本 次郎	P11-09	武吉 正博	P10-14
杉本 哲朗	O12-07、P11-07、P12-11	田代 孝一郎	O10-06
杉山 豊	P12-05	橋 皓	P11-17
鈴木 聡	O12-04	立花 滋博	P10-05
鈴木 智	O10-01	立石 法子	P11-14
鈴木 俊也	P12-09	田中 一三	W1-6
鈴木 雅実	P12-11	田中 宏治	P10-15
鈴木 靖郎	O10-10	田中 剛太郎	P10-03
鈴木 裕子	O12-03	田中 守	P11-04
須田 明子	W1-6	谷口 勝彦	O10-18、P11-12、P11-13
須永 昌男	P11-14	田畑 肇	O12-09、P11-06、P12-01、 P12-12
諏訪 浩一	O12-08	玉田 聡	O10-06
		田村 悦子	O11-03
		田谷 一善	O12-16
<せ>		<ち>	
関 直彦	S2-4	茅野 理也	P10-10
關橋 薫	P12-19	千葉 修一	O12-07、P11-07
関谷 浩司	P11-04	車 碩満	O10-17
<そ>		<つ>	
曾根 秀子	O10-15	津田 修治	O11-16、O11-17、P12-19
<た>		津田 敏治	P10-09
高井 俊行	W1-2	土谷 稔	P10-16
高木 篤也	P11-16	土嶺 章子	O11-17
高木 司郎	O10-02	鶴亀 真依子	O12-08
高木 久宣	O11-12		
高島 宏昌	P10-05		
高月 峰夫	P10-14		
鷹野 正生	O12-12		

<て>

手鹿 康宏 P10-01
出川 雅邦 011-10、012-15
手島 玲子 W1-4
寺田 由香 012-13

<と>

土井 邦雄 011-07
土居 卓也 P10-16
遠山 千春 010-15
徳山 尚吾 P12-08
戸部 敞 P12-08
豊島 茂樹 P12-06

<な>

内藤 裕二 S1-5
永井 賢司 P10-06
中井 誠 P10-14
永井 良和 010-11
長尾 拓 S1-8
中川 恵子 012-18
中川 好男 P12-09
長島 吉和 010-03、P12-07
永田 治 P10-01
永田 良一 010-08
仲谷 達也 010-06
長野 嘉介 010-13
中野 健二 P11-06、P12-01
仲野 善久 P10-02、P11-08
中原 一彦 W1-3
永見 和之 W1-6
中村 厚 P10-09
中村 和市 W1-6
中村 智徳 011-09、P11-05
中村 英明 P10-09
永山 伸一 010-08
中山 裕之 011-07
仲由 武實 P10-02、P11-08
名倉 典子 011-09
那須 民江 010-15
納屋 聖人 P11-18
奈良岡 準 012-09、P11-06、P12-01、
P12-12
成田 隆博 P10-03
成見 香瑞範 P10-06

難波 美保 012-07

<に>

新倉 靖子 012-04
西川 秋佳 P10-09、P10-17
西沢 共司 010-13
西田 信之 010-18、P11-12、P11-13
西村 進 P10-09
西村 千尋 010-18、P11-12、P11-13
仁保 直子 012-18

<ぬ>

糠谷 学 S2-5

<ね>

根本 清光 012-15

<の>

野口 規子 012-07
野田 修志 P10-14
野村 護 W2

<は>

橋本 修 W1-3
長谷川 愛 011-09
長谷川 妙子 012-07
長谷川 隆一 012-10、012-11、012-12、
P10-17、P11-10
畠山 和久 010-10、P10-09、P12-07
花田 秀一 010-02
羽野 寛 011-11
浜野 宝子 P11-01
浜村 政夫 012-10
林 宏一 011-08
林 泰司 010-01
林 真 P12-18
林 正男 P11-01
原 卓司 P11-18
原 巧 011-18
原口 浩一 012-15
原園 景 P11-20
原田 孝則 011-07、011-08
春田 純子 011-07

<ひ>

檜垣 實男 S2-3
東山 千春 P11-03、P11-04
平岡 功 P12-06
平岡 俊景 O12-17
平工 雄介 S1-3
平田 篤由 P10-03
平塚 明 O12-06
平塚 一幸 P10-02
平林 容子 S1-7、P12-03
広瀬 明彦 P10-17
広瀬 雅雄 O11-12、O12-18、P10-09

<ふ>

福岡 好一郎 P12-02、P12-15
福島 昭治 EL-4
藤江 秀彰 O11-07
藤田 健一 O11-01、O11-14、O11-15
藤田 正一 O11-05、O12-03
藤原 淳 P10-10
船橋 斉 P10-03
古川 桂子 P11-15
古川 浩美 O12-10
古川 雅一 P10-03
古川 正敏 P11-14
古里 征国 O11-11
古谷 真美 P10-05、P12-13

<ほ>

霍 艶 P12-03
宝来 玲子 O11-04
星野 健二 P11-06、P12-01、P12-12
星谷 達 O10-03
堀 正敏 O12-05
堀井 郁夫 O10-14、O12-01、O12-02、
O12-14
堀川 裕尚 P11-14
堀口 浩資 P12-07
本多 久美 P10-15

<ま>

真板 敬三 O11-08
前川 明彦 O12-16
前田 康行 O10-18、P11-12、P11-13
牧野 江梨子 O10-10、P12-05

政岡 俊夫 O11-11
増田 義人 O12-15
増谷 弘 S1-6
榎富 直哉 O12-18
倍味 繁 P12-06
松尾 洋孝 O10-17
松岡 哲也 O10-03
松澤 利明 O10-18、P11-12、P11-13
松島 綱治 W1-3
松島 泰次郎 O10-13
松島 裕子 P10-07
松永 信人 P10-12
松本 一彦 W2、O12-04
松本 浩孝 O11-18
真鍋 淳 P10-15
丸岡 秀一郎 W1-3
丸山 豊 O11-05、O12-03

