

第29回日本トキシコロジー学会学術年会

The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology

2002年6月18-20日

18-20 June 2002

プログラム・要旨集



Program・Abstract

Exhibition

Nagoya Congress Center

syngenta



Syngenta Central Toxicology Laboratory(CTL)

Syngenta Central Toxicology Laboratory (CTL)は、50年以上にわたる豊富な経験と実績に基づき、生命安全科学のあらゆる分野で国際的に高い評価を頂いております。CTLの多くの上級研究者は、国際機関の諮問委員会および生命安全科学に関連する種々の学会の主要なメンバーとして活躍しており、また生命安全科学の先端分野に関する研究および動物実験の代替試験法に関する研究を活発に行っております。

CTLが提供できるサービス

研究

Syngenta CTLの経験豊富な毒性研究者が、最新設備の整った研究室で以下のような広範な毒性に関する研究を提供します。

神経生物学、電気生理学、神経毒性学、毒性遺伝学、内分泌学、神経内分泌学
プロテオミクス及びトキシコゲノミクス
免疫生物学、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

研究員及びその研究分野は以下のとおりです。

Prof. Lewis L. Smith (所長) Dr. I. Kimber (免疫毒性、サイトカイン、毒性ゲノミクス等)
Prof. J. Ashby (変異原性、癌原性、内分泌攪乱物質等) Dr. D. Lewis (毒性メカニズム、生殖毒等)
Dr. R. Roberts (毒学等) Dr. G. Orphanides (転写メカニズム、DNAマイクロアレイの毒性研究への応用等) Dr. J. Heylings (経皮吸収、安全性薬理学等) Dr. P. Hext (吸入毒性等)
Dr. S. Allen (神経毒性学、安全性薬理学等) その他

毒性コンサルタンシーとエキスパートレビュー

Syngenta CTLは、毒性試験の結果を正しく解釈するための「毒性コンサルタンシー」を提供します。毒性試験で得られた成績をヒトに外挿する場合、必要に応じて毒性のメカニズムに関する研究を行い、医薬品のヒトに対する安全性を正しく評価するための「エキスパートレビュー」を実施します。

医薬品の非臨床試験

Syngenta CTLは、お客様のデザインに沿ったリード化合物のスクリーニング試験を行います。また既存及び新規のバイオテクノロジー製品を含む医薬品の申請業務に必要な一連の毒性・安全性薬理試験を実施します。なお、Syngenta CTLは臨床試験（治験）施設数社と提携関係にあり、ご要望に応じて非臨床から臨床まで、医薬品の開発に必要なすべての試験をお引き受けすることが可能です。

お問い合わせ先

Central Toxicology Laboratory 日本オフィス
株式会社 リブレ

東京都中央区日本橋茅場町3-5-3

Tel: 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

電子メール: ann.evans@syngenta.com

第29回

日本トキシコロジー学会学術年会

会期：2002年6月18日(火)～20日(木)

会場：名古屋国際会議場

〒456-0036 名古屋市熱田区熱田西町1-1

主催：第29回日本トキシコロジー学会年会 学術年会 企画委員会

年会長：松澤 利明 (山之内製薬(株))

企画委員：(50音順)

大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

飯家 公夫 (神戸学院大学)

黒川 雄二 ((財)代々木研究所)

小林 孝好 (アムジェン(株))

佐神 文郎 (エーザイ(株))

白井 智之 (名古屋市立大学)

長尾 拓 (国立医薬品食品衛生研究所)

堀井 郁夫 (ファイザー製薬(株))

堀江 透 (ディ・スリー研究所)

宮鷹 宏彰 ((株)新日本科学)

ICH-Safety Forum 2002 企画委員会

委員：(50音順)

野村 護 (第一製薬(株))

牧 栄二 (ヤンセンファーマ(株))

馬屋原 宏 ((株)ラビトン研究所)

年会事務局 〒174-8612 東京都板橋区蓮根3-17-1 山之内製薬(株) 薬事部
Tel:03-5916-5498, Fax:03-5916-5605, E-mail:2002JST@yamanouchi.co.jp
2002年6月17-20日の年会会期中：名古屋国際会議場 435会議室

市民公開セミナー オーガナイザー
高橋 道人 (病理ピアレビューセンター)
飯家 公夫 (神戸学院大学)

協賛学会 日本薬学会・日本薬理学会・日本薬物動態学会・日本獣医学会・実験動物学会・日本毒性病理学会

サポートデスク 近畿日本ツーリスト(株) 名古屋支店
〒450-0002 名古屋市中村区名駅2-45-19

表紙のデザイン Design of cover page

Unquestionably, the dominant structure throughout Nagoya's long history has been Nagoya Castle in Nagoya City. Adorning the roof of the castle tower are twin 88 kg "Fabulous dolphin-like fish Halberd" made of 18k gold, which have become the symbol of the city. In the gold Halberd, the left side is a female, and the right side is male.

The image is of the rainy season turning to blue. The sky, the land, and the sea are integrated by rain at this time, and the flower that blooms is as blue as the hydrangea and Aya.

The sun of June blazes when the weather clears

INDEX

年会長挨拶	5
会場へのアクセスのご案内	7
会場内のご案内	9
参加者へのご案内とお願い	12
発表者・司会者へご協力依頼	18
会場と催し物のご案内	22
プログラム	29
講演要旨	
会長講演	73
特別講演	79
教育講演	85
シンポジウム 1	93
シンポジウム 2	103
ワークショップ 1	115
ワークショップ 2	125
ワークショップ 3	135
ワークショップ 4	147
セミナー 1	161
セミナー 2	173
一般演題（口演）	183
一般演題（ポスター）	215
市民公開セミナー	256
索引	283
学会本部	297

年会長のご挨拶

第29回日本トキシコロジー学会学術年会

第29回日本トキシコロジー学会学術年會を名古屋国際會議場で開催するにあたり、一言ご挨拶申し上げます。日本製薬工業協会基礎研究部会長を担当していたため、産業界を代表して今年の年会長を仰せつかりました。最近10年間は、良薬を如何にして患者へ早く届けるために動物、機材、時間等の資源の節減を軸とし、ICHのツールを利用してトキシコロジーの在り方を皆様と一緒に考えて参りました。その結果、医薬品評価におけるトキシコロジーは世界的な応用科学である事が認識されるようになりました。その流れに乗って、今回の学術年會の主テーマ（スローガン）は「医薬品開発加速および安全性評価力向上のためのトキシコロジーの役割」を掲げました。年会長の基調講演は *in vivo* 毒性試験の技術的向上、3人の欧米の演者には、特別講演として、それぞれ「毒性評価におけるメカニズムの重要性」、「バイオ医薬品の毒性評価の在り方」、「創薬早期の毒性・薬物評価の予測」について講演して貰います。さらに近未来的な生物学の1つとして「*in silico*での細胞代謝の研究」についてコンピュータサイエンスの専門家に講演して頂きます。

シンポジウム、ワークショップおよびセミナーにおいても主テーマ（スローガン）に沿ったコンセプトで、1. 心電図異常、Q-Tc間隔延長について、2. 毒性発現メカニズム、3. 創薬初期における薬物動態・毒性の研究戦略、4. バイオ医薬品の毒性試験と評価の在り方（毒性質問箱Q&A）、5. 量的構造活性相関と毒性予測、6. トキシコゲノミクスと分子毒性学、7. *in vivo* 毒性試験における新技術と評価および8. 医薬品の免疫毒性試験の進め方をトピックにして企画しました。

本年會に参加される皆様方は3日間の会期を有意義に過ごされ、その成果が医薬品開発におけるトキシコロジー研究とその進展の契機になる事を祈念します。

トキシコロジーの目的は、医薬品、農薬、化学物質、環境物質等のヒトおよび生物の「生命安全科学」の追究にあります。トキシコロジーは、世界的に共通な学問であり、1国の利益のためのものではない。非臨床試験関係のICHガイドラインやGLP規範は本来国際化して一本化されたにも関わらず、批准後に専門家でないか方々によって知らず知らずのうちに拡大解釈され規制が強化されている。また、日本独自のものになりつつあり、学問や企業の発展を阻害する大きな要因になっている。そのため、一般演題では「試験の信頼性」の区分を設け議論して貰いたい。国際會議として組織を作り、ICHに関連する3トピックを“ICH Forum 2002の名称”でワークショップやセミナーを開催し、欧米から招待演者を招いて本質を議論して貰いたい。ICH Forum 2002に欧米から少なくとも5名のゲストスピーカーが出席します。

また、トキシコロジーを市民にも理解して貰うため初めての試みとして、無料の公開セミナーを開催します。テーマは「くすりの安全性はいかに守られるか」である。

米国SOTをみならって会期中の服装は普段着とします。スポンサーのご厚意によりランチョンセミナーは8つ開催され、昼食時を有意義に過ごす事ができると思います。多くの会社・団体からの助成により口頭発表には全て液晶プロジェクターを使用します。

おわりに、支援者、発表者、参加者、協賛者、ボランティアの皆様には謝意を表するとともに、本年會がトキシコロジーの発展に貢献することを祈願致します。

第29回 日本トキシコロジー学会学術年会長
松澤 利明（山之内製薬㈱）

Greeting from the Chairperson

The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology, Year 2002
Toshiaki Matsuzawa, Ph. D., Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo

Welcome to the 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology (JST), Year 2002. It is my honor and pleasure to announce that I will chair the Society this year as the representative of business and industry circles, having been assigned to be the chairperson of the Non-clinical Evaluation Subcommittee of the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA).

Our concerns over the past decade have focused on ICH thinking, reduction of the number of animals used in testing, advances in technology, etc., in an attempt to effective new and novel medicines in the shortest possible time. Consequently, toxicology has become recognized as a crucial applied science internationally. Therefore, the main theme (slogan) of this meeting will be "the Role of Toxicology in Accelerating Drug Development and Improving Safety Evaluation".

A keynote address of the chairperson will be "Technical Factors Affecting *In Vivo* Toxicology Studies". Three European and American speakers will present special lectures on "The Importance of Mechanisms of Toxicity to Risk Assessment", "Strategic Toxicology Evaluation of Bio-Pharmaceuticals—Past, Present and Future—" and "Predictive Models in Early Risk Assessment of Novel Drug Candidates". In addition, an expert in computer science will address the topic of "Computer Simulation of Cellular Metabolism and Its Application to Medicine" as a Future Biological Consideration.

Other topics of the symposia, workshops, and seminars fall in line with this main theme and include: 1. Models for profiling the potential QTc prolongation risk of a drug; 2. Understanding mechanisms of chemical toxicity; 3. Pharmacokinetic and toxicologic research strategies in the early stages of drug discovery; 4. The way toxicity evaluations of bio-pharmaceutical products should be conducted (toxicological questions & answers); 5. Quantitative structure/activity relationships and prediction of toxicity; 6. Toxicogenomics and molecular toxicology; 7. New technology and evaluations of *in vivo* toxicity studies; and 8. Procedures of immune toxicology studies of pharmaceuticals.

I hope there is sufficient time to cover these in-depth concepts during this 3-day meeting and am confident that this meeting will prove beneficial to future toxicological research and development.

The purpose of toxicology is to pursue the scientific research of life safety for humans and other living things in terms of drugs, agrochemicals, chemicals, environmental substances, etc. Toxicology is a worldwide discipline, not related to the interest of only certain countries. Even though the ICH Guidelines and GLP standards for non-clinical studies have been subject to international standardization and unification, following ratification, they seem to have locally become subject to overextended interpretation by non-specialists, and the regulations have been strengthened. Further, a purely Japanese version of the regulations seems to be developing, which is a large factor inhibiting development in academia and in business. Therefore, I would like to see discussion of this matter in the section concerning "study reliability" among the general presentations. I also think it would be beneficial to organize an international meeting to invite presenters from Europe and North America to give workshops and seminars on the three topics involving the ICH under the name of "ICH Forum 2002". "ICH Forum 2002" will welcome five or more guest speakers from Europe and North America.

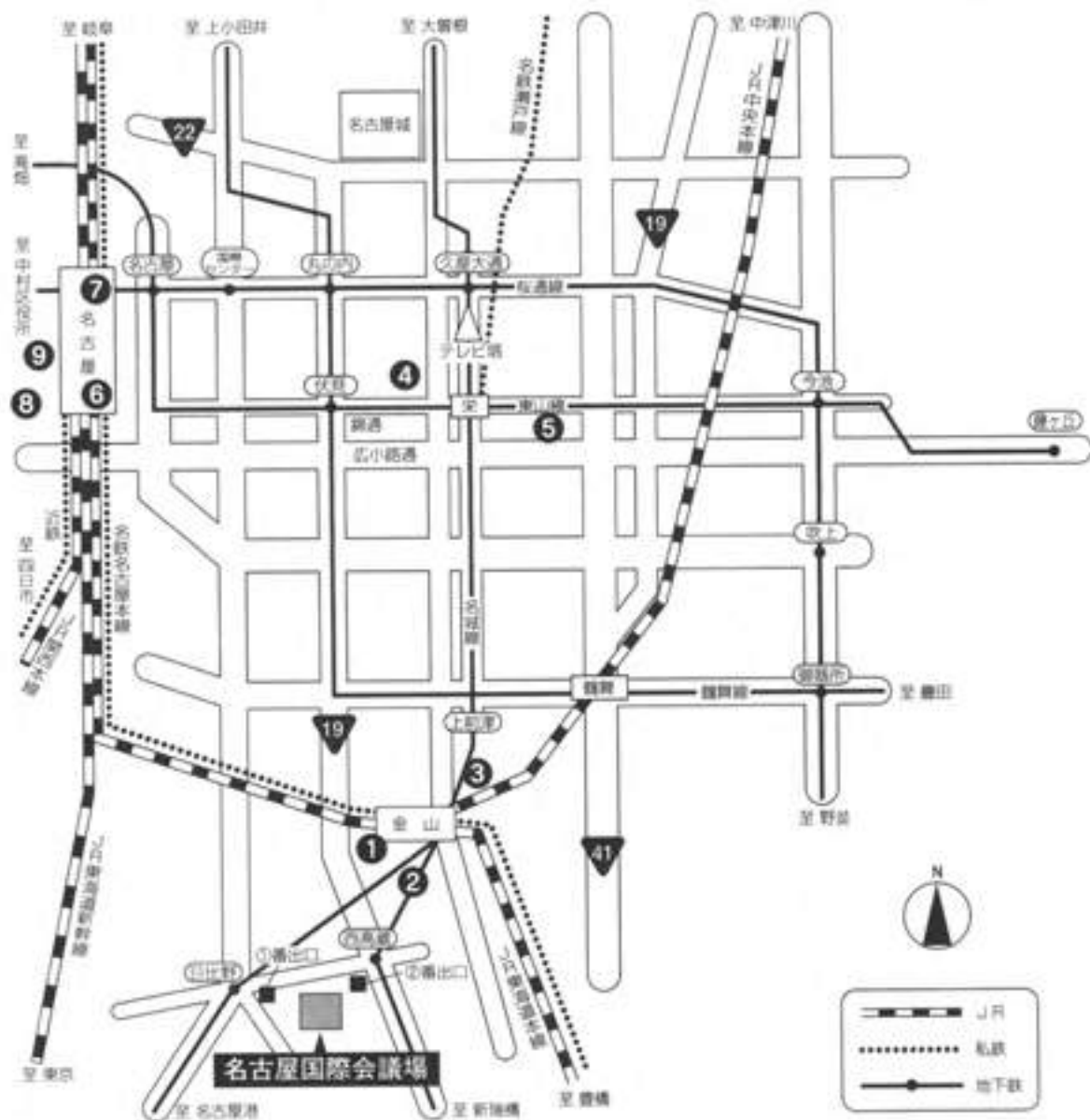
Further, as a first attempt to foster the understanding of toxicology among the public, free seminars will also be offered. The theme will be "How Is Drug Safety Assured?"

Taking an idea from the SOT in the USA, "no coat or tie is required". We encourage you to wear casual attire and comfortable shoes. Thanks to the sponsors, there will be a total of eight luncheon seminars, so it will be possible to spend lunchtime in a productive and rewarding manner. Due to the support of many companies and organizations, the Annual Meeting will provide a liquid crystal projector for presentations using computer slides.

Finally, I would like to express our deep appreciation for the support and effort of the sponsors, speakers, presenters, participants, supporters, and volunteer staff. I sincerely hope this Annual Meeting will contribute to and advance the future of Toxicology.

会場への交通案内

開催場所・ホテル所在地案内図

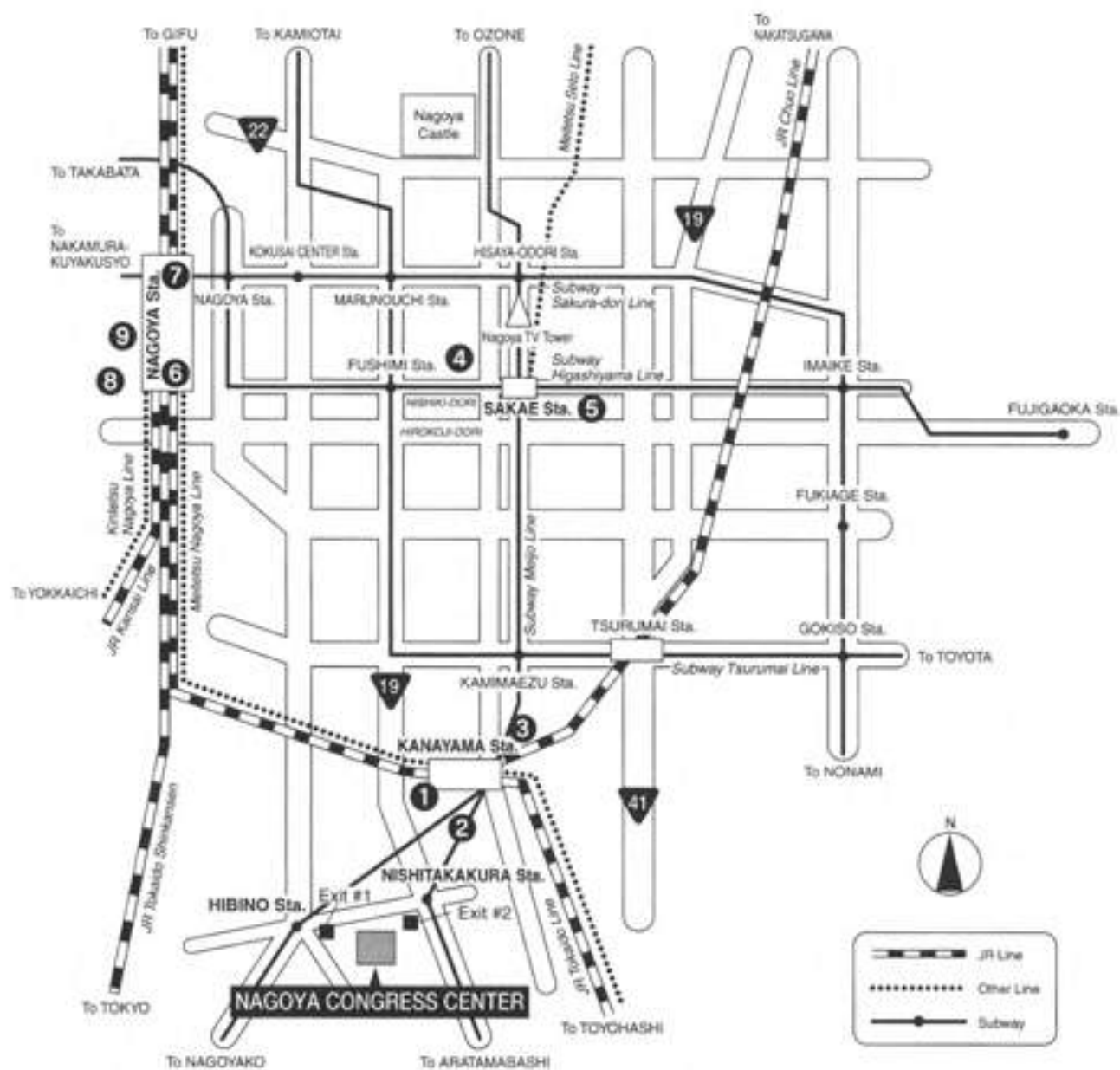


- ① 全日空ホテルズ ホテルグランコート名古屋
- ② サイプレスガーデンホテル
- ③ 名古屋 金山ワシントンホテルプラザ
- ④ 東京第一ホテル錦
- ⑤ チサンホテル名古屋栄
- ⑥ 名古屋マリオット・アソシアホテル
- ⑦ ホテルアソシア名古屋ターミナル
- ⑧ 第一富士ホテル
- ⑨ 名鉄ニューグランドホテル

名古屋国際会議場へのアクセス案内

地下鉄名古屋駅より地下鉄東山線にて「栄」乗り換え、又は地下鉄桜通線にて「久屋大通」乗り換えし、地下鉄名城線 名古屋港行きにて「日比野」下車、①番出口より徒歩5分。又は地下鉄名城線 新瑞橋行きにて「西高蔵」下車②番出口より徒歩5分。
所要時間は、名古屋駅より約30分です。

AREA MAP



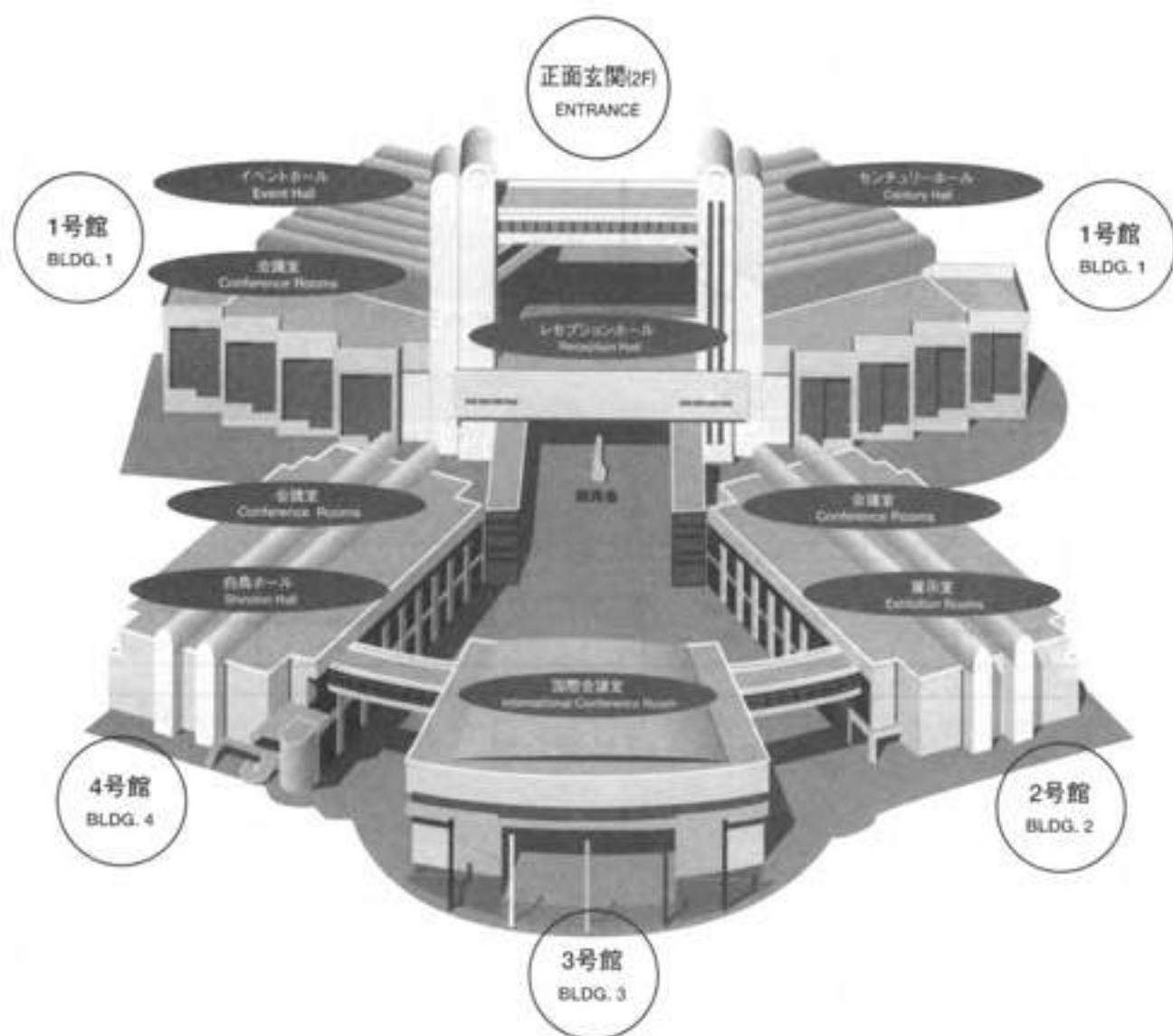
- ① ANA Hotels Hotel Grand Court Nagoya
- ② Cypress Garden Hotel
- ③ Nagoya Kanayama Washington Hotel
- ④ Tokyo Dai-ichi Hotel Nishiki
- ⑤ Chisan Hotel Nagoya Sakae
- ⑥ Nagoya Marriott Associa Hotel
- ⑦ Hotel Associa Nagoya Terminal
- ⑧ Dai-ichi Fuji Hotel
- ⑨ Meitetsu New Grand Hotel

Access to Nagoya Congress Center from Nagoya Complex Station.

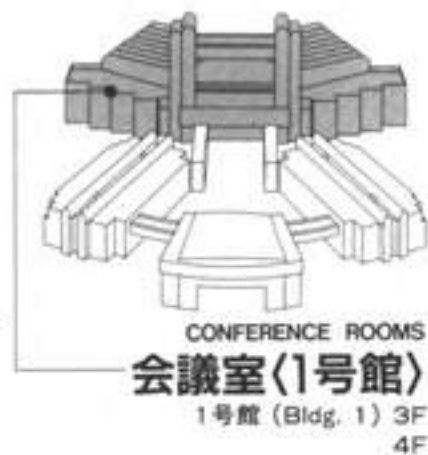
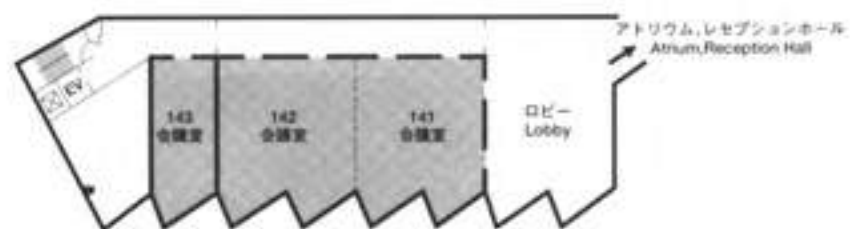
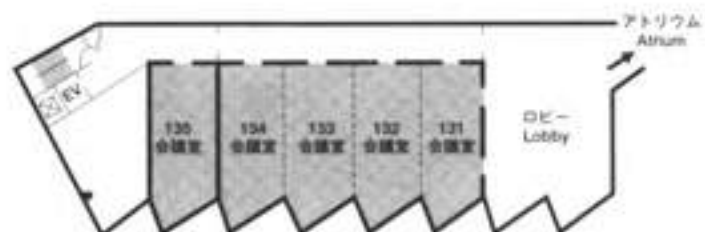
Take subway Higashiyama Line bound for FUJIGAOKA, Transfer at SAKAE Station to Meijo Line bound for NAGOYAKO or ARATAMABASHI. 5minutes walk from exit #1 of HIBINO Station, or 5minutes walk from exit #2 of NISHTAKAKURA Station.

名古屋国際会議場 Nagoya Congress Center

〒456-0036 名古屋市熱田区熱田西町1-1
1-1 Atsuta-nishimachi, Atsuta-ku, Nagoya 456-0036
TEL 052-683-7711 FAX 052-683-7777
<http://www.u-net.city.nagoya.jp/ncc/>



名古屋国際会議場 Nagoya Congress Center



階 FLOOR	会議室 ROOM	面積 AREA (sq)	天井高 HEIGHT (m)	収容人数/CAPACITIES (persons)				備考 SPECIAL FEATURES
				シアター/THEATER		スクール/CLASSROOM		
3F	131・132	100	4.5	90	162	48	120	バトン(134室)/batten(Room 134)
		100		90		48		
	133・134	100		90	48	120		
		100		90	48			
	131~134	400		360		240		
135	90	90	36 (円形型/round style)					
4F	141・142	200	5.0	162	360	120	240	バトン(142室)/batten(Room 142)
		200		162		120		
	143	90		90	30 (円形型/round style)			

参加者へのご案内とお願い

1. 総合受付：白鳥ホール前のロビー
2. 当日参加登録：白鳥ホール前のロビー
6月18日(火) 8:00~16:00
6月19日(水) 8:00~16:00
6月20日(木) 8:00~15:00
3. 当日受付の参加登録費（プログラム・要旨集代を含む）
会員11,000円 非会員13,000円 学生会員 5,000円
参会費支払い後、ネームプレートをお受け取り下さい。ネームプレートの裏面が領収書なっています。紛失しない様ご注意ください。また、プログラム・要旨集をお受け取り下さい。非会員学生は学生証の提示、および指導教官(会員に限る)の紹介状が必要です。参加費は、学生会員に準じます。
同伴者：身障者の場合、無料です。その他は一律5,000円とします。
なお、4月1日以降早割料金で振込みされた方は不足分の徴収を会期中に行います。
4. プログラム・要旨集は1,200部限定印刷です。不足の場合は会期終了後配布します。
5. 懇親会費：一律 7,000円（定員になり次第受付を締切ります）
6. 参加登録費・懇親会の費用の徴収：サポートデスクから借用した機器を用いてクレジットカードによる引き落としとなります。機器は1台のため順番待ちで長蛇の列が予想されます。対応可能なクレジットカードは有効期間が6カ月以上あり、持ち主の身元確認可能なものに限りです。契約クレジット会社はVISA, MasterCard, Diners, Amex, JCBです。
7. ネームプレート：年会参加者・展示出展者は必ず所属・氏名を明記したネームプレートを胸腹部面に吊り下げて下さい。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。吊り紐は所属によって4色あります。赤：産業界、青：官界・学界、緑：展示・ボランティア、黄：サポートスタッフ・カメラマン。
8. 服装：米国 SOT と同じく普段着（カジュアル）でお出かけ下さい。展示会場・会議場・ホールのいずれの場所でも普段着（カジュアル）を着用下さい。スーツ姿で参加された方はノーネクタイで入場願います。
9. クローク：白鳥ホールロビーの脇で受付します。係りの者に申し付け下さい。貴重品はお預かり出来ません。引き換え券を紛失した場合のために荷物に持ち主の氏名・所属がわかるようにしておいてください。利用時間は以下のとおりです。
6月18日(火) 8:30~17:00
6月19日(水) 8:30~17:00
6月20日(木) 8:30~16:30
10. 清涼飲料サービスコーナー：白鳥ホール南（展示会場）に1箇所設置します。ご自由に利用下さい。自動販売機のもの（有料）もご利用ください。ミネラルウォーター等は売店にもあります。利用後のカップ・カン・ビン・ボトル類は所定の場所の容器へ必ず入れて下さい。
11. お食事処：名古屋国際会議場に隣接したお店はありませんので、館内をご利用下さい。
 - 喫茶店（ユリ、2号館への連絡通路横2Fサンドイッチ・パスタ類など）、
 - 展望レストラン（バステル1号館7F）
 - 地下レストランカスケード（3号館B1、種類・丼物類など）の3箇所をオープンして貰います。お弁当の当日予約の受付は致しません。
12. ランチョンセミナーで弁当配布：スポンサーの招待によるものです。必要な方は、直接、当

-
- 該ランチョンセミナーのスポンサーと交渉して下さい。食事後の後かたづけは利用者各自で行って下さい。
13. 展示スポンサー専用の休憩コーナーは会場左奥（1404号室）に設けますのでご利用下さい。商談のために会議室を予約したい場合は年会事務局まで連絡願います。
 14. 年会事務局（年会長）：会期間中の事務局は435会議室です。
 15. サポートデスク（近畿日本ツーリスト）：会期間中のサポートデスクは433会議室です。
 16. 宿泊・交通案内については総合受付の近畿日本ツーリストの係りにお尋ね下さい。
 17. 掲示板と緊急連絡先：白鳥ホールロビーの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利用下さい。
 18. 会場案内は名古屋国際会議場の玄関ホールおよび年会会場の入口に表示します。
 19. 会場内に垂れ幕や横断幕は設置しません。会場内の向かって右前方の壁面には演題番号等がスライド表示されます。
 20. 年会の運営や進行あるいは参加者の安全性を考慮して、18歳未満の方、テロや妨害行為を目的とした方の参加はお断りします。
 21. 動物、病原体、危険物、毒劇物、爆発物、麻薬、酒類、銃刀等の持込み、使用、展示および販売行為は禁止します。
 22. 携帯電話の会議場やホール内へ持ち込む場合は電源を切るかマナーモードにして下さい。
 23. 携帯電話の普及にともない学会専用の電話は設置しません。携帯電話をお持ちでない方は公衆電話をご利用ください。
 24. コピー：コピー機は売店奥にあります（有料）。
 25. FAX：FAX機は売店奥にあります（有料）。
 26. カメラ撮影は発表や聴講の妨げにならないようにお願いします。ボランティアカメラマンによって要所は撮影されます。
 27. 託児所：学会年会事務局では用意できません。
 28. 売店：1号館1Fにあります。会期中は開店して頂く予定です。
 29. 記念品：学会年会記念Tシャツ（青色・Fサイズ）の限定実費販売を予定します。販売は展示ブースのスポンサーに委託を予定します。
 30. カラーのビニール袋の配布：名古屋国際観光ビューローのご厚意により限定配布を予定します。
 31. 公用言語は日本語と英語です。通訳はいませんが事前に申し込めばボランティアのサポートを受けられます。手話通訳は用意できません。
 32. 会場内は禁煙です。館内の所定の場所で喫煙願います。吸殻も所定の場所で処理願います。
 33. 消防法等のきまりを含むその他の事項：名古屋国際会議場の注意事項を遵守願います。
 34. 他学会の案内は展示会場の休憩コーナーに1箇所設けます。

参加者へのお願い Announcement for Participants

1. General reception desk: Lobby in front of Shirotori Hall
2. Same-day registration: Lobby in front of Shirotori Hall
June 18 (Tue.) 8:00 am-4:00 pm
June 19 (Wed.) 8:00 am-4:00 pm
June 20 (Thu.) 8:00 am-3:00 pm
3. Same-day registration fee (incl. Abstract with Program booklet)
Members: 12,000 yen/Non-members: 13,000 yen/Student members: 5,000 yen
Receive your nametag after paying the fee. As the reverse of the nametag is printed with the fee receipt, do not lose it! You can also receive a copy of the Abstract with Program booklet. Non-member students must present their student IDs and a letter of introduction from their advising professor (who must be a member). The participation fee is the same as for student members.
No fee is charged for companions for the physically handicapped. For all others, the fee is 5,000 yen.
4. The Abstract with Program booklet is limited to a print run of 1,200 copies. If this supply runs out, extra copies can be obtained after the Meeting.
5. The fee for the welcoming reception party is 7,000 yen per guest (first come, first served, as available space is limited).
6. Payment of registration and reception party fees: Payment by a credit card will be accepted. As a single credit card reader borrowed from the support desk will be available and a long queue may form, please allow sufficient time for processing. The acceptable credit cards must have at least 6 months remaining before expiration and must be owner-identifiable. The following types of cards will be accepted: VISA, Master Card, Diners Club, and American Express.
7. Name tags: Meeting participants and exhibition presenters must prominently wear their nametags on which their name and affiliation have been written. Admittance will not be permitted without a nametag.
8. Clothing: As with the U. S. SOT, casual wear is recommended for the exhibition hall, the meeting hall, and elsewhere. Those wearing suits are asked to attend without neckties.
9. Cloakroom: Located at the side of the lobby of Shirotori Hall. A clerk will help you. Valuables cannot be checked. In the case of loss of the claim check, it is recommended that all checked goods be clearly labeled with the owner's name and affiliation beforehand. The service is available as follows:
June 18 (Tue.) 8:30 am-5:00 pm
June 19 (Wed.) 8:30 am-5:00 pm
June 20 (Thu.) 8:30 am-4:30 pm
10. Refreshments corner: Located at Shirotori Hall south end (exhibition hall). Vending machines are available. Water will also be sold. Please dispose of cups, cans, bottles, etc. in the proper receptacles.
11. Meals: As there are no restaurants in close proximity to the Nagoya Congress Center, you are invited to take your meals within the facilities. The following three options are available:
-Coffee shop ("Yuri"; 2nd floor, near the passage to Building No. 2; sandwiches, pasta, etc.)
-Sky view restaurant ("Pastel", 7th floor, Building No. 1)
-Basement floor restaurant ("Cascade", B1 floor, Building No. 3; noodles, deep dish cooking, etc.)
Same-day box lunch orders will not be accepted.
12. Lunchtime seminars may supply box lunches at the discretion of the sponsor. Those requiring such box lunches are asked to submit their requests to the seminar sponsor directly. Clean-up following the seminar is the responsibility of each participant.

13. A lounge for the exhibit sponsors will be available in Room 1404 (left secluded part of the hall). Reservation of rooms for business conferences can be made with the Annual Meeting Secretariat.
14. Annual Meeting Secretariat Office (Chairman): Located in Meeting Room 435 during the Meeting.
15. Support desk (run by Kinki Nihon Tourist): Located in Meeting Room 433 during the Meeting.
16. Inquiries for accommodations and transportation should be directed to the Kinki Nihon Tourist staff member at the general reception desk.
17. Announcements board and urgent contact information: A bulletin board will be located in front of the general reception desk in the lobby of Shiratori Hall. This is to be used for announcements, urgent contact information, and contacts between Meeting participants.
18. Facilities guidance is available at the entrance hall of the Nagoya Congress Center and at the entrance to the Annual Meeting Hall.
19. Drop curtains or banners will not be provided. On the right side wall facing into the hall is a screen area with the number of the presentation and so on being displayed by slide projector.
20. In consideration of the smooth operation of the Meeting and the safety of the participants, no one under age 18 or members of terrorist or other violent or disruptive organizations will be allowed to attend.
21. No animals, pathogens, dangerous materials, poisonous substances, explosives, narcotics, alcoholic beverages, firearms, knives, etc., shall be permitted on the premises, for either personal use or exhibition purposes.
22. Any mobile telephones brought into the Meeting area or hall must be turned off or switched to "manners mode".
23. Due to the general use of mobile telephones, no telephone service will be provided at the Meeting area. Public telephones are available for those without mobile telephones.
24. Copy: Copy equipment is available for a fee in the store.
25. Fax: Fax equipment is available for a fee in the store.
26. Photography is permitted as long as it does not interfere with the presenters or listeners. Volunteer photographers will cover the main events of the Meeting.
27. Child care: the Annual Meeting Secretariat will provide No childcare facilities.
28. Store: Located on the 1st floor of Building No. 1. The store will be closed during the period of the Meeting.
29. Commemorative items: Limited numbers of Annual Meeting T-shirts (blue, free size) will be sold. The sponsors of the exhibit booths will handle T-shirts.
30. Colored vinyl plastic bags will be available through the courtesy of the Nagoya International Tourism Bureau.
31. The languages of communication will be Japanese and English. Interpreters will not be available, but pre-event requests for such services will be considered and handled by volunteer support. The Annual Meeting will not provide sign language support.
32. The entire Meeting area is non-smoking. Smoking areas are provided within the Congress Center. Please dispose of your cigarette butts in the designated receptacles.
33. Fire protection regulations, etc.: All regulations and directions specified by the Nagoya Congress Center will be strictly followed.
34. Announcements of meetings by other academic societies will be permitted at a specific location in the lounge corner of the exhibit hall.

お食事・喫茶のご案内

3号館 地下1F カフェテリア 『カスケード』

1階から中庭（騎馬像横）を通ってお越し下さい

※ セルフサービスでございます

●麺類

チャーシューメン	¥700
きしめん(そば)	¥600
てんぷらきしめん(そば)	¥800

●丼物(味噌汁付)

牛丼	¥850
中華丼	¥850
みそかつ丼	¥1,100

●カレー他

ヒレカツカレー	¥950
ビーフカレー	¥750
ライス	¥250

●定食(スープ、一品、ライス)

サービスランチ(魚料理)	¥1,000
サービスランチ(肉料理)	¥1,000

お飲物

コーヒー(ホット、アイス)	¥300
オレンジジュース	¥300
ビール(中ビン)	¥550

2号館 2F 喫茶軽食ラウンジ 『ユリ』

お飲み物

コーヒー	¥350	コーヒーフロート	¥550
アメリカンコーヒー	¥350	クリームソーダ	¥550
アイスコーヒー	¥350	オレンジフロート	¥550
紅茶	¥350	ビール	¥550
アイスティー	¥350	水割	¥550
ミルク(Hot&Ice)	¥350		
カフェオレ(Hot&Ice)	¥450		
オレンジジュース	¥350		
トマトジュース	¥350		
アップルジュース	¥350		
ジンジャーエール	¥400		
ウーロン茶	¥350		
メロンソーダ	¥350		
レモンスカッシュ	¥500		

デザート

コーヒーゼリー	¥450
アイスクリーム	¥350
ケーキ	¥400
りんごとさつま芋のパイ	¥400
カボチャのスフレ	¥400



軽食

オムライス	¥850
カレーライス	¥750
ハヤシライス	¥750
ミートスパゲティ	¥750
キノコスパゲティ	¥750
シーフードスパゲティ	¥750
カレースパゲティ	¥750
牛丼	¥750

LUNCH TIME (11:30am-14:00pm)

席数の都合上、ランチはお食事のご利用に限らせていただきます

※ 季節の暖かいスープ

● パステル チョイスランチ ¥ 1,500

Choice Lunch
(スープ・サラダ・ライス・コーヒー付)
with Soup, Salad, Rice, and Coffee

※ メインディッシュをお選びください。
Choice

A ミートランチ Meat

ポークカツレットとソーセージの盛り合わせ

B フィッシュランチ Fish

サーモンのバター焼き、ジャンジャン野菜添え

● パステル弁当 (スープ・コーヒー付) ¥ 1,500

Lunch Box with Soup, Coffee

● 白鳥ランチ ¥ 2,000

Shirotori Lunch

(スープ・サラダ・ライス・コーヒー付)
with Soup, Salad, Rice, and Coffee

鯛のムニエル トマトソース

スクランブルエッグ添え

デジュース コースでお楽しみいただけます ¥ 3,000

Menu

● マスクメロンと生ハム レモン添え ●

Fresh Melon with Smoked Ham

● 本日のスープ ●

Today's Special Soup

※ 魚料理又は肉料理どちらかを1品お選び下さい。 Choice

A 鯛とポロ葱の焦がしバターソース 菜の花添え

Sea Bream and Leek Sauced with NANOHANA

B 牛フィレ肉の生姜風味焼き 温野菜添え

Tenderloin Steak Japanese Style with Vegetables

● 季節のサラダ ●

Salad in Season

● デザート ●

Special Dessert

● パン又はライス ●

Roll or Rice

● コーヒー ●

Coffee



● センチュリーランチ ¥ 2,500

(スープ・ライス・サラダ・デザート・コーヒー付)

Served with Soup, Salad, Rice and Coffee

盛り合わせメインディッシュ

Steak & Fried Seafoods Set

牛フィレ肉のステーキ

Tenderloin Steak

帆立貝のグリル

Grilled Scallop

車海老のフライ

Fried Prawns

DINNER TIME (17:00pm-20:00pm)

ディナータイムのご利用は、必ずご予約をお願いいたします
メニューはご予算に応じて調整させていただきます

● ハーバービュー ¥ 3,500

海の幸のカクテル

本日のスペシャルスープ

A (魚料理) B (肉料理) いずれかをお選び下さい

(A) ウシオ鯛のシャンパン蒸し 野菜添え

(B) 牛フィレ肉のステーキ マデラソース添え

季節のサラダ

デザートとフルーツ

パン 又は ライス

コーヒー

● センチュリーディナー ¥ 5,000

帆立貝とスモークサーモンの飾り盛り

コンソメスープ又はクリームコーンスープ

オマール海老のアメリカンソース和え

牛フィレ肉のステーキ 茸添え

季節のサラダ

デザートとフルーツ

パン又はライス

コーヒー 又は 紅茶

● パステルディナー ¥ 10,000

冷製前菜

温製前菜

コンソメスープ又はクリームスープ

本日の魚料理

お口直しのシャーベット

和牛フィレ肉のステーキ、フォワグラチリース添え

季節のサラダ

スペシャルデザートとフルーツ

パン、バター

コーヒー又は紅茶

● アルコール類

ビール (中びん) ¥ 680 生ビール (中) ¥ 650

ウイスキー

サントリーロイヤル ¥ 650 日本酒 (300ml) ¥ 1100

シバリーガル ¥ 650

カンパリソーダ ¥ 750 ジントニック ¥ 750

グラスワイン ¥ 550 カシスソーダ ¥ 750

(赤・白・ロゼ)



発表者・司会者へご協力依頼

1. 招待講演：

- 1) 発表者は、ご自分の講演の60分前までに当該会場へお入り下さい。
- 2) 指定した時間内に講演をお願い致します。発表時間にパソコンセットの時間が含まれます。
- 3) 発表機材はパソコンのみです。液晶プロジェクターは年会事務局で用意します。併写はできません。データは3.5インチフロッピー ディスクあるいはCD (OS, アプリケーションについて：Windows 2000, Powerpoint 2000,) に入力して所定のドライブ装置にセットして立ち上げて下さい。あるいは持参のパソコン (ハードディスク) を液晶プロジェクターに接続して投影して下さい。年会事務局ではIBM CPU 450MB 対応ノートパソコン (Windows 2000 対応) のみ用意します。Mac 型パソコン・MO ドライブは用意できません。
OHP プロジェクターおよび35 mm フィルムスライドプロジェクターは用意致しません。
CD と3.5インチフロッピー ディスクでの発表者は、各自作製のディスクを5月21日までに事務局に提出 (ダミーデータでも可) して下さい。事前にサポートデスクの技術者によって動作の確認を致します。
- 4) 映像のコマ送りあるいは戻しは全てご自分で操作願います。
- 5) パソコン操作に補助者が必要な場合は、前もって事務局宛ご連絡下さい。
- 6) 事前に持込のパソコンの動作確認を希望する発表者は早朝、昼休み、あるいは前日夕方 (17:00—18:00) に演者受付にお越し下さい。
- 7) 発表時間の管理は、計時回線 (演者・司会者に時間を知らせる) を使用 (進行席で操作) します。招待講演の講演時間終了5分前に青ランプが、終了時に赤ランプが点灯します。また、終了時にはブザーがなりますので、講演を直ちに終了して下さい。時間を過ぎると司会者からも警告があると思います。

一般講演：オーラル発表者

- 1) 発表者は、ご自分の講演の30分前までに当該会場へお入り下さい。
- 2) 指定した時間内に講演をお願い致します。発表時間にはパソコンセットの時間が含まれます。発表9分+質疑応答2分：計11分 映像のコマは10個以内でお願いします。
- 3) 発表機材はパソコンのみです。液晶プロジェクターは年会事務局で用意します。併写はできません。データは3.5インチフロッピー ディスクあるいはCD (OS, アプリケーションについて：Windows 2000, Powerpoint 2000,) を所定のドライブ装置にセットして立ち上げて下さい。あるいは持参のパソコン (ハードディスク) を液晶プロジェクターに接続して投影して下さい。年会事務局ではIBM CPU 450MB 対応ノートパソコン (Windows 2000 対応) のみ用意します。Mac 型パソコン・MO ドライブは用意できません。
原則3.5インチフロッピー ディスク1枚の容量を超えるような原稿を作成願います。止むを得ず3.5インチフロッピー ディスク1枚の容量を超える場合はCD ディスクを作製ねがいます。OHP プロジェクターおよび35 mm フィルムスライドプロジェクターは用意致しません。
CD と3.5インチフロッピー ディスクでの発表者は、各自作製のディスクを5月21日までに事務局に提出 (ダミーデータでも可) して下さい。事前動作確認を致します。
- 4) 映像のコマ送りあるいは戻しは全てご自分で操作願います。
- 5) 事前に持込のパソコンの動作確認を希望する発表者は早朝、昼休み、あるいは前日夕方 (17:00—18:00) に演者受付にお越し下さい。

-
- 6) 発表時間の管理は、計時回線（演者・司会者に時間を知らせる）を使用（進行席で操作）します。講演時間終了1分前に青ランプが、終了時に赤ランプが点灯します。また、終了時にはブザーがなりますので、講演を直ちに終了して下さい。

一般講演：ポスター発表者

- 1) 受付でポスター掲示用の画紙を受け取って下さい。
- 2) 原稿は印刷物として下さい。材質は自由です。パネル板に書込みする事は禁止します。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。
- 3) 巾90cm×縦210cmのパネルと演題番号は年会事務局で用意します。視聴講者が一箇所に集中するのを避けるため演題番号は3番飛びに表示しますので間違わないようにして下さい。
- 4) 発表者は演題番号右側、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。
- 5) 掲示は午前9：00～9：30、撤去は2：50～3：15の間に行ってください。
- 6) 司会者立会いによる、プレゼンテーションの開始はプログラムに従って下さい。
- 7) 各演題の発表時間は3分、質疑は2分とします。

司会者・座長の先生

- 1) 名札の上段ポケットに司会者・座長・オーガナイザーのいずれか印刷された紙を入れて下さい。用意されていない場合は自筆で記入して下さい。
- 2) 進行係りによる司会者・座長の先生の紹介はいたしません。時間の許す範囲内で自己紹介をお願いします。
- 3) セッション開始の15分前までに当該会場の前列にお座り下さい。ポスターの場合は5分前に当該ポスターのパネル板のところへお出下さい。

Request for cooperation from Speakers and Chairpersons

Invited lectures:

- 1) Please arrive at your lecture hall 60 minutes before your lecture.
- 2) Please lecture within designated time, which includes setting time of personal computer for your lecture.
- 3) Equipment for the lecture is limited to personal computers. The Liquid Crystal projector is provided by the JST Secretariat. Simultaneous projection is not available. Please bring your data in 3.5-inch floppy disc or CD-ROM (OS and applications: Windows 2000, PowerPoint 2000), and start the computer. Or, if you bring your personal computer (hard disc), please connect it to the projector. The Secretariat will provide only IBM note type personal computer (CPU 450 MHz, Windows 2000).
OHP projector and 35 mm film slide projector are not available.
If you use CD-ROM and/or 3.5-inch floppy disc, please send your disc (or dummy data) to the Secretariat by May 21st in 2002, to confirm its compatibility by our staff in advance.
- 4) Please operate by yourself to proceed or put back the image (data) at lecture.
- 5) If you need an assistant to operate the computer, please contact the Secretariat beforehand.
- 6) If you want to confirm your computer's applicability in advance, please contact the reception desk for lecturers in early morning, lunch break or previous evening (17:00 to 18:00).
- 7) To manage the lecture time, a clock circuit system (to inform lecturer and chairman) is used (operated by program staff). Blue lamp at 5 minutes before the time up, and red lamp at the end are switched on. Buzzer is also sounded at the end, then please finish the lecture immediately. The chairman might caution after the time up is over.

General presentations: oral presenter

- 1) Presenter is asked to arrive at the concerned hall 30 minutes before presentation.
- 2) Please lecture within designated time, which includes setting time of personal computer for your lecture. Presentation time is 9 minutes plus Q and A for 2 minutes, total beings 11 minutes. Please limit the presentation projection within 10 images.
- 3) Equipment for the presentation is limited to personal computers. The projector is provided by the JST Secretariat. Simultaneous projection is not available. Please bring your 3.5-inch floppy disc or CD-ROM with your data (OS and applications: Windows 2000, PowerPoint 2000), and start the computer. Or, if you bring your personal computer (hard disc), please connect it to the projector. The Secretariat will provide only IBM note type personal computer (CPU 450 MHz, Windows 2000).
As a general rule, please prepare your manuscript not to exceed the capacity of one 3.5-inch floppy disc. If you exceed the capacity, please use CD-ROM disc. OHP projector and 35 mm film slide projector are not available.
If you use CD-ROM and/or 3.5-inch floppy disc, please send your disc (or dummy data) to the Secretariat by May 21, to confirm its applicability by our staff in advance.
- 4) Please operate by yourself to proceed or put back the image (data).
- 5) If you want to confirm your computer's applicability in advance, please contact the reception desk for presenters in early morning, lunch break or previous evening (17:00 to 18:00).
- 6) To manage the lecture time, a clock circuit system (to inform lecturer and chairman) is used (operated by program staff). Blue lamp at 1 minute before the time up, and red lamp at the end are switched on. Buzzer is also sound at the end, when please finish the lecture immediately.

General presentations: poster presenter

- 1) Please receive thumbtacks for poster setting at the reception desk.
- 2) Please print your manuscript. Printing material is free. Writing on the panel board is prohibited. Please use letter scale large enough to be read clearly from 2 m distance.
- 3) Panel of 90 cm width x 210 cm height and presentation No. are prepared by the Secretariat. Since the presentation No. is allotted in every 3 numbers so as not to concentrate attendants at one place, please do not confuse.
- 4) Please write clearly presentation title, occupation and presenters (O mark to the presenter) at the right-hand side of the present No. in the space of 20 cm height x 70 cm width. The poster is to be limited up to 90 cm width x 120 cm height.
- 5) Please set the presentation at 9:00 to 9:30 am, and remove at 2:50 to 3:25 pm.
- 6) The beginning time of presentation by the chairman attendance must be programmatic.
- 7) The presentation time of each theme is to be 3 minutes and Q and A time for 2 minutes.

Chairpersons

- 1) Please put in the upper pocket of your name tag the printed sheet with chairperson or organizer. If it is not available, please fill in by yourself.
- 2) Introduction to chairman by program staff is not available. Please introduce yourself while you can.
- 3) Please sit at the front row of the session hall before 15 minutes of starting time. In case of the poster session, please come to the concerned poster panel before 5 minutes.

会場と催し物のご案内

6月17日(月) 前日

	8	30	9	30	10	30	11	30	12	30	13	30
会場												
会議室 141/142												
会議室 437												
1号館7F バステル												

6月18日(火) 第1日

白鳥ホール (南)2			付設 展示会								
			ポスター発表 1-14								
白鳥ホール (北)1			シンポジウム 1								
会議室 141/142			一般口演 1-11								
会議室 432			一般口演 12-24								
会議室 133/134									ランチョン 1		
会議室 131/132									ランチョン 2		
会議室 431									ランチョン 3		
会議室 437											

30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30	19	30	20	30
生涯教育講習会														
	理事・監事会													
						企画・理事合同会議								

[Blank]														
ポスター発表 15-29				市民公開セミナー										
↓														
シンポジウム 2														
一般口演 25-42														
一般口演 43-58														
[Blank]														
[Blank]														
										おくすり個別相談コーナー 1(相談)				
										おくすり個別相談コーナー 2(控)				

6月19日(水) 第2日

	8	30	9	30	10	30	11	30	12	30	13	30
会場												
白鳥ホール (南)2			付設 展示会									
				ポスター発表 30-40								
白鳥ホール (北)1			会長 講演	特別講演 1,2					評議員会		総会	
会議室 131-132									ランチョン 4		PM セミナー 3	
会議室 133-134		AM セミナー 1							ランチョン 5		PM セミナー 1	
会議室 431		AM セミナー 2							ランチョン 6		PM セミナー 2	
会議室 432												
3号館B1 カスケード												

30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30	19	30	20	30
<div data-bbox="130 663 346 797" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin-left: 20px;"> ポスター発表 41-55 </div>														
<div data-bbox="130 851 319 986" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin-left: 20px;"> 田邊賞授賞式 </div> <div data-bbox="361 851 713 986" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin-left: 140px;"> 教育講演 1,2 </div>														
<div data-bbox="361 1603 636 1738" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin-left: 140px;"> パネルディスカッション </div>														
<div data-bbox="772 1794 1093 1929" style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin-left: 340px;"> 懇親会 </div>														

6月20日(木) 第3日

会場	8	30	9	30	10	30	11	30	12	30	13	30
白鳥ホール (南)2			付設 展示会									
					ポスター発表 56-68							
白鳥ホール (北)1			ワークショップ 1									
会議室 432			ワークショップ 2									
会議室 131-132			セミナー 1									
会議室 431									ランチョン 7			
会議室 142									ランチョン 8			
会議室 141									ランチョン 9			

30 14 30 15 30 16 30 17 30 18 30 19 30 20 30

ポスター
発表
69-78

ワークショップ 3

セミナー 2

ワークショップ 4

プログラム

TOXICOLOGY

■会長講演

6月19日(水) 9:05~9:35

司会：唐木 英明 (東京大学)

●CL

「*in vivo* 毒性試験に影響する技術的要因」

松澤 利明 (年会長, 山之内製薬(株))

■特別講演

■特別講演 1

6月19日(水) 9:40~10:30

司会：佐藤 哲男 (千葉大学)

●PL-1

「The Importance of Mechanisms of Toxicity to Risk Assessment」

Prof. Lewis Smith (Syngenta Central Toxicology Laboratory, U.K.)

■特別講演 2

6月19日(水) 10:35~11:30

司会：井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

●PL-2

「Strategic Toxicology Evaluation of Bio-Pharmaceuticals—Past, Present, and Future—」

Dr. Mary Ellen Cosenza (Amgen Inc., U.S.A.)

■田邊賞授賞式/受賞講演

田邊賞授賞式/受賞講演

6月19日(水) 13:45~14:45

司会: 福島 昭治 (田邊賞選考委員長, 大阪市立大学)

■受賞講演1 6月19日(水)

DOSE-THRESHOLD FOR THYROID TUMOR-PROMOTING EFFECTS OF ORALLY ADMINISTERED KOJIC ACID IN RATS AFTER INITIATION WITH N-bis (2-HYDROXYPROPYL) NITROSAMINE

Toru TAMURA, Kunitoshi MITSUMORI, Hiroshi ONODERA, Nariaki FUJIMOTO, Kazuo YASUHARA, Kiyoshi TAKEGAWA, Hisayoshi TAKAGI and Masao HIROSE
J. Toxicol. Sci., 26 (No. 2) 85-94

田村 啓 (日産化学工業(株))

三森国敏 (東京農工大)

小野寺博志, 広瀬雅雄 (国立衛研)

安原加寿雄 (三栄源エフエフアイ(株))

竹川 潔 (三菱ウェルファーマ(株))

高木久宣 (日本エスエルシー(株))

■受賞講演2 6月19日(水)

JUSTIFICATION OF MEASUREMENT OF EIGHT CONGENERS LEVELS INSTEAD OF TWENTY CONGENERS OF DIOXINS FOR MASS SCREENING OF HUMAN EXPOSURE

Kimiyoshi KITAMURA, Kazuyuki YOSHIKAWA, Masahiko IWAMA and Minako NAGAO
J. Toxicol. Sci., 26 (No. 3) 163-168

北村公義 (国立環境研)

長尾美奈子 (東京農大)

■受賞講演3 6月19日(水)

PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR α (PPAR α) AGONIST, WY-14,643, INCREASED TRANSCRIPTION OF MYOSIN LIGHT CHAIN-2 IN CARDIOMYOCYTES.

J. Toxicol. Sci., 26 (No. 5) 275-284

Takako Hamano, Kiyoshi Kobayashi, Tetsuya Sakairi, Masao Hayashi and Mamoru Mitai
浜野宝子, 務台 衛 (三菱ウェルファーマ(株))

■受賞講演4 6月19日(水)

COLLABORATIVE STUDY ON RAT SPERM MOTION ANALYSIS USING CELLSOFT
SERIES 4000 SEMEN ANALYZER

Yoshiki BAN, Masato NAYA, Tatsuya NISHIMURA, Masako KANETO, Kurajiro KISHI,
Tadahiro INOUE, Hiroshi YOSHIZAKI and Yojiro OOSHIMA

J. Toxicol. Sci., 26 (No. 1) 9-24

坂 芳樹 (萬有製薬(株))
納屋聖人 (協和発酵(株))
西村達也 (小野薬品工業(株))
兼藤雅子, 岸倉二郎 (塩野義製薬(株))
古崎 宏, 大島洋次郎 (武田薬品工業(株))

■受賞講演5 6月19日(水)

OVERVIEW OF STUDIES ON RAT SPERM MOTION ANALYSIS USING A HAMILTON-
THORNE SPERM ANALYZER.—COLLABORATIVE WORKING STUDY—

Masashi Kato, Katsuhiko Fukunishi, Sunao Ikegawa, Hashihiro Higuchi, Masako Sato,
Masao Horimoto and Shin Ito

J. Toxicol. Sci., 26 (No. 5) 285-297

加藤真之, 堀本政夫 (ファイザー製薬(株))
福西克弘 ((株)新日本科学)
池川 直 (帝人(株))
樋口敏浩 (住友化学工業(株))
佐藤昌子 (シンジェンタジャパン(株))

■教育講演

■教育講演 1

6月19日(水) 15:00~15:55

司会: 堀井 郁夫 (ファイザー製薬(株))

●EL-1

「PREDICTIVE MODELS IN EARLY RISK ASSESSMENT OF NOVEL DRUG CANDIDATES」

Prof. T. W. Guentert (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Switzerland)

■教育講演 2

6月19日(水) 16:00~16:55

司会: 松澤 利明 (年会長)

●EL-2

E-CELL Project: 細胞のコンピューターシミュレーション

富田 勝 (慶應大学)

■シンポジウム Symposium

■シンポジウム1 6月18日(火) 9:00~11:55

「肝毒性発現メカニズム」

Mechanisms of hepatotoxicity effects

オーガナイザー：吉田 武美(昭和大学薬学部)

佐神 文郎(エーザイ(株))

●S1-1

肝毒性発現メカニズム Overview

佐神 文郎(エーザイ(株))

●S1-2

各種臓器における毒性発現機序としての薬物代謝的活性化反応

山添 康 他(東北大学大学院薬学研究科)

●S1-3

ベンゾチアゾール誘導体によるラット肝毒性発現機序

佐藤 玄 他(エーザイ(株))

●S1-4

毒性発現機構としての細胞間コミュニケーション—肝臓を中心にして—

北條 博史(昭和薬科大学衛生化学研究室)

●S1-5

核内受容体を標的とする毒性発現機構—PPARを中心にして

須賀 哲弥(東京薬科大学薬学部)

●S1-6

毒性防御機構としての毒性発現監視系とその破綻

吉田 武美(昭和大学薬学部)

●S1-7

質疑とまとめ

吉田 武美(昭和大学薬学部)

■シンポジウム2 6月18日(火) 13:05~17:00

「創薬初期段階の毒性・薬物動態の研究戦略」

Pharmacokinetic & toxicologic research strategic in the early stages of drug discovery

オーガナイザー：堀江 透(ディ・スリー研究所)

伯水英夫(第一製薬(株))

- S2-1
はじめに
伯水 英夫 (第一製薬(株), 金沢大学)
- S2-2
探索段階における薬物動態スクリーニングの HTP 化
嶋田 薫 (ファイザー製薬(株)中央研究所)
- S2-3
創薬代謝からの化合物選択の基本的戦略
千葉 雅人 (万有製薬(株)筑波研究所)
- S2-4
トランスポーターからみた創薬戦略
坂内 光 他 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)
- S2-5
Application of human hepatocytes in the drug metabolism,
drug-drug interactions and idiosyncratic hepatotoxicity
Albert P. Li (In Vitro Technologies, Inc., U.S.A.)
- S2-6
DNA マイクロアレイによる副作用関連遺伝子の発現解析
田井中 均 (ディスカバリー・バイオテクノロジーズ(株))
- S2-7
キュラジェン社：創薬開発に用いる毒性ゲノミクス手法とその成果
石本 吾郎 (住商バイオサイエンス(株))
- S2-8
Toxicogenomics: The Predictive Power Of Liver Biomarkers
Philippe Alen (Phase-1 Molecular Toxicology)
- S2-9
まとめ
堀江 透 (ディ・スリー研究所)

■ワークショップ Workshop

■ワークショップ1 ICH-Safety Forum 2002 6月20日(木) 8:35~11:40

「毒性質問箱 2002: バイオ医薬品の毒性試験と評価のあり方」

The way toxicity evaluations of bio-pharmaceutical products should be conducted
(Toxicological questions & answers-issue 2002). ICH-S6

オーガナイザー: 渡部 烈 (東京薬科大学)
海野 隆 (日本オルガノン(株))
門田 利人 (日本ベーリンガーインゲルハイム(株))

●W1-1

オーガナイザー序論

渡部 烈 (東京薬科大学)
海野 隆 (日本オルガノン(株))

●W1-2

バイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価

井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

●W1-3

Global Implementation of ICH S6: assessment of past accomplishments and future challenges

Joy A. Cavagnaro (Access BIO, USA)

●W1-4

The role of the toxicologic pathologist in the safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals

Andrew Pilling (Glaxo Smith Kline, UK)

●W1-5

バイオ医薬品の毒性試験評価の現状

中澤 隆弘 (日本イーライリリー(株))

●W1-6

バイオ医薬品毒性質問箱

小林 孝好 (アムジェン(株))

●W1-7

質疑とまとめ

門田 利人 (日本ベーリンガーインゲルハイム(株))

■ワークショップ2 6月20日(木) 8:30~11:40

「構造活性相関と毒性予測」

Quantitative structure-activity relationships and prediction of toxicity

オーガナイザー：田中 慶一（大阪大学大学院薬学研究科）

苗代 一郎（武田薬品工業(株)医薬品化学第一研究所）

●W2-1

構造活性相関と毒性予測

苗代 一郎（武田薬品工業(株)）

田中 慶一（大阪大学大学院薬学研究科）

●W2-2

Tsar, TOPKAT システムによる、高速 *in silico* 毒性/薬理活性スクリーニング

湯田 浩太郎（富士通(株)）

●W2-3

Prediction of toxicity using DEREK for Windows

Philip Neville Judson (LHASA Ltd, UK)

●W2-4

Early Insight into the Potential Toxicity of New Molecules

Gilles Klopman (MULTI CASE Inc.)