<み>

三浦 克之 O10-06
三浦 浩蔵 O10-16
三浦 大作 P10-11
三浦 大志郎 P12-04
三浦 久樹 P11-06
三木 康宏 P12-07
水口 浩康 O10-03
水谷 正寛 O10-13
水野 英子 O10-04
溝口 靖基 O10-03
三森 国敏 O11-12、P11-10
三舌 秀雄 P10-14
三富 奈由 P11-08
南 孝則 P10-03
宮川 誠 P12-18
宮崎 雅史 O11-14
宮崎 宏彰 P12-16
宮田 裕人 O10-09
宮田 昌明 O11-03
宮脇 英美子 P11-19

<む>

向井 大輔 P12-05
六角 香 P11-02
務台 衛 O10-04、P11-01、P11-09
武藤 朋子 O11-11

武藤 紀生 P10-10、P11-03、P11-04
村田 共治 P10-11
村田 真理子 S1-3
村松 正明 S2-1
村山 典恵 W1-4

<も>

望月 雅裕 O12-08
本木 和子 O11-03
森 康男 P12-02
森 洋樹 P12-14
森村 智美 O11-18
森山 賢二 O10-01
森山 智之 O10-18、P11-12、P11-13
諸橋 栄介 P10-01
諸橋 鉄男 O10-04

<や>

矢可部 芳州 P10-14
八木 健一 O10-09
安原 加壽雄 O11-12
矢野 眞吾 O11-09、P11-05
山上 房枝 P12-04
山口 悟 O11-07
山口 知里 O10-10
山口 眞樹子 P11-10
山口 昌宏 O10-01
山口 裕子 P12-07
山口 佳美 S1-6
山崎 寛治 P10-14
山崎 友朗 O12-13、O12-15
山崎 洋 EL-5
山崎 義征 O11-01
山添 康 O11-03
山田 弘 O10-11
山本 静護 O10-13
山本 敏誠 O10-02
山元 俊憲 P12-08
山本 譲 O12-11

<ゆ>

湯浅 貴恵 W1-2
幸夫 児玉 P12-03

<よ>

横倉 輝男 O10-16
横田 忠 W1-6
横山 篤 P11-17
吉川 敏一 S1-5
吉田 武美 O11-04、P12-08
吉田 千春 P10-02、P11-08
吉田 敏則 O11-08
吉田 緑 O12-16
吉野 伸 P12-14
吉村 功 EL-6、P10-12
吉村 弘之 P10-03
淀井 淳司 S1-1、S1-6
米元 純三 O10-15
萬 啓悟 P12-11

<5>

桑木 宏実 S2-3

<わ>

若狭 芳男 P10-10
若林 敬二 O11-01
和久井 信 O11-11
和崎 正彦 P11-01、P11-09
渡部 一人 O12-07
渡辺 潔 W1-6
渡邊 久美子 O10-07
渡辺 元 O12-16
渡辺 大 P12-07
渡邊 隆夫 P10-03
渡辺 美香 P12-13
渡邊 幸彦 P10-03
渡部 烈 W2、O12-06
渡 修明 P10-11

演者索引 (英名)

<A>

Aryal Pramod 011-13

Bussiere Jeanine P12-15

<C>

Cha Shin-Woo 010-12

Chengelis Christopher P. P11-11

Chu Tom S2-2

Congdon Bill P12-02

Coxen Robert P12-02

<F>

Finnell RH S2-6

<G>

Gillam Elizabeth 011-02、011-13

Gonzalez Frank J S2-5、011-03

Guengerich F. Peter 011-13

Guengerich Frederick 011-02

<H>

Herberth M. P11-11

<K>

金 洙賢 S1-4

Kim Jong-Choon P10-08

Kim Yong-Chul S1-6

Klein Richard P12-15

Knapp J. P11-11

韓 眞伊 S1-4

Kwon Yong-Wong S1-6

<L>

LaFramboise Debra P12-02

<O>

Olden Kenneth PL-2

<P>

Ponce Rafael P12-15

<S>

Satarug Soisungwan 011-02

Schaefer G. P11-11

<T>

Tang L S2-6

鄭 然孫 S1-4

<W>

Waes J G-van S2-6

Wlodarczyk B S2-6

協賛会社および団体名

アストラゼネカ(株)研究開発本部
アムジェン株式会社
アラガン株式会社 開発薬制本部
エーザイ(株)
塩ビ食品衛生協議会
大塚製薬(株)徳島研究所
尾崎理化(株)
小野薬品工業株式会社
科研製薬(株)
鐘紡(株)カネボウ化粧品研究所
麒麟麦酒株式会社 医薬カンパニー
(株)コーセー研究本部
財三栄源食品化学研究振興財団
三基科学工業株式会社
サンスター(株)
シェリング・プラウ株式会社
塩野義製薬株式会社
株式会社資生堂
柴田科学器械工業(株)
(株)食品農医薬品安全評価センター
株式会社新日本科学
スミスクラインビーチャム製薬(株)
大鵬薬品工業(株)製薬センター

帝国臓器製薬株式会社
(株)夏目製作所
日清食品株式会社 中央研究所
日本イーライリリー(株)
日本スチレン工業会
社団法人日本即席食品工業協会
(株)日本たばこ産業
(株)日本バイオリサーチセンター
日本ベーリンガーインゲルハイム(株)
日本メナード化粧品(株)
日本ワイスレダリー(株)
ノバルティスファーマ(株)
バイエル薬品(株)
ハンティンドンライフサイエンス株式会社
ファルマシア株式会社
藤沢薬品工業(株)
ポーラ化成工業(株)
北陸製薬株式会社
明治製菓(株)薬品総合研究所
持田製薬(株)
山之内製薬株式会社
ライオン株式会社安全性評価センター
(50音順、4月20日現在)

第28回日本トキシコロジー学会学術年会 要旨集

発行	2001年6月10日
発行代表者	井上 達
発行所	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部内 158-8510 東京都世田谷区上用賀1-18-1 TEL 03-3700-9646
印刷	株式会社イズ・アソシエイツ

INA

International Non-Clinical Assessment

試験目的を達成するための
最適な方法を選択してください。
それはイナリサーチの
安全性薬理試験です。

安全性薬理試験

Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals

イナリサーチでは、新ガイドラインに対応した安全性薬理試験を受託します。ラット、イヌおよびサルを用い、PKを含めたコアバッテリー試験をはじめ、必要に応じたフォローアップ試験、サプリメント試験が可能です。

対象となる被験物質の薬理的特性を踏まえ、臨床で起こり得る有害作用の情報を的確に検出するための最適な試験の組み合わせをご提案し、実施します。

 株式会社 **イナリサーチ**

本社研究所 / 第2研究所 / 東京支所 / 大阪支所 / INA RESEARCH PHILIPPINES, INC.

〒399-4501 長野県伊那市西箕輪8047
TEL0265-72-6616 FAX0265-72-6657
<http://www.ina-research.co.jp/>

●お問い合わせは……

東京支所 tokyo@ina-research.co.jp
 Tel 03-3902-2377 Fax 03-3902-2477
大阪支所 osaka@ina-research.co.jp
 Tel 06-6223-1752 Fax 06-6223-1758



テレメトリーシステムを用いた試験なら バイリスにお任せ下さい。



1. 測定項目

血圧、心拍数、心電図、脳波、
体温、運動量、行動、呼吸数、
消化管運動

2. 使用動物

ラット、イヌ、サル

必ず御社のご要望にお応えいたします。

その他、 | 安全性試験
| 安全性薬理試験 (ADP・MAP etc...)
| 薬効薬理試験 (疾患モデル動物を用いた試験)
| RIを用いた試験

各種受託を行っています。

詳しい情報はホームページでもご覧いただけます。

まずはご相談下さい。



株式会社 環境バイリス研究所

本 社 〒528-0052 滋賀県甲賀郡水口町宇川555
TEL(0748)63-5253 FAX(0748)62-9062
東京事務所 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町4番9号 (小伝馬第一生命ビル日本精化株式会社内)
TEL(03)3661-8484 FAX(03)3664-7866
ホームページアドレス <http://www.jungle.or.jp/bilis/> E-mail : info@bilis.co.jp

StudyTracker™

Your Online Study Management Connection



Covance has been a recognized leader among contract research laboratories for over 50 years. We understand the importance you place on success, and we demand that same level of commitment from ourselves.

Our leadership is demonstrated by our:

- Investment
- Capacity
- Scientific excellence
- Regulatory guidance and compliance
- Service

**STUDY
Tracker™**
Your Online Study Management Connection

COVANCE
THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY

Shaping Solutions

どこからでもラップトップで
試験がモニター出来ます。
詳細は弊社ブースにて

コーヴァンス インク 日本支社

〒103-0016 東京都中央区日本橋小網町3-17 近仁ビル 5階
TEL.(03)3665-9902 FAX.(03)3665-9906



Creative Challenge with Customers
SAKURA

ANⅡシリーズ 実験施設・研究施設用 高圧蒸気滅菌装置

使う人にやさしく快適であること。ハイレベルな性能と環境に対する心づかいを、サクラの滅菌装置はバランスよく形にしました。高度な滅菌性能はもちろん、ケージの出し入れから、運転管理、メンテナンスにいたるまで、動物施設や研究施設での使いやすさを考えて、さらに簡単に、効率的に。しかもすみずみまでクオリティを追求し、安全性や耐久性も一段と向上しました。動物施設および研究施設用の新しい標準機です。



サクラ精機株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋本町3-1-9
TEL 03-3270-1666 FAX 03-3270-2779

株式会社千代田製作所

〒387 長野県更埴市鑄物師屋75-5
TEL 026-272-2381

たばこ煙吸入実験装置 SIS-CS1型



たばこ煙吸入実験装置 SG-200

たばこ煙吸入実験装置SIS-CS1型は、たばこ主流煙を小動物に吸入暴露し、生体への影響研究や動物病態(COPD)モデルの作成用として開発されたものです。当社の永年にわたる鼻部暴露吸入実験装置の技術と、新しく開発したたばこ煙発生装置との組合せにより、試験が簡単に出来るようになりました。



吸入チャンバー

- 鼻部暴露式のため吸入チャンバーの気積が小さいため、たばこ煙の充満時間が短縮されました。
- たばこ煙の吸煙・発生方法はシリンジポンプで吸煙・供給を行います。
- 希釈は任意に設定できます。
- たばこ煙発生装置には自動点火装置、自動吸い殻排出機が組み込まれており省力化を実現しました。
- システム制御、データ処理はパソコンで容易に出来ます。

鼻部暴露吸入実験装置

本装置は環境汚染物質の吸入毒性試験、医薬品の開発に欠かせない動態試験や薬理試験を目的として、第一化学薬品株式会社と共同開発した製品です。

- 従来の鼻部ばく露吸入実験装置より投与物質の消費量を節約できます。
- 吸排気分離構造により動物の呼気ガスを他の動物が吸入する事はありません。



柴田科学株式会社

資材調達
実施中
アクセス下さい

プロジェクト番号 110-8701 東京都台東区池之端 3-1-25
ダイヤルイン: TEL(03)3822-2115 FAX (03)3822-2001
ホームページ= <http://www.sibata.co.jp/>

OVER

20 YEARS OF DOING BUSINESS WITH JAPANESE COMPANIES

Inveresk Research recognises the importance of building long-term business relationships. We understand the key factors which contribute to successful partnerships. That is why we have over 20 years experience of working with Japanese companies.

With a Japanese office based in Tokyo, and visits to Japan by senior scientific and medical staff from the UK every month, there is always an opportunity to discuss your outsourcing requirements. Inveresk Research provides a full preclinical and clinical service and offers to assist with any aspect of drug development.

Please give us a call or look at our website today for more information.



Inveresk Research

INTERNATIONAL SOLUTIONS

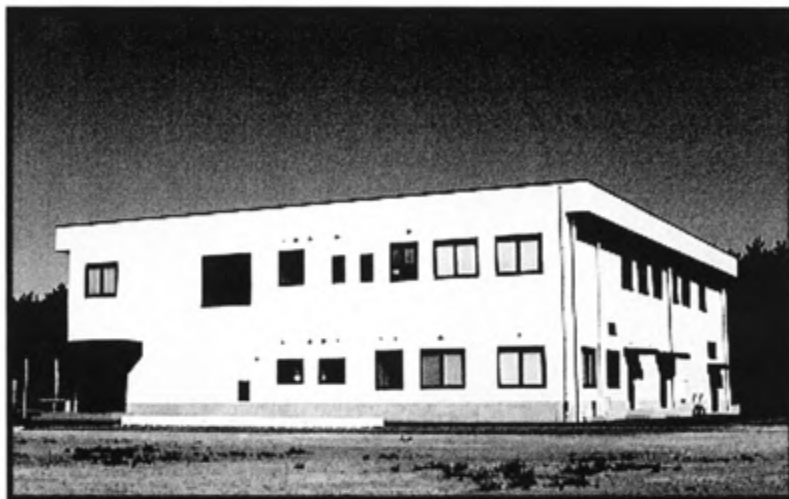
Corporate Headquarters, UK. Inveresk Research International Ltd. Tel: +44(0) 1875 614545. Fax: +44(0) 1875 614555.