●W2-5

“古典的な” QSAR 手法を用いた化学物質の毒性予測

松尾 昌季（大阪大学先端科学技術共同研究センター）

●W2-6

薬物僅奇形性データベース構築の試み

山内 あい子（徳島大学大学院薬学研究科）

●W2-7

まとめ

田中 慶一（大阪大学）

■ワークショップ3 6月20日(木) 12:50~16:20

「トキシコゲノミクスと分子毒性」

Toxicogenomics and molecular toxicology

オーガナイザー：司会 白井 智之（名古屋市立大学・医学部）

堀井 郁夫（ファイザー製薬(株)中央研究所）

●W3-1

毒作用機序解明への分子毒性学的探索の意義

堀井 郁夫 (ファイザー製薬(株))

●W3-2

Application of Toxicogenomics to Mechanism Based Toxicology

George Orphanides (Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK)

●W3-3

エストロゲン応答遺伝子群を用いた DNA マイクロアレイの開発と利用

木山 亮一 ((株)インフォジーンズ/産業技術総合研究所)

●W3-4

トキシコ・ゲノミクスの実際：安全性評価への遺伝子発現情報の応用

真鍋 淳 (三共(株)安全性研究所)

●W3-5

トキシコ・プロテオミクスの実際：マーカータンパク質発現を指標とした薬物毒性の
早期評価の可能性

斎藤 賢治 (サイファージェン・バイオシステムズ(株))

●W3-6

Metabonomics: A tool for Rapid In Vivo Screening of Liver, Kidney and Vascular Toxicants

Donald G. Robertson (Pfizer Global Research and Development, USA)

●W3-7

薬物代謝から見たトキシコゲノミクス：トランスポーターの役割

石川 智久 他 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)

●W3-8

毒性病理からみた分子毒性

白井 智之 他 (名古屋市立大学医学部医学研究科実験腫瘍学)

■ワークショップ4 6月20日(木) 12:50~16:20

「*in vivo* 毒性試験における新技術と評価」

New technology and evaluation of *in vivo* toxicity studies

オーガナイザー：宮崎 宏彰 ((株)新日本科学)

中井 洋一 ((株)日本生物科学センター)

玉野 静光 ((株)大雄会医科学研究所)

- W4-1
サルを用いた免疫毒性試験
中村 隆広 他 ((株)新日本科学)
- W4-2
サルの馴化が各種試験成績に及ぼす影響
坂本 憲吾 ((株)イナリサーチ)
- W4-3
中期発がん性試験の有用性とその応用
玉野 静光 他 (大雄会医科学研究所)
今井田 克巳 (香川医科大学)
市原 敏夫 他 (大阪市立大学大学院)
白井 智之 他 (名古屋市立大学大学院)
- W4-4
毒性と遺伝子発現
加藤 英男 ((株)日本バイオリサーチセンター)
- W4-5
ラット甲状腺機能変化解析のための試験法紹介
平田 絹子 他 ((株)パナファーム・ラボラトリーズ)
- W4-6
発癌物質の RDS, UDS, コメットアッセイによる多臓器同時検出
田中 憲穂 他 ((財)食品薬品安全センター薬野研究所)
- W4-7
³²P-ポストラベル法による DNA 付加体の検出
中嶋 圓 他 ((財)食品農医薬品安全性評価センター)
杉山 千歳 他 (静岡県大生活健)
- W4-8
実験動物における急性相反応下の CYP 依存薬物代謝の変化
斎藤 敏樹 他 ((財)日本生物科学研究所)
- W4-9
薬物性 QT 延長に関する動物種間について
清水 憲次 他 ((株)富士バイオメディックス)

●W4-10

1 薬物による QT 延長評価法 : *in vivo* 心電図測定と心筋単相性活動電位 (MAP) 法及び微小電極による心筋細胞内活動電位測定 (APD) 法との相関

池田 博信 他 ((株)環境バイリス研究所)

●W4-11

HERG 導入細胞のパッチクランプ法による I_{Kr} 電流の測定法

大保 真由美 他 ((株)三菱化学安全科学研究所)

■セミナー Seminar

■セミナー 1 ICH-Safety Forum 2002 6月20日(木) 8:15~11:40

「心電図異常, Q-Tc 間隔延長について (ICH-S7B)」

Models for profiling the potential QTc prolongation risk of a drug

オーガナイザー: 司会 橋本 敬太郎 (山梨医科大学)

本坊 敏保 (藤沢薬品工業(株))

●Se1-1

はじめに

本坊 敏保 (藤沢薬品工業(株))

●Se1-2

ICH に関して

藤森 観之助 (医薬品機構)

●Se1-3

製薬協の現状と取り組み

山本 恵司 (武田薬品工業(株))

●Se1-4

Effects on Ventricular Repolarization: A Critical Evaluation of the Strengths and Weaknesses of Current Methodologies and Regulatory Practices

Alan Stuart Bass (Schering-Plough Research Institute, USA)

●Se1-5

QT 延長薬物の細胞電気生理学的毒性評価: 単離心筋細胞および再構成系を用いた検討

中谷 晴昭 (千葉大学医学部)

●Se1-6

生体位心臓の再分極過程に対する薬物の作用

杉山 篤 (山梨医科大学)

●Se1-7

QT 延長症候群—日本人における遺伝子変異・SNP 解析

堀江 稔 (京都大学)

●Se1-8

QTc 延長薬物の前臨床評価法のまとめ

橋本 敬太郎 (山梨医科大学)

●Se1-9

追加発言: Screening lead compounds for QT interval prolongation

Rainer Netzer (GENION, Germany)

■セミナー 2 ICH-Safety Forum 2002 6月20日(木) 12:50~16:20

「医薬品の免疫毒性試験の進め方」

Procedures of immuno toxicology studies of pharmaceuticals

オーガナイザー：澤田 純一（国立医薬品食品衛生研究所）

●Se2-1

はじめに

澤田 純一 他（国立医薬品食品衛生研究所）

●Se2-2

免疫毒性試験法ガイダンス中間案について

澤田 純一（国立医薬品食品衛生研究所）

●Se2-3

ICHにおける免疫毒性試験のトピック化の動向

中村 和市（塩野義製薬(株)新薬研究所）

●Se2-4

医薬品開発と免疫毒性

杉原 芳樹（エーザイ(株)薬理安全性研究所）

●Se2-5

Strategic Immuno Toxicity Evaluation of Pharmaceuticals

Dr. André H. Penninks (TNO Pharma, The Netherlands)

●Se2-6

EMA perspective on immunotoxicology testing of pharmaceuticals

Esther Putman MSc. Ph. D (Medicines Evaluation Board, Den Hague, The Netherlands)

●Se2-7

総合討論

■一般演題（口演）

■一般毒性・神経系

6月18日（火）9：15～10：30（第1会場） 141・142会議室

司会：西田 信之（武田薬品工業）

●O-01

2,4,6-トリニトロフェノールの新生児反復投与毒性および若齢動物毒性試験結果との比較

○和泉 宏幸¹、和田 肇¹、小泉 睦子²、鎌田 栄一²、長谷川 隆一²

¹（株）パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究部 安全性研究室、

²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室）

●O-02

3-アミノフェノールの新生児反復投与毒性試験結果と若齢動物毒性試験結果の比較

○西村 信雄¹、榎並 倫宜¹、池谷 政道¹、小泉 睦子²、鎌田 栄一²、長谷川 隆一²

¹（株）ポ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 総合評価研究室）

●O-03

ラットにおける血中心臓ホルモンの日内変動及び麻酔の影響について

○大野 理絵、宮田 裕人、白根 里加、岩城 理進、木村 正明

（大正製薬（株） 医薬動態安全性センター 安全性研究室）

●O-04

ビーグル犬における尿及び血中ブドウ糖濃度並びに耐糖能試験についての基礎検討

○渡辺 大、中良 裕美、石井 俊也、溝口 靖基、赤木 圭介、水口 浩康、長島 吉和、

岡庭 梓（（株）ポゾリサーチセンター 函南研究所）

●O-05

ブレオマイシン誘発肺障害モデルを用いた肺毒性評価

○鈴木 睦、山本 由紀子、井出 陽一、川原 潤一

（キリンビール 医薬カンパニー 開発本部 医薬開発研究所）

●O-06

アルビノラットにおけるハターン反転刺激による視覚誘発電位を利用したエタンプトール（EB）の視覚毒性検出の検討

○佐々木 正治、八木 久美子、栗原 明義、宮田 裕人、中村 勇、岩城 理進、木村 正明

（大正製薬（株） 医薬動態安全性センター 安全性研究室）

■ミニシンポジウム 6月18日（火）10：35～11：50

「医薬品探索におけるトキシコキネティクスの戦略（実態調査）」

司会：野口 英世（オフィス野口）

本橋 道生（武田分析研究所）

●O-07

トキシコキネティクスに関する国内製薬企業へのアンケート調査について

○杉山 明男, 竹川 晃司, 伯水 英夫, 本橋 道生, 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)

●O-08

トキシコキネティクスの有効活用に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その1)

○筒井 将, 若園 博, 岩崎 正和, 川瀬 一郎, 石河 芳治, 金丸 博, 西 直樹,

松島 英司, 田中 眞, 尾崎 潤一郎, 松澤 景子, 石井 成幸, 望月 勉,

小野田 誠, 山田 弘, 田中 由夫, 本橋 道生

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

●O-09

創薬段階における *in silico* 評価 [物性, 薬物動態, 毒性] に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その2)

○竹川 晃司, 杉山 明男

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

●O-10

探索薬物動態試験とその効率化に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その3)

○河津 剛一, 麻生 良典

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

●O-11

探索毒性試験および TK とその効率化に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その4)

○奥村 修造, 木村 哲夫

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

追加発言 毒性試験における種差の例

○木村哲夫

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

■内分泌系

6月18日(火) 9:05~10:05 (第2会場) 432会議室

司会: 米元 純三 ((独)国立環境研究所)

●O-12

ダイオキシン類の甲状腺機能への影響とそのメカニズムの検討

○西村 典子¹, 米元 純三^{2,3}, 遠山 千春^{1,3}

(¹国立環境研究所 環境健康領域,

²国立環境研究所 環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクト, ³科学技術事業団・CREST)

●O-13

Phenobarbital および 3-methylcholathrene のラット甲状腺ホルモンおよび UDP-GT 活性に及ぼす影響

○向井 大輔, 稲垣 成憲, 村田 共治, 井上 博之

((財) 食品農医薬品安全性評価センター)

●O-14

Kanechlor-500 投与ラットにおける血清中サイロキシン濃度の低下と肝 UDP-glucuronosyltransferase 活性との関連性

○加藤 善久¹, 山崎 友朗¹, 生城 真一², 伊藤 由里子¹, 原口 浩一³, 井柳 堯², 木村 良平¹, 出川 雅邦⁴

(¹静岡県立大学 薬学部 薬剤学教室,

²姫路工業大学 理学部 生命科学科 生体物質化学I講座,

³第一薬科大学 健康化学教室, ⁴静岡県立大学 薬学部 衛生化学教室)

●O-15

2,2',4',5-Tetrabromobiphenyl (TetraBrB) のメチルスルホン代謝物のラット肝 UDP-glucuronosyltransferase の誘導

○加藤 善久¹, 伊藤 由里子¹, 原口 浩一², 山崎 友朗¹, 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)

●O-16

表面プラズモン共鳴センサーを用いた迅速内分泌かく乱物質スクリーニング法

○小野 敦¹, 浅野 和信², 橋本 せつ子², 井上 達¹, 菅野 純¹

(¹国立医薬品食品衛生研究所 毒性部, ²ピアコア(株) 開発部)

■ミニシンポジウム 6月18日(火) 10:10~11:15

「バイオ医薬品の非臨床試験のあり方(実態調査)」

楠 博文(国立医薬品食品衛生研究所 医薬品医療機器審査センター)

北嶋 聡(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)

●O-17

バイオ医薬品の非臨床試験における全般的留意点

○紙田 祐介^{1,2}, 古賀 照二^{1,3}

(¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²住友製薬(株), ³興和(株))

●O-18

バイオ医薬品の毒性試験における留意点

○黒川 美佐男^{1,2}, 前田 康行^{1,3}

¹⁾日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会,

²⁾持田製薬(株) 総合研究所 安全性研究室,

³⁾日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究室)

●O-19

バイオ医薬品の安全性薬理および薬物動態試験における留意点

○野村 明生^{1,2}, 柴田 雅美^{1,3}, 海野 隆^{1,4}

¹⁾日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²⁾参天製薬(株),

³⁾日研化学(株), ⁴⁾日本オルガノン(株))

●O-20

構造からみたバイオ医薬品の非臨床試験における留意点

○堀籠 博亮^{1,2}, 古賀 朋子³, 門田 利人⁴

¹⁾日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²⁾ノボ ノルディスク ファーマ(株),

³⁾ノバルティス ファーマ(株), ⁴⁾日本ベーリンガーインゲルハイム(株))

●O-21

ペプチドミミック, アンチセンス, リボザイムの非臨床試験における留意点

○庭野 吉己^{1,2}, 志垣 隆通^{1,2}

¹⁾日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²⁾佐藤製薬(株) 医薬研究部,

³⁾化学及血清療法研究所)

■非齧歯類における単回投与毒性試験の在り方 (実態調査)

6月18日(火) 11:15~11:55 (第2会場)

司会: 広瀬 明彦 (国立医薬品食品衛生研究所)

●O-22

単回投与毒性試験ガイドラインにおける日米欧の相違点

○長瀬 英泰^{1,2}, 松澤 利明³

¹⁾日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²⁾大日本製薬(株), ³⁾山之内製薬(株))

●O-23

非げっ歯類単回投与毒性試験の現状

○西村 千尋^{1,2}, 畠山 茂樹^{1,3}

¹⁾日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²⁾日本化薬(株),

³⁾日清キョーリン製薬(株))

●O-24

今後の非げっ歯類単回投与毒性試験のあり方

○谷口 勝彦^{1,2}、小林 勇二郎^{1,3}、佐神 文郎^{1,4}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室、

³(株) ツムラ 創薬研究所 安全性評価研究グループ、⁴エーザイ(株) 薬事政策部)

■ミニシンポジウム 6月18日(火) 13:05~14:25 (第1会場) 141・142 会議室

「非臨床試験のアウトソーシングとモニタリング(実態調査)」

司会: 佐藤 秀蔵(武田薬品工業(株))、

井上 博之((財)食品農医薬品安全性評価センター)

●O-25

試験モニター 委託試験の実態調査

○佐神 文郎^{1,2}、谷口 勝彦^{1,3}、斉藤 明美^{1,4}、林 万津子^{1,5}、小林 弘幸^{1,6}、原田 勝彦^{1,7}、
樋口 史郎^{1,8}、松澤 利明^{1,9}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²エーザイ(株) 薬事政策部、

³東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室、⁴北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、

⁵日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、

⁶協和発酵工業(株) 医薬総合研究所 開発研究所、

⁷キリンビール(株) 医薬カンパニー 医薬開発研究所 ノンクリニカルグループ、

⁸わかもと製薬(株) 開発本部 薬事情報室、⁹山之内製薬(株) 薬事部)

●O-26

試験モニター 委託試験の実態調査 試験契約から in life 試験操作まで

○谷口 勝彦^{1,2}、斉藤 明美^{1,3}、林 万津子^{1,4}、佐神 文郎^{1,5}、松澤 利明^{1,6}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室、

³北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、⁴日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、

⁵エーザイ(株) 薬事政策部、⁶山之内製薬(株) 信頼保証本部、薬事部)

●O-27

試験モニター 委託試験の実態調査 一臨床検査、病理検査、トキシコカインेटィックス、特殊毒性試験一

○斉藤 明美^{1,2}、谷口 勝彦^{1,3}、林 万津子^{1,4}、佐神 文郎^{1,5}、松澤 利明^{1,6}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、

²北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、³東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室、

⁴日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、⁵エーザイ(株) 薬事政策部、

⁶山之内製薬(株) 薬事部)

●O-28

試験モニター 委託試験の実態調査 ―最終報告書案, 最終報告書, 資料保管, 信頼性保証―

○林 万律子^{1,2}, 谷口 勝彦^{1,3}, 斉藤 明美^{1,4}, 佐神 文郎^{1,5}, 松澤 利明^{1,6}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会,

²)日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部, ³)東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室,

⁴)北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部, ⁵)エーザイ(株) 薬事政策部,

⁶)山之内製薬(株) 薬事部)

●O-29

Survey of pharmacology study conduct using outside sources in pharmaceutical companies in Japan

○原田 勝彦^{1,2}, 本坊 敏保^{1,3}, 今別府 進^{1,4}, 浦野 陽介^{1,5}, 佐神 文郎^{1,6}, 松澤 利明^{1,7}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²)キリンビール医薬開発研究所,

³)藤沢薬品工業(株) 安全性研究所, ⁴)協和発酵工業(株) 安全性研究所,

⁵)日本フイスレダリー(株) 医薬研究所, ⁶)エーザイ(株) 薬事政策部,

⁷)山之内製薬(株) 薬事部)

●O-30

薬物動態研究外部委託における実態調査

○小林 弘幸^{1,2}, 伯水 英夫³, 小幡 淳雄⁴, 河津 剛一⁵, 長井 晶彦⁶

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²)協和発酵工業, ³)第一製薬,

⁴)アベンティスファーマ, ⁵)参天製薬, ⁶)トーアエイヨー)

●O-31

非臨床試験の信頼性確保についての試験モニターの責任

○樋口 史郎^{1,2}, 松本 信太郎^{1,3}, 橋爪 武司^{1,4}, 中津 武^{1,5}, 佐神 文郎^{1,6}, 松澤 利明^{1,7}

(¹)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会,

²)わかもと製薬(株) 開発本部 薬事情報室, ³)山之内製薬(株) 信頼性保証本部 薬事監査部,

⁴)第一製薬(株) 信頼性保証部 QAUグループ,

⁵)武田薬品工業(株) 医薬開発本部 薬事管理部 監査室,

⁶)エーザイ(株) 薬事政策部, ⁷)山之内製薬(株) 薬事部)

■試験の信頼性確保

6月18日(火) 14:25~15:15 (第1会場)

司会: 政二 潔 (エーザイ(株))

●O-32

Current status of GLP system in Korea

○金 忠龍 (Korea Institute of Toxicology,)

●O-33

薬効薬理・薬物動態試験データの信頼性確保

○樋口 史郎^{1,2}、武政 俊彦^{1,3}、馬場 淳^{1,4}、木村 真二^{1,5}、小林 一則^{1,6}、上野 百代^{1,7}、
貫井 悦子^{1,8}、高橋 裕美^{1,9}、石井 由子^{1,10}、勝 謙政¹

(¹)日本QA研究会 GLP 部会 第3分科会、²わかもと製薬(株) 開発本部 薬事情報室、

³ゼリア新薬工業(株) 信頼性保証室、⁴明治製薬(株) 薬事部、

⁵ノバルティスファーマ(株) 薬事部、⁶三菱ウェルファーマ(株) 信頼性保証部 信頼性保証室、

⁷藤沢薬品工業(株) 薬物動態研究所、⁸協和発酵工業(株) 医薬総合研究所 研究推進室、

⁹北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、¹⁰万有製薬(株) 研究開発業務審査室)

●O-34

安全性薬理試験におけるプロセス調査の検討

○小島 基義、猪 好孝、野原 正志、辻 哲男、木村 恵子、久保 雄綱、長沢 孝二郎、
国分寺 悦子、藤森 茂樹、能島 康幸、谷口 英巳、中原 治樹、村上 和生、木下 貴一、
青柳 有美子、山下 影三、和田 重次

(日本QA研究会 GLP 部会 第2分科会 第2グループ)

●O-35

分析試験の信頼性確保

○酒井 茂^{1,2}、寺島 充^{1,3}、松岡 隆夫^{1,4}、佐藤 泉^{1,5}、千海 恵美子^{1,6}、生沼 永興^{1,7}、
勝 謙政^{1,8}

(¹)日本QA研究会 GLP 部会 第3分科会、²大正製薬(株) 医薬事業グループ QA室、

³協和発酵工業(株) 医薬総合研究所 研究推進室、

⁴日本儀器製薬(株) 生物活性科学研究所 業務統轄部 信頼性保証部、

⁵キリンビール(株) 医薬カンパニー 生産本部 品質管理部、⁶塩野義製薬(株) 品質保証部、

⁷ポーラ化成工業(株) 医薬品事業部 医薬監査室、⁸エーザイ(株) 研開試験監理部 OCR室)

■血液系

6月18日(火) 15:20~15:45 (第1会場)

司会：関田 清司 (国立医薬品食品衛生研究所)

●O-36

ラット摂餌量減少時の骨髄毒性評価に関する血液学的検討

○浅沼 富美子¹、宮田 裕人¹、白根 里加¹、大野 理絵¹、岩城 理進¹、木村 正明¹、松本
清司²

(¹)大正製薬(株) 医薬動態安全性センター 安全性研究室、²信州大学医学部 附属動物実験施設)

●O-37

アリルハイドロカーボン受容体を介したベンゼンの造血毒性発現

○平林 容子¹、尹 秉一¹、川崎 靖¹、児玉 幸夫¹、金子 豊蔵¹、菅野 純¹、井上 達²

(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)

■免疫・アレルギー系

6月18日(火) 15:45~16:10 (第1会場)

萩原 昭裕 ((株) 大雄会医科学研究所)

●O-38

マウス骨髄細胞から誘導した樹状細胞を用いた *in vitro* 抗原性試験法の検討—抗原暴露による細胞表面マーカーの発現—

○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)

●O-39

慢性関節リウマチモデルマウスにおける酸化ストレス応答タンパク質およびシトクロム P450 の変動

○芦野 隆¹、小黑 多希子¹、塩田 清二²、岩倉 洋一郎³、吉田 武美¹

(¹昭和大学 薬学部 毒物学教室、²昭和大学 医学部 第一解剖学教室、

³東京大学 医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター)

■発生・生殖

6月18日(火) 16:10~16:50 (第1会場)

司会 堀本 政夫 ファイザー製薬(株)

●O-40

Closed-formula, open-formula の飼料で飼育した場合の *uterotrophic assay*, *Hershberger assay* の結果比較

○大村 実、井上 尚英

(九州大学 大学院医学研究院 衛生学分野)

●O-41

Ethinyl estradiol の経胎盤、経乳汁曝露によるラット出生児への影響

○野田 修志、佐藤 正邦、室井 貴子、山崎 寛治

(財団法人 化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所)

●O-42

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について 一生殖発生毒性試験：新生児を用いた試験—

○堤 俊輔¹、浜田 悦昌¹、熊澤 俊彦¹、横山 篤¹、沼 敏章¹、遠藤 芳彦¹、森田 健¹

(¹)アベンティス ファーマ(株)、²)ファイザー製薬(株)、³)三和化学研究所、

⁴)清水製薬(株)、⁵)日本シエーリング(株)、⁶)ファルマシア(株)、

⁷)グラクソ スミスクライン(株))

■遺伝毒性

6月18日(火) 13:05~14:05 (第2会場) 432会議室

司会：林 真 (国立医薬品食品衛生研究所)

●O-43

Aminophenylnorharman 類による遺伝子毒性と変異スペクトル

○小田 美光¹、島田 力¹、戸塚 ゆ加里²、若林 敬二²、大江 武³

(¹)大阪府立公衆衛生研究所 公衆衛生部、²)大阪府立公衆衛生研究所、³)国立がんセンター、

⁴)国立がんセンター、⁵)京都女子大学)

●O-44

タール系合成食用色素の in vivo 遺伝毒性評価 (第2報)

○川口 恵未¹、奥谷 冴子¹、横濱 奈津恵¹、富田 晴美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 獣医公衆衛生)

●O-45

マウス始原生殖細胞の ENU による遺伝子突然変異と遺伝子内組換えの誘発

○澁谷 徹、鈴木 聡、武田 和香子、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)

●O-46

コメットアッセイにおいて間接変異原検出のためのラットとヒトの肝 S9、および Hep G2 細胞の有効性

○佐々木 有¹、奥谷 冴子¹、斉藤 宏美^{1,2}、絹川 賢代¹、松本 寛³、佐藤 哲男⁴、鈴木 聡⁴

(¹)八戸工業高等専門学校 物質工学科、²)三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所、³)北海道環境研、

⁴)HAB 協議会附属霊長類機能研究所)

●O-47

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について—製薬協のアンケート調査—

○森田 健、小林 裕幸、斉藤 明美、原 敦子、庄司 陽子、木村 敬、益本 吉廣、

久田 茂、安場 正子、浅野間 光治、中井 康晴、荒木 春美、大澤 浩一、林 浩行、

若田 明裕、堤 俊輔、遠藤 芳彦、熊沢 俊彦、浜田 悦昌、沼 敏章、横山 篤

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

■がん原性

6月18日(火) 14:05~14:30 (第2会場)

司会: 務台 衛 (三菱ウエルファーマ)

●O-48

PCB126 胎生期曝露・次世代 DMBA 誘発ラット乳腺癌における CYP1A1, CYP1B1 の発現について

○武藤 朋子¹, 和久井 信², 政岡 俊夫², 古里 征国¹

(¹杏林大学 医学部 病理, ²麻布大学 獣医学部 比較毒性学)

●O-49

フルメキンのマウスにおける肝イニシエーション作用及び DNA 損傷性の検討

○渡邊 隆夫¹, 佐々木 有², 樫田 陽子¹, 高橋 明子¹, 三森 国敏¹

(¹東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜病理学教室, ²八戸工業高等専門学校 物質工学科)

■薬物動態

6月18日(火) 14:30~15:20 (第2会場)

司会: 大森 栄 (信州大学医学部)

●O-50

N-ニトロソアミン類の変異原活性化におけるヒトと実験動物の CYP2A の役割

○宮崎 雅史, 井上 朋子, 清谷 一馬, 山崎 浩史, 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)

●O-51

Thalidomide による embryo fibroblast の増殖阻害の機構

○宮田 昌明, 本木 和子, 田村 悦子, 山添 康

(東北大学 大学院 薬学研究科)

●O-52

CYP2A6 遺伝子欠損と発がんリスク: 喫み煙草と口腔がん

○山崎 浩史¹, 千葉 逸朗², Topcu Zeki³, 藤枝 正輝¹, 柴田 敏之³, 有吉 範高¹,
Sevgican Figen⁴, Muthumala Malsantha⁴, 小林 博⁵, 鎌滝 哲也¹

(¹北大薬, ²北大歯, ³岐大医, ⁴Kalutara 病院, ⁵札幌がんセミナー)

●O-53

植物エストロゲン genistein のヒト肝における二重抱合体の生成

○小倉 健一郎, 平塚 明, 渡部 烈

(東京薬科大学 薬学部 第二衛生化学教室)

■安全性薬理

6月18日(火) 15:30~15:55 (第2会場)

司会: 玄番 宗一 (大阪薬科大学)

●O-54

H2 ブロッカーの HERG 電流及び心室筋の活動電位に対する作用

○クリスティーナ ビネリ, 永山 伸一, 桑野 康一, 永田 良一, 鬼頭 剛
(株) 新日本科学 安全性研究所 安全性1部)

●O-55

安全性薬理における催不整脈評価—HERG 電流及び心室筋細胞の活動電位に対する各種薬剤の作用—

○永山 伸一, クリスティーナ ビネリ, 桑野 康一, 永田 良一, 鬼頭 剛
(株) 新日本科学 安全性研究所 安全性1部)

■腎・泌尿器系

6月18日(火) 16:00~16:40 (第2会場)

司会: 福島 昭治 (大阪市立大学)

●O-56

Establishment and its application of primary uroepithelial cell culture of the canine urinary bladder

○後藤 浩一¹, 石井 良和², 神藤 敏正¹, 古濱 和久¹
(¹第一製薬(株) 安全性研究所, ²第一製薬(株) 研究技術センター)

●O-57

マグネシウム補給による慢性シクロスポリン A 腎障害の改善機序における NF- κ B の関与

○三浦 克之¹, 浅井 利大², 玉田 聡³, 田代 孝一郎², 岡村 幹夫⁴, 金 勝慶², 岩尾 洋², 仲谷 達也³
(¹大阪市立大学 大学院 医学研究科 薬効安全性学,
²大阪市立大学 大学院 医学研究科 分子病態薬理学,
³大阪市立大学 大学院 医学研究科 泌尿器科学,
⁴大阪市立大学 大学院 医学研究科 腎臓病態内科学)

●O-58

ラット腎皮質切片のセファロジン障害における ERK 活性化の関与

○幸田 祐佳, 平松 純, 玄番 宗一
(大阪薬科大学 薬理学)

■一般演題（ポスター）

白鳥ホール南・展示会場

■実験動物手技

6月18日（火）9：40～10：10

司会：杉本哲朗 中外製薬（株）

●P-01

マウスにおける無麻酔頸静脈反復採血法

○山住 美由紀，乾 嘉孝，西田 信之

（武田薬品工業（株） 医薬研究本部 薬物機能第二研究所 光支所）

●P-02

完全静脈栄養法のラット静脈内持続投与試験への応用

○浅沼 健太郎，小松 俊一朗，熊野 英一，小泉 富彦，三沢 保幸，杉本 哲朗，千葉 修一

（中外製薬（株） 安全性研究所）

●P-03

低リン状態からの回復期に認められる血中および尿中カルシウム，リンの検討

○高井 了，小泉 富彦，小田部 耕二，三沢 保幸，藤井 悦子，杉本 哲朗，千葉 修一

（中外製薬（株） 安全性研究所）

●P-04

カニクイザルの骨折治療におよぼすアレンドロネートの作用

○関 あずさ（三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所）

●P-05

ビーグルにおける頻回採血の臨床検査への影響

○上田 隆弘，春山 恵美子，中間 和浩，米盛 幸治，田中 稔，山下 裕史

（（株）新日本科学 安全性研究所）

●P-06

Crj: CD(SD)IGS と Slc: SD ラットの血小板凝集能の比較

○周 玉，倉田 昌明，北澤 郁恵，石川 由美，飯高 健，永井 良和，山田 弘

（ファイザー製薬 中央研究所 安全性研究都統括部 探索毒性研究課）

■安全性薬理

6月18日（火）10：10～10：50

司会：橋本 宗弘（ファルマシア（株））

●P-07

安全性薬理試験における心臓電気生理学的検討に関するアンケート調査

○尾崎 秀次², 塚本 修², 内田 武², 葛西 智恵子², 桑 悦子², 齋藤 守², 中澤 隆弘²,
中辻 勝義², 山本 恵司², 松澤 利明²

(¹)明治製菓(株) 薬品総合研究所 安全性研究所,

(²)日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

●P-08

無拘束ビーグル犬における心電図パラメーターのテレメトリー法による日内変動の解析

○高松 直子, 宮崎 裕康, 吉田 睦, 池田 孝則, 松本 浩良

(万有製薬(株) 安全性研究所)

●P-09

ビーグル犬のテレメトリー長時間心電図におけるQT補正法の検討

○宮崎 裕康¹, 多川 政弘¹

(¹)万有製薬(株) 安全性研究所, (²)日本獣医畜産大学, 獣医外科学教室)

●P-10

無麻酔下ラットのchlorpromazine投与による呼吸機能の変化: Whole body plethysmograph法の検討

○藤原 淳, 片山 誠一, 海上 智

(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

●P-11

覚醒および麻酔イヌの心電図ならびにモルモット摘出乳頭筋の活動電位に対するdl-sotalolの影響

○佐々木 篤志, 小田切 則夫, 鈴木 将光, 日誌 信吾, 海上 智

(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

●P-12

覚醒力ニクイザルにおけるterfenadineの心電図QT間隔延長効果に関する検討—terfenadineとketoconazoleの併用効果—

○小田切 則夫, 佐々木 篤志, 鈴木 将光, 日誌 信吾, 海上 智

(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

●P-13

薬物のQT間隔に対する電気生理学的評価

○天野 秀人, 山本 由徳, 大保 真由美, 日誌 信吾, 海上 智

((株) 三菱化学安全科学研究所)

●P-14

EFFECTS OF DOFETILIDE ON GUINEA-PIG MONOPHASIC ACTION POTENTIAL DURATION, DOG PURKINJE FIBRE ACTION POTENTIAL DURATION AND HERG CURRENTS.

○L Patmore, M R A Skinner, K McCulloch, K A Lansdell, J Harkins, A G B Templeton, D J Gallacher
(Quintiles Limited, Riccarton, Edinburgh, UK.)

■分子毒性・トキシコゲノミクス

6月18日(火) 13:10~13:40

司会:真鍋 淳(三共(株))

●P-15

ラット肝初代培養細胞を用いた毒性検討へのマイクロアレイの応用に関する予備検討

○島田 奈央子, 樹富 直哉, 浜野 宝子, 手塚 智章, 石井 健久, 務台 衛, 井上 裕章,
阿部 俊一

(三菱ウェルファーマ 研究本部 安全性研究所)

●P-16

ラット初代培養肝細胞系でのヘルオキシソーム増生関連酵素活性及び遺伝子発現変動の評価

○古川 直子, 京川 吉正, 原内 敏夫, 若林 美津子, 大野 浩司

(塩野義製薬(株) 新薬研究所 安全性研究部門)

●P-17

CPIB あるいは PB を投与したラット肝臓の遺伝子発現解析

○清沢 直樹, 平尾 潤, 牧野 俊彦, 佐久間 恭子, 五十嵐 功, 矢本 敬, 真鍋 淳

(三共(株) 安全性研究所 実験動物研究グループ)

●P-18

DNA チップを用いた遺伝子発現解析結果に摂餌条件が与える影響

○大林 久佐邦¹, 大町 康¹, 谷 吉朗¹, 山本 秀樹¹, 鎌井 陽子¹, 遠藤 和夫¹,
前田 尚之¹, 真鍋 淳²

(¹)三共(株) 安全性研究所, (²)三共(株) 安全性研究所, (³)放射線医学総合研究所)

●P-19

DNA チップによる慢性腎症の解析

○平尾 潤, 清沢 直樹, 佐久間 恭子, 瀬畑 信哉, 牧野 俊彦, 真鍋 淳, 矢本 敬

(三共(株) 安全性研究所)

●P-20

多環芳香族炭化水素による PPAR α 標的遺伝子の発現抑制とその分子機構

○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 代謝分析学分野,

²Laboratory of Metabolism, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, USA)

■環境物質・重金属・細胞毒性

6月18日(火) 13:40~14:05

司会: 津田 修治 (岩手大学)

●P-21

脱泡ミキサーを用いた薬物の懸濁液調製法に関する研究

○塚本 剛司, 佐藤 まゆみ, 鈴木 祥太, 土井 孝良

(武田薬品工業(株) 薬物機能第二研究所)

●P-22

INVESTIGATIONS OF CARBOXY-HEMOGLOBIN OF ADULT SMOKERS OF CONVENTIONAL CIGARETTES AND AN ELECTRICALLY HEATED CIGARETTE

○Jan Oey, J Roethig H, L Nelson B, A Walk R

(Worldwide Scientific Affairs, Philip Morris, U.S.A.)

●P-23

カドミウムトランスポーターとしてのヒト Nramp2

○細山田 真¹, 大久保 正人², 柴崎 敏昭², 遠藤 仁¹

(¹)杏林大学 医学部 薬理学教室, ²)共立薬科大学 薬物治療学講座)

●P-24

歯科鑄造合金の正常ヒト骨芽細胞を用いる毒性試験: L929 及び V79 細胞毒性試験との比較

○伊佐間 和郎, 松岡 厚子, 配島 由二, 土屋 利江

(国立医薬品食品衛生研究所 薬品部)

●P-25

メチル水銀の細胞毒性発現におけるアミノ酸トランスポーターの役割

○金井 好克, 金 徒慶, 松尾 洋孝, 遠藤 仁

(杏林大学 医学部 薬理学教室)

■活性酸素種など

6月18日(火) 14:05~14:25

司会: 安仁屋 洋子 (琉球大学)

●P-26

4-ヒドロキシノネナールによるヘムオキシゲナーゼ-1 転写活性化機構

○石川 牧恵, 沼澤 聡, 吉田 武美
(昭和大学 薬学部 臨床毒性学教室)

●P-27

内分泌攪乱作用の疑われている Bisphenol A によるラット肝発がん修飾作用および生殖器への影響

○市原 敏夫^{1,2}, 今井 則夫¹, 玉野 静光¹, 今井田 克己², 白井 智之³
(¹)大雄会医科学研究所, (²)香川医科大学 第1病理学,
(³)名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験腫瘍学)

●P-28

沖縄産薬草中の抗酸化成分と aldose reductase 阻害作用

○安仁屋 洋子, 糸数 里枝, 下地 絵理
(琉球大学 医学部 保健学科)

●P-29

薬物誘発性脂質症の簡便なスクリーニング系の確立

○小関 直輝, 宮脇 出, 堀江 泰志, 梶谷 高敏, 青木 泰啓, 安場 正子
(大日本製薬(株) 安全性研究所 安全性研究グループ)

■遺伝毒性

6月19日(水) 9:40~10:10

司会: 三宅 幸雄 (塩野義製薬(株))

●P-30

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について—遺伝毒性: 異数性誘発物質の検出と追加 in vivo 試験の現状—

○淺野間 光治, 荒木 春美, 大澤 浩一, 中井 康晴, 林 宏行, 若田 明裕, 森田 健
(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

●P-31

グルタルアルデヒドの in vivo ラット皮膚における小核の誘発性

○田代 翼, 鈴木 正明, 高信 健司, 野口 忠, 山本 静護, 松島 泰次郎
(日本バイオアッセイ研究センター)

●P-32

MutaMouse の肝臓および小腸における Ethylnitrosourea 誘発変異の経時的検索

○兵庫 淳志, 長谷川 智子, 三井田 由紀子, 真鍋 淳
(三共(株) 安全性研究所)

●P-33

ヘテロサイクリックアミン、ニトロソアミンの遺伝毒性の検出におけるラット、ヒト肝 S9 の比較検討

○奥谷 冴子¹、絹川 賢代¹、善家 茜¹、佐々木 有¹、松本 寛²、佐藤 哲男³、鈴木 聡³
(¹八戸工業高等専門学校 物質工学科、²北海道環境研、³HAB 協議会附属雪長類機能研究所)

●P-34

コメットアッセイにおいて Hep G2 細胞を用いた間接変異原の検出

○齊藤 宏美^{1,2}、宮川 誠²、奥谷 冴子¹、絹川 賢代¹、佐々木 有¹
(¹八戸工業高等専門学校 物質工学科、²三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

●P-35

化学変異原による Pun マウス胎児体細胞の遺伝子内組換えの誘発

○武田 和香子、益谷 徹、鈴木 聡、森村 智美、須井 哉、原 巧
(財)食品薬品安全センター 秦野研究所)

■発生・生殖

6月19日(水) 10:10~10:40

司会：江馬 眞 (国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所)

●P-36

可塑剤 butyl benzyl phthalate のラット雄胎児における生殖系発生に及ぼす影響

○江馬 眞、宮脇 英美子、原園 景
(国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所 生物試験部)

●P-37

ES 細胞の遺伝子発現に及ぼす TCDD の影響

○高木 篤也、松田 菜恵、五十嵐 勝秀、菅野 純、金子 豊蔵、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)

●P-38

ラット精子を用いた先体反応検査に関する検討：Sulfasalazine 投与による精子先体反応に対する影響

○福島 民雄、加藤 真之、磯貝 ゆみ、古川 理恵、浜田 悦昌、堀本 政夫
(ファイザー製薬(株) 毒性研究部)

●P-39

ラット培養胎児における難燃剤テトラムロムビスフェノール A の影響

○秋田 正治¹、大隅 則夫²、駒井 美穂²、横山 篤²
(¹鎌倉女子大学、²神奈川生命記念財団付属研究所)

●P-40

Embryo/Fetal Developmental Toxicity Studies in Dogs Via Intravenous Jugular Vein Infusion.