Email: info@inveresk.com

USA (East Coast) Tel: +1 703 824 7850. Fax: +1 703 824 7851. USA (West Coast) Tel: +1 415 491 6460. Fax: +1 415 491 6464.

Japan Tel: +81 3 5634 5858. Fax: +81 3 5634 4934. Website: www.inveresk.com

遺伝毒性試験棟完成



遺伝毒性試験の需要にお応えして遺伝毒性試験棟を新設しました。

豊富な実績と試験種で医薬開発をサポートします。

安評センターは、医薬品・農薬・食品・化学物質・医用材料などの安全性に関する各種試験を実施しています。

受託試験項目

- 復帰突然変異試験 (AMES 試験)
- 染色体異常試験 (培養細胞・ヒトリンパ球)
- 小核試験 (マウス・ラット)
- IN VITRO 小核試験
- 不定期DNA合成試験 (UDS)
- トランスジェニックマウスの遺伝子突然変異試験 (MUTA MOUSE/BIG BLUE)
- 遺伝子突然変異試験 (MLA/HGPRT)
- 単一細胞DNA鎖切断試験 (SCG: IN VITRO および IN VIVO)
- 培養細胞を用いる二段階トランスフォーメーション試験
- DNA修復試験

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

〒437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田582-2

URL : <http://village.infoweb.ne.jp/~anpyo/>

詳しくはホームページをご覧ください。

研究所

電話 : 0538(58)1266

FAX : 0538(59)1170 山本、萩田

東京事務所

電話 : 03(3837)2340

FAX : 03(3837)7850 舟木

サル及びビヌによる テレメトリーシステムを用いた 安全性薬理試験を実施致します。

循環器系： 血圧，心拍数，心電図

呼吸器系： 呼吸数，血液ガス測定による
ヘモグロビン酸素飽和度の算出

中枢神経系： 一般症状(連続的なビデオ観察・記録)，
体温(連続的)，自発運動量

* 持続静脈内投与，自動採血装置との併用も可能です。



お問い合わせ先：

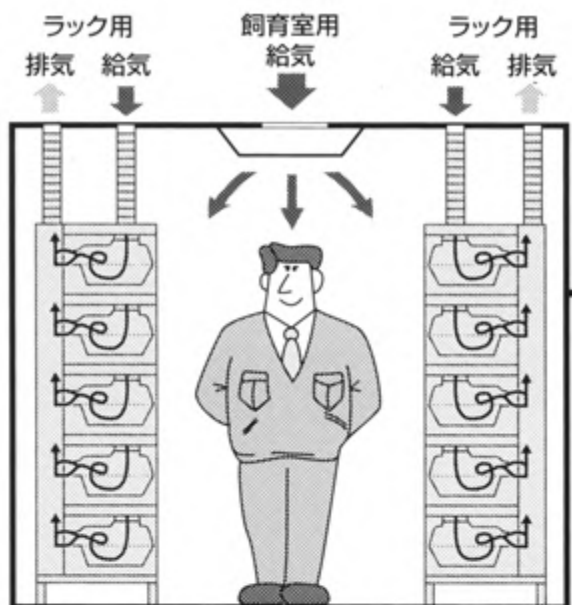
株式会社 新日本科学

www.snbl.com

本社/安全性研究所： 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619
(鮫島 秀暢 hsame@snbl.co.jp)

東京支社： 東京都港区虎ノ門1-1-23 虎ノ門東宝ビル
TEL 03-3500-5045 FAX 03-3500-5046
(村上 武志 murakami@snbl.co.jp 松居 良正 matsui@snbl.co.jp)

大阪支社： 大阪府中央区伏見町2-1-1 住友銀行高麗橋ビル
TEL 06-6233-8411 FAX 06-6233-8412
(堀江 信一 osk021@snbl.co.jp)



特許登録：第1881676号

VICシステム

VICシステム

ケージ内の強制換気で飼育環境を均一化

実験動物を飼育する上で動物間の汚染は大きな悩みの一つでした。ダイダンが開発したVICシステムならケージ単位でバリアを構築。新鮮な空気を直接各ケージへ送り強制的に換気を行い、ケージ間の相互感染防止と環境条件の最適化と、均一化を容易にします。

2つの新しい風で最適環境。

ラミフローラックシステム

「一方向流」で飼育室の問題点を解決！

気流分布のバラつき、それが従来の飼育室での最大の問題となっていました。ダイダンのラミフローラックシステムは室内気流を「一方向流」に改善し、温度のバラつきを最小限に抑えます。悪臭や感染などの削減をはかり、不快さ、不便さを解消します。



実用新案登録：第1991337号

ラミフローラックシステム

SLCの 実験動物



SPF動物

●クローズドコロニー

マウス Slc:ddY
Slc:ICR
ラット Slc:SD
Slc:Wistar
Slc:Wistar/ST
HOS®:Donryu
モルモット Slc:Hartley
ウサギ Slc:NZW
Slc:JW/CSK
ハムスター Slc:Syrian

●近交系

マウス BALB/c Cr Slc
C57BL/6 Cr Slc
* C57BL/6J
C3H/He Slc
DBA/2 Cr Slc
NZW/N Slc
* A/J
AKR/N Slc
CBA/N Slc
C3H/He N Slc
* C3H/He J
C57BL/10 Sn Slc
B10.A/SgSn Slc
B10.BR/SgSn Slc
B10.D2/nSn Slc
B10.QBR/Sx Slc
B10.S/Sg Slc
ラット F344/N Slc
WKAH/Hkm
BN/SsN Slc

LEW/SsN Slc
ACI/N Slc
Strain 2/Slc
Strain 13/Slc
MON/Jms/Gbs Slc
モルモット
スナネズミ

●交雑群

マウス Slc:BDF1
Slc:CDF1
Slc:B6C3F1

●ミュータント系

ヌードマウス BALB/c Slc-nu
KSN/Slc

Clean動物

●クローズドコロニー

マウス Std: ddY
ラット Std: Wistar
Std: Wistar/ST
HOS®:Donryu
モルモット Std: Hartley
ウサギ Std: NZW
Std: JW/CSK
ハムスター Std: Syrian

Conventional動物

ビーグル犬 ノーサンビーグル
カニクイザル 繁殖生産ザル(奄美)
アカゲザル

疾患モデル動物

マウス *BXSb/MpJ-Yaa (自己免疫疾患)
*C3H/HeJ-gld (自己免疫疾患)
*C3H/HeJ-lpr (自己免疫疾患)
*C57BL/6J-gld (自己免疫疾患)
*C57BL/6J-lpr (自己免疫疾患)
*MRL/MpJ-gld (自己免疫疾患)
*MRL/MpJ-lpr (自己免疫疾患)
NC/Nga (皮膚炎)
NZB/N Slc (自己免疫疾患)
Slc:(NZWBXBSB)F1 (心筋梗塞)
☆HR-1 (ヘアレスマウス)
Slc:NZWF1 (自己免疫疾患)
Slc:WBB6F1-W/W^v (肥満細胞欠損鼠)
Slc:WBB6F1-Si/Si^v (NK細胞機能低下)
CTS/Shi (免疫不全)
*DBA/1J (アジュバンド関節炎)
*129X1/SvJ (ES細胞)
AKITAマウス (糖尿病)
SAM (RITA-P1/Ka-P6/Te-P8/Ta-P10/Ta) (老化促進)
ラット DA/Slc (コラーゲン誘導関節炎)
DA/Slc-bg/bg (NK細胞機能低下)
HWY/Slc (ヘアレスラット)
SDR (矮小ラット)
NAR/Slc (無アルビ症)

WBN/Kob Slc (高血糖好発)
Slc:WsRc-Ws/Ws (貧血・肥満細胞欠損・心臓異常)
Slc:Zucker-fa/fa (肥満)
☆DIS/Eis (食塩感受性高血圧症)
☆DIR/Eis (食塩抵抗性)
☆EHBR/Eis (高ビリルビン血症)
SHR/lzm (高血圧)
SHRSP/lzm (脳卒中)
WKY/lzm (SHR/lzmのコントロール)
SHR/NDmc-cp (肥満・糖尿・高血圧)
GK (糖尿病)
ハムスター APA Slc (腎糸球体脂質沈着症)
J2N-k (心筋モデル)
J2N-n (J2N-kのコントロール)
マストミ W・Y・Z系 (胃癌前立炎)
移植動物 ショーブ乳頭腫由来VX2、VX7
担癌ウサギを供給いたします。

その他

実験動物用床草・ソフトチップ(木)・ペーパー(紙)
小動物識別染料クイックカラーペイント
実験動物診断EIA試薬(デンカ生研)
ラット静注用保定器

*印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。



日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市湖東町3371番地の8
TEL (053)486-3178(代) FAX (053)486-3156

営業専用TEL

関東エリア(053)486-3155(代)
関西エリア(053)486-3157(代)
九州エリア(0942)41-1656(代)



LabDiet

PMI Nutrition International
http://www.labdiet.com

実験動物用飼料



お問い合わせ資料請求、
ご注文は……

日本
総代理店



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市湖東町3371番地の8
TEL(053)486-3178(代) FAX(053)486-3156(代)

PMI Nutrition Internationalは
ISO9002を取得し、より信頼性の高い実験動物用飼料を製
造して100年以上の実績を誇る企業です。製品は厳選され
た原料と厳しい品質検査によるGLP試験に適したサーティ
ファイド飼料をはじめ、常に高品質な製品を世界各国に提供
しております。

取扱項目

- | | |
|--------------------------|------------|
| ◇マウス用 | ◇ラット用 |
| ◇マウス・ラット・ハムスター用 (Rodent) | |
| ◇モルモット用 | ◇ウサギ用 |
| ◇イヌ用 | ◇旧・新世界ザル用 |
| ◇ネコ用 | ◇ブタ・ミニブタ用 |
| ◇フェレット用 | ◇ヒヨコ・ニワトリ用 |

※その他、各種特別調製飼料の
ご注文も承ります。

営業専用TEL

関東エリア(053)486-3155(代)

関西エリア(053)486-3157(代)

九州エリア(0942)41-1656(代)

IN VITRO
TECHNOLOGIES



Human Hepatocytes(Primary)を用いる ハイスループット-Hepatotoxicity試験

肝細胞毒性試験

▲Dr. C. Reugg (IVT社)

▲Dr. P.M. Silber (IVT社CEO)

▲Dr. A.P. Li (IVT社)

今、最も期待されているin vitro Screening試験ではないでしょうか

世界で最も信頼できる技術・経験を持つIn Vitro Technologies社との提携により、ヒト細胞を用いるin vitro HTS-Hepatotoxicity Screening試験の導入を、日本チャールス・リバーがお手伝いします。

プロトコルの例、具体的なデータは下記をご覧ください

<http://www.invitrotech.com/html/filelibrary.cfm>

http://www.invitrotech.com/html/target_organs.html

- その他、ヒト肝、腎などの組織を用いるTarget Organs Toxicity試験、新鮮ヒト肝細胞でのinduction試験、代謝試験の受託も承ります。
- ヒトおよび各種動物の凍結肝細胞、マイクロゾーム、S9などの分譲も、お問い合わせください。

あらゆるBio Technical Serviceは、まず当社にご相談ください

先端医療開発のパートナー

お問合せは

日本チャールス・リバー株式会社

第二営業部 〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-3-8 東伸24新横浜ビルB-4F
TEL 045(474)9336 FAX 045(474)9341