○スタンプ トナルド (ウイル リサーチ ラボラトリー インク)

■薬物代謝

6月19日(水) 13:45~13:55

司会: 須賀 哲弥 (東京薬科大学)

●P-41

ラット肝ミクロソーム P450 に及ぼす除草剤ターブートル (テルブカルブ) の影響

○須賀 哲弥¹, 鈴木 俊也², 中川 好男², 田山 邦昭²

(¹東京薬科大学 薬学部, ²東京都立衛生研究所)

●P-42

Pharmacokinetic Characteristics of Labeled-Nivalenol and -Fusarenon X in mice

○Amnart POAPOLATHEP¹, SUGITA-KONISHI Yoshiko², YAMAMOTO Shigeki²,
DOI Kunio¹, KUMAGAI Susumu³

(¹Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo,

²Department of Biomedical Food Research, National Institute of Infectious Disease,

³Department of Veterinary Public Health, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo)

■免疫・アレルギー系

6月19日(水) 13:55~14:15

司会: 北條 博史 (昭和薬科大学)

●P-43

リウマチ性疾患治療薬の Th1/Th2 バランスに与える影響

○内田 裕之¹, 吉野 伸², 森 洋樹³

(¹神戸薬科大学 薬学部, ²神戸薬科大学 薬学部, ³北海道医療大学 薬学部)

●P-44

Popliteal Lymph Node Assay (PLNA) の導入

○山田 毅史, 平岡 志津 (東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室)

●P-45

マウスを用いた天然由来材料のアレルギー性の評価: 種々の投与条件下での即時型アレルギー反応性

○五十嵐 良明, 鹿庭 正昭, 土屋 利江

(国立医薬品食品衛生研究所 薬品部)

●P-46

Assessment of Cell-Mediated Immune Responses in Cynomolgus Monkeys

○A. Jacob Jabbour (SNBLUSA, Ltd. Analytical Cytology, WA, USA)

■血液系

6月19日(水) 14:15~14:35

司会:松本 清司(信州大学)

●P-47

ラットおよびイヌでの Beta-agonists 投与時の血液学的検査パラメーター変動に関する検討

○相馬 晋司, 窪田 典, 前田 奈津江, 武藤 信一, 笠原 寛子, 有賀 憲郷, 高橋 哲明,
西山 千鶴, 今村 卓広, 百瀬 泰紀, 黒田 淳二, 柴田 信男
(キッセイ薬品工業(株) 安全性研究所)

●P-48

カニクイザルを用いた各種抗凝固薬の出血時間測定の見直し

○菅原 正喜, 土屋 俊也, 大内 広子, 矢部 光一, 丸 ちか子, 平山 隆, 古濱 和久
(第一製薬(株) 安全性研究所)

●P-49

カニクイザルにおける血液凝固線溶系検査法の検討

○江原 裕子, 桜井 貴之, 野口 規子, 小田部 耕二, 渡部 一人, 杉本 哲朗
(中外製薬(株) 安全性研究所)

●P-50

カニクイザルにおける血小板凝集能の基礎的検討(その2)

○岡崎 啓幸, 森 康男, Lee Byong Lyul, Meyer Steven, 福崎 好一郎(SNBL USA, Ltd.)

■内分泌系

6月19日(水) 14:35~15:00

司会:寺本 敬子(大阪市立大学)

●P-51

幼若雌性ラットを用いた子宮肥大試験における遺伝子発現変化

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

●P-52

妊娠初期から授乳期におけるビスフェノール A の経母体曝露が仔ラットの成長および甲状腺機能に及ぼす影響

○小林 健一, 王 瑞生, 宮川 宗之, 関口 総一郎, 須田 恵, 本間 健資
(独立行政法人 産業医学総合研究所)

●P-53

カニクイザルを用いた副腎毒性スクリーニング系の基礎的検討

○リー ビヨンリユル, ガンサー ジェーン, ピーターソン ベン, 岡崎 啓幸,
メーヤー スチープン, 福崎 好一郎 (SNBL USA, Ltd.)

●P-54

内分泌かく乱化学物質の周産期曝露による児動物下垂体前葉のゴナドトロピン陽性細胞数の変動について

○榎富 直哉, 渋谷 淳, 高木 広憲, 畠山 智香子, 高橋 則行, 有村 卓朗, 広瀬 雅雄
(国立医薬品食品衛生研究所 病理部)

●P-55

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

○岡崎 和志¹, 岡崎 修三², 中村 英明², 北村 泰樹², 畠山 和久², 若林 佐知子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)

■神経系

6 月 20 日 (水) 9:40~10:00

司会: 奥野 泰由 (住友化学工業(株))

●P-56

新規ミトコンドリア型 benzodiazepine 受容体作用薬 AC-5216 の身体依存性に関する検討—diazepam との比較において

○宮脇 出, 堀江 泰志, 小関 直輝, 船橋 斉, 安場 正子
(大日本製薬(株) 安全性研究所 安全性研究グループ)

●P-57

神経毒性試験の FOB における雌雄ラットの自発運動量測定とその解析

○町田 一彦¹, 橋爪 岸夫², 根田 公一², 田内 清憲¹
(¹) (株) 実医研 病理研究部, (²) (株) 実医研 安全性第 1 研究部)

●P-58

塩化トリメチルスズおよびアクリルアミドのラットにおける急性経口神経毒性試験

○根田 公一¹、橋爪 岸夫¹、町田 一彦²、田内 清憲²

(¹) (株) 実医研 安全性第1研究部、(²) (株) 実医研 病理研究部)

●P-59

動物行動に対する 1-プロモプロパン曝露の影響について

○本間 健資、須田 恵、倉持 光利、神保 雅、辻村 祐佑

(独立行政法人 産業医学総合研究所 健康障害予防研究部)

■腎・泌尿器系

6月20日(水) 10:00~10:20

司会: 川合 是影 (田辺製薬(株))

●P-60

カニクイザルにおける SDS-PAGE を用いた尿蛋白分画の基礎的検討

○小田部 耕二、長谷川 妙子、小泉 妙子、小泉 富彦、小松 俊一朗、千葉 修一、

渡部 一人、杉本 哲朗、井上 誠 (中外製薬(株) 安全性研究所)

●P-61

インドキシル硫酸による腎障害における有機アニオントランスポータの役割

○榎本 篤^{1,2}、武田 理夫¹、丹羽 利光²、遠藤 仁¹

(¹) 杏林大学 医学部 薬理学、(²) 名古屋大学医学部予防医療部)

●P-62

ヒト薬物トランスポーターを用いた薬物間相互作用の予測

○千葉 正悦¹、成川 新一¹、長濱 昇¹、鈴木 晃¹、黒岩 幸雄¹、遠藤 仁²

(¹) (株) 富士バイオメディックス、(²) 杏林大学医学部薬理学教室)

●P-63

ラット前立腺過形成モデルを用いたケルセチンの細胞増殖抑制作用の検討

○竹腰 進¹、国井 誠¹、松崎 健太郎²、本間 隆夫²、長村 義之¹

(¹) 東海大学 医学部 総合診療学系病理診断学、(²) 東海大学工学部)

■肝・消化器系

6月20日(水) 10:20~10:35

司会: 尾崎 博 (東京大学)

●P-64

トリニトロベンゼンスルホン酸による腸炎モデルにおける消化管平滑筋収縮性の変化

○尾崎 博, 木下 一哉, 佐藤 見一, 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)

●P-65

LPS 刺激に対するクッパー細胞および単球のラットおよびイヌにおける動物種差

○浜野 宝子¹, ビンセント トン¹, 林 正男², 田中 栄治¹, 務台 衛¹

(¹三菱ウェルファーマ(株) 研究本部 安全性研究所, ²お茶の水女子大学 理学部 生物学科)

●P-66

3-Methylcholanthrene (3-MC) によるマウス脂肪肝誘発機構についての検討

○近藤 宏, 平塚 一幸, 仲野 善久, 川村 祐司, 酒井 東日, 神藤 康弘

(明治製菓(株) 安全性研究所)

■局所刺激性

6月20日(水) 10:35~10:45

司会: 小島 肇夫 (日本メナード化粧品(株) 総合研究所)

●P-67

LLNA における Positive Control Substances としての Alpha-Hexylcinnamaldehyde (HCA) と 2-Mercapto-Benzothiazole (MBT) の Allergenic Potency の比較

○鈴木 博子¹, ウルマン ルドウィグ²

(¹日本シイベルヘグナー(株) 医薬品ビジネスユニット RDS 部 受託試験サービスグループ, ²RCC 社)

●P-68

Optimization of Scoring Dermal Erythema when Testing Skin Tinting Chemical in Irritation and sensitization Studies

○鈴木 博子¹, ウルマン ルドウィグ²

(¹日本シイベルヘグナー(株) 医薬品ビジネスユニット RDS 部 受託試験サービスグループ, ²RCC 社)

■トキシコキネティクス・一般毒性

6月20日(水) 13:10~13:45

司会: 岡崎 修三 (ポゾリサーチセンター)

●P-69

ラット (SD, Wistar, EHBR, Gunn) を用いた Zomepirac の比較 TK 試験

○杉山 明男, 永福 由紀子, 池田 陽一 (三菱ウェルファーマ(株) 研究本部 安全性研究所)

●P-70

ラットにおける尿蛋白 profiling 解析の基礎検討

○奈良岡 準¹, 田畑 肇¹, 斎田 美恵子¹, 深瀬 優², 斎藤 賢治², 堺 俊治¹, 白田 真治¹
(¹山之内製薬(株) 安全性研究所, ²サイファージェンバイオシステムズ(株))

●P-71

3種アルキルフェノールの新生児ラットにおける発現毒性および若齢ラットとの比較検討

○野田 篤¹, 山口 真樹子¹, 山本 謙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 総合評価研究室)

●P-72

ラットにおける Diethylstilbestrol ならびに Octylphenol 反復投与による腫インピーダンスの変化

○田村 啓, 白田 浩二, 小川 いづみ, 古川 賢 (日産化学工業(株) 生物科学研究所)

●P-73

無麻酔イヌにおけるクエン酸急速投与による影響

○福田 立, 豊島 茂樹, 山下 邦弘, 林 正信, 川内 佳之, 石川 圭子, 中島 芳文,
越谷 修, 川口 義郎, 平岡 功 ((株) 大塚製薬工場 栄養研究所 安全性研究室)

●P-74

Erythrosine Promotes Rat's Appetite ?

○沈 連忠, 古谷 真美, 立花 滋博, 桑形 麻樹子, 金澤 由基子, 永田 伴子, 堀内 伸二,
三枝 克彦, 稲田 浩子, 高島 宏昌, 小島 幸一
(財団法人 食品薬品安全センター 薬野研究所)

●P-75

カニクイザルのマイクロプレートリーダーを用いた Evans blue 法による循環血漿量測定を検討

○増山 光明¹, 門倉 豪臣¹, 佐竹 茂¹, 加島 政利¹, 福崎 好一郎², 永田 良一¹
(¹(株) 新日本科学 安全性研究所, ²SNBL USA, Ltd.)

■がん原性

6月20日(水) 13:45~14:00

司会: 今井田 克巳 (香川医科大学)

●P-76

In vitro 8-hydroxydeoxyguanosine measurement by ELISA method as a marker of DNA bases injuries by hydrogen peroxide or ultraviolet

○稲垣 成憲, 木戸 亮子, 村田 共治, 井上 博之 ((財) 食品農医薬品安全性評価センター)

●P-77

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について～医薬品開発におけるがん原性試験の現状～

○小林 裕幸, 木村 敬, 斎藤 明美, 庄司 陽子, 原 敦子, 久田 茂, 益本 吉廣,
安場 正子, 務台 衛, 森田 健 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

●P-78

Atrazine の卵巣摘出ラットに対する乳腺発がん修飾作用の検討

○上田 誠¹, 今井 俊夫¹, 小野寺 博志¹, 瀧澤 保¹, 高木 久宣¹, 三森 国敏^{1,2}, 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)

■市民公開セミナー

■市民公開セミナー 6月18日(火) 17:45~20:10

第1回 くすりの安全性は、どのように守られるか

オーガナイザー・司会：高橋 道人（昭和大学薬学部・病理ピアレビューセンター）

仮家 公夫（神戸学院大学・薬学部）

●C-1

セミナー開催にあたって

松澤 利明（第29回学術年会長、山之内製薬(株)）

●C-2

はじめに

仮家 公夫（神戸学院大学・薬学部）

●C-3

くすりを探し出す

吉村 義信（武田薬品工業(株)医薬研究本部）

●C-4

くすりを確かめる

野村 護（第一製薬(株)研究企画部）

●C-5

くすりを験す

小林 真一（聖マリアンナ医科大学薬理学、同病院治験管理室）

●C-6

くすりを審査する

豊島 聰（国立医薬品食品衛生研究所 医薬品医療機器審査センター）

●C-7

くすりを説明する

鍋島 俊隆（名古屋大学大学院 医学研究科医療学・附属病院薬剤部）

●C-8

くすりのリスクとベネフィット

海老原 格（日本RAD-AR協議会）

●C-9

まとめと質疑

高橋 道人（昭和大学薬学部・病理ピアレビューセンター）

■ランチオンセミナー

6月18日(火) 第1日

131/132 会議室 (1号館 3F) 12:00~13:00

1. The way toxicity evaluations of bio-pharmaceutical products should be conducted: Toxicological questions and answers
(Covance)

133/134 会議室 (1号館 3F) 12:00~13:00

2. アメリカ FDA Part 11 に準拠したコンピュータバリデーションの実際
(新日本科学)

431 会議室 (4号館 3F) 12:00~13:00

3. Tox assessment strategies: Optimising lead development candidates; and the path to Phase 1
(Inveresk Research)

6月19日(水) 第2日

131/132 会議室 (1号館 3F) 11:45~12:45

4. Tumorigenicity studies-points to consider in the choice of rat strain
Mr William N Hooks, Senior Toxicologist
(Huntington Life Sciences Ltd)

133/134 会議室 (1号館 3F) 11:45~12:45

5. 神経毒性試験の現状
Dr. J. T. Barid (MPI Research),
山下弘太郎 (三菱化学安全科学研究所)

432 会議室 (4号館 3F) 11:45~12:45

6. Toxicogenomics: Opportunities and challenges for toxicologists in the 21st century
(Phase-I Molecular Toxicology)

6月20日(木) 第3日

431 会議室 (4号館 3F20) 11:45~12:45

7. "Remote Monitoring System" インターネットを利用した試験データ閲覧システム
(イナ リサーチ)

142 会議室 (1号館 4F) 11:45~12:45

8. New Advances Toxicological Assessments II
1. Electronic Data and Electronic Reporting
2. Neonatal Toxicology Assessment using the Mini-Pig
(WIL Research Laboratories)

141 会議室 (1号館 4F) 11:45~12:45

9. 遺伝子発現頻度解析を用いた毒性試験
(ユニータック)

■モーニングセミナー

6月19日(水)

431 会議室 8:15~8:55

1. Quintiles' experience of testing compounds for potential to prolong QT interval: Strategies for screening in drug discovery and development

Dr Leslie Patmore
(Quintiles Ltd, UK)

133/134 会議室 8:15~8:55

2. Agilent Technologie の提供する遺伝子発現解析システムの紹介

近藤 直人
(横河アナリティカルシステムズ(株))

■アフターヌーンセミナー

6月19日(水)

133/134 会議室 12:55~13:40

1. Introduce the Institute of Toxicology and Aerosol Research and the Fraunhofer-Gesellschaft

Prof. Heinrich

The promise of pharmaco- and toxicogenomics

Dr. Borlak
(Fraunhofer Institut fuer Toxikologie und Aerosolforschung)

431 会議室 12:55~13:40

2. Biacore S51®を用いた薬物スクリーニングと初期薬物動態の同時解析

稲川 淳一
(ピアコア(株) アプリケーション開発部)

131/132 会議室 12:55~13:40

3. The Value to Japanese Pharmaceutical Companies of Outsourcing Parts of Drug Discovery

Dr. Rainer Netzer
(Evotec OAI AG, Germany)

■パネルディスカッション Panel Discussion

6月19日(水)

432 会議室 15:00~16:30

1. The Future of Toxicology in Regulatory Decision Making

Prof. Lewis Smith (Syngenta CTL Ltd, UK)

井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

牧 栄二 (ヤンセンファーマ)

司会: 佐藤 哲男 (千葉大学)

■各種集会・会合

6月17日(月) 前日

141/142 会議室 (1号館 4F) 13:00~17:00

第3回生涯教育講習会 (主催: JST 教育委員会,

申込: 本部事務局, 受講費: 別途必要)

テーマ: 腎毒性

1. 腎臓の構造

板井 建雄 (順天堂大学医学部)

2. 腎臓の機能と生理

三浦 克之 (大阪市立大学医学部)

3. 腎毒性の発現機序

玄番 宗一 (大阪薬科大学)

4. 毒性の分子機構

武田 理夫 (杏林大学医学部)

437 会議室 13:00~13:45

第30回学術年会企画委員会

437 会議室 14:00~17:00

理事・監事会

バステル 17:15~19:00

企画・理事合同会議

6月18日(火) 第1日

437 会議室 12:00~13:00

認定試験小委員会 (資格更新判定会議)

カスケード 12:00~13:00

IART 委員会

カスケード 12:00~13:00

トキシコロジー研連委員会

6月19日(水) 第2日

血液精巢毒性研究会	437 会議室 11:45~12:45
評議員会	白鳥(北) 11:45~12:35
総会	白鳥(北) 12:40~13:30

6月20日(木) 第3日

生涯教育小委員会	カスケード 11:45~12:45
編集委員会	437 会議室 11:45~12:45

■懇親会 Welcome Banquet

6月19日(水)

カスケード 17:15~19:00

司会：西田信之（武田薬品工業）
真鍋 厚（三共）
堺 俊治（山之内製菓）

会長講演

TOXICOLOGY

CL *in vivo* 毒性試験に影響する技術的要因

松澤 利明

第29回日本トキシコロジー学会学術年会会長

今回の年会のプログラムに年会長による「会長講演」を企画した理由は3つあります。1. 私自身、歴代の学術年会長に比べ研究業績の知名度が低い。2. 今回の年会の主テーマ「医薬品開発の加速および安全性評価向上のためのトキシコロジーの役割」の骨子を説明したい。3. 年会長の挨拶の場として、私の生命全科学研究に対する考え方的一端を話したい。

研究暦について：約35年前、チアミン類似体の抗コクシジウム作用と宿主の毒性（拮抗作用）について構造相関の検討を開始し、数年後ベクロチアミンを市販するに至った。この間、本薬の作用機序を解明するためH-チアミンの取り込みをウルトラマイクロオートラジオグラフィで検証した。同時に本薬剤の哺乳動物における単回投与・反復投与毒性試験と宿主への本薬の移行性と残留性試験、すなわちトキシコキネティクスを検討した。この時期にウサギの動脈粥状硬化症の予防・治療薬の効果を検討した。約20年前頃、母体にアミノ配糖体抗生物質を投与し、仔の聴覚障害への影響を機能検査と組織検査、さらにトキシコキネティクスを検討した。また、 α_1 , α ・ β , Ca, D₂, H₂拮抗剤等のイヌおよびサルにおける毒性試験を行う傍ら、セファロsporin系抗生物質のウサギにおける流産や腎毒性作用の解明を行った。さらに、この頃より、米国FDA-GLPを導入し試験責任者を約20年行ない、この間に日欧米CROへの多数の生殖毒性・一般毒性・癌原性試験等のアウトソーシングのモニターを担当した。このような研究暦でも論文は100を超えている。

今回の年会のメインテーマについて：「医薬品開発の加速および安全性評価向上のためのトキシコロジーの役割」をメインテーマとした。この究極の目的は創薬を如何にして早くヒト試験へ進めるか、あるいは如何にして新薬を早く市販できるかである。これを実現するためには、3つのステップ（ハードル）がある。Step 1. は、*in vivo* 毒性試験の質的向上、Step 2. は、毒性発現機序のタイムリーな解明、Step 3. は、医薬品の研究開発における加速のために Proteomic and Genomic Data を利用する。ご存知のように医薬品の研究開発は情報の変則的パトタッチ型である。パトンとは情報・データのことである。

Step 2. に関しては、昨日午前のシンポジウムと、この後 Prof. L. Smith の講演があります。Step 3. に関しては、昨日のシンポジウム、本日の教育講演2題あるいは明日のワークショップに組み込まれている。これらのことは、ワークショップ・セミナー・シンポジウムを介してオーガナイザーとスピーカーの先生方が実現してくれることと思う。私は、Step 1. に関して「動物実験の質的向上について」アーチファクトを例示する。この内容は新しい事ではない。

アーチファクトについて：上述した毒性試験のアウトソーシングで試験モニターを経験した。教訓として、毒性評価には、優れた Biological Reference Data とその技術水準の高い維持が重要性である事を実感した。本件に関して、製薬協における共同調査や臨床病理検査の IHCPT 勧告案作成に関与し、国立衛研との共同研究等を行った。ヒトや動物で絶食と飽食時における薬物血中濃度や臨床化学値に違いが出る事は知られている。今回は、事例として、採血部位の違いによる臨床化学値、抗凝固剤を使用する血漿と血清による臨床化学値、その解明のために血小板の関与、動物の取扱による臨床化学値、薬物動態への影響等を紹介する。

in vivo 試験におけるアーチファクトを小さくすることは、3つの目的があり、1) false negative data を出さない事、2) 動物と時間などの資源を節減する事、3) 形態学で所見を捉える前に生理学的毒性学的手段に道を開く事である。そうすることによって臨床への外挿性の角度が高くなることが期待できる。極めて地道な努力ではあるが、決して侮れないと思う。データの詳細は Proceeding に記載する。

おわりに、皆様方におかれましては本年会を楽しく有意義なものにされますよう折念じます。長くなりましたが、年会長のご挨拶といたします。

Technical Factors Affecting *in vivo* Toxicology Studies

Toshiaki Matsuzawa, Ph.D., Chairperson

The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology

There are three motives driving the plan for a keynote address by the chairman in the 29th Annual Meeting. The first is to introduce my research contributions, which are perhaps less familiar to the Society than those of past chairpersons of the Annual Meeting. The second is to present the framework of this meeting's theme, "The Role of Toxicology in Accelerating Drug Development and Improving Safety Evaluation". To introduce some of my own views regarding life safety science research, in my opening greetings as the chairman, is the third.

Regarding my research career, some 35 years ago, I started an investigation into the structural relationship between the anti-coccidial effects of thiamine analogs and host toxicity, which resulted several years later in the marketing of the product beclotiamine. During this period, to clarify the mechanism of action of the drug, I examined the uptake of ^3H -thiamine by ultramicroautoradiography. At the same time, I performed single and repeated dose toxicity studies of this drug in mammals as well as studies on the transmigration to the host and residual of the drug, i.e., the toxicokinetics. Also in this period, I investigated drugs for the prevention and treatment of atherosclerosis in rabbits. Approximately 20 years ago, I studied the administration of aminoglycoside antibiotics to dams of guinea pigs to evaluate their effects on the auditory function of their offspring by performing functional and tissue examinations with investigation of their toxicokinetics. In addition, while performing toxicology studies on α_1 , α · β , Ca, D₂, and H₂ antagonists in dogs and monkeys, I also clarified the effects of cephalosporin-type antibiotics on abortion and renal toxicity in rabbits. Further, from around this time, I adopted the U.S. FDA-GLP standards and served as a study director for about 20 years, and have monitored out-sourcing to Japanese-European-North America CROs of numerous reproductive toxicity, general toxicity and carcinogenicity studies. During my research career, I have still managed to publish over 100 papers.

Now, to say a few words about the main theme of this year's Annual Meeting, namely "The Role of Toxicology in Accelerating Drug Development and Improving Safety Evaluation". The ultimate purpose here is to address the problems in new pharmaceutical development of improving the speed of progression to the human clinical trial stage, and how fast new drugs can be brought to the market. To achieve results in these areas, three steps (or hurdles) are involved. Step 1 is to qualitatively improve *in vivo* toxicology testing; Step 2 is to clarify as rapidly as possible the mechanism of toxic manifestations; and Step 3 is to make use of proteomic and genomic data for the purpose of accelerating research and development for pharmaceutical products. As you are surely aware, pharmaceutical research and development proceeds with a sort of irregular "baton hand-off" style of information flow.

Regarding Step 2, the symposium yesterday morning and Prof. L. Smith's lecture later on both address this area. Step 3 is treated by yesterday's symposium and by two educational lectures today as well as tomorrow's workshop. I expect that these areas will be well covered by the speakers and organizers in the various venues of workshops and seminars. I would like to touch upon Step 1 by presenting artifactual examples regarding qualitative improvement of animal experiments. The content is not really anything new.

Moving to the artifacts, as I mentioned earlier, I have the experience of acting as study monitor for the out-sourcing of toxicity studies. One lesson clearly learned from this experience was that in evaluating toxicity, it is crucial to maintain high technical standards and excellent biological reference data. Regarding this matter, I have been involved in joint surveys and in preparing the proposal for IHCPT recommendations for clinical pathology examinations under the provenance of the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, and I

have performed joint research with the National Institute of Health Sciences. It is known that different results are obtained in blood drug levels and in clinical chemical data when testing in humans and in animals under the condition of fasting versus the condition of satiation. Now as an example/case, I would like to mention that there are differences in the clinical chemical values when using different physical locations for blood sampling; when using plasma treated with an anticoagulant versus serum; the role of platelets is important; and handling of animals can affect the clinical chemical values, electrocardiograms, and pharmacokinetics.

To minimize the artifacts involved with in vivo studies, there are three targets: 1) avoiding production of false negative data; 2) to reduce the resource at the animal and time, etc; and 3) before cleaving to morphological findings, make way for the methods of physiological toxicology. In this way, extrapolation to the clinical situation may be expected to improve. This requires a tremendous amount of good, honest labor, but I don't think that is anything to look down upon. The details of the data will be available in the meeting's proceedings. Finally, I truly hope that this year's annual meeting will be enjoyable and meaningful for all those participating. Thank you for your kind attention during my perhaps slightly long words of greeting.

特別講演

PL-1 The Importance of Mechanisms of Toxicity to Risk Assessment

Dr Lewis Smith,

Syngenta Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TJ, UK

The science of toxicology contributes to reducing the harm caused to humans as a result of exposure to chemicals, pesticides, drugs or other substances. It is an applied science that attempts to define the harm that chemicals cause to humans, and most importantly, it is an integral part of the risk assessment process. The risk assessment process varies depending on the substance in question. For example, with pharmaceuticals, the individual who is exposed to the drug also derives benefit from that exposure, whereas with pesticides, or industrial chemicals, the individual at risk might not derive any benefit. Consequently, the paradigm for risk assessment for pesticides and industrial chemicals is very different from that of pharmaceuticals. In the case of pharmaceuticals, the risk benefit equation will depend on the seriousness of the illness being treated, the likely benefit to the patient, the nature of the adverse effect and the probability that this adverse effect might result from taking the drug. In the case of pesticides and industrial chemicals the consumer has an expectation of no risk. Although the principles of the science of toxicology are independent of the nature of the product under study, the consequence of an adverse finding in an individual study can be very different, depending on the purpose for which the chemical or product will be used.

It is now generally accepted that the process of risk assessment is greatly aided when there is an appreciation of the mode of action or the mechanism of toxicity of the chemical under investigation. Both mode of action and mechanistic data allows for the more certain extrapolation of hazard data (generated in experimental animals or in vitro) to humans and takes account of specific considerations such as age, sex and individual polymorphisms. The population at risk no longer want (or understand) the relevance of 1 : 1,000,000 or 1 : 10,000 risk of a particular hazard to man, but rather demand to know whether they are the individual who will be affected. Ironically, at a time when toxicologists are developing intellectual and technical skill basis which are likely to make judgements more scientific and specific there has been a shift in opinion by various NGO's demanding a more 'hazard based' or 'effect based' risk assessments which can be generally described as an exaggerated form of the precautionary principle. This means that chemicals, which are characterised as hazardous, may be subject to calls for their prohibition or withdrawal irrespective of the risk they pose (ie likelihood of the hazard being expressed). It is vital to reinforce the scientific basis of risk assessment and in particular to contribute to developing a more explicable and transparent process whereby mode of action and mechanistic understanding can be systematically incorporated into risk assessment analysis. The following issues will be addressed:

1. What do we mean by mode of action?
2. What do we mean by mechanism of toxicity?
3. Examples of where mode of action and/or mechanistic data has (or should have) significantly altered the risk assessment.
4. What are the basic processes that contribute to an understanding of mechanism of toxicity, eg delivery, metabolism, primary toxic action, consequence of toxicity, pathological consequence?

リスクアセスメントにおける毒性メカニズムの重要性

ルイス スミス教授

Syngenta Central Toxicology Laboratory 所長

生命安全科学は、化学物質、農薬、医薬品その他の物質への暴露が、人に与える危害を少なくするのに寄与している。生命安全科学は、化学物質が人に与える危害を明確にしようとする応用科学で、最も重要なことは、リスクアセスメントプロセスに不可欠である。リスクアセスメントプロセスは、対象となる物質によって変わる。例えば、医薬品を服用する人はその事によりベネフィットを受けるが、農薬や工業薬品を蒙った人はベネフィットを受けないだろう。従って、農薬や工業薬品のリスクアセスメントのパラダイムは、医薬品のそれとは非常に異なる。医薬品の場合、リスクとベネフィットのバランスは、治療する病気の重症度、患者に対するベネフィット、有害作用の影響およびその薬の服用による有害作用の発現率により異なる。農薬や工業薬品では使用者はリスクがないことを期待している。生命安全科学の原則は、試験する製品の種類に依って変わるものではないが、各試験の有害所見の重要度は、その化学物質や製品が用いられる目的により大きく違ってくる。

リスクアセスメントプロセスは、調査対象となる化学物質の作用機序や毒性のメカニズムの正しい理解があると、一層確かなものとなるのが一般に認められている。作用機序もメカニズムのデータも、(実験動物または *in vitro* で認められた) 有害データのヒトへの外挿を確かにし、年齢、性別や個人の多様性のような特殊な考察の説明に役立つ。リスクにさらされる人々は、ある有害事象のリスクがヒトに 1:1,000,000 または 1:10,000 であるかを知りたいのではなく (または理解せず)、自分自身に影響が出るかどうかを知りたい。毒性学者が、科学的でスペシフィックな判断を可能にする優れた技能基盤を開発しているこの時期に、皮肉なことに各種 NGO は、警鐘原理を誇張し、俗に言う「有害性に基づく」または「影響に基づく」リスクアセスメントを過剰に要求する意見に転じてしまっている。このことは、有害と見なされた化学物質は、示すリスク (有害性発現の可能性) に関係なく、禁止や回収要求の対象となりうることを意味する。リスクアセスメントの科学的基礎を強め、特にリスクアセスメント分析に作用機序とメカニズム解明を系統的に取り入れ、明確で透明なプロセスを開発することが不可欠である。下記の話題について講演する。

1. 作用機序とは？
2. 毒性メカニズムとは？
3. 作用機序および/またはメカニズムデータがリスクアセスメントを著しく変えた (または変えるべき) 例。
4. 毒性メカニズムの解明に寄与する基礎的プロセスは何か、例えば経路、代謝、主要毒性作用、毒性の結果、病理学的結果？

Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TJ, UK

PL-2

Strategic Toxicology Evaluation of Bio-Pharmaceuticals— Past, Present, and Future

Mary Ellen Cosenza, Ph.D., DABT,

Director of Toxicology, Amgen, Inc.

The preclinical safety evaluation of bio-pharmaceuticals has evolved over the past 20 years. Historically these studies were guideline driven, using guidelines for traditional pharmaceuticals. Many of the early molecules developed were replacement therapies (e.g., insulin, human growth hormone, and erythropoietin). Safety issues related to contamination of the products were a major concern. Toxicity of the molecule itself was expected to be related strictly to the pharmacology of the natural endogenous molecule. Studies were often performed to comply with regulatory requirements, with little regard to the science. Today, as the purification and development technology has improved, contaminants are less often an issue. The International Conference of Harmonization (ICH) guidelines, specifically the S6 document (Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals), have allowed the safety studies to be more science driven. In the meantime, the molecules that have been developed in the last few years have become more challenging. They no longer are just replacement proteins, but include modified proteins, monoclonal antibodies, and conjugated molecules. Preclinical Safety evaluation of bio-pharmaceuticals today is more flexible and science-based. Regulatory standards across the major regulatory regions (European Union, Japan, and the United States) are now similar. The primary goals are to identify safe doses for the clinic, identification of target organs and the reversibility of these toxicities, and to suggest parameters for clinical monitoring.