Email: crj-sd@yokohama.email.ne.jp

<http://www.crj.co.jp>

JAPAN BIOASSAY
RESEARCH CENTER
JAPAN INDUSTRIAL SAFETY & HEALTH ASSOCIATION

日本バイオアッセイ研究センター

中央労働災害防止協会

受託試験内容

- ☆ 吸入毒性試験
- ☆ 経口毒性試験
- ☆ 経皮毒性試験
- ☆ 皮膚刺激性試験
- ☆ 皮膚感作性試験
- ☆ がん原性試験
- ☆ 生殖発生毒性試験
- ☆ 微生物変異原性試験
- ☆ 培養細胞染色体異常試験
- ☆ 哺乳類小核試験

いずれの試験においても随時ご相談に応じます。

<お問合せ>

中央労働災害防止協会

日本バイオアッセイ研究センター

〒257-0015 神奈川県秦野市平沢 2445 番地

TEL 0463-82-3911

FAX 0463-82-3919



ラボ空間の最適環境づくりを お手伝いします。

研究用試薬
臨床検査薬
O A 機器

研究用総合機器
臨床検査用機器
事務用機器

OR 尾崎理化株式会社

本社 神奈川県津久井郡津久井町根小屋1888
〒220-0203 電話 042(784)2525 FAX 042(784)2555
E-mail:ozaki@green.ocn.ne.jp
横浜営業所 横浜市緑区いぶき野31-10
〒226-0028 電話 045(988)0531 FAX 045(988)0532
E-mail:ozaki.y@jeans.ocn.ne.jp
多摩営業所 東京都八王子市長沼町271-6-101
〒192-0907 電話 0426(37)2200 FAX 0426(32)7212
E-mail:ozatama@coral.ocn.ne.jp

人にやさしく、思いやりをもって…

和顔愛語が、わが社の基本理念です。

医学、薬学、獣医学、あらゆる研究分野でお役に立ちます。
良質な実験動物を確実に、迅速にお手元にお届けいたします。
豊富な実績で実験動物の研究を堅実にサポートいたします。
確かな人材を必要な人数、必要な期間だけ派遣いたします。



三協ラボサービス株式会社

■本社
〒132-0023 東京都江戸川区西一之江2丁目13番16号
TEL:03(3656)5559 FAX:03(3656)5599
E-mail:ski-honsya@mta.biglobe.ne.jp

■北総営業所
〒939-8213 富山市黒瀬115
TEL:076(425)8021 FAX:076(491)1107
E-mail:ski-hokuriku@msa.biglobe.ne.jp

■札幌営業所
〒004-0802 札幌市清田区里塚2条4丁目9番12号
TEL:011(881)9131 FAX:011(883)1176
E-mail:ski-sapporo@muf.biglobe.ne.jp

■つくばラボ
〒300-2656 茨城県つくば市真淵940-1
TEL:0298(38)1227 FAX:0298(38)1269
E-mail:ski-tsukuba@muj.biglobe.ne.jp

業務内容

営業部

- 実験動物および実験動物用固型飼料の販売
- 実験動物用飼育器具・器材の販売
- 実験動物の輸送

受託部

- 実験動物の飼育管理（短期または長期）
- 実験動物、Tg動物の委託飼育および繁殖

その他、実験動物飼育室等のクリーンアップ、実験動物のクリーンアップ（SPF化）など実験動物に関連することは、何でもご相談下さい。スタッフ一同、お客様のあらゆるニーズに誠意をもって対応いたします。

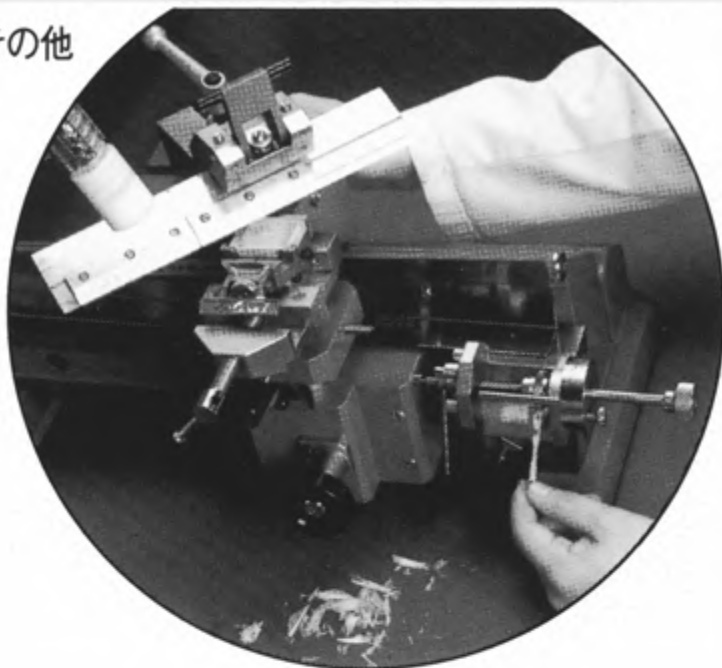


信頼できるパートナーとして安全性試験の受託

医薬・農薬・食品添加物・化粧品 その他

【受託試験項目】

- 一般毒性試験
(単回・反復投与)
- 特殊毒性試験
(生殖・発生、癌原性、局所刺激)
- 病理組織標本の作製・検査
- 血液学・血液生化学的検査
- 機器分析
- その他(お問い合わせ下さい)



日生研株式会社

〒198-0024 東京都青梅市新町9-2221-1
TEL: 0428-33-1040 FAX: 0428-33-1080

9810



FUNABASHI FARM CO.,LTD.