The future holds many new challenges as bio-pharmaceuticals become more sophisticated. New types of molecules include smaller peptides, oligonucleotides, peptibodies, and gene therapies. Toxicity may no longer be only related to the pharmacology of the molecule for some types of products. For others, the molecules may be so specific for a human receptor, that there will be no relevant preclinical species for testing. At the same time the science of toxicology is on the verge of adapting new technologies for predicting and evaluating toxicity. These include toxicogenomics, toxicoproteomics, and metabonomics. New animal models may also be more applicable for certain molecules or indications. These may include disease models, transgenic animals expressing human receptors, or knockout animals.

This lecture will address many of these issues and give examples of molecules and their preclinical development strategies, from the early years of biopharmaceuticals to the current day. Potential issues and strategies for the future will also be discussed.

教育講演

TOXICOLOGY

T. W. Guentert, PhD

F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel School of Pharmacy, Univ. Basel

The pharmaceutical industry faces an innovation deficit (1). Its discovery potential is too small to maintain the industry at its present strength; drugs from biotechnology can make up for only part of this deficit and help from new technologies such as gene therapy can only be expected beyond year 2005. The answers of different pharmaceutical companies to this threat are diverse but the request for increased productivity is common to all of them. One of the options to increase productivity of the R & D process is an improved lead compound optimization through much earlier recognition of drug candidates with low chance of success. The goal is to reduce overall costs of developing new medicines by shifting the attrition of futile molecules from the resource-intensive human phases to the earlier phases. This could be achieved by enhancing the predictive power of information collected during early (non-clinical) phases of drug development to select with higher precision viable and commercially attractive drugs from a list of potential candidates. To accomplish this we need predictive tools for key compound properties in order to ensure that research capacity is focussed on molecules with a high potential for success.

Critical drug properties benefiting most from better predictive models can be defined from an analysis of previous failures. Only few such analyses are publicly available. Prentis et al (2) give an overview on reasons for drug withdrawal in early and late development collected over a 20-years' period from UK companies: pharmacokinetics, followed by efficacy, followed by animal toxicity were the three most important reasons. With the increasing difficulties to formulate compounds with unfavorable physico-chemical properties, ease of producing galenical formulations may become another focus area for successful drug development. If we succeed to develop predictive screening models in these areas then this will effectively reduce the number of failed drug candidates in late phases of their development. A proof-of-concept relating to the "drugness" of a new molecule can then be established prior to costly clinical phases.

A recent study performed by the International Life Science Institute ILSI gives more specific clues on concordance of toxicity in humans with that in animals (3). A database including 150 compounds from 12 companies with 221 human toxicity events was compiled. The organ systems with the highest incidence of discontinuation were neurological, gastrointestinal, cardiovascular and hepatic systems. The best concordance (sensitivity) of animal results was seen for hematological, gastrointestinal, cardiovascular, least for cutaneous (hypersensitivity) events. The human toxicities with the poorest correlation with animal studies (liver, hypersensitivity/cutaneous reactions) were also the two types of reactions that led most often to termination of clinical development. Reliable test systems in these areas are most urgently needed from a toxicology point of view to improve the quality of our drug candidates.

The methods available for organ toxicity evaluation are unsuitable for large scale screening. Genomics, i.e. the study of the genome, might offer new opportunities. "Toxicogenomics" attempts to identify gene expression patterns characteristic for toxicological responses (4). If we manage to identify the genes whose expression level changes in response to treatment, we might gain a new access to assessing the toxicological potential of a drug. Applications could be gene expression patterns of whole tissues, but also of cellular models.

These applications of genomics in a productive mode are still a dream today; there is a long way to go to understand, to have validated tools at hand, and to master the bioinformatics challenge. However, great efforts are underway to close the gap between technological feasibility and intellectual mastering of the information collected. One of the envisaged applications of toxicogenomics could be an unbiased analysis of the gene expression profile of a new drug candidate for potential toxic liabilities by comparing it with previously established fingerprints of known toxins. We have established such fingerprints for various specific mechanisms leading to hepatotoxicity (e.g. cholestasis, steatosis, direct acting hepatotoxins). Taking toxic and non-toxic analogues wherever possible, a set of candidate genes could be defined which seemed to be consistently related to hepatotoxicity. To test the validity of this hypothesis, the gene expression profiles of two drug candidate analogues, one with and one without shown hepatotoxicity were established and compared to our database of gene expression profiles. The expression profile observed with the toxic analogue was consistent with its known steatotic potential, the profile for the non-toxic analogue was inconspicuous. The effects could be distinguished after a single dose application already within 24 hours, despite the fact that for observation of steatosis *in vivo* with classical histopathology repeated application had been required. We speculate that gene expression profiling is a sensitive tool detecting steatosis earlier than classical toxicology assessments and after single dosing already. Obviously this needs to be verified for this liability, expanded to other mechanisms of hepatotoxicity and other organs than the liver before more generalized conclusions on the predictive power of gene expression profiles can be drawn.

Changed gene expression is not congruent with changed functionality. Hence we need to complement the information on early reaction of the body to an outside chemical stimulus on the genetic level with phenotypic outcome, e.g. by profiling the downstream products of gene expression. Biochemical profiles of the body provide such a picture. While individual or a group of biochemical parameters have been used in clinical pathology since long to characterize functionality on an organ level, new analytical tools such as high resolution ¹H-NMR of biofluids (urine, blood plasma) coupled with multivariate statistical bioinformatics methods provide the possibility to screen *in vivo* metabolic profiles for markers of relevant organ changes. In this role "metabonomics" can be viewed as a link between toxicogenomics and actual tissue pathology (5, 6, 7). The ease of sample preparation and analysis allows to assess the time course of alterations in the metabolic reaction of the body to a drug or toxin. If confirmed then metabonomics could become a highly relevant tool for screening for target organ toxicity at an early Discovery/Development stage. This method would be equally applicable to animals and to humans. First results from a Metabonomics Consortium of several pharma companies under the leadership of the Imperial College of Science, Technology and Medicine in London are encouraging. The reproducibility of biochemical signals from a given toxin (hydrazine) in studies performed in different labs as pictured in two- or multi-dimensional trajectories after principal component analysis was excellent and allows to compose a database for a variety of toxins by a multi-company effort. An example for the application of metabonomics in drug development is provided by Lazabemide (Ro 19-6327). A metabonomics study with this developmental compound was performed to explore the mechanism underlying mild and transient increases in liver transaminases seen in traditional rodent and clinical human studies. The NMR analysis gave hints for mitochondrial toxicity with the liver as target organ which then could be further followed up by standard biochemical methods detecting oxidative stress (cytotoxicity, GSH-oxidation).

Another concept to assess the toxicological potential of compounds during drug selection, namely a mini-tox study, deserves further evaluation. Such non-regulatory pre-clinical *in vivo* safety studies aiming at discovery support in order to select the best possible development candidate can have a variety of objectives (assessment of target organ toxicity; ranking of several compounds in relation to general toxicity; ...); they are typically performed on a limited number of small animals requiring low amounts of compound, given at relatively high doses (1-2 dose levels) but limiting the duration of exposure to a few days.

Drug metabolism and pharmacokinetics (DMPK) make up another important dimension in the optimization process of lead compounds. The two major recurrent DMPK questions which need to be addressed early on in the development of drugs intended for oral use, relate to (gastrointestinal) absorbability and metabolic stability of the drug candidate. Although further considerations (penetration of the drug into the target organ, degree of exposure, etc.) may be important, the questions on the uptake of intact active drug into the body are dominant. There is no lack of models to address these questions (for absorption: *in silico* methods including simulation software (8), physico-chemistry properties, Caco-2 cells (9), Ussing Chamber (10), cloned transporters (11); for metabolism (12): microsomal liver fractions, hepatocytes, heterologously expressed isozymes of human metabolizing enzymes), but the technological advancement is faster than biological and mechanistic understanding. Characterization (validation) of these models is rudimentary, their predictive power and limitations are not well enough understood and their role in an overall drug selection strategy is often undefined. Also any one of these models can cover only a limited number of aspects of the complex absorption and disposition processes and no coherent framework allowing to condense results from several models into an overall assessment of drug safety has been developed so far. Mathematical models might have the potential to fill this gap (13).

Prediction of important properties of a drug from structural parameters is still in its infancy. Although some physico-chemical properties (lipophilicity) have long been recognized as gross predictors for *in vivo* behavior, their predictive power is generally insufficient. Only through systematic collection of key properties of compounds will enough data eventually be collected to allow testing of algorithms relating structural descriptors to biological properties, including toxicology, pharmacokinetic and metabolic behavior. Such relationships can then lead medicinal chemists in their efforts to synthesize the “right” molecules.

The availability of new tools for early assessment of compound properties presents new challenges in the design of drug development plans. The sequence of studies performed must be individualized and commensurate with the development goals and prior knowledge on a compound class or clinical target at hand. This determines the degree of front-loading in a project, i.e. the timing of studies. A different development plan emerges for a compound interacting with a new innovative, hitherto little characterized target than for a fast-follower drug where the proof-of-concept has earlier been demonstrated. To facilitate decision on resource allocation, different generic development scenarios may be elaborated which could serve project teams as templates to start from for tailoring development plans to an individual project. Fast entry into humans for an early viability testing accepting development delays thereafter will require a different preparation of the first-in-human studies than when a rapid progression into later development phases is essential and a higher resource fuelling of the project in anticipation of the next several development steps can be accepted. If this flexibility in addressing development questions is coupled with the smart use of new *in silico*, *in vitro* and *in vivo* tools, a new and resource-efficient development paradigm and higher productivity emerges.

Non-clinical Drug Safety cannot optimize its input into improved drug development in isolation. Much efficiency can be gained by harmonizing activities between drug supply-often on the critical path for early development work- and formulation work. Only when these three disciplines are aligned a translation of the use of predictive models into higher development efficiency can be expected. However, this means that in managing a portfolio of compounds, prioritization of resources must commensurate with probability of success of individual projects. If this prioritization is achieved on an activity rather than whole project level higher output from fixed resources can be expected; the downside of this strategy is that this can only be achieved at the cost of increased complexity in planning activities.

In conclusion, predictive models are needed in pharmaceutical development to screen out at early stages from large series of compounds those molecules which have the right properties to become viable drugs. The bet-

ter the predictivity of such models, the lower will be attrition of drug candidates in late phases of development. Properties which need to be optimized include-besides efficacy-organ toxicity, absorbability, metabolic stability, formulation factors. Toxicogenomics and metabonomics hold great promise to improve prediction of organ toxicity, but their application is still at an exploratory stage. Using cellular and tissue models, if possible from human origin, key pharmacokinetic and metabolic properties can be predicted today with improved precision. Their further development and application in an automated and systematic way will improve our understanding of structure-property relationships which could serve in a predictive mode to guide the design of new medicines more efficiently. Smart use of predictive models for key compound properties coupled with flexibility in development plans can contribute significantly to the urgently needed higher productivity of the pharmaceutical industry.

References:

- 1) Drews J. and Ryser S.: Innovation deficit in the pharmaceutical industry. *Drug Information Journal* **30** (1996) 97-108.
- 2) Prentis R. A., Lis Y. and Walker S. R.: Pharmaceutical innovation by the seven UK-owned pharmaceutical companies (1964-1985). *Br. J. clin. Pharmac.* **25** (1988) 387-396.
- 3) Olson H., Betton G., Robinson D., et al.: Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Reg. Tox. Pharmacol.* **32** (2000) 56-67.
- 4) Corton J. C., Anderson S. P., Stauber A. J., Janszen D. B., Kimbell J. S. and Conolly R. B.: Entering the era of toxicogenomics with DNA microarrays. *CIIT* **19** (1999) 1-9.
- 5) Nicholson J. K. and Wilson I. D.: High-resolution proton magnetic resonance spectroscopy of biological fluids. *Prog. NMR Spectrosc.* **21** (1989) 449-501.
- 6) Beckwith-Hall B. M., Nicholson J. K., Nicholls A. W., Foxall P. J. D., Lindon J. C., Connor S. C., Abdi M., Conolly J. and Holmes E.: Nuclear magnetic resonance spectroscopic and principal components analysis investigations into biochemical effects of three model hepatotoxins. *Chem. Res. Toxicol.* **11** (1998) 260-272.
- 7) Nicholson J. K., Connelly J., Lindon J. C. and Holmes E.: Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. *Nature Reviews* **1** (2002) 153-161.
- 8) GastroPlus-Simulation Software. Simulations Plus Inc., 1220 West Avenue J, Lancaster, CA 93534-2902.
- 9) Gan L. S. and Thakker D. R.: Application of the Caco-2 model in design and development of orally active drugs: elucidation of biochemical and physical barriers posed by the intestinal epithelium. *Adv. Drug Dev. Rev.* **23** (1997) 77-98.
- 10) Richter W. F., Gand L. and Dall'Asen V.: Evaluation of a rat ileum diffusion chamber model for absorption screening of dipeptide transporter substrates. Jahreskongress der Schweiz. Gesellschaft der Pharmazeutischen Wissenschaften, Zuerich 1997; Abstract.
- 11) Meier P. J.: Hepatocellular transport systems: From carrier identification in membrane vesicles to cloned proteins. *J. Hepatol.* **24** (Suppl.) (1996) 29-35.
- 12) Houston B.: Utility of in vitro drug metabolism data in predicting in vivo metabolic clearance. *Biochem. Pharmacol.* **47** (1994) 1469-1479.
- 13) Blakey G. E., Nestorov I. A., Arundel P. A., Aarons L. J. and Rowland M.: Quantitative structure-pharmacokinetics relationships: I. Development of a whole-body physiologically based model to characterize changes in pharmacokinetics across a homologous series of barbiturates in the rat. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **25** (3) (1997) 277-312.

富田 勝

慶應義塾大学先端生命科学研究所所長・環境情報学部教授

はじめに

我々は1996年に、細胞内の代謝全体をまるごとシミュレーションすることを究極の目的として、E-CELLプロジェクト (Tomita 1999) を慶應大学湘南藤沢キャンパスに発足させた。マイコプラズマ菌 (*Mycoplasma genitalium*) の全ゲノム配列がアメリカ TIGR 研究所によって同定・発表された直後のことである。M. genitalium は現在知られている生物の中で最もゲノムが短く (58 K bps)、最小数の遺伝子セット (約 480 個) から成り、これらはすべて WEB で公表されている。これは大腸菌の約 1 割程度という小ささであり、細胞全体のシミュレーションのためには格好のモデル生物である。この 480 個の遺伝子配列を遺伝子データベースに相同検索すると、約 8 割は別の生物ですでに知られている遺伝子と相同があり遺伝子機能が推測できるが、残りの 2 割程度は機能未知であった。2 割もの部品の機能がわからないとすると全体を再構築することは極めて難しい。一方で M. genitalium の遺伝子のすべてが生きるために必須というわけではないことが、TIGR 研究所の網羅的な遺伝子破壊実験によって明らかにされている。そこで我々は TIGR 研究所の Clyde Hutchison や Craig Venter らと協力して、細胞の自己維持のために必要最低限の 127 個の遺伝子セットを選び出し、架空の「バーチャル細胞」の構築を目指したのである。

まず、E-CELL プロジェクトの基盤となるシミュレーションソフト「E-CELL システム」を開発した。前述した過去の細胞シミュレーション研究で用いられたコンピュータプログラムはそれぞれのプロセスに特化したソフトであるために互換性がなかった。しかし E-CELL システムは様々な細胞プロセス (生合成系、エネルギー代謝、膜輸送、転写、翻訳、複製、シグナル伝達など) すべてに対応できる「汎用」のシミュレーションソフトであることが重要な特徴である。したがって、代謝経路や遺伝子発現制御などを同一の枠組みでモデル化できる上に、それらのモデルを統合して細胞全体をシミュレートすることができるのである。

バーチャル自活細胞

我々が構築したバーチャル自活細胞は、膜外からグルコースを取り込んでそれを解糖系によって分解しエネルギー (ATP) を生産する。また、細胞膜生成のためのリン脂質合成系をもち、脂肪酸とグリセロールを取り込んでホスホチジルグリセロールを合成しこれが細胞膜となる。遺伝子発現のための転写機構 (RNA ポリメラーゼなど) および翻訳機構 (リボソーム等) を持ち、遺伝子から蛋白質を合成する。蛋白質は時間とともに自然分解するようにモデル化してあるので、蛋白質を作り続けないと細胞は死んでしまう。蛋白質を合成するにはエネルギー (ATP) が必要で、そのためにはグルコースが必要である。

E-CELL シミュレーション・システム

E-CELL システムを用いて前述のバーチャル細胞のシミュレーションを始めるとこれらの酵素反応がすべて並列 (実際には疑似並列) に実行され、バーチャル細胞が「代謝活動」を始める。グラフィックインターフェースを通じて、細胞内のさまざまな物質の増減 (分子数) を観察することができる。特定の化学反応のアクティビティをモニターすることもできる。また、シミュレーションの途中でもユーザが介入して物質の量を増減できるようになっている。全遺伝子の発現状態が一目で見渡せるインターフェースも用意している。それぞれのアイコンが各遺伝子に対応していて、転写量 (mRNA の分子数) を表示する。マウスをクリックすることによって、特定の遺伝子をノックアウトすることも簡単にできる。実験途中で遺伝子をノックアウトしその細胞の振る舞いを観察する、といった現実には不可能なりアルタイムのノックアウト実験もコンピュータ上では可能である。

バーチャル赤血球細胞

E-CELL プロジェクトの第一歩として構築した自活細胞モデルはあくまで架空の細胞であった。次なる目標は実在する細胞をシミュレーションすることである。そのためのモデルとして最初に選んだのは「ヒト赤血球細胞」である。赤血球は転写、翻訳、複製などを行わず細胞内代謝が限られているので、シミュ

レーションのためのモデル細胞には非常に適している。また、赤血球は実験データが豊富にあるため、コンピュータモデルを実際の細胞と比較して評価することが可能である。最近、E-CELL システムを用いて、ヒトの赤血球細胞のプロトタイプが完成した。これによって酵素機能を意図的に阻害させるなどの「パーティクル実験」を行い、遺伝性貧血症患者の赤血球の状態を再現することも可能となった。

現在この他に細胞小器官である「ミトコンドリア」全体のモデリングや、大腸菌の化学走性（誘引物質の濃度の高いほうへ向かっていく性質）のためのシグナル伝達系のモデリングを行っている。

細胞シミュレーションのためのメタボローム解析

開始当初はよく一笑に付されていた E-CELL プロジェクトだったが、最近では分子生物学会や生化学会でも広く関心をもっていただき、また Science 誌（99 年 4 月 2 日号）や 'Nature' 誌（1999 年 12 月 2 日号）を始めとする様々な雑誌・新聞にも取り上げられるようになった。欧米を中心に細胞シミュレーションの重要性がにわかに認知されてきたのである。アメリカではエネルギー省と国立衛生局（NIH）がそれぞれ細胞モデリングのプロジェクトを立ち上げた。

このように細胞シミュレーション研究は今後ますます盛んになると思われるが、現在におけるもっとも大きな壁は、定量的データの不足である。遺伝子の機能がわかっていたとしても、それらの働きの定量的なデータは少ない。また、細胞内のさまざまな物質の濃度についてもほとんど調べられることがなかった。赤血球のように細胞内代謝が網羅的に調べられているケースは極めて例外的である。これからはメタボローム (metabolome)、すなわち細胞内代謝の定量的データの網羅的解析が重要になるだろう。慶應大学は平成 13 年 4 月より鶴岡市（山形県）に先端生命科学研究所 (<http://www.bioinfo.sfc.keio.ac.jp/LAB>) を新設し、細胞モデリングのための「メタボローム+シミュレーション」という新しいタイプの研究プロジェクトを行っている。

参考文献

- “E-CELL: Software environment for whole cell simulation” Tomita, M., Hashimoto, K., Takahashi, K., Shimizu, T., Matsuzaki, Y., Miyoshi, F., Saito, K., Tanida, S., Yugi, K., Venter, J. C., Hutchison, C.; *Bioinformatics*, 15: 1, 72-84 (1999)
- “Whole cell simulation: A grand challenge of the 21st century” Tomita, M.; *Trends in Biotechnology*, 19: 6, 205-210 (2001)

シンポジウム 1

TOXICOLOGY

S1-1 肝毒性発現メカニズム Over View

佐神 文郎

エーザイ株式会社 薬事政策部

医薬品開発は、候補化合物の主薬効薬理作用と峻別、見極めが、その成功の成否を握っている。非臨床試験から臨床試験へ、そして、市販後における開発医薬品の有効性と安全性、とりわけ安全性評価におけるギャップは、しばしば候補化合物の開発の中止、あるいは市場からの回収にまで発展することが、これまで、幾つかのケースで報告されている。その原因となった、医薬品の毒性作用発現メカニズムの解明は、非臨床から臨床そして市販後の、安全性の予測精度を向上するためには不可欠であり、過去の苦い経験から、多くの研究者により、広く取り組まれている。

本シンポジウムでは、毒作用の中でも、非臨床、臨床、市販後において、最もその発生の頻度が多く、かつ、重篤な毒性作用となる、肝毒性に焦点を絞り、その発現に関与する主要な要因について、それぞれの、専門分野の研究者の方々より、発表頂き、現時点での最新の知見を紹介していただけるものと考えている。本、シンポジウムが多くの医薬品の創薬、開発研究に携わる研究者の方々の、研究への示唆に資することを期待している。

Symposium: Mechanism of Hepato Toxicity Effect Over View

Fumio Sagami

Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd

S1-2 各種臓器における毒性発現機序としての薬物代謝的活性化反応

山添 康, 宮田 昌明

東北大学大学院薬学研究科

薬物の投与や異物の暴露によって臓器組織に毒性が現れる。生体内代謝反応が毒性発現の強さや頻度、標的となる臓器を変動させることはよく知られている。しかしながら遠隔標的臓器だけでなく、肝臓や腎臓を標的とする毒性発現についても、毒性発現の分子機序と代謝の関連はあまり明確でない。代謝活性化によって生じた反応性中間体が無差別に機能タンパクを損傷することが多く、その特定の難しいことが解明を困難にしていると考えられる。また遅延性毒性、免疫毒性や催奇形性については代謝の関与を証明する手法の開発が進んでいないことも解明が進まない原因の1つとなっている。

ジメチルベンツアントラセン (DMBA) は発ガン性と共に、発生毒性および免疫毒性を示すことが知られている。これら DMBA 毒性はいずれも代謝活性化によって生じるジオールエポキシドに由来し、エポキシドヒドロラーゼ (mEH) が毒性発現に関与する。演者らは mEH ノックアウトマウスを用いて、胎児毒性には母胎の代謝活性化が、脾臓毒性には標的臓器における活性化に依存することを明らかにした。またサリドマイド毒性の種差についても代謝系を導入して embryo fibroblast による解析手法の開発を行っている。これらを含めた代謝的活性化の研究展開について討議したい。

Metabolic activation of chemicals and their associations with tissue specific toxicities.

Yasushi Yamazoe, Masaaki Miyata

Department of Drug Metabolism and Molecular Toxicology

Graduate School of Pharmaceutical Sciences

Tohoku University, Aramaki-Aoba Aoba-ku, Sendai 980-8578

S1-3 ベンゾチアゾール誘導体によるラット肝毒性発現機序

○佐藤 玄¹、青木 豊彦²、細川 曉¹、羽倉 昌志¹、知本 忠士¹、小林 直樹²、
佐神 文郎³、築館 一男¹

¹エーザイ薬理安全性研究所、²創薬技術研究所、³薬事政策部

ベンゾチアゾール誘導体である E2011 は、選択的 MAO-A 阻害作用により抗うつ作用が期待できる薬剤である。その臨床導入に向けた一連の非臨床試験として、ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施したところ、肝臓において、肝細胞の核肥大や GST-P 陽性小増殖巣（変異細胞巣）の増加が認められた。変異細胞巣は、一般的に前がん病変と位置づけられており、多くは可逆的である。しかし、それらの一部は肝細胞腺腫や肝細胞がんといった腫瘍性病変に移行すると考えられていることから、E2011 のがん原性の可能性が懸念された。一方、変異原性試験バッテリーで疑わしい結果は認められたものの、総合的評価としては E2011 が生体においてイニシエーション活性を示す可能性は少ないものと判断された。従って、E2011 の医薬品としての開発継続が科学的・倫理的に妥当であるかどうか判断するためには、ラットにおける肝毒性機序の解明およびヒトへの外挿が必要であると考えた。

そこで、我々はまず E2011 の化学構造に着目して、E2011 代謝物の一つで芳香族アミン体である脱炭酸体が代謝活性化を受けて肝毒性が引き起こされたという仮説を立てた。すなわち、変異原性あるいは発がん性を持つ芳香族アミン類の代謝活性化経路と同様に、脱炭酸体がチトクロム P450 (CYP) あるいはフラビンモノオキシゲナーゼ (FMO) により N-水酸化体に代謝され、引き続きアセチルトランスフェラーゼ (AT) あるいはスルホトランスフェラーゼ (ST) によりエステル化された後、反応性に富むニトロニウムイオンを生成して肝毒性を誘発したと考え、以下に述べるように、実験的に証明を試みた。

【E2011 のラット肝毒性に対する抱合酵素阻害剤の修飾作用】

最初に、代謝阻害動物モデルを用いて、E2011 による肝毒性への各抱合酵素の関与を検討した。その結果、E2011 を 2 週間投与した際に認められた細胞核肥大に代表される肝毒性は、ST 阻害作用を有するペンタクロロフェノール (PCP) 併用により抑制されたが、一方で同じ ST 阻害作用を有する 2,6-ジクロロ-4-ニトロフェノール (DCNP) 併用により増悪し、肝細胞の単細胞壊死像も認められた。この差異は、PCP が ST 阻害作用に加えて AT 阻害作用を併せ持つことに起因するものと考えられた。また、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ (UDP-GT) を阻害するラニチジン併用群では、E2011 単独投与群と毒性に差はなかったことから、グルクロン酸抱合体は E2011 の肝毒性に寄与していないことが推察された。この結果は、E2011 の毒性発現過程に AT による代謝活性化が含まれることを示しており、我々の仮説を支持するものと考えられた。

【変異原性 (Ames 試験) を指標とした E2011 の代謝活性化経路の推定】

次に、代謝活性化に関与する酵素系を *in vitro* で再構築し、より単純化した条件で E2011 代謝活性化機序を検討した。ここでは、Ames 試験における変異原性の強さを指標とした。最初に、Ames 試験の実施条件として、AT を含む抱合酵素の添加方法について検討した結果、AT の菌体外への添加は無効であったことから、菌体内で発現させる必要が考えられた。そこで、通常 Ames 試験で用いる *S. typhimurium* TA100 に加えて、TA100 に AT 遺伝子を持つマルチコピープラスミドを導入した菌株 (YG1029) を用いることとした。これらの菌株を用いて、E2011 およびその関連化合物の変異原性を検討した結果、3 級アミンである E2011 はいずれの菌株においても陰性であったが、2 級アミンである E2011 脱炭酸体は、YG1029 において S9 と CYP 補酵素 (S9 mix) の存在下で弱いながら変異原性を示し、さらに 1 級アミンである N-脱アルキル体は、YG1029 において S9 mix 依存的に強力な変異原性を示した。また、E2011 の R1 部分を水素原子に置換した構造を持つ化合物の変異原性と比較したところ、E2011 の R1 部分のアルキル側鎖は変異原性の強さを増強する効果を有することが示唆された。したがって、E2011 は脱炭酸により

通常の Ames 試験で検出できない潜在的なイニシエーション活性を発現し、さらに N-脱アルキル化されることで、より強力な変異原物質へと変換されることが示された。その際、S9 中に含まれる CYP と、YG1029 菌株で高発現した AT が、E2011 脱炭酸体の代謝活性化に関与することが示された。

さらに、E2011 脱炭酸体の変異原性を代表する、最もシンプルな芳香族アミン構造である 6-aminobenzothiazole (6-ABT; E2011 母核構造) を用いて、代謝活性化の各段階に対する特異的阻害剤による代謝活性化経路の検証を行った。その結果、6-ABT の YG1029 における変異原性は、非特異的な CYP 阻害剤である SKF-525A, CYP1A の特異的阻害剤である alpha-naphthoflavone および CYP1A2 抗体、ST および AT の阻害剤である PCP、ラジカルスカベンジャーであるメラトニンにより抑制された。以上の結果は、in vivo での AT 阻害作用に基づく肝毒性の抑制効果と一致し、仮説を支持するものであった。

【E2011 をラットに長期反復投与した際の肝臓の変化】

次に、E2011 のラットにおける 13 週間反復投与試験の病理組織学的検査で認められた変異細胞巣について、さらに長期間投与した場合に腫瘍性病変に発展するかどうか探る目的で、雌雄ラットに E2011 を 52 週間にわたって経口反復投与した。その結果、雌雄いずれでも投与期間が長くなるにつれて変異細胞巣の数・面積ともに増加したが、52 週の投与期間では肝細胞腫瘍の発生は認められなかった。一方、ラットにおいては極めて希な肝血管細胞由来の悪性腫瘍である血管肉腫が、最高用量群の雌雄（雄：3/12 例、雌：1/12 例）に認められたことから、E2011 はラットに対して発がん性を有することが示された。

以上の内容から、E2011 によるラット肝における肝毒性の機序は、代謝物の一つである脱炭酸体の CYP による水酸化とそれに続く AT によるエステル化、およびニトレンウムイオンの生成に由来すると考えられ、この一連の反応により E2011 はイニシエーション活性を発現することが示唆された。

Mechanism for benzothiazole derivative-induced hepatotoxicity in rats

Gen SATO¹, Toyohiko AOKI¹, Satoru Hosokawa¹, Atsushi HAKURA¹, Tadashi CHIMOTO¹, Naoki KOBAYASHI², Fumio SAGAMI³ and Kazuo TSUKIDATE¹

¹Drug Safety and Disposition, ²Discovery Technology Research Laboratories, ³Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd.

S1-4 毒性発現機構としての細胞間コミュニケーション —肝臓を中心にして—

北條 博史

昭和薬科大学衛生化学研究室

実験的肝障害モデルは、四塩化炭素やアセトアミノフェン等の化学物質により誘起される肝障害モデルと lipopolysaccharide (LPS) あるいは concanavalin A (Con A) により誘起される免疫介在性肝障害モデルの 2 つに大別される。本講演ではこれらの肝障害モデルにおける細胞間コミュニケーションに焦点を当て肝障害機構を考察するとともに、演者らによる「四塩化炭素の投与法に依存した肝障害発現と IL-6 誘導」に関する研究を紹介する。

肝臓には肝実質細胞の他、Kupffer 細胞、血管内皮細胞、胆管細胞、リンパ球など、様々な細胞が存在するが、一旦肝に刺激や障害が起これば全身から好中球、マクロファージ、リンパ等も集積してくる。これらの細胞は肝障害時に細胞同士の直接的接触、またはサイトカインなどの種々の液性因子を介してコミュニケーションを行うと考えられているが、現在のところそれらの一部しか明らかにされていない。

化学物質誘起肝障害モデル：化学物質肝障害においては、化学物質自身あるいはその代謝活性化体が直接的に肝実質細胞を障害する過程はよく知られているが、生体側因子の関わりについては殆ど解明されていない。しかし肝障害の発現において肝実質細胞と最も密接に相互作用をするのは Kupffer 細胞であると考えられている。通常 Kupffer 細胞は肝臓に流入する粒子状物質をファゴサイトシスすることにより肝細胞を守っているが、活性化すると炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 (TNF) やインターロイキン (IL)-1 などを産生放出し、また白血球遊走因子であるエイコサノイド等を分泌して好中球を集積、活性化させて組織障害を引き起こす。Kupffer 細胞が肝障害を修飾する可能性に関しては、“Kupffer 細胞機能阻害剤 gadolinium chloride の前投与した動物では四塩化炭素やアセトアミノフェン急性肝障害が顕著に減弱する”ことなど、間接的ながら、多くの証拠がある。投与された肝障害性物質がどのように Kupffer 細胞を活性化するかは未だ明らかではないが、四塩化炭素肝障害の例では、その代謝物が Kupffer 細胞の細胞内カルシウム濃度を上昇させることがその機序であると考えられている。

免疫介在性肝障害モデル：代表的な免疫介在性肝障害モデルとしては、LPS を用いる LPS/D-galactosamine 肝障害と LPS/P. acnes 肝障害、および Con A 肝障害などがある。D-galactosamine の併用により動物はごく微量の LPS の投与で肝障害を起し死亡する。これは D-galactosamine により肝細胞内 UTP 量が減少して高分子合成が低下するため、LPS で活性化されたマクロファージから放出される TNF に感受性が高まるためとされる。Con A 肝障害では Con A により直接 T リンパ球が活性化され、活性化リンパ球による直接的細胞障害、あるいは TNF などの産生を介した細胞障害が起きる。発表ではそれぞれの肝障害モデルにおける細胞死の分子機構についても言及する。

Cell communication in toxicological mechanisms —specially on hepatic injury—

Hiroshi Hojo

Department of Hygienic Chemistry, Showa Pharmaceutical University

S1-5 核内受容体を標的とする毒性発現機構—PPAR を中心にして

須賀 哲弥

東京薬科大学薬学部

PPAR(Peroxisome proliferator-activated receptor)は核内受容体の一種であり、現在 PPAR α , PPAR δ (β), PPAR γ の3種の存在が知られている。これらは高脂血症、糖尿病、炎症など種々の疾患に関与していることがわかり、それらの病態解明や医薬品開発の標的受容体として注目されている。一方で、これら PPAR のリガンドとなる多くの医薬品、農薬、環境物質などが生体に対してさまざまな毒性作用をおよぼすことも知られており、毒性学的にも注目されるようになってきている。

本シンポジウムでは、PPAR α のリガンドとなる医薬品とくにフィブレート系脂質低下薬による発肝癌に関する研究成果を中心に紹介し、PPAR α , PPAR δ , PPAR γ が関与すると思われる薬物の毒性発現の特性および機構に関わる諸問題について考察したい。

1. PPAR の種類と機能

PPAR α , PPAR δ , PPAR γ は相互に類似性が極めて高いが、それらの臓器分布、対象とするリガンドが異なり、それぞれ固有の生理的機能が明らかになっている。そのうち、PPAR α は脂肪酸代謝の活性化に代表されるリポリシス亢進に関与し、一方 PPAR γ は脂肪細胞分化を活性化しリポゲネシス亢進に関与することが明らかになっている。

2. PPAR と薬理作用

フィブレート系脂質低下薬は多種使用されているが、これは PPAR α のリガンドであり、それを活性化して種々の脂質代謝系酵素や因子の生成を制御する。

抗糖尿病薬のうちグリタゾン系(チアゾリジンジオン系)薬物は PPAR γ を活性化することが知られており、開発の標的分子として注目されているが、その作用機構の詳細は明確となっていない。また最近、PPAR α と PPAR γ を同時に活性化し、脂質低下作用と抗糖尿病作用の両方を期待した医薬品開発も進められている。

3. PPAR と毒性発現

フィブレート系脂質低下薬はいずれも肝障害作用を有することが知られている。この障害に程度の差はあるものの薬物間で普遍的であり、それに PPAR α の関与があることは疑いの余地がない。また、フィブレート系薬物とスタチン系薬物との併用により誘起される横紋筋融解症にも PPAR α の関与が疑われている。グリタゾン系抗糖尿病薬により劇症肝炎や心不全が誘発し、使用が中止になったり、慎重投与の扱いになったりしている。これらの副作用発現の詳細は未解明であるが、PPAR の関与も視野に入れて研究を進める必要がある。

3. ベルオキシゾーム増殖薬による発肝癌の特性と機構

ラットを中心としたげっ歯類動物においては、フィブレート系薬物の長期投与により肝癌が発生する。これはヒトにおいては起こりにくいものであり、発癌に種差があるとされている。フィブレート系薬物はベルオキシゾーム増殖薬の代表的な一群であり、これらは肝細胞内ベルオキシゾームの顕著な増殖と脂質代謝に関連する酵素群の誘導を引き起こす。この現象に関して WHO における国際的な専門家会議において、ベルオキシゾーム増殖と発肝癌との間には必須の関係があることが確認されている。

ラットにおけるベルオキシゾーム増殖薬による発癌の特性として、(1)肝肥大、(2)肝細胞内ベルオキシゾームの増殖、(3)脂質(特に脂肪酸)代謝酵素の誘導、(4)アポリポタンパク質の発現制御、(5)非変異原性、(6)増殖因子 HGF の関与などがあげられる。この種の発癌の特性と機構に関して演者らの研究成果を紹介し、発癌機構および種差について考察したい。

参考文献

- 1) PPAR と発癌、須賀・渡辺、Progress In Medicine, 19, 2499-2504 (1999)
- 2) PPAR, ベルオキシゾーム増殖薬活性化受容体-非遺伝子毒性発癌における役割、渡辺・須賀, J. Toxicol. Sci., 25, 135-147 (2000)
- 3) DHEA とベルオキシゾーム増殖、高木・山田・須賀, ホルモンと臨床, 48, 841-854 (2000)
- 4) PPAR と発癌、須賀, BIO Clinica, 16, 431-435 (2001)

S1-6

毒性防御機構としての毒性発現監視系とその破綻

吉田 武美

昭和大学薬学部毒物学教室

生体は常に外的あるいは内的な侵襲を受ける。とくに肝臓は経口摂取された医薬品はじめ飲食物中成分などほとんどの化合物が通過し、代謝変換を受ける臓器であり、障害を受け易い臓器である。腎臓もまた薬毒物の排泄臓器であり、障害を受ける可能性も高い。一方生体組織には複雑なネットワークを形成しながら、障害に対する多彩な防御系が存在する。これらの防御系は、グルタチオン (GSH) やビタミンなどの抗酸化性低分子化合物、メタロチオネインなどのタンパク質類、さらに GSH ペロキシダーゼなど各種の酵素類である。また核酸など遺伝子障害に対する修復や障害後の再生も防御系の一環として捉えることができる。従って、細胞や組織が障害を受けることは、これらの防御系の機能が破綻した結果として捉えることが可能である。多くの場合は、侵襲の強度とそれに対する防御系の応答能と関連している。本シンポジウムでは、とくに最近注目を集めている、ヘム分解の律速酵素であるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) 誘導やチオレドキシンの役割についてのべる。いずれも生体が酸化ストレスを受けた際に急速に応答し、その結果として障害に対する防御的に作用することが知られている。とくに HO-1 は薬毒物、各種ホルモン、サイトカインにより調節を受け、また各種の慢性的疾患で誘導が認められ、病態の進展に防御的に機能している可能性がある。しかも本酵素予め誘導しておくことにより、臓器障害が防御される。これらに加えて、最近シクロオキシゲナーゼ-2KO マウスでアセトアミノフェンによる肝障害増強なども知られている。以上のような観点から薬毒物の毒性発現との機構についての議論を進めてみたい。

Biological Surveillance and Defense Mechanism for Drug Toxicity and Its Breakdown
Takemi Yoshida
Department of Biochemical Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences
Showa University

S1-7 質疑とまとめ

吉田 武美

昭和大学薬学部毒物学教室

シンポジウム 2

TOXICOLOGY

S2-1 はじめに

伯水 英夫

第一製薬(株)

嶋田 薫

ファイザー製薬中央研究所薬物動態研究部

【はじめに】

近年のロボット技術の進歩は IT 技術の発達と相まって、開発候補化合物の創製手法に大きな変革をもたらした。特に探索研究の過程において、積極的に化合物の HTS (High Throughput Screening) が導入・実行されている。本シンポジウムでは、薬物動態スクリーニングの HTP (Throughput) 化について紹介する。

【薬物動態における HTS】

1990 年代に入って、combinatorial chemistry の発達により、非常に多数の化合物が純度よく合成されるようになった。加えて、化合物はベンチャー企業から購入も可能となり、各企業の化合物ライブラリーは充実したものとなってきた。HTP 化を実行するには、ロボットや IT 技術を駆使して、化合物ライブラリーの管理から、高密度プレートの調製、アッセイ系の構築、データ処理・管理までの一連の流れを効率的に運用することが必須である。

現在行われている薬物動態スクリーニングのうち、特に HTP 化が進んでいるのは、吸収と代謝の評価系である。吸収の HTS としては、培養細胞や人工膜を利用したものが多くあり、特に Caco-2, MDCK などの細胞単層膜を用いた透過性試験は、培養から試験・測定までの完全自動化も可能である。代謝の HTS としては、肝ミクロソームや肝細胞を用いた化合物の安定性試験、ならびに薬物相互作用の観点から酵素阻害や酵素誘導に関する HTS が確立されている。酵素阻害では、良好な蛍光基質が開発され測定時間も大幅に短縮された。酵素誘導では、レポーター遺伝子アッセイが HTS に応用されており、非凍結肝細胞を用いたアッセイも細胞供給の問題が解決されれば HTS が可能である。また、毒性に関与すると言われる反応性代謝物の生成の可能性を LC/MS で簡便に評価する方法も考案されている。その他、p-糖タンパクなどの輸送ポンプ、タンパク結合、薬物動態に関係する物理化学的パラメータ（溶解性、Log P などの脂溶性、酸解離定数など）の測定も HTP 化されている。これら *in vitro* の薬物動態関連のアッセイ系は、いずれも Z'-値¹⁾ が概ね 0.5 以上であり、HTS の精度は良好と考えられる。一方、PK 試験など *in vivo* 実験の自動化も既に実用化されており、HTP 化も理論的には可能であるが、動物倫理的な問題も含んでおり、その実践には十分な議論が必要と思われる。

ここで、単に HTS や UltraHTS で数をこなすだけでは、却って開発候補化合物の効率的な創製には障害となることは言うまでもない。つまり drug like-properties という考え方から、創薬ライブラリーの設計が非常に大切になってくるのである。その意味では Lipinski の rule of five²⁾ は一つのよい指針を示すものであろう。また、探索研究のどの段階でどのスクリーニングを実施するかを考えることも効率的な HTS の運用には重要なことである。最近の computational chemistry の進歩により、分子設計はもとより、いわゆるバーチャルライブラリーの中から化合物を選択する *in silico* スクリーニングの発展も期待されることである。いずれにしても HTS で出てくる膨大なデータをいかに解釈して有効利用するかが常に問われることになる。

【おわりに】

1997 年 Kennedy³⁾ は、開発の中止理由のうち、薬物動態の問題が最も多く 39%、薬効なしが 30%、安全性の問題が動物毒性を含めて 21% という調査結果を紹介している。しかし、上記のような探索段階における薬物動態スクリーニングの充実により、今や薬物動態と安全性の立場は完全に逆転した。今後は、化合物の安全性を創薬初期段階で予測するスクリーニング系を開発し、HTP 化を通じて、Structure Safety Relationship を展開することが今後の医薬品開発の鍵となることは間違いない。

【参考文献】

- 1) J.-H. Zang, T. D. Y. Chung and K. R. Oldenburg, *J. Biomol. Screen.*, 4, 67, 1999
- 2) C. A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy and P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 23, 3, 1997
- 3) T. Kennedy, *Drug Discovery Today*, 2, 436, 1997

HTS for PK/DM studies in the discovery stage

Kaoru SHIMADA

Pharmacokinetics, Dynamics & Metabolism, Pfizer Global Research & Development

S2-3 創薬代謝からの化合物選択の基本的戦略

千葉 雅人

万有製薬・筑波研究所・薬物動態研究所・非臨床動態グループ

遺伝子情報の利用による標的疾患領域の拡大、combinatory paradigm 合成法の確立、薬理活性の high-throughput (HTS) スクリーニング法の普及などによって、非臨床薬物動態グループが担当する薬物候補化合物の数は、飛躍的に増加してきた。この結果、薬物代謝・動態探索の turnover を上昇させる HTS の概念の導入が迫られてきた。一方で、薬物研究センターの調査から、臨床試験において開発が打ち切られた原因は、全カテゴリー（198 例の新規臨床試験）ではその 39% が不適当な薬物動態によることが明らかとなった。さらに、伝染病薬のカテゴリーに限れば、ほぼ全ての（89%）例がこれに当てはまった。以上のことから、創薬初期段階での薬物代謝研究では、探索評価速度のみならず、ヒト体内動態の妥当性の正確な予測が求められる。最近のヒト薬物代謝や吸収に関する *in vitro-in vivo* 相関研究成果の蓄積や *in vitro* 実験材料の普及は、探索・非臨床開発段階での *in vitro* 実験の有用性を高めてきた。本講演では、創薬初期段階での動態的最適化の実例を、(1)P450 による代謝安定性(2)P450 との相互作用(3)P-glycoprotein による排出輸送(4)ヒトでの動態予測手法の各項目に分けて紹介する。これらの情報は、創薬初期段階での構造修飾による最適化に貴重な指針を与えている。

Principal strategy for the optimization of new drug candidate in drug metabolism and pharmacokinetics at the early discovery stage.

Masato Chiba, Ph.D.

Drug Metabolism, Tsukuba Research Institute, Banyu Pharmaceutical Co., LTD.

S2-4 トランスポーターからみた創薬戦略

藪内 光, 石川 智久

東京工業大学 大学院生命理工学研究科

1990年代において開発されたハイスループットスクリーニング (HTS) やコンビナトリアルケミストリーの技術は、新薬探索のスピードを急激に加速させた。そして今世紀、バイオインフォマティクス、機能ゲノム、薬理ゲノムの研究から生まれるゲノム技術が、新薬探索段階でのターゲット評価、開発段階での臨床研究にパラダイムシフトをもたらすであろう。

しかし、新薬探索と開発は、時間とコストを要する高いリスクを有するだけに、ギャンブルの要素をはらむビジネスであることに変わりはない。この創薬における経済的リスクを減少させる実践的な方法の一つとして、薬物輸送機構に基づいた創薬分子デザイン戦略が考えられる。この創薬アプローチは「適切な薬を適切な患者に適切な投与量で」という医療の究極のゴールと一致するであろう。受動的な拡散は、多くの脂溶性化合物の膜輸送にとって基本的な機構であるが、これだけでは細胞の薬物輸送を完全に説明できない。個々の患者における薬剤応答の差異の根幹である未知の分子機構について評価することが必要である。このことを成し遂げる第一歩は、薬物の吸収、分布、代謝、排泄 (ADME) に関与するトランスポーターと薬物代謝酵素の遺伝学的研究であろう。その研究のターゲットは、まず P-糖蛋白や MRP, BCRP といった ABC (ATP-Binding Cassette) トランスポーターであろう。加えて、溶質トランスポーターであるオリゴペプチドトランスポーター (PEPT)、モノカルボン酸トランスポーター (MCT)、有機アニオントランスポーター (OAT, OATP, NPT, NTCP)、カチオントランスポーター (OCT, OCTN) もターゲットとしてあげられる。これら溶質トランスポーターは、小腸や腎臓の上皮細胞、肝細胞、脳血管内皮細胞にも発現している。そして、ある種の薬剤輸送にも関与している。薬物トランスポーターの分子機構の解明とその薬物動態上の意義を定量的に解析することは、ポストゲノム時代における合理的な創薬分子デザイン戦略、ターゲット部位への特異的な薬剤デリバリーの開発に大きく貢献するであろう。

ヒトゲノム解析によって、約 50 個のヒト ABC トランスポーター遺伝子が発見された。ABC トランスポーターの生理機能は極めて多様で、*in silico* の bioinformatics 解析ではその基質特異性といった真の機能を予測することが難しい。したがって各々の ABC トランスポーターの完全長 cDNA 発現系を用いた機能解析が重要な研究分野となる。これまでに我々の研究グループは、薬物を輸送する ABC トランスポーターの基質特異性を調べるスクリーニング系を構築した。本シンポジウムでは、そのスクリーニング系の有用性と創薬分子デザインへの応用について概説する。

参考文献:

石川智久, 藪内光 創薬分子デザインの新戦略: ABC トランスポーターの遺伝子多型と薬剤応答性 *バイオベンチャー* 1: 53-61 (2001).

石川智久 ゲノム創薬に何が必要か? *現代化学* 11月号 56-60 (2001).

A New Strategy of Drug Discovery: Transport Mechanism-Based Molecular Design

Hikaru Yabuuchi and Toshihisa Ishikawa

Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology

Albert P. Li

Drug metabolism; drug-drug interactions; idiosyncratic drug toxicity In Vitro Technologies, Inc., U. S. A.

Although all drug candidates have been carefully evaluated in laboratory animals before they are evaluated in humans in clinical trials, the failure rate, estimated to be approximately 80%, is highly undesirable. One possible reason for this high failure rate is the well-established species-species differences in drug properties. Due to fundamental differences between laboratory animals and humans, especially in drug metabolism, results with laboratory animals do not always predict human outcomes. A bridge needs to be built between laboratory animal findings and human results.

In vitro, human-based experimental systems serve as such a bridge. Human hepatocytes freshly isolated from human livers represent the best human-based experimental system for the evaluation of human-specific drug properties. However, due to the general unavailability human livers for research, freshly isolated hepatocytes cannot be used routinely. This is remedied by the recent success in cryopreservation: freshly isolated cells now to be stored in liquid nitrogen for later use. Results with multiple donors show that P450 isoform and phase II conjugation activities are not significantly affected by cryopreservation.

Using cryopreserved human hepatocytes, assays have been developed for the evaluation of metabolic stability, metabolic fate (identification of metabolites), P450 inhibition, P450 induction, and toxicity. Applications of these assays early in drug discovery and development should allow the selection of drug candidates with the most appropriate human properties, thereby increasing the probability of clinical success.

References:

1. Li AP, Segall M. 2002. Early ADME/Tox studies and in silico screening. *Drug Discov Today* 7: 25-7.
2. Li AP. 2001. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discov Today* 6: 357-66.
3. Li AP. 1999. Overview: hepatocytes and cryopreservation—a personal historical perspective. *Chem Biol Interact* 121: 1-5.
4. Li AP, Lu C, Brent JA, Pham C, Fackett A, et al. 1999. Cryopreserved human hepatocytes: characterization of drug-metabolizing enzyme activities and applications in higher throughput screening assays for hepatotoxicity, metabolic stability, and drug-drug interaction potential. *Chem Biol Interact* 121: 17-35.
5. Li AP, Gorycki PD, Hengstler JG, Kedderis GL, Koebe HG, et al. 1999. Present status of the application of cryopreserved hepatocytes in the evaluation of xenobiotics: consensus of an international expert panel. *Chem Biol Interact* 121: 117-23.
6. Li AP, Hartman NR, Lu C, Collins JM, Strong JM. 1999. Effects of cytochrome P450 inducers on 17alpha-ethinyloestradiol (EE2) conjugation by primary human hepatocytes. *Br J Clin Pharmacol* 48: 733-42.
7. Li AP, Jurima-Romet M. 1997. Applications of primary human hepatocytes in the evaluation of pharmacokinetic drug-drug interactions: evaluation of model drugs terfenadine and rifampin. *Cell Biol Toxicol* 13: 365-74.
8. Li AP, Jurima-Romet M. 1997. Overview: pharmacokinetic drug-drug interactions. *Adv Pharmacol* 43: 1-6.
9. Li AP. 1997. Primary hepatocyte cultures as an in vitro experimental model for the evaluation of pharmacokinetic drug-drug interactions. *Adv Pharmacol* 43: 103-30.

S2-6 DNA マイクロアレイによる副作用関連遺伝子の発現解析

田井中 均

ディスカバリー・バイオテクノロジーズ株

遺伝子発現強度を網羅的に解析するツールである DNA マイクロアレイを用いて、遺伝子発現の変動から医薬品の副作用を予測できる可能性がある。現在実現可能な方法として、(1)副作用との関連（メカニズム）が既知、または関連が示唆される機能既知遺伝子（群）を検出するための、比較的低密度の DNA マイクロアレイを用いる方法、および、(2)全遺伝子を搭載した DNA マイクロアレイを用いて、主として統計学的手法により、機能未知の遺伝子を含め、検出可能な全ての遺伝子の発現変動と生体イベントとの相関関係を調べる方法が考えられる。(1)は、生体イベントに特異的なマーカー遺伝子(群)の変動を指標として、スクリーニングを行う目的に適している。一方、(2)は新規マーカー遺伝子（群）の発見に有用である。全遺伝子を対象とした網羅的な解析を試みたとしても、DNA マイクロアレイの結果のみから、遺伝子（群）の発現変動と生体イベント（薬効・薬理作用、副作用等）をつなぐメカニズムを完全に解明することは難しいが、高密度 DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイリングは、新規遺伝子機能を発見するための強力な手法であり、未知の副作用メカニズムを解明する手がかりを与えることは間違いない。本講演では、ラット肝臓用低密度 DNA マイクロアレイ、およびマウス高密度 DNA マイクロアレイを用いた実験例から、二つのアプローチの有効性について議論する。

Approaches to Predict Adverse Effects of Drug Compounds Using DNA
Microarray
Hitoshi Tainaka
Discovery Biotechnologies Corporation

石本 吾郎

住商バイオサイエンス株式会社 企画・開発担当課長

1. 概要

米国キュラジェン社はゲノミクス/プロテオミクス、バイオインフォマティクスの統合技術を取り揃え、製薬会社・バイオ企業の創業研究を支援しています。特に毒性ゲノミクスの分野においては、網羅的なゲノミクス解析による毒性評価試験を継続しており、リード化合物を早期段階でスクリーニングする為の高感度毒性試験を確立しています。現在 *in vivo* および *in vitro* でラットの肝毒性を調べて共通に発現する毒性マーカーを探索しており、今後異なる種における評価試験（ドッグ、モンキー、ヒト肝細胞等）ならびに異なる毒性の解析（腎毒性、心毒性等）を行ってまいります。今回の発表ではキュラジェン社独自の網羅的 mRNA 発現解析技術（GeneCalling®）を駆使した毒性ゲノミクス解析手法について説明し、肝毒性に関する解析結果について報告します。

2. 要旨

CuraGen Corporation ("CuraGen") is an industrialized genomics-and proteomics-based biopharmaceutical company recognized by leading pharmaceutical and biotechnology companies. All of the existing CuraGen platforms had been created based on the philosophy of applying the principles of engineering and information technology to biology. CuraGen provides access to these genomic technologies to pharmaceutical companies to facilitate their product development efforts.

During the preclinical phase of drug development, many new drug candidates fail to advance to the latter stages due to the indications of hepatotoxicity. To this end, one of the CuraGen's research focuses is to apply genomics-based methods to the assessment of hepatotoxicity *in vivo* and *in vitro* for the implementation of toxicity screening and selection of the safest lead compounds during early drug development stage.

CuraGen is identifying toxicity marker genes correlated with the development of specific liver histopathology *in vivo*, as a means to configure an *in vitro* high-throughput assay capable of predicting liver toxicity. To complete this project, over 100 compounds were administered to adult male Wistar rats for up to 14 days. Complementary histopathology scoring and clinical chemistry information were also incorporated into this study. CuraGen expects to complete the industrialization process for this screen in the second quarter of this year.

The ultimate goal of CuraGen's toxicogenomic effort is to develop predicting capabilities for toxicity in organs in multiple species using sensitive gene expression and proteomics profiling methods. The species of interest include rat, dog, monkey and human, while tissues of interest include liver, kidney, heart and brain.

CuraGen Corporation: Toxicogenomics approaches applied to drug development
SC BioSciences Corporation
Business Development, Goro Ishimoto

S2-8 Toxicogenomics: The Predictive Power Of Liver Biomarkers

Philippe Alen, Ph.D.

Phase-1 Molecular Toxicology

Gene expression microarray technology is becoming widely applied as a means to determine the transcriptional activity of potentially large gene sets in biological samples. Toxicogenomics promises substantial dividends in advancing mechanistic toxicity research and in the potential to predict adverse toxicity for novel or untested compounds. In order to implement and effectively validate such an approach, however, one or more “proof of concept” studies are required. To address this issue our laboratory has developed custom cDNA microarrays designed specifically to measure gene expression events of toxicological relevance. Importantly, our focused microarrays allow comprehensive coverage of genes associated with known response pathways (e.g., oxidative stress, inflammation, calcium homeostasis, etc.). Liver is the frequent target of drug toxicity insults due to the role they play in drug elimination, metabolism, and occasionally as a result of being direct targets of drug therapeutics. We present the results of an analysis of a dataset representing liver gene expression and liver toxicity derived from the mining of the Phase-1 Molecular Toxicology gene expression database termed TOXbank ([.](#)). Our analysis examines the relationship between gene expression modulation and conventional endpoint measurements of liver toxicity.

S2-9 まとめ

堀江 透

ディ・スリー研究所

ワークショップ 1

TOXICOLOGY

W1-1 オーガナイザー序論

渡部 烈¹, 海野 隆², 門田 利人³

¹東京薬科大学, ²日本オルガノン, ³日本ベーリンガーインゲルハイム

生命科学の知見を基礎とするバイオテクノロジーは、20世紀後半に萌芽した革新的な技術であり、21世紀の人類の健康と福祉に大きく貢献し、経済社会に多大の変化と進歩をもたらすことが期待されている。欧米各国政府が生命科学研究の環境整備を図りつつ、バイオテクノロジーに関する研究開発やそれに関連する産業振興の取組を急速に強化しているのに対し、我が国ではこうした対応が大きく遅れているともいわれている。

医薬品に関しても、遺伝子組換え技術の発達を端緒として技術革新が急速に進んでおり、すでに50種類を超えるバイオテクノロジー医薬品（以下バイオ医薬品）が本邦でも認可されている。しかしながらこれらの多くが海外からの導入品であり、日本から生まれたバイオ医薬品が数えるほどしかないことは、憂慮すべきことであるといえよう。

バイオ医薬品の開発にあたり、従来の化学合成医薬品に適用されていた前臨床試験の種類、試験方法をそのまま適用することには不合理な場合も多かった。

このことから1997年にはICHの「Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (ICH-S6)」がStep 4となり、日本では2000年に「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」がガイドラインとして通知された。この内容はケース・バイ・ケースの思想に基づききわめて柔軟性に富むものであったため、承認申請にあたり、必要にして十分な安全性試験資料の内容と質が図りかね、安全性現場の担当者が判断に苦しむ局面も少なくなかった。

安全性評価研究会では「毒性質問箱」といわれるE-mailを通じての、毒性試験に関する討論の場を持ち、活発なやり取りを展開してきたが、このなかでも、バイオテク医薬品の安全性評価に関する数多くの問題提起がなされてきた。

ところで現在、このガイドラインの解説書の作成が国立衛研を中心に進んでおり、おそらくこのワークショップ開催の時点では刊行されていることであろう。この解説書が世に出ることで、本邦のバイオテク医薬品開発に寄与するであろうことはいうまでもない。そしてこれまでの現場担当者の迷い、疑問の多くが氷解することが期待されるが、知識技術がさらに発展してくると、さらに多くの質問、疑問が生まれてくることであろう。

本ワークショップはバイオ医薬品の安全性評価に関する経過をたどり、従来の問題点を整理し、将来像を展望するために企画された。国立衛研の井上達先生に基調講演をいただくほか、海外からの演者を含む3人のエキスパートの皆さんにはそれぞれの立場からの話題を提供していただく。さらに最後には安全性評価研究会の「毒性質問箱」の趣旨に基づくディスカッションの場を持ちたいと考えているので、活発な質疑をお願いしたい。

Organizer's introduction for the workshop.

Tadashi Watabe¹, Takashi Unno², Toshihito Kadota³

1 Tokyo University of Pharmacy and Life Science

2 Nippon Organon

3 Nippon Boehringer Ingelheim

W1-2 バイオテクノロジー応用医薬品の安全性評価—現状と将来—

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

バイオ医薬品の安全性を考えるワークショップをトキシコロジー学会で取り上げたのは、1997年、丁度5年前のことであった。この時、ICHのS6のguidance・documentsはBrusselsでのICH4で合意に達したばかりであった。この時点で市場に出ているバイオ医薬品は、未だ種交叉性の比較的高いinsulinやgrowth hormoneなど、あるいは交叉性の関与の低いinterferonのようなものが主であったから、erythropoietinのイスでのmyelofibrosisでさえ異種タンパク反応と認識されずクレームがついたのみならず、6ヶ月～1年間の慢性毒性試験の試験期間のharmonizeのためのcase studyの検討対象に取り上げられそうになった程の時代背景にあった。ヒトの抗CD4抗体の開発などはまだ表面化する以前のことである。

そうした中で、S6に盛り込んだバイオ医薬品によって生じ得る生体影響の特徴について解説する際も公表できる事例は乏しく、専ら医薬品とは直接関係のない筆者ら自らのcytokine研究でのデータを例に挙げその生物学的特徴を説明せざるを得なかった。だからguidanceに書いた“安全性の手助けとして、時にはヒト型受容体の導入されたtransgenic miceの作製が判断の助けになることもあり得る”という記述にも、そうした生物学的研究の延長線上での強要との誤解が働いたものか、“そんな気の遠くなるような課題を課すことは、医薬品の開発にブレーキになる”という趣旨の猛烈な抗議が寄せられてくる始末であった。臓器を越えた広範な部位での受容体発現ならびに当該受容体を介した作用をみるpleiotropism現象とか、種々のligandsが異なった受容体のsubunitsを共用するredundancyと呼ばれる現象の解説は、開発経験のない会員には、多分分かり難かったことと思う。

しかしその後cytokineのIL12では正常のボランティア（複数）が死亡したと云う話も聞いたし、招待を受けて参加した1999年のimmunosuppressantとしてのヒト型monoclonal antibodyの開発という難しい課題に取り組む米国各社のワークショップでは、人々がいつも当然の如くに様々なヒト型transgenic miceを作製して安全性の可能性を明らかにする努力を医薬品局（FDA）のスタッフと手を携えて頑張っている様子を見て時の流れの速さに驚いた。ケース・バイ・ケースという言葉も多分に一人歩きした。これは一言で云えばしばしばお手本になる事象がないという意味で用いたのであるが、EU各国を含めてカテゴリーに分けて例を挙げるべきだという声がしきりで当惑した。

バイオ医薬品として取り扱われるべき対象は、次第に拡大している。当初のヒト型タンパクに加え、非ヒト型タンパク、非天然型アミノ酸を含むヒト型タンパク誘導体と云った具合であるが、このあたりまではバイオ医薬品としての理解に困難はない。これらに加えてヒト型タンパクと他のタンパク、ヒト型タンパクと一般合成医薬品といった種々の組み合わせによるバイオコンジュゲート（bioconjugates）製剤、ヒト型ペプチド（peptide）や非ヒト型ペプチド、あるいは非天然型アミノ酸をも含むヒト型ペプチド誘導体といった各種のペプチド製剤、などの開発が進んでおり、そこでの反応様式は類推が難しくなる。ヒト型ペプチド受容体を選択的親和性を有する一般合成医薬品としてのペプチドミミック（peptide mimic）製剤に至っては、化学合成医薬品でありながらその振る舞いはバイオ医薬品ということになり、安全性に関する考え方は「化学品」ではない。幸いバイオ医薬品にあっては、作用機序不明ということが理屈の上では存在しないので、安全性を検討する手がかりはあるはずである。それらの安全性如何の検討作業は、開発者サイドと安全性審査サイドが、双方の英知を絞って築きあげる将に共同作業なのであり、ガイダンス・ドキュメントも、そうした立場に立って理解し活用されることが切に望まれる。

W1-3 Global Implementation of ICH S6: assessment of past accomplishments and future challenges.

Joy A. Cavagnaro, PhD, DABT, RAC, President,

Access BIO-former FDA ICH Topic Lead and Rapporteur ICH S6

Over the past decade the practice of pharmaceutical toxicology has evolved from a ritualistic standards-based approach to a rational science-based approach. The validation and acceptance of alternative methods, use of non-traditional animal models, development of non-invasive and minimally invasive technologies, and increased efforts in computational toxicology (E-tox) and 'data mining' have increased the safety knowledge base. While the key variables of selection of a model, dose, route, regimens, and endpoints have not changed; the tools to better design and evaluate these variables have changed. The principles are the same –the differences will be in the practice.

The ICH has provided standardization and flexibility in design of toxicity studies and a proposed uniformity in content and format with an important option for flexibility and scientific justification. ICH S6 has encouraged flexibility and allowed for rationalization of the science. A rationale science-based approach is best defined by studies designed to ask specific questions –with an understanding of, need to know, nice to know and what are acceptable assumptions.

The next (r) evolution will be the change from a "studies-based" to a "questions-based" approach –from 'What pre-clinical studies are required/needed to support clinical development?' to 'What questions should be answered by pre-clinical studies to support potential safety concerns and to make appropriate decisions in the clinic?' Studies will be data driven and practical to obtain maximum information. Designs and programs will be modified based upon additional information. Data will be shared between authorities at earlier stages in development. Limitations and knowledge gaps will be acknowledged and identified and efforts will be supported by academia, industry and government to develop models to replace 'outdated' models and/or create new models. Embracing novel technologies will be an on-going process.

W1-4 The role of the toxicologic pathologist in the safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals

Andrew Pilling

Pathology Department, Safety Assessment, GlaxoSmithKline R & D, Ware, Hertfordshire, United Kingdom

Preclinical safety studies with biotechnology-derived medicines (biopharmaceuticals) usually require the application of molecular pathology techniques, in addition to standard histopathology, in order to address specific safety concerns.

Probably the most demanding area in terms of safety assessment is that of gene therapies and recombinant/DNA vaccines. A number of potential safety issues exist with these therapies such as the inappropriate tissue distribution of the vector, the transfection of germ cells and the random integration of foreign DNA into the genome (insertional mutagenesis). These issues require the use of molecular pathology assays to evaluate the distribution, localization and persistence of vectors and to monitor expressed mRNA/protein. Additionally, well established biopharmaceuticals, such as therapeutic monoclonal antibodies, require the performance of in vitro cross-reactivity screens to ensure that specific Fab binding to the target epitope is taking place.

In this presentation the application of molecular pathology techniques in the safety assessment of biopharmaceuticals will be reviewed. Specific techniques to be discussed include morphological (slide based) procedures such as immunohistochemistry and in situ hybridization, together with non-histological procedures such as the polymerase chain reaction (PCR).

Although molecular techniques are used extensively in diagnostic and experimental pathology they are less well established in routine pharmaceutical safety evaluation. In the case of gene therapies and recombinant vaccines, careful planning of necropsies and laboratory procedures is vital to avoid cross-contamination with genetic material and invalidation of the study. The performance of molecular procedures in full compliance with the principles of good laboratory practice (GLP) is often demanding.

Increased involvement with biopharmaceuticals will present challenging opportunities for pathologists and allow much greater use of molecular techniques, which have a critical role in the preclinical development of these compounds.