株式会社

船橋農場

〒273-0046

千葉県船橋市上山町2丁目465番地

TEL 047-438-4161(代)

FAX 047-430-2885

動物

疾患モデル動物

ラット WKY/lzm: コントロール
SHR/lzm: 高血圧症自然発症
SHRSP/lzm: 脳卒中症自然発症

移植動物

ウサギ VX2担癌細胞移植
VX7担癌細胞移植

普通動物

ウサギ JW
NZW

飼料

実験動物用飼料

一般飼料/特注飼料/放射線滅菌飼料/他

動物園用飼料

草食動物飼料/水禽類飼料/走鳥類飼料/他

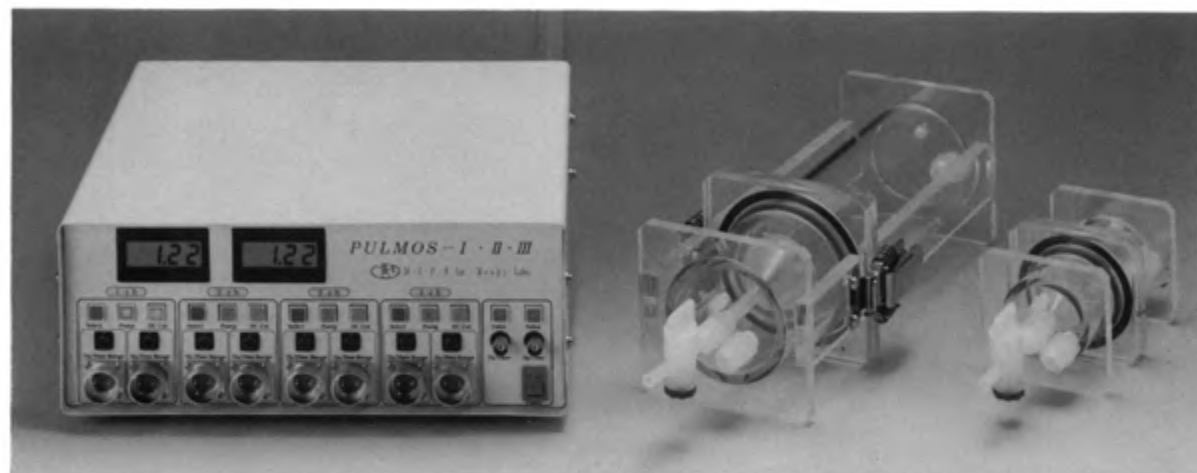
その他飼料

牧草/野菜/果実/他

受託: マウス・ラット・モルモット・ウサギの飼育受託 実験手技 の受託
資材: チップ各種 飼育器材 尿石落とし 他

総合呼吸機能測定システム

PULMOS-I・II・III + 0



+++プルモス・シリーズが統合化されました。+++

ユーザー様の要望に対応しながら、機能拡張を続けてまいりました プルモス・シリーズが高機能・低価格を実現して統合化されました。今必要な計測システムからセンサー・アンプ・チャンバー等の追加でシステム・アップが行えます。

- ◎ PULMOS-0 : ホール・ボディ・プレティスモグラフィ法
(無麻酔下) 対象動物=ラット・モルモット
- ◎ PULMOS-I : ダブルフロー・プレティスモグラフィ法
(無麻酔下) 対象動物=ラット・モルモット
- ◎ PULMOS-II : Traceal Cannula挿入法
(麻酔下) 対象動物=マウス～ドッグ・モンキー
- ◎ PULMOS-III : Konzett - Rossler法
(麻酔下) 対象動物=マウス・ラット・モルモット
- ◎ PULMOS-IV : 鼻腔内圧測定
対象動物=マウス・ラット・モルモット

<関連製品>

- ◎ 小動物用鼻吸入曝露装置
- ◎ 隔離型全身曝露装置
- ◎ 連続エアロゾル発生装置
- ◎ オゾン発生装置
- ◎ 喫煙(タバコ)曝露装置
- ◎ 毒性試験用呼吸モニター



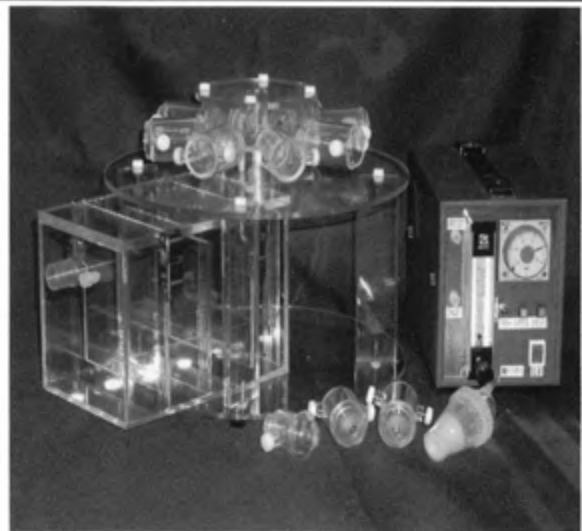
エム・アイ・ピー・エス
株式会社 M・I・P・S レスピー研究室

本社：〒536-0004 大阪市城東区今福西3-2-2-1105

TEL:06-6935-7720 FAX:06-6935-7718 email:mips@medical.email.ne.jp

小動物用鼻吸入曝露装置

- ・マウス用 INH03-Mouse ¥400,000
吸入曝露チャンバー架台 INH03-MOTBL8/24
ボディ・ホルダー・カートリッジ S型/M型/ML型/L型
- ・ハムスター用 INH03-Hamster ¥500,000
吸入曝露チャンバー架台 INH03-HATBL8
ボディ・ホルダー・カートリッジ S型/M型/ML型/L型
- ・ラット用 INH03-Rat ¥700,000
吸入曝露チャンバー架台 INH03-RATBL8
ボディ・ホルダー・カートリッジ
- ・モルモット用 INH03-G_Pig ¥750,000
吸入曝露チャンバー架台 INH03-GPTBL8
ボディ・ホルダー・カートリッジ
- ・吸入曝露コントローラ INH03-CTRL
- ・微細ミスト発生BOX INH03-RSVBOX
- ・ミスト発生装置-私研社/INVACARE社/dEvilbiss社/PARI社
- ・オゾン発生装置



毒性試験用呼吸モニター

Tidal Volume:	一回換気量
Respiratory Rate:	分時呼吸数
Peak Expiratory Flow:	最大呼気流速
Peak Inspiratory Flow:	最大吸気流速
Minute Volume:	分時換気量
Expiratory Time:	呼気時間
Inspiratory Time:	吸気時間
Relaxation Time:	無呼吸時間
Ratio:	呼吸時間比率