W1-5 バイオ医薬品の毒性試験評価の現状

中澤 隆弘

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会 日本イーライリリー株式会社

バイオ医薬品の非臨床試験法については、1997年にICH S6ガイドラインが日米欧の間で合意され、本邦においても2000年に「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」として通知された。このガイドラインはケース・バイ・ケースというコンセプトで貫かれている。このため、研究者はそれぞれの事例にあった柔軟な評価系を用いることができる。しかしながら研究者間の理解の程度に差があり、基本的な考え方についての解説を求める声もあがっている。そこで製薬協基礎研究部会一般毒性チームでは、バイオ医薬品の非臨床試験における問題点の抽出とそれらに対する留意点をまとめる作業を行ってきた。さらに製薬協加盟各社に対しについて問題点抽出のためのアンケート調査も実施した。

検討の結果、主に2つの問題点があげられた。ひとつは、一般合成化合物での毒性試験の考え方をそのままバイオ医薬品に対しても適用してしまうことによる問題点である。例えば、反応が弱い動物種でバイオ医薬品の安全性評価をすれば、強く反応する種よりも弱い毒性変化しか観察されない。特に、高度のヒト選択的生物活性を有するバイオ医薬品では通常の毒性試験で用いられる動物種で試験してもほとんど毒性変化が見られないことがある。それ故、試験動物種の選択には十分注意を払う必要があり、画一的に試験を行った場合に外挿性が乏しい可能性がある。同様に、最高投与量の設定、in vitro心筋電気生理試験や遺伝毒性試験の実施の是非、放射標識体を用いた薬物動態試験の限界、中和抗体による毒性試験への影響などの点において、バイオ医薬品と一般合成化合物との違いを認識する必要がある。

もうひとつは、S6ガイドライン作成時には予想していなかったタイプのバイオ医薬品も登場してきており、それらに対する考察も必要となっているという点である。ガイドライン作成当初の開発の関心は、それまで動植物組織から抽出していた異種タンパクをバイオテクノロジーの応用によりヒト生体内に存在するタンパクと同一のアミノ酸一次構造を持つヒト型タンパクとして供給することにあった。ところが、近年、薬効改善を期待してあえてヒトタイプから離れた誘導体の開発も散見されるため、これらの誘導体についての対応も考察する必要がある。

製薬協一般毒性チームと国立衛研は協力して、上述の問題点のそれぞれに対する留意点をまとめた（バイオ医薬品非臨床試験ガイドライン解説書；2002年5月発刊予定）。本ワークショップにおいては、以上の活動の経緯を説明しつつ、バイオ医薬品の毒性評価の現状について考察する。

Current preclinical safety assessment of biotechnology-derived pharmaceuticals

Takahiro NAKAZAWA

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

Lilly Research Laboratories Japan

W1-6 バイオ医薬品毒性質問箱

小林 孝好

アムジェン株式会社 前臨床開発部

バイオ医薬品の毒性評価については2000年に「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床試験における安全性評価」としてガイドラインが通知された。このガイドラインは公式通知以前から試験実施の際に参照されてきた。従って、既に比較的多くの経験が蓄積され、それら試験結果を基に申請・許可を得た製品が上市されている。しかしながら、本ガイドラインはケース・バイ・ケースのコンセプトを基本に作成されており、研究者間で安全性評価のアプローチに差が生じている。このようなアプローチの違いは単に薬剤を開発する企業間の差のみでなく、その結果を評価する行政側、およびアカデミーの研究者、それぞれの立場による差、さらには国による差も生じているように思われる。そこで、今回のバイオ医薬品毒性質問箱ではこのような研究者間の差、各国間の差に焦点を当て、最近公開された承認品目の毒性評価および研究者から寄せられた具体的事例を題材として、フロアーから産官学それぞれの立場からのご意見を頂きながら討議を進めたい。討議に際して国立衛研と製薬協一般毒性チームが協力して作成したガイドライン解説書（2002年5月発刊予定）も考慮に入れて進め、今回の討議を通し、今後のバイオ医薬品における毒性評価のあり方の方向性が見出せることを期待したい。

主な討議内容

バイオ医薬品の毒性試験に用いる動物種選択

バイオ医薬品の毒性試験には被験薬に反応する動物種を用い、正当な理由が示されれば一種の動物種のみで十分な場合があるとされている。何をもちて正当な理由と言えるか。また、ヒトモノクローナル抗体の毒性試験に適した動物種についても討議したい。

増殖因子や免疫抑制剤のがん原性試験

バイオ医薬品のがん原性試験はその生物活性によっては個別に評価を行なう必要があるとされている。どのような試験により評価ができるのかを討議したい。

無毒性量とヒトへの外挿

バイオ医薬品の毒性試験は被験薬が薬理的活性を示す動物を用い、毒性用量および無毒性量を含み投与量を設定するとある。しかし、その生物学的反応性はヒトと動物で異なることが多く、単に無毒性量からヒトでの安全域を算出することは意味がないとの意見がある。バイオ医薬品における無毒性量の算出の意義について討議したい。

その他

Question and answer on preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals
Takayoshi KOBAYASHI, Amgen Limited, Tokyo, Japan

W1-7 質疑とまとめ

門田 利人

日本ベーリンガーインゲルハイム(株)

ワークショップ 2

TOXICOLOGY

W2-1 構造活性相関と毒性予測

苗代 一郎¹, 田中 慶一²

¹武田薬品工業・医薬品化学第一研究所, ²大阪大学・大学院・薬学研究科

医薬品の探索研究段階において、リード化合物の選択およびその最適化は創薬の中で最も重要な過程の一つである。近年、Combinatorial chemistry や High throughput Screening などの新技術導入によって、短期間で多くの化合物が合成され、スクリーニングされるようになった。この創薬アプローチの変化に伴って、多種類の化合物について、少量で毒性を調べることが必要になってきた。従来、リード化合物の創製や最適化では、薬理・薬効に基づく Quantitative Structure Activity Relationships (QSAR) の手法が利用されている。この概念が毒性や ADME の領域にも適応されるようになり、毒性領域では (Quantitative) Structure Toxicity Relationships [(Q)STR] の手法を用いた毒性予測アプリケーションが開発されている。

In Silico を用いた毒性予測には、そのアプローチ法により 2 つに大別され、統計学あるいはパターン認識の手法によるシステムと knowledge-base エキスパートシステムが知られている。代表的なアプリケーションとして、前者では Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology (TOPKAT) や Multiple Computer Automated Structure Evaluation (MULTICASE)、後者では Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge (DEREK) が欧米でよく利用されている。それぞれのシステムの特徴を十分に理解した上で、システムの利用法や予測精度を向上させる仕組みを考えることが望まれる。

毒性予測システムを有効に利用するためには、化合物の化学構造式情報と良質な毒性試験データのデータベースを構築すると共に、データ検索やデータマイニングのシステムを整備することが必要になる。また、外部のデータベースに内部のデータベースを融合させ、更に毒性予測システムと連携した、カスタマイズされたエキスパートシステムを作り上げることが重要である。

本ワークショップは、構造活性相関と毒性予測の現状を理解して、創薬における安全性評価に果たす毒性予測の役割を考えるために企画した。最初に構造活性相関の基本的概念を解説して頂いた後、海外からの演者を含む 3 人のエキスパートの皆さんに、汎用されている TOPKAT, MULTICASE と DEREK をそれぞれ紹介して頂く共に、2 人の演者の方々に我が国における毒性予測と毒性関連のデータベース構築について講演して頂く。これらの講演をもとに、毒性予測の将来と毒性予測の利用法について考えてみたい。

Organizer's introduction for the workshop-Quantitative Structure Activity Relationships and prediction of toxicity

Ichiro NAESHIRO¹, Keiichi TANAKA²

1 Medical Chemistry Research Laboratories I, Takeda Chemical Industries, Ltd., Osaka 532-8686 Japan

2 Osaka University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka 565-0871 Japan

W2-2 Tsar, TOPKAT システムによる、 高速 *in silico* 毒性/薬理活性スクリーニング

湯田 浩太郎

富士通株式会社

■序論

代謝や毒性の問題がドラッグデザインやスクリーニング過程での解決すべき重要な問題として注目されつつある。これは、創薬開発中止や失敗の大きな要因が薬理活性未達（約30%）ではなく、代謝や毒性の問題（合わせて約50%）であることが大きな要因である。新薬開発競争の激化に伴い、現在は費用対効果の高い極めて効率の良いドラッグデザインが求められており、この一貫として薬理活性のみならず、代謝や毒性をも考慮した *in silico* スクリーニングの実施が早急に解決すべき問題として重要となっている。

今回紹介する Tsar および TOPKAT は多変量解析/パターン認識手法を基本とする代謝/毒性の解析および予測支援システムである。Tsar はユーザが集めたデータを用いて独自に解析を行うことを助ける化学解析支援システムであり、毒性、代謝、薬理活性、分解性等の様々な予測を行うことが可能である。しかし、予測を行う時に用いる判別関数、回帰式等は Tsar を用いてユーザ自身で用意することが必要である。一方、TOPKAT はシステム自体が既製の判別関数や回帰式等を内蔵し、化合物構造式だけですぐに種々の毒性予測を実行できる。

多変量解析/パターン認識手法による代謝、毒性予測の基本原理は以下のものである。

“代謝、毒性 (Y) は化合物構造式中に内蔵する情報 (X) で説明される。即ち、 $Y=f(X)$ ”

発癌性では Y として 1/0 のバイナリー情報が、また ED50 等の情報では Y として連続変数が取られる。また、Y を説明するのに用いられる情報 X としては Y の種類に応じて様々なパラメータ群が選択される。

今回の講演では特別な前処理無しに、システムに入力された化合物についての種々毒性予測が可能となる TOPKAT を中心として説明する。

■TOPKAT システム:

一般論として毒性予測はドラッグデザイン等と比較して極めて適用が難しい分野である。従って、予測はどのようなアプローチを適用したとしても 100% 完全予測は不可能である。従って、この事実を前提として、この不完全さをシステムとしてどのように、且つどこまでカバー出来るかが毒性や代謝予測システムの大きな問題となる。これが無ければ、ユーザはシステムが示した予測結果を根拠無しに無条件に受け入れるしかない。

TOPKAT システムは以上の観点から、3 種類の基本機能で構成される。さらに、予測のみならず、入力された化合物の脱毒性を行うための支援機能として 4 番目に MOIETY EFFECTS と称する機能を持つ。

1. 判別関数、回帰式を用いて種々の毒性予測を行う機能 (判別関数、回帰式)

毒性予測を行うための本質的な機能であり、予測率を高めるための様々な技術が適用されて判別関数や回帰式等の最適化が計られている。

2. 多変量解析やパターン認識解析で用いられたパラメータの信頼性を評価する機能 (単変量、多変量)

毒性予測に利用されたパラメータが、適切なデータ範囲で行われたかをチェックする。

3. 予測結果の評価を行う機能 (類似検索による仮説テスト機能)

毒性予測が外挿、あるいは内挿的に正しく行われているかを判断するための支援機能。

4. 脱毒性デザイン支援機能 (MOIETY EFFECTS 機能、パラメータ情報表示機能)

化合物をデザインして、毒性の無い化合物へと導く時に必要となる支援機能。

■TOPKAT を用いた脱毒性シミュレーション:

薬品開発の現場では毒性予測のみならず、毒性があると判断された時には化合物構造修正を行い脱毒性を行うことが必要となる。この時、どのように構造式を修正するかという何らかのガイド情報が無ければ、効率的な脱毒性を実現することは困難である。

このような脱毒性のための情報支援を行うのが、MOIETY EFFECTS である。また、パラメータ情報を利用することでも脱毒性を効率的に行うことが可能である。講演では、TOPKAT の脱毒性支援機能を用いた化合物の簡単な脱毒性シミュレーションを紹介する。

“High Speed In Silico Toxicity and Activity Screening by Tsar and TOPKAT System”

Kohtaro YUTA
FUJITSU LIMITED

W2-3 Prediction of toxicity using DEREK for Windows

Philip Neville Judson

LHASA Ltd, UK

At LHASA Ltd, our main focus is on capturing, storing, and using human knowledge. We want to help human experts to make decisions where there is uncertainty in the evidence. Early versions of DEREK, and then DEREK for Windows, looked for features in chemical structures ("alerts") which have been linked to toxicity. Human knowledge is much broader than this and being able to find alerts was only the first phase in our plans for DEREK for Windows.

A human expert considers target organs and species, physico-chemical properties, potential metabolism, existing information about biological activity, predictions made by modelling methods, likely levels and routes of exposure, and probably many other things. We have developed a reasoning model for DEREK for Windows which tries to copy the way human beings reason about problems, and which is able to use information of all kinds and from different sources. We are only just beginning to make use of the reasoning engine in DEREK for Windows, but we believe the method shows great promise. At present, DEREK for Windows takes account of structural alerts in its knowledge base (including some information about metabolism), predictions of log P and skin permeability from external programs, and specific information about toxicity in databases.

W2-4 Early Insight into the Potential Toxicity of New Molecules

Gilles Klopman

Chemistry Department, Case Western Reserve University and MULTICASE Inc.
Cleveland, OHIO 44122, USA

The design of new biologically active chemicals, whether pharmaceuticals or agricultural requires a good understanding of their potential beneficial activity, their ability to reach and act upon their intended target, and lack of detrimental or toxic effects.

Enormous resources go into the development of new chemicals and it is extremely desirable to find ways to assess potentially damaging properties at the earliest possible stage so as to minimize the number of expensive failures. In this lecture, several such techniques based on the MULTICASE technology developed in the lecturer's laboratory will be described and demonstrated. These techniques are now in use at various sites of the United States Food and Drug Administration as well as numerous Pharmaceutical Companies for the purpose of assessing the safety of new pharmaceuticals and other chemicals.

W2-5 “古典的な” QSAR 手法を用いた化学物質の毒性予測

松尾 昌季

大阪大学先端科学技術共同研究センター

PRTR の時代に入り、化学物質のリスクアセスメントが必須となってきた。しかし、現に利用されている化学物質にもこのアセスメントに必要な有害性（毒性）データを欠くものが多い。

このため、これら欠落データを補うべく現在、QSAR による予測手法が急浮上している。

有害性（毒性）データには哺乳動物毒性、生態毒性などがあるが、哺乳動物毒性には現在、二、三のコンピュータソフトと共に急性、亜急性、慢性、発ガン性、生殖発生毒性、刺激アレルギー性、変異原性などについてのいわゆる“古典的な” QSAR 式が数多く報告されている。

生態毒性についてもコンピュータソフトと共に環境生物への急性、亜急性、慢性毒性、繁殖性、さらに生分解性、生物濃縮性などの式が知られている。

これらの“古典的な”式は、通常（重）回帰で求められ、構造類似の化学物質群内で良好に成立し、共通のメカニズムが考えられるため理解され易い。相関式は Hansch-Fujita と Free-Wilson 法が主流である。

式には通常入手出来る化合物の物化性や疎水性、立体パラメータ、さらに電子パラメータなどの数値が用いられる。

この方法により、類似化合物ではより精確な毒性予測が可能となる。しかしコンピュータによるアプローチのように広範な化学物質群を予測することはできない。

本講演ではこの“古典的な” QSAR 手法について、各毒性での具体例を示して解説し、当該アプローチがその限界を知り、これを適切に利用すれば化学物質の毒性予測に有力かつ省資源的なツールとなることを示す。

Prediction of Toxicities of Chemical Substances by a Classical QSAR Approach

Masatoshi MATSUO

CRCast, Osaka University, Yamada-oka 2-1, Suita-shi, Osaka 565-0871, Japan

山内 あい子

徳島大学大学院薬学研究科

生物における発生・分化の過程では、薬物等の生体外異物に対する反応性が定常時とは異なっているため、種々の予期せぬ反応が誘起される可能性が大きく、遺伝子や蛋白質などの生体高分子を変異させる物質は、ヒトに対して癌や胎児奇形を発現させることが多い。特に、妊娠初期の胎児は薬物感受性が高いため医薬品の研究開発や薬物治療において薬物催奇形性に関する情報の重要度は非常に高いが、これらの情報を共有できる統合データベース (DB) は整備されていない。

薬物による催奇形性は、頻度は低い薬物治療において決して起こしてはならない副作用である。1960年代初頭のサリドマイド禍以来、一般に薬物による先天異常が過大評価され恐れられる傾向にある。しかし、薬物による胎児の奇形発現は薬物の種類、服用の時期や量によって支配されるため、妊婦や医療関係者への正確で迅速な情報提供が重要であるが、わが国には薬物催奇形性に関する適切な情報提供機関が存在しない。この情報不足こそが医療関係者による適切な助言を妨げ、妊婦の不安を助長する要因となっている。

また、医薬品の研究開発において生殖・発生毒性に関する前臨床試験が義務づけられているが、試験の結果、開発が中断された薬物に関する催奇形性情報は各研究所に眠っているのが現状である。この情報を活かして、医薬品の研究開発者が共通のプラットフォーム上で化合物に関する情報化学的知見を共有できる DB システムを構築し、効率化とスピードが要求される新薬開発に有効に利用することは企業の競争力の向上にも繋がるものと期待される。

我々は、インターネット上で催奇形性に関する医薬品の基本情報、症例情報および化学構造情報等を検索でき、かつ臨床からの症例登録や、研究者による化合物の化学構造や生殖・発生毒性試験情報の登録等も可能な統合 DB システムを徳島大学薬学部にて整備し、妊婦、医療関係者及び創薬研究者から成る双方向性成長型情報コミュニティ (図1) を構築することを目指している。このシステムの実用化により、根拠に基づく医療の実践に役立つ良質な情報源が整備される。また、症例登録等による DB の成長に伴い薬剤疫学的研究が促され、より重みのある情報を臨床現場へ還元することが可能となる。さらに、化学構造催奇形活性相関に関する情報化学的解析に基づく予測等による新薬開発が可能となり、創薬関係者にとっても非常に有用であると考えている。



図1. 双方向性成長型薬物催奇形性情報コミュニティの構築

W2-7 まとめ

田中 慶一

大阪大学

ワークショップ 3

TOXICOLOGY

W3-1 毒作用機所解明への分子毒性学的探索の意義

堀井 郁夫

ファイザー製薬(株) 中央研究所

創薬の早期段階における分子毒性学的探索：毒作用解明・予測への新たな展開

創薬そのものが Pharmacogenomics の観点から Molecular targeting されるようになり、Combinatorial chemistry 等の新技術の導入に並行して、薬効のスクリーニングのみでなく毒性についても創薬の早期に検索する事が要求されてきている。いわゆる High Throughput Toxicology (HTP-Tox) であるが、それに対応する為に新しい in vitro/in vivo 毒性スクリーニング系の開発・導入の必要性が生じるとともにそれらの手法を組み合わせた Toxicogenomics・Toxicoproteomics 面での毒作用評価がクローズアップされて来ている。即ち、Pharmacogenomics 的アプローチと並行して、「生体に対する毒作用とは、複数の関連遺伝子の異なる遺伝子発現の結果によるものである」という概念から in vivo/in vitro HTP-Tox と Toxicogenomics・Toxicoproteomics を融合したアプローチがなされてきている。

最近では、Genome→Transcriptome→Proteome に続発した変化、即ち Toxicogenomics・Toxicoproteomics の次の段階での変化を捉える Metabonomics の毒性評価への適応が試みられるようになり、種々の分子毒性学的検索における変動パラメーターがそのまま毒性学的安全性評価の新しいエンドポイントとして規定され、更に臨床の場への展開の可能性が示唆されている。

また、毒作用の安全性評価においても生体内暴露の関係から吸収・分布・代謝・排泄に関する要素が求められ、Transporter, P450 などの毒作用発現への関与が明らかにされ、Toxicokinetics から更に Toxicodynamics なる領域の分子薬物動態学的アプローチが分子毒性学領域に融合する形で展開してきている。

その他、毒作用予測のために、市販のデータベースと得られた毒作用関係のデータを蓄積し、創薬の初期に開発すべき化合物の毒作用を予測する目的で構造毒性相関からリード化合物の選定・展開を示唆しようとするデータベースの構築と毒作用予測のためのコンピュータシステムの導入と分子毒性との融合も進められて来ている。

分子毒性学的アプローチの今後の展開と期待

これまで述べたような背景から求められる毒性評価・安全性評価において、創薬に関しては、「創薬の早期における毒性評価」、開発研究では、「人への外挿を考慮した毒性試験実施・評価」、臨床開発研究および市販後調査では、「人での副作用評価」について分子毒性学的解析から示唆される事象をどう取り込みながら利用して行くかが重要課題になって来るであろう。今後は、従来から実施している安全性評価試験に加えて、必要とされる分子毒性に関する新しいテクノロジーを積極的に取り込んだ安全性評価が展開される事が期待される。

Significance of molecular toxicological assessment in investigative toxicology

Ikuro Horii

Preclinical Science, Nippon Roche Research Center

W3-2 Application of Toxicogenomics to Mechanism Based Toxicology

Dr George Orphanides,

Syngenta Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TJ, UK

The cellular components of an organism depend on a multitude of interacting regulatory pathways for metabolism and survival; therefore, practically all mechanisms of toxicity are accompanied by altered gene and protein expression. Technologies designed to characterise genes and their products on a large scale are now having an impact on toxicology. A number of platforms exist which permit the quantitative comparison of the levels of expression of individual genes in different biological samples, thus facilitating comparisons between control and toxicant-treated cell cultures or animal tissues. This approach is termed "toxicogenomics" and promises to greatly facilitate mechanism-based research on toxicant action, with the longer term possibility of assisting in the detection of compounds with the potential to cause adverse health effects earlier in the development of pharmaceutical, agrochemical and chemical products.

With the advent of new genomic technologies, it is now possible to identify rapidly and holistically the molecular alterations associated with toxicant exposure. However, the increase in the rate at which these data can be generated has not been accompanied by corresponding advances in our ability to interpret them into biologically meaningful information. Consequently, there exists a significant danger that these data will be misinterpreted. Experimental design must be carefully considered so that relationships between gene expression changes and "classical" toxicology endpoints can be defined.

Our laboratory has developed a series of custom cDNA microarrays tailored to toxicology. Our *ToxBlot I* array is capable of measuring the expression of 600 human genes implicated in biological processes related to stress or toxic responses and provides a general overview of cellular functions. To facilitate more detailed analysis, we have developed *ToxBlot II*, which contains 12,500 elements and includes complete coverage of 199 functional categories of gene, including all the major pathways represented on *ToxBlot I*. In addition, we are developing platforms that permit the comprehensive analysis of gene expression events related to specific toxic endpoints. These include arrays focussed on oxidative stress, tyrosine catabolism and developmental toxicity. These platforms are used in conjunction with model experimental systems that facilitate the identification of gene expression changes directly related to the mechanism of toxicity under investigation. Among these systems are transgenic or knockout mouse models and cell lines that over-express components of signalling pathways. We are using these tools to characterise the molecular mechanisms that underpin a number of toxic outcomes, including endocrine disruption, non-genotoxic carcinogenesis, allergy and irritancy, developmental toxicity and stress response. Recent progress in these areas will be presented.

毒性メカニズムへのトキシコゲノミクスの応用

Dr. G. オルファニデス,

Syngenta Central Toxicology Laboratory Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TJ, UK

生物の細胞成分は、代謝および生存のため多様な相互関連制御経路に依存している：従って、実質的に全ての毒性作用は、遺伝子および蛋白質発現の変化を伴う。遺伝子とその産物を特定する大規模な技術が、今やトキシコロジーに衝撃を与えている。生物学的サンプルの各遺伝子の発現水準を定量的に比較できる数多くのプラットフォームが存在し、コントロールと毒物処理した培養細胞や動物組織との比較が出来るようになった。この手法は、「トキシコゲノミクス」と名付けられ、医薬品、農薬および化学製品の開発初期段階で、有害な影響を与える可能性のある化合物を検出するものとして将来性があり、毒性作用のメカニズムに基づく研究を大きく前進させることが期待できる。

新しい遺伝子技術の出現に伴い、今や毒物暴露に関連する分子変化を急速かつ全体的に同定できるようになった。しかし、データが生み出される速度が速すぎ、それを生物学的に意味のある情報に解釈する能力の進歩が伴っていない。その結果、これらのデータが誤解される大きな危険が存在する。実験計画を注意深く考慮し、遺伝子発現の変化と「古典的」毒性エンドポイントとの関係が明確になるようにしなければならない。

我々の研究所は、一連の毒性学専用の cDNA マイクロアレイを開発してきた。我々の ToxBlot I は、ストレスまたは毒性反応に関連する生物学的プロセスに関わる 600 のヒト遺伝子の発現を測定でき、細胞機能の概要が判る。一層詳細な解析のため、我々は ToxBlot II を開発したが、これは 12,500 の遺伝子を含み、ToxBlot I で示される主要な経路を含む 199 の機能遺伝子領域を完全にカバーする。更に我々は、特定の毒性エンドポイントに関連する遺伝子発現を包括的に解析できるプラットフォームを開発中である。この中には酸化的ストレス、チロシンの全分解経路および発生毒性に焦点を当てたアレイが含まれる。これらのプラットフォームは、対象とする毒性メカニズムに直接関連する遺伝子発現の変化を同定することが可能なモデル実験システムと連携して使われる。このシステムには、トランスジェニックマウスまたはノックアウトマウスモデルや原因となる代謝経路の過剰発現成分を示す細胞系がある。我々はこの手法を内分泌攪乱、非遺伝子性発癌、アレルギー及び刺激性、発生毒性、ストレス反応を含む多数の毒性発現の根拠となる分子メカニズムを解明するために用いる。これらの分野における最近の進展について講演する。

W3-3 エストロゲン応答遺伝子群を用いた DNA マイクロアレイの開発と利用

木山 亮一

(株)インフォジーンズ/産業技術総合研究所
茨城県つくば市東 1-1-1 産総研中央第 6

近年、公害・環境汚染物質のひとつとして、ヒトの性ホルモンであるエストロゲンと同様な作用をもち、生体内に作用する物質、いわゆる「環境ホルモン」(内分泌攪乱物質)が大きな問題となっている。環境ホルモンの生理作用としては生殖器官への影響が大きく取り上げられているが、エストロゲンは本来ホルモンとして生殖器官のみならず脳神経や肝臓・腎臓など生体内の様々な組織に影響を及ぼすことから、環境ホルモンも同様に生体内の様々な組織に対して生理作用があると考えられる。ホルモンに対する細胞の応答とその応答による効果は、応答遺伝子の発現変化を検定しプロファイリングすることにより探知することが可能である。そこで我々は、DNA マイクロアレイを用いたエストロゲン応答遺伝子群のプロファイリングを行うことにより、診断、ドラッグスクリーニングそして環境ホルモンモニタリングに利用できるマイクロアレイ法を基礎とした方法を開発した。

我々の開発した DNA マイクロアレイ [商品名: InfoArray] には、エストロゲンに反応する遺伝子及び EST (Expressed Sequence Tag) の中から約 200 種類を選出し用いた。これらの遺伝子あるいは EST の中には、これまでエストロゲンに対する応答性が報告されていなかったものも多く存在する。また、これらの遺伝子などは機能別に癌に関係する遺伝子や細胞増殖に関係する遺伝子などいくつかのグループに分類することが出来る。この InfoArray を用いて、エストロゲン活性を保有するビスフェノール A やノニルフェノールなど様々な工業原料や環境ホルモンとして大きな問題となっているダイオキシンなど、様々な物質についてエストロゲン応答遺伝子プロファイリングを行ったので、その結果を報告する。さらに、現在、我々は InfoArray を用いたデータベースを作成するために上記の化学物質を含めた様々な物質について遺伝子発現プロファイルデータの取得を行っている。

InfoArray の利用法として、大きく分けて診断・ドラッグスクリーニングと環境ホルモンのモニタリングの 2 つが想定できる。前者においては、エストロゲンに依存的な乳がん組織の細胞特異的なプロファイリングを行えるだけでなく、乳がん患者のホルモン療法効果評価や投薬のための診断に利用できる。一方、後者においては、様々な環境ホルモン物質によるエストロゲン応答遺伝子の遺伝子発現プロファイリングを行うことにより工業製品や食品および医薬品の安全性の評価検定法としての利用が可能である。

Development and Application of DNA Microarrays using Estrogen Responsive Genes
InfoGenes, Co., Ltd./National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
AIST Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki
Ryoiti Kiyama

W3-4 トキシコ・ゲノミクスの実際： 安全性評価への遺伝子発現情報の応用

真鍋 淳

三共(株)安全性研究所

1995年、スタンフォード大学のBrown 研からスライドガラスにcDNAプローブを固定し、遺伝子発現を網羅的に検出・解析できるシステム、DNAマイクロアレイが報告された。さらに翌96年、Affymetrix社からオリゴヌクレオチドを固定したGeneChipシステムが発表された。これらのシステムでは同時に数千～数万種類の遺伝子発現が解析可能であり、例えば、薬剤の安全性評価に応用した場合には、薬物代謝酵素関連遺伝子、細胞周期関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子等の毒性発現機作を考察するのに有用な遺伝子発現を網羅的に解析できる。さらに、作用機作の明らかな化合物について、いかなる遺伝子群が毒性発現に寄与しているかをデータベース化する事で、新規化合物についての遺伝子発現量の変動解析から発現する毒性を予想したり、毒性機作の解明に有用な情報が得られる事が期待されている。

Phenobarbital (PB), clofibrate (CPIB), 3-methylcholanthrene (3-MC), dexamethasone (DEX), butylated hydroxyanisole (BHA) の5種の発現機作の異なる肝肥大惹起物質をラットに投与後、遺伝子発現解析を実施すると、それぞれの化学物質に特有のphenotype (異なった薬物代謝酵素誘導プロファイル等) および発現機作 (異なった受容体が関与等) に関連した遺伝子の変化が検出される。そして、これら既知化学物質と新規化学物質の遺伝子発現プロファイルの比較により、新規化学物質が惹起するphenotypeとその発現機作の予想が可能となる。

肝細胞のnecrosisとapoptosisを惹起する化学物質として、それぞれacetaminophen (APAP) とcycloheximide (CHX) をラットに投与し、上述の肝肥大惹起物質を含めて肝臓における遺伝子発現を比較解析することにより、necrosisとapoptosisに特異的な遺伝子の同定を試みた。その結果、APAPではmetallothionein等、CHXではp-53, c-fos, tyrosinephosphatase等の発現量の増加が認められた。しかし、実際には肝細胞死や炎症反応という共通のendpointがトリガーになって変動する遺伝子群 (特に、活性化されたマクロファージやクッパー細胞に由来する遺伝子群) があり、解析結果の解釈には時間軸と解析時点のphenotypeを十分に考慮する必要がある。すなわち、毒性のphenotype情報と遺伝子発現情報の両者を総合的に解釈することで、遺伝子変動の毒性学的意義を明らかにすることが可能となるであろう。一方、phenotypeとは一見無関係と思われる遺伝子発現が毒性発現機作解明のkeyとなる可能性もあり、これも網羅的遺伝子解析の有用な側面である。

Present Situation of Toxicogenomics: Application of Gene-Expression Data to Safety Evaluation of Chemicals

Sunao Manabe (Medicinal Safety Research Labs. Sankyo Co., Ltd.)

717 Horikoshi, Fukuroi, Shizuoka 437-0065

W3-5 トキシコ・プロテオミクスの実際：マーカータンパク質発現を指標とした薬物毒性の早期評価の可能性

斎藤 賢治

サイファージェン・バイオシステムズ(株)
神奈川県鎌倉市梶原 200

創薬を効率的に行うためには、薬剤候補となる化合物の安全性評価を創薬プロセスのできるだけ早い時期に行うことが必要である。また、遺伝的背景の違いにより薬剤に対するレスポンスや副作用が人によって異なるため、患者に応じたオーダーメイド医療を行うことにより、副作用の軽減やより効果的な投薬が可能となる。そのためには、あらかじめ患者の薬剤に対するレスポンスや毒性を予測することが必要となる。これらの目的を実現するためには、薬剤による毒性を迅速かつ正確に評価するための方法が確立されなければならない。

DNA マイクロアレイが開発されたことにより、mRNA 発現を網羅的に調べることができるようになった。薬剤による遺伝子発現パターンの変化を調べ、得られた結果を毒性の観点から解析することによって毒性に関連する遺伝子発現を明らかにすることが期待されている。さらに、遺伝子発現情報から毒性発現機序を解明しようとする研究も行われている。しかしながら、細胞の機能に最終的に直接関与しているのはタンパク質であり、mRNA の発現を調べるだけでは毒性に関する十分な情報を得ることは難しいと考えられる。高等生物では mRNA とタンパク質の発現レベルにそれほど相関が無いことが知られており、毒性の評価においてタンパク質発現がより有効な指標となる可能性がある。既に、毒性マーカータンパク質を指標として毒性を評価しようという試みが多く、研究者により始められている。

現在、タンパク質の発現を調べる方法としては 2 次元電気泳動が最も多く使用されている。しかし、マーカー探索に利用するためにはスループットや再現性の点で問題がある。そこで、ハイスループットで再現性が優れているプロテインチップが新規マーカー探索に応用されている。プロテインチップとは、金属製の板の表面にタンパク質を分離するための様々な化学的性質を持たせたものであり、これらの性質を利用してチップ表面に親和性のあるタンパク質を捕捉することができる。捕捉されたタンパク質を質量分析計で測定することにより、サンプルに含まれているタンパク質の分子量と発現量の情報を得ることができる。ここでは、プロテインチップを例にとり、トキシコ・プロテオミクスの実際について紹介する。薬剤投与群とコントロール群におけるタンパク質発現プロファイルを比較することにより毒性マーカーを探索することができる。見出された毒性マーカーを指標として毒性の評価が可能となる。尿や組織抽出液から毒性マーカーを探索した例を通して、毒性マーカー探索のプロセスを紹介する。さらに、複数の毒性マーカーを組み合わせて発現パターンを解析することにより正確に毒性を判定できる可能性など、最新の話題についても言及する。

Kenji Saito

Ciphergen Biosystems K. K.
200 Kajiwara Kamakura, Kanagawa

Trends in Toxicoproteomics: Evaluation of drug toxicity in early stage using toxicity marker proteins

W3-6 Metabonomics: A Tool for Rapid In Vivo Screening of Liver, Kidney and Vascular Toxicants

Donald G. Robertson

Pfizer Global Research and Development, Ann Arbor, USA

The advent of combinatorial chemistry and high-throughput screening techniques has shifted the paradigm of drug-development. Currently, the rate at which new chemical entities can be generated and screened for activity greatly exceeds our ability to translate these leads into drugs because of pipeline constrictions at the in vitro/in vivo interface where development must proceed from microtiter plates to whole animal models for efficacy screening, ADME evaluation, and safety assessment.

Metabonomics is a technology, which utilizes nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy in conjunction with pattern recognition methods, to enable development of rapid-throughput non-invasive whole animal models of toxicity and identification of novel biomarkers of efficacy and safety. Potential applications of this technology span the range of drug development from early discovery efforts through Phase 2 & 3 clinical trials. Additionally, the nature of the data complements toxicogenomic and proteomic evaluations, providing phenotypic correlates and insights into mechanisms of toxicity.

The presentation will provide an objective overview of the technology emphasizing both the strengths and weaknesses of the approach while presenting examples of its application with hepatic, kidney and vascular toxins.

W3-7 薬物代謝からみたトキシコゲノミクス： トランスポーターの役割

石川 智久 吉川 恵美

東京工業大学 大学院生命理工学研究科

薬物代謝物を迅速に細胞外へ排泄することは、薬物の副作用を低下させる上で非常に重要である。従って毒性が少なく薬物動態的に優れた薬を創出するには、薬物トランスポート機構に基づいた創薬デザインも重要な戦略の一つであると考えられる。受動的な拡散は多くの脂溶性化合物の膜輸送にとって基本的な機構であるが、これだけでは細胞の薬物輸送を完全には説明できない。数多くの薬物トランスポーターは小腸や腎臓の上皮細胞、肝細胞、脳血管内皮細胞に発現し、薬物の輸送に関与している。ヒト組織に特異的に発現する薬物トランスポーターの分子機構解明とその薬物動態上の意義を定量的に解析する事は、ポストゲノム時代における合理的な創薬分子設計戦略とターゲット部位に特異的な薬物デリバリーの開発に大きく貢献するであろう。

薬物トランスポーターは、潜在的に毒性をもつ代謝物を細胞外に排出する事において重要な役割を担う。体内に入った薬物や異物は、第1相解毒系 (Phase I) においてチトクローム P-450 やフラビン・モノオキシゲナーゼによる酸化的代謝を経て、第2相解毒系 (Phase II) でグルタチオン、グルクロン酸、硫酸との抱合を受け、より親水性の高い化合物に変換される。こうしてできた抱合代謝物は、細胞膜を通過して細胞外へ速やかに排泄される。抱合代謝物の細胞外への能動輸送は、Phase II 系の高い効率を維持する上で非常に重要である。1992年石川はこのような排出型の能動膜輸送に対して薬物代謝における第3相解毒系 "Phase III" という新しい概念とその重要性を初めて提唱した。そして、この第3相解毒系には ABCC1 (MRP1) および ABCC2 (cMOAT/MRP2), ABCG2 (BCRP) といった ABC (ATP-binding cassette) トランスポーターが属する。

これまで薬物代謝酵素遺伝子の誘導における分子メカニズムについては、詳細な解明がなされてきた。例えば、ベンゾ [a] ピレンや3-メチルコラントレンのような多環芳香族炭化水素化合物は、チトクローム P-450 の中でも CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 を誘導することが良く知られており、Ah 受容体がそれら多環芳香族炭化水素化合物の受容体型転写因子であることが知られている。Ah 受容体はダイオキシン類の受容体でもあり、薬物代謝酵素 (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, グルタチオン-S-トランスフェラーゼ, NAD (P)H キノンレダクターゼ, グルクロン酸抱合酵素) の誘導のほか、催奇形性、免疫抑制、発癌プロモーションなどの多くの毒性与関係する。最近の研究によって、多種類の核内受容体が薬物代謝酵素と ABC トランスポーターの遺伝子発現調節に関与することが明らかになった。今後、これら核内受容体と薬物およびその代謝物との関係が明らかになり、毒性との因果関係が解明されるものと考えられる。

参考文献：

Ishikawa, T. (1992) *Trends in Biochem. Sci.* 17: 463-468

Ishikawa, T. & Yoshikawa, M. (2002) "ABC transporters: A new approach to toxicogenomics" *Toxicogenomics* (Ed. Inoue, T. and Pennie, W.) Springer-Verlag Tokyo, in press.