RESPYTOX - 8



喫煙 (タバコ) 曝露装置

- ・煙草主流円発生装置 INH06-CIGR01 ¥2,980,000
- ・ペピーコンプレッサー INH06-CIGR11 ¥200,000
- ・自動着火装置 INH06-CIGR12 ¥300,000
- ・自動排出装置 INH06-CIGR13 ¥50,000
- ・マウス用
曝露チャンバー架台 INH06-MOTBL24 ¥240,000
ボディ・ホルダー・カートリッジ INH06-MOBHML ¥45,000
- ・ハムスター用
曝露チャンバー架台 INH06-HATBL24 ¥260,000
ボディ・ホルダー・カートリッジ INH06-HABH ¥45,000
- ・ラット用
曝露チャンバー架台 INH06-RATBL16 ¥300,000
ボディ・ホルダー・カートリッジ INH06-RABH ¥70,000
- ・モルモット用
曝露チャンバー架台 INH06-GPTBL16 ¥320,000
ボディ・ホルダー・カートリッジ INH06GPABH ¥75,000



エム・アイ・ピー・エス
株式会社 M・I・P・S レスピー研究室

本社 〒536-0004 大阪市城東区今福西3丁目2番2号-1105

TEL:06-6935-7720

FAX:06-6935-7718

e-mail:mips@medical.email.ne.jp



MPI Research is a full-service toxicology research organization that conducts studies with all major species and by all routes of administration. MPI welcomes clients from the pharmaceutical, chemical, biotechnology, consumer products, agricultural, food and medical device industries as well as agencies of the government.

AFFILIATE:

Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.

1-30 Shiba 2-Chome

Minato-ku, Tokyo 105-0014 Japan

Ph: 03-3454-7571

Fax: 03-3454-7573

Email: XLP01002@niftyserve.com

MPI JAPAN REPRESENTATIVE:

Mr. Yoshikazu Hasegawa

International Quality Assurance

2731-71 Okami-Machi

Ushiku City, Ibaraki Pref. 300-1204 Japan

Ph/Fax: 0298-747370

Email: ogsun@mti.biglobe.ne.jp



MPI
RESEARCH

**54943 North Main Street
Mattawan, MI 49071**

**Tel: 616.668.3336 • Fax: 616.668.4151
Email: MPI_General@MPIResearch.com**

Website: www.mpiresearch.com



CTBRはクオリティー（品質）・リスポンシブネス（迅速）・イノベーション（革新）をモットーとして皆様のニーズにお応えします。

CTBR - 信頼と貢献に基づいた相互関係の発展をめざして...

CTBRは、過去15年間に亘り、日本の医療業界の皆様とお仕事をしてまいりました。今日、日本はCTBRにとって、米国に次いで世界第二の市場になっています。CTBRでは、研究者、技術者、サポート・スタッフを含む従業員総数約1000人で、年間1100件以上のGLP準拠前臨床試験報告書を手掛け、そのオンタイム提出成績98%を誇っています。1984年に日本と取引を始めて以来、私どもの皆様に対するコミットメントは今も変わりません - 最高レベルのサービスを提供し、皆様の新薬開発の成功に貢献していくことを目指しています。

CTBR試験サービス

- * 分析化学・生物学的分析
- * 骨関連研究
- * 循環器系プロファイル
- * 臨床検査
- * 薬物代謝・薬物動態試験
- * 一般毒性試験、癌原性試験
- * 遺伝毒性試験
- * 免疫化学検査
- * 免疫学検査
- * インフュージョン・薬理学・バイオテクノロジー試験
- * 吸入毒性試験
- * 神経毒性試験
- * 病理学的検査
- * 生殖毒性試験

ご連絡はCTBR 総代理店、豊田通商株式会社まで。CTBRのウェブサイト <http://www.ctbr.com> もご覧ください。



● 豊田通商株式会社
〒103 東京都中央区日本橋2丁目14番9号
電話: 03 (3242) 8158
FAX: 03 (3242) 8498

CTBR

87 Senneville Road
Senneville, Quebec
Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: marketing@ctbr.com
Web site: www.ctbr.com

Central Toxicology Laboratory (略称 CTL)

CTLの試験受託

はじめに

Central Toxicology Laboratory(略称CTL)は毒性科学の全分野において世界的な評価を載せております。CTLは優れた研究施設と支援施設を持ち、広範な規制対応と先進的な研究活動を続けて参りました。

CTLは科学的な専門知識と経験に基づいた効率的で包括的な毒性関係のサービスを提供し、お客様に重要かつ競争力のあるサービスを行っております。

さらに、50年以上にわたる毒性試験で得た深くて広い経験により、お客様のニーズに合わせたプロトコルや意志決定に役立つ一連の試験を実施し、かかる費用に対して最も効率的な受託試験行うことが出来ます。CTLは多分野で経験を積んだチームを活用して、総合的なアプローチを行い、共同プログラムを進めることが出来ます。

医薬品試験

CTLはお客様のご要望に合った新薬スクリーニングのパッケージや安全性評価試験の正式規制対応のパッケージを提供することが出来ます。後者は、既存および新規の医薬品/バイオテクノロジーおよび医療器具のための臨床試験(第I-IV相)と市場開発許可を支援するために計画されたものです。このプログラムはCTLを通じて経験豊富な臨床試験機関を組織する迅速な対応が出来るように計画できます。

コンサルタントおよび専門家の検証

CTLは毒性学者から科学的評価の一環として最高水準と国際的評価を多年にわたって維持しています。提供する経験の広さと深さにより、CTLは科学的見地と多くの経験を積んだ規制環境について主たる毒性分すべてについてコンサルタントサービスと専門家の検証を提供できます。

研究能力

CTLは最新の研究室で上級の科学者が行う広範な試験研究を提供いたします。

研究室で可能な研究能力には下記のものが含まれます：

- ◎神経生物学 電気生理学 神経毒性学 毒性遺伝学 内分泌機能 神経内分泌学 ホルモン攪乱およびプロテオミックス
- ◎免疫生物学 化学およびタンパクアレルギー 免疫毒性学 分子生理学 サイトカイン測定とその機能
- ◎抗原抗体反応の分子的調節 膜生化学 細胞生物学
- ◎製品の弁護および登録のためのメカニズム研究

お問い合わせ先：

株式会社 リプレ

Central Toxicology Laboratory 日本オフィス

東京都中央区日本橋茅場町3-5-3

電話：03-5643-2755 Fax：03-5643-2756 電子メール：repre@hi-ho.ne.jp

Central Toxicology Laboratory 英国

Business Development

Tel: +44(0)1625-514534 Fax: +44(0)1625-517314