ABC Transporters: A New Approach to Toxicogenomics

Toshihisa Ishikawa and Migumi Yoshikawa

Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology

W3-8 毒性病理から見た分子毒性

白井 智之 朝元 誠人

名古屋市立大学医学部医学研究科実験腫瘍学

近年の分子生物学の急速な進展に伴う技術革新はさらなる分子生物学手法の開発を可能にし、DNA マイクロアレイあるいはDNA チップの開発とその応用によって一度に多数の遺伝子の発現を網羅的にみることが出来るようになった。DNA マイクロアレイ技術をトキシコロジーに応用し、遺伝子発現を指標にした化学物質の特性（特に毒性を特定する）の解明を追究することがトキシコゲノミクス (toxicogenomics) と理解できる。

多額な費用と長期間の試験から得られる従来の毒性試験は毒性の種類、強さ、臓器特異性などの貴重な情報が得られる。しかし、実際にヒトへの毒性の有無やその強さについては推定の域を出ないのが現状である。また現在我々が直面している有害物質の暴露のリスク評価における問題点の一つとしてなぜその毒性が出るかのメカニズムがよくわかっていないことがある。化学物質の毒性発現には暴露を起点として、体内への吸収、体内分布、代謝活性化、解毒化など化学物質の体内動態に関わる諸要因に加えて、標的組織あるいは細胞の防御能力や修復能力などの因子が複雑に関与している。また毒性についても一般毒性から、発がん性、神経毒性、生殖毒性など数多くあり、それゆえメカニズムの解明はいっそう複雑化している。この膨大な数の化学物質の毒性をより簡便に、しかも短期間に、正確性をもって予測できる方法が開発されることが化学物質の安全性に携わる研究者や行政関係者の多年の切望であり、夢でもある。さらに従来の動物実験手法で得られた毒性発現を現象からのみ捉える方法では毒性のヒトへの外挿を含めた評価や用量・作用相関の解析、また複合暴露の評価における大きな壁を破ることが困難である。再現性のある、確かな情報としてトキシコゲノミクスが認識されれば、それから得られる情報の貢献は多大なものと言えよう。そのためにはトキシコゲノミクスによる有害性の早期検知がどれだけ有用かどうかを見極める基礎データの蓄積が必須である。化学物質を細胞毒性物質、ベルオキゾーム増殖剤、内分泌攪乱物質、変異原性発がん物質、非変異原性発がん物質など作用別のカテゴリーに従って分け、それぞれを代表する化合物を数種ずつ選択し、短期間実験動物に投与後、臓器ごとの遺伝子発現の変化をマイクロアレイにて解析し、遺伝子発現の変化についてのデータベース（遺伝子プロファイル）の構築を行うことが第一歩であろう。それによってカテゴリー別の化学物質の暴露とそれに起因する疾患に共通する遺伝子変化の情報が蓄積することができる。情報の蓄積と解析が進めば遺伝子の発現パターンをベースにした化学物質の新たな定義を作ることも可能となろう。マイクロアレイを用いた遺伝子発現の解析は一度にかつ比較的簡単に遺伝子発現の増減がわかるが、これらのデータが正しいかどうかを確認する validation の実施も不可欠な課題である。そしてデータベースが包括的になれば、毒性について不明な新規の化学物質の遺伝子発現パターンを既存の遺伝子発現パターンと比較することによって暫定的にその化学物質の性格が明らかとなりうる。

当然ながら実験動物を用いた毒性試験や形態学に根付いた各種の病変の知識と理解があってはじめてトキシコゲノミクスの信頼性のあるデータベースが構築されることに異論はないであろう。さらにこのデータベースが研究者および行政関係者などが自由にアクセスできる環境作りも必須であろう。現在遺伝子発現の変動だけではなく、産物である蛋白質を解析するプロテオミクスの技術もこれから大いに活用されるべき分野であり、病理形態学、臨床生化学、トキシコゲノミクス、プロテオミクスなど複数の技術が協調することによって化学物質の安全性評価が飛躍的に進歩することが期待される。

Toxicogenomics from the viewpoint of Toxicologic Pathology

Tomoyuki Shirai, Makoto Asamoto

Department of Experimental Oncology and Tumor Biology
Nagoya City University Graduate School of Medical Science

ワークショップ 4

TOXICOLOGY

W4-1 サルを用いた免疫毒性試験

○中村 隆広, 今井 統隆, 加島 政利, 和泉 博之, 宮脇 宏彰, 永田 良一

(株)新日本科学

【目的】薬物の免疫毒性試験は一般にマウス及びラットが用いられているが、ヒトへの外挿を考えた場合、遺伝的に近いサルを用いる方が免疫毒性の評価には有用と考えられる。本研究ではカニクイザルを用いて免疫毒性試験のモデル作製を試みたので報告する。【結果】100 mg/kg/day のシクロスポリンを雌2匹のカニクイザルに2週間経口投与し、初回投与の4日後に Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) を2 mg/kg で皮下投与した。対照群（注射用水）では抗 KLH 抗体価は継続的に高かったが、シクロスポリン投与群の抗体価は低かった。フローサイトメトリーを用いた脾臓の幼若化反応では、対照群では KLH に反応するがみられたが、シクロスポリン投与群では KLH に対して反応がみられなかった。KLH 投与によって血液学的検査、血液生化学的検査など一般的な検査項目はほとんど変化がみられなかった。50 mg/kg/day のシクロスポリンを雄3匹に投与した場合においても、抗 KLH 抗体価は対照群に対して低くかった。30 mg/kg/day のシクロスポリンを経口投与した雄2匹のカニクイザルに沈降破傷風トキソイド (TTx) を皮内及び筋肉内にそれぞれ 6 Lf/body (計 12 Lf/body) 投与した。TTx 投与の2週間後に遅延型過敏症を測定した結果、シクロスポリン投与群では陰性であったが、対照群は陽性であった。【結論】免疫には体液及び細胞性免疫があるが、KLH 及び TTx はこれらの評価に有用であることが示された。今後は投与前後での評価が可能である末梢血での NK 活性及び幼若化反応について検討していく予定である。

Immunotoxicity in monkeys

Takahiro NAKAMURA, Noritaka IMAI, Masatoshi KASHIMA, Hiroyuki IZUMI, Hiroaki MIYAJIMA, Ryoichi NAGATA, Shin
Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Kagoshima, Japan

W4-2 サルの馴化が各種試験成績に及ぼす影響

○坂本 憲吾

(株)イナリサーチ

実験動物の中で、分類上ヒトに最も近いサルは、形態学的にも生理学的にもヒトとの類似点が多く、有用視されている。しかし、飼育および取り扱いが困難であり、環境や実験者によって影響を受けやすくストレスにより生理学的安定性に欠ける面がある。そこで馴化が色々な試験成績に及ぼす影響について検討した。

1. 輸入動物について、海外の育成施設場から輸入・検疫を経て試験施設での馴化に至る過程における生理学的データの変化
2. 投与操作などのハンドリングに対する馴化を行うことによって見られる生理学的データの変化
3. 呼吸機能(一回換気量)測定における馴化と測定値
4. 無麻酔下での眼圧測定における、馴化と眼圧の変化、ならびに薬物効果

Effects of training on various study results in monkeys

Kengo Sakamoto

Ina Research Inc.

W4-3 中期発がん性試験の有用性とその応用

○玉野 静光¹, 萩原 昭裕¹, 河部 真弓¹, 佐野 真士¹, 市原 敏夫^{1,2,4},
今井田 克己³, 福島 昭治³, 白井 智之⁴

¹大雄会医科学研究所, ²香川医科大学医学部第一病理学講座,

³大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学講座,

⁴名古屋市立大学大学院医学研究科実験腫瘍学

【目的】発がん物質は一般に遺伝毒性を示すものと非遺伝毒性のそれとに分けられる。これらはいずれも、潜在するイニシエートされた細胞を単クローン性に選択的に増殖させ、腫瘍性病変として顕在化させる作用を持っている。我々はこの性質を利用して、新規発がん物質のがん原性を短期に検出する中期発がん性試験法を開発した。

【方法】1. 中期肝発がん性試験法：6週齢の雄 F344 ラットを用い、実験開始時に DEN を 200 mg/kg 体重で単回腹腔内に投与し、2週後から被験物質を6週間投与した。第3週時に起始細胞の増殖を促す目的で、2/3 部分肝切除術を行った。8週経過後に屠殺剖検し、免疫組織化学的染色により肝に発生した胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巣を定量的に検索した。2. 中期多臓器発がん性試験法：2種類の方法を開発した。その一つは6週齢の雄 F344 ラットを用い、イニシエーション処置として3種類(DEN, 100mg/kg, ip 単回; MNU, 20mg/kg, ip4 回; DHPN, 0.1%飲料水で2週間-DMD 処置), 他の一つは5種類(DEN, 100mg/kg, ip 単回; MNU, 20 mg/kg, ip4 回; BBN, 0.05%飲料水で2週間; DMH, 40mg/kg, sc4 回; DHPN, 0.1%飲料水で2週間-DMBDD 処置)の発がん物質を4週間の間に投与し、発生する前腫瘍性および腫瘍性病変を免疫組織化学的あるいは病理組織学的に検索した。

【結果】1. 中期肝発がん性試験法：検索総数 313 化合物の内、陽性と判定された物質数は、既知肝発がん物質 60/65(92%) (ペルオキシゾーム増生剤と DDPM を除くと 100%)、肝以外に標的臓器を持つ既知発がん物質 10/43(23%)、非発がん物質 1/48(2%) (陽性の1化合物は恐らく肝発がんのプロモーション作用を持つと考えられた。), 発がん性未知物質 48/157(31%)であった。

2. 中期多臓器発がん性試験法：検索総数 63 化合物の内、陽性と判定された物質数は、既知肝発がん物質 17/17(100%)、肝以外に標的臓器を持つ既知発がん物質 19/22(86%)、非発がん物質 0/5(0%)、発がん性未知物質 9/19(47%)であった。

【考察および結論】1. 中期肝発がん性試験法：既知肝発がん物質ではペルオキシゾーム増生剤と DDPM を除くと陽性率が 100%で、肝発がん物質検索法として最適検索法である。2. 中期多臓器発がん性試験法：既知発がん物質での結果は 36/39(92%)が陽性で、長期がん原性試験の結果とはほぼ一致し、全身諸器官における発がん性を1個体で総合的に検索可能な方法として極めて有用である。更にこれらの検索法は発がん抑制物質や発がん複合作用の検索、発がん強度の予測にも応用可能な検索系として推奨できる。

Reliability and practicality of medium-term carcinogenesis bioassay.

Seiko TAMANO¹, Akihiro HAGIWARA¹, Mayumi KAWABE¹, Masashi SANO¹, Toshio ICHIHARA^{1,2,4},
Katsumi IMAIDA³, Shoji FUKUSHIMA³, Tomoyuki SHIRAI⁴

¹Daiyu-kai Institute of Medical Science, Ichinomiya, 491-0113, Japan, ²First Department of Pathology, Kagawa Medical School, Kagawa Pref. 761-0793, Japan, ³Department of Pathology, Osaka City University Medical School, Osaka 545-8585, Japan, ⁴Department of Experimental Oncology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Science, Nagoya 467-8601, Japan

W4-4 毒性と遺伝子発現—発現量の異なる遺伝子検出の試み—

加藤 英男

(株)日本バイオリサーチセンター 試験管理部

毒性分野において遺伝子を扱った解析は、機序解明上の重要なツールとなりつつある。しかしながら、経験のない我々にとって、なかなか着手し難い状況であったが、詳細なテキスト、試薬のキット化、機器の普及も手伝い、一部については利用可能と考えるに至った。そこで、第1歩として、目的に、Differential display法を中心に発現量の異なる遺伝子の検出を試みることにした。未だ報告に足る結果を得ていないが、手法の簡便さもあり、利用価値は大きいと考えている。同時に、DNA マイクロアレイ法の利用についても検討しているのので、あわせてご紹介したい。

Differential display法 (DD法) は、転写物集団をゲル上に視覚化する、いわゆるメッセージディスプレイ法であるが、手技がシンプルで、結果が得られやすい手法といわれる。任意配列のプライマーを用い、PCRにより複数のcDNA断片を増幅し、ゲル上に展開したフィンガープリント間の比較から、特異的発現パターンを示す分子種を同定する方法である。その後、クローニング、塩基配列決定、発現量の確認に至る。

マイクロアレイ法は、複数の遺伝子発現量をスクリーニング可能とし、近年、関心を集めている。基盤上に固定化したDNAプローブに対して標識DNAなどのサンプルをハイブリダイゼーションし、シグナル読み取り、データ解析を行う。プローブの数に応じた遺伝子を同時に解析可能とする。

対象サンプルは、周産期にエストロゲンを投与したマウスの生殖器官としている。周産期のエストロゲンに反応する生殖器官の変化は、げっ歯類で良く研究され、ヒトでも因果関係が示唆されているものもある。一つとして、妊娠中の女性に投与されたジエチルスチルベステロール (DES) と女兒の成熟後の腫増殖性病変の相関である。これに先立つマウスにおける周産期エストロゲン暴露と腫上皮不可逆化の報告から、不幸にも、動物実験の成績がヒトに外挿され得ることの証明となった。出生後早期の変化のみが胎児期の暴露の結果でないことも、同時に示された。生殖器官等の形態、機能を中心に解析が進められた他、複数の遺伝子の発現変化も示されている。ERノックアウトマウスを用いた結果から、ERの関与が示唆されるが、未だ不可逆化に特定される遺伝子決定に至っていない。そこで、腫上皮不可逆化の臨界期前後のマウス雌新生児にDESを投与し、発現量の異なる遺伝子を検出し、鍵となる遺伝子に近づきたいと考えている。

Toxicity and gene expression — Trials to find out genes whose quantity of expression is different from one another —

Hideo KATO

Safety Study Department, Nihon Bioresearch Inc.

W4-5 ラット甲状腺機能解析のための試験方法紹介

○平田 絹子, 趙 景芳, 森安眞津子

(株)パナファーム・ラボラトリーズ

甲状腺は種々の化学物質の投与や曝露によって影響を受けやすい器官のひとつである。化学物質が甲状腺に対して直接的に作用するだけでなく、他器官に対する作用がホメオスタシスの結果として、間接的に甲状腺機能に影響を及ぼす場合も少なくない。ラットを用いた慢性毒性試験においてしばしば認められる甲状腺の機能亢進や細胞過形成ならびに甲状腺腫瘍は、甲状腺ホルモンの代謝・排泄速度の上昇に伴う代償性のTSH分泌亢進が主な原因である化合物も数多く知られている。本発表ではラットの甲状腺機能に対する化学物質や医薬品の影響およびその作用点を明らかにする際に役に立つ評価方法のいくつかに関して、我々が実際に得た結果を交えて紹介する。

1) 血中ホルモン濃度

甲状腺機能への影響はTSHや甲状腺ホルモンの血中濃度の変化として捉えられることが多い。ただし、ある種の化学物質では長期間の曝露でこれらの血中濃度が正常レベルに戻る場合が認められる。

2) 病理学的組織検査

甲状腺組織重量の変動や濾胞上皮、コロイドの形態変化などが観察される。

3) 甲状腺ホルモンの産生能

甲状腺ホルモンの産生に対する作用は放射性ヨードの甲状腺への取り込みや有機化率への影響から推定できる。甲状腺パオキシダーゼ(TPO)活性阻害作用を有する物質は放射性ヨードの有機化率を低下させる。

4) 甲状腺パオキシダーゼ(TPO)活性

甲状腺ミクロソームを酵素源として用い、TPO活性に対する化学物質の直接的な影響を推定する。

5) 甲状腺細胞を用いる評価方法

ラット甲状腺細胞株(FRTL-5)を用いて、放射性ヨードの細胞内への取り込みや有機化能を測定することにより、甲状腺ホルモンの産生に対する化学物質の作用を*in vitro*にて評価する。

6) 甲状腺ホルモンのクリアランス速度

肝薬物代謝酵素誘導能を有する化学物質の曝露により、甲状腺ホルモンの代謝酵素が誘導され、結果として甲状腺ホルモンの血中クリアランスが亢進するケースがある。放射性T₄をラットに投与し、経時的に血中濃度をモニターしてクリアランス速度を測定する。

7) 甲状腺ホルモン代謝酵素

肝のT₄ UDP-glucuronosyltransferaseやT₃ sulfotransferaseは甲状腺ホルモンの代謝を担っており、これらの酵素が誘導される場合にはクリアランスの亢進が期待される。これらの酵素の活性上昇やmRNAの増加は間接的に甲状腺の機能に影響を与える可能性を示している。

W4-6 発癌物質の RDS, UDS, コメットアッセイによる多臓器同時検出

○田中 憲穂, 斉藤 義明, 中川 ゆづき, 臼見 憲司, 小野 宏

(財)食品薬品安全センター秦野研究所

発癌物質の中には、非変異の発癌物質も見出されるようになり、その検出に関しては、さまざまな試みがなされている。発がん物質には臓器特異性を示すものが多く、多臓器で同時に変異原性を検出する事ができれば理想的である。In vivo で変異・非変異発癌物質を同時に検出する試験として、H²-チミジン静注投与による多臓器 UDS・RDS 試験とコメットアッセイを紹介する。

化学物質には、変異発癌物質の MNNG (200 mg/kg) と非変異発癌物質の BHA (300mg/kg) を用い、ラットに経口投与した。UDS・RDS の標本は、投与 2, 24, 48 時間後に前胃、腺胃、回腸、肝臓および肺組織を採取し、樹脂包埋後 ARG 標本を作製した。誘発された核グレイン数には、各組織ごとの基準を設けて UDS と RDS に分類した。また、処理後 1, 4, 24 時間後に、胃、肝、肺、回腸から細胞を単離し、コメットアッセイを行った。

その結果、MNNG 群では投与 2 時間後に肝臓以外の組織で UDS の有意な増加がみられ、投与 24 時間後では腺胃にのみ有意な増加が認められた。RDS では MNNG 群の投与 2 時間後の前胃、投与 24 時間後の腺胃および回腸に有意な増加がみられた。一方、コメットアッセイでは、MNNG 群は肝、回腸、胃においては投与後 1-24 時間で陽性の結果を得たが、小腸、胃においては 4 時間がピークであったのに対し、肝では 1h がピークであり消化管より早く効果が出ていた。肺は陰性であり、MNNG は肺に DNA 傷害を起こしにくいと考えられた。非変異発癌物質の BHA は、肝臓、小腸、胃、肺全てで陰性であった。

以上の結果より、UDS と RDS、さらにコメットアッセイによる多臓器での DNA 傷害の同時検出は、臓器特異的発癌物質の検出に有効であると考えられる。

Simultaneous detection of carcinogen by UDS,RDS aTLd Comet assays in multiple organs
Noriho TANAKA, Yoshiaki SAITO, Yuzuki NAKAGAWA, Kenji USUMI and Hiroshi ONO
Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Kanagawa, Japan

W4-7 ^{32}P -ポストラベル法による DNA 付加体の検出

中嶋 圓¹, ○古屋 有佳子¹, 杉山 千歳², 木苗 直秀²

¹(財)安評センター, ²静岡県大生活健

^{32}P -ポストラベル法は Randerath 等 (1985) により開発され, bulky な構造を有する化合物によって生成される DNA 付加体を解析するのに有効な方法として注目されている。しかし, 本法は研究レベルで報告例があるものの, 受託試験実施機関のメニューとして取り上げられている例はあまり認められない。我々は, 水道原水やプール水, 生活排水を塩素処理した場合に生成する 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2-(5H)-furanone (MX) の変異原性と発がん性の関連を研究していく中で, MX の DNA 付加体生成に関する検討を行った。この経験を踏まえ, ^{32}P -ポストラベル法の利点や欠点を明らかにするとともに, 受託の可能性を論じてみたい。

【方法】 ラットに MX と加熱食品由来のヘテロサイクリックアミンである 2-amino-3,8-dimethylimidazo-(4,5)quinoxaline (MeIQx) または 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) を同時投与し付加体生成の変化を MX 非投与群と比較検討した。Wistar rat (♂, 5W) を control, MX, MX+MeIQx, MX+PhIP, MeIQx, PhIP の 6 群に分けて飼育し, MeIQx および PhIP をそれぞれ 7 日間, 50 mg/kg B.W. の割合で経口投与した。同時に MX 100 ppm を 7 日間, 飲水投与し, 各実験群について最終投与後 24 時間に肝臓, 大腸, 肺, 胃粘膜, 腎臓を摘出し, DNA 抽出を行った。その後 ^{32}P -ポストラベル法により MX-MeIQx-DNA および MX-PhIP-DNA 付加体の検出を試みた。

【結果・考察】 MeIQx および PhIP 処理群のラット肝臓において, MX 前処理群とヘテロサイクリックアミン単独投与群と比較した場合, MX 前処理群で DNA 付加体形成量の統計学的に有意な増加が認められた。

Detection of DNA adduct levels caused by chemicals using ^{32}P -postlabeling method Test method for analysis of thyroïdal function in rat

Kinuko HIRATA, Jing-Fang ZHAO, Matsuko MORIYASU

Panapharm Laboratories Co., Ltd., Kumamoto 869-0425, Japan

W4-8 実験動物における急性相反応下の CYP 依存薬物代謝の変化

○斎藤 敏樹¹, 秋山 素子², 下田 実², 小久江栄一²

¹日生研, ²農工大学畜薬理学教室

肝チトクローム P450 (CYP) による薬物代謝は、感染症、炎症などの初期に生じる急性相反応により影響されることが報告されている。急性相反応は、外科処置あるいは頻回採血などによる炎症性刺激により誘発される可能性があることから、ウサギおよびイスを用いて急性相反応が CYP 依存薬物代謝に及ぼす影響について検討した。

ウサギおよびビーグル犬に LPS を投与し急性相反応を誘発した。LPS 投与後 24 時間に、テオフィリン、フェニトインおよびニフェジピンを静脈内投与し、血漿中濃度から動態パラメータを算出した。LPS 投与後 28 時間に肝臓を摘出後ミクロソームを調製し、CYP 含量および薬物代謝酵素活性を求め、ウェスタンブロッティング (WB) により CYP アポ蛋白発現量を調べた。

ウサギおよびイスともに LPS 投与群において、テオフィリン、フェニトインおよびニフェジピンの全身クリアランス、ならびにカフェイン 3-脱メチル化活性 (C3D)、アミノピリント脱メチル化活性 (AMD)、アニリン 4-水酸化活性 (ANH)、S-フェニトイン 4-水酸化活性 (SMH)、プフラロール 1'-水酸化活性 (BH) およびテストステロン 6 β -水酸化活性 (TSH) の V_{max} は有意に低下した。また、WB により CYP1A1/2, 2E1 および 2C8/9 アポ蛋白量の減少がみられた。C3D, AMD, ANH, SMH, BH および TSH は各々 CYP1A, 2C, 2E, 2C, 2D および 3A に依存し、テオフィリン、フェニトインおよびニフェジピンは各々 CYP1A, 2C および 3A で代謝されることから、ウサギおよびイスにおいて、急性相反応時に CYP 活性が低下することが示唆された。

The alteration of CYP-dependent drug metabolism in experimental animals during Acute phase response

○Toshiki SAITOH¹, Motoko AKIYAMA², Minoru SHIMODA² and Eiichi KOKUE²

¹Nippon Institute for Biological Science, ²Department of Veterinary Medicine, Tokyo University of Agriculture and Technology

W4-9 薬物性 QT 延長に関する動物種間の差について

清水 憲次, 秋江 靖樹, 野崎 善弘

(株)富士バイオメディックス

[目的] 医薬品の副作用として QT 延長が注目されて以来, 安全性薬理試験としてイス, サル, ウサギ等を使用して無麻酔あるいは麻酔下の心電図測定が盛んに行われるようになった. しかしながら, これらの動物の心電図は測定方法及び背景データともに十分な準備がなされているとは言い難く, 心電図の各パラメーターを自動解析にたよって機械的に計測している例も見られる. 特に, QT 時間は T 波の波形の変化によっては測定し難い場合もあり, 使用する動物の心電図波形の特徴を熟知していなければ正確な計測はできない. 私達は, 10 数年前からイス及びサルでの心電図検査にホルター法を導入し, 無麻酔・通常飼育条件下での長時間心電図を記録して, 多くのデータを得てきた. 詳細な心電図検査として臨床で定着しているホルター心電図は心電図波形の変化を評価するためには精度の高い方法であり, 動物実験での薬物性 QT 延長の評価には有効な方法である. 本発表では, ビーグル犬及びカニクイザルに QT 延長作用を有する塩酸ニフェカラン, アステミゾール等を投与して, ホルター心電図データからの QT 延長の発現用量及び延長の程度, 並びに QT 延長時に認められる T 波の変化及び不整脈の出現を検討し, 種差に着目して比較したので報告する.

[方法及び結果] ビーグル犬及びカニクイザルとも各 3~4 例を用いて, 塩酸ニフェカランは拘束下でホルター心電図を記録しながら静脈内投与 (0.02~12.5 mg/kg), アステミゾールは経口投与 (3~100 mg/kg) して通常飼育下でホルター心電図を連続記録した. その結果, 両薬剤ともビーグル犬に比べてカニクイザルでより明らかな QT 延長が認められた. 塩酸ニフェカランでは両動物ともほぼ同じ用量で心室性期外収縮等の不整脈が認められた. また, これらの薬物による QT 延長の例では, T 波が 2 峰性あるいは 2 相性に変化したり, 次の P 波に重なったり, ホルター心電図でも QT 時間の正確な評価ができないことがあった. これらの例を同薬剤投与による麻酔下での単層活動電位 (MAP) のデータを含めて紹介し, 体表からの心電図検査の限界についても報告する. さらに, ホルター心電図のシステムを応用した測定法により, ウサギについても同様に比較検討し, 報告する.

Species difference of QT prolongation for drugs
Noritsugu SHIMOZU, Yasuki AKIE, Yoshihiro NOZAKI
Fuji Biomedix Co., LTD.

W4-10 1 薬物によるQT延長評価法：*in vivo*心電図測定法と心筋単相性活動電位（MAP）法及び微小電極による心筋細胞内活動電位測定（APD）法との相関

池田 博信、下里 貴、木村 伊佐美、西森 司雄

(株)環境バイリス研究所生物科学研究所

薬物によるQT間隔の延長は、致死的な心室性不整脈の発症要因の一つと考えられており、問題となっている。そこで薬物投与によるQT間隔又は活動電位持続時間の延長作用を調べることは、薬物による心室性不整脈の発生リスクを調べる上で有用な方法である。

今回、無麻酔下イスを用いたテレメトリー法、麻酔下イスを用いたMAP法及びモルモット乳頭筋を用いたAPD法を用い、薬物のQT延長作用を評価した。

*In vivo*心電図測定法

テレメトリーシステム（ART-analog, DSI）を用いた。テレメトリー送信器（D70-PCT, DSI）を外科的に埋め込んだイスを用い、送信器から送られる心電図信号を受信ボード（RMC-1, DSI）で受信し、データ統合ブロックに入力した。入力された信号をデータ解析システム（HEM, NOTOCORD）に取り込んで心電図及び心拍数の解析を行った。

MAP法

チオペンタールナトリウム（20～25 mg/kg, i.v.）麻酔後、気管にカテーテルを挿入し、人工呼吸器を用いて呼吸を維持（20 mL/kg, 15 strokes/min）した。0.5～2%ハロタン麻酔下で左大腿静脈から右心室内にMAP/pacingカテーテル（EPT）を挿入した。心電図（第II誘導）は心電図用アンプ（AC-601G, 日本光電工業）を介して測定した。生体信号は循環動態解析ソフトウェア（MP/VAS3, フィジオテック）によりMAP持続時間及び心電図を解析した。MAP持続時間は、90%再分極時の活動電位持続時間（MAP₉₀）を測定した。MAP持続時間は、正常時リズム：MAP_{90(normal)} および pacing 刺激下：MAP_{90(pacing)} の条件下で測定した。Pacing は cycle length : 300 msec および 400 msec, duration : 1 msec, voltage : 刺激閾値の150～200%, 刺激時間 : 10 秒間の条件で行った。

APD法

モルモットより心臓を摘出し、95%O₂+5%CO₂混合ガスを通気したTyrode液中で右心室の乳頭筋標本を単離した。標本は36℃のTyrode液を灌流し、organ bath内にピンで固定した。ガラス電極を乳頭筋に刺入し、電気刺激（頻度：0.5 Hz, duration：1 msec, voltage：刺激閾値の150～200%）した時に得られる活動電位波形を微小電極増幅器（MEZ-8301, 日本光電工業）を介してオシロスコープ上にモニターすると共に、心筋活動電位解析ソフトウェア（WIN CAPA, フィジオテック）を用いて記録及び解析した。安定した活動電位が得られた後、各薬液を累積的に30分間灌流し、灌流前及び灌流後30分の90%再分極時の活動電位持続時間（APD₉₀）を測定した。

結論

β 遮断薬であるsotalol、セロトニン拮抗薬であるketanserin及びフェノチアジン系の向精神病薬であるthioridazineは、無麻酔下イスのQT間隔、麻酔下イスにおけるMAP₉₀及びモルモット乳頭筋のAPD₉₀をいずれも延長させ、相関ある結果が得られた。

Assessment of QT interval prolongation induced by drugs: Correlation of ECG parameters in conscious dogs, monophasic action potentials (MAP) in anesthetized dogs and action potential duration (APD) in guinea pigs papillary muscle.

Hironobu IKEDA, Takashi SHIMOSATO, Isami KIMURA, Tsukao NISHIMORI
Environmental biological Life Science INC. (BILIS) Biological Science Laboratories

W4-11 HERG 導入細胞のバッチクランプ法による IKr 電流の測定法

大保真由美, 海上 智

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

安全性薬理試験ガイドラインでは、薬物の心臓に対する作用、特に突然死に繋がる心電図の QT 間隔延長などの催不整脈作用を調べるのが重要であるとされている。催不整脈作用の検討は、従来からの *in vivo* 試験で薬物の心電図に対する作用を調べる他に、*in vitro* 試験で活動電位持続時間 (APD) への影響を調べることも必須になりつつある。また最近では、心筋細胞のイオンチャンネル、特に QT 間隔の延長に関与している IKr チャンネルに対する薬物の作用を検討することも重要視されている。すなわち、ヒトの心筋細胞に存在する IKr チャンネル発現遺伝子 (HERG) を HERG を持っていない細胞に transfect し、IKr チャンネルを発現させた細胞を用いて、膜電位固定法により IKr チャンネル電流を測定し、その電流に対する薬物の作用を調べるといったものである。

これまで我々は、覚醒下の動物 (イス, サル) で QT 間隔を延長させる血中濃度の薬物を用いて、APD や HERG 発現細胞の IKr チャンネル電流に対する作用を検討してきた。その中で今回は、まず IKr チャンネル電流の測定法について紹介する。さらに、覚醒サルにおいて QT 間隔が延長する用量の terfenadine と ketoconazole を併用経口したときの terfenadine の C_{max} と、同様に覚醒イスにおいて QT 間隔が延長する用量の dl-sotalol を経口投与したときの本来の C_{max} に基づき、これらの薬物の HERG 発現細胞 IKr チャンネル電流に対する作用について、APD に対する作用と比較して紹介する。

The measurement of IKr-current in HERG transfected HEK293 with whole-cell clamp configuration

Mayumi OBO, Satoshi UNAKAMI

Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute, Ibaraki, Japan

セミナー 1

TOXICOLOGY

Se1-1 はじめに

本坊 敏保

藤沢薬品工業株式会社 安全性研究所

厚生省は1996年にICH促進に関する厚生科学研究の一環として、「一般/安全性薬理試験ガイドライン (GL) 研究班」(藤森班長)を組織して、1991年に世界に先駆けて規定した「一般薬理試験GL」の見直しを開始し、1998年8月には「安全性薬理試験GL案」を世界に公表した。

一方、EUのCPMPでも同時期に「安全性薬理試験GL案」を公表して、日欧に「安全性薬理試験GL案」が存在することになった。また、CPMPは非循環器用薬に起因するQT延長の非臨床及び臨床評価法を規定した「Points to Consider」を1997年末に公布している。

厚生省と日本製薬協は1998年9月に「安全性薬理試験GL」をICHトピックスに共同提案して、1999年2月からICH専門家会議で協議が開始された。専門家会議では安全性薬理試験にQT延長予測の役割を期待して議論は急速な進展をみせ、2000年11月のサンジェゴのICH-5で安全性薬理試験GL(S7A)はステップ4に到達し、S7Aの補遺(Annex)としてその後も検討が継続された「QT延長評価に関する安全性薬理試験GL(S7B)」も本年2月のブラッセル会議でステップ2に到達し日米欧三極での意見聴取を実施する段階になった。このブラッセル会議での特記事項は、S7Bのステップ4達成にはステップ2で推奨した評価系の有用性を裏付けるデータ蓄積の必要性をFDAが強く主張したこと、「QT延長評価に関する臨床試験GL」がICHトピックスとして採択されたことである。臨床試験GLはICHでは異例のFast Track Procedureで議論することが決定され、FDA・カナダ厚生省の臨床試験ガイダンス案を叩き台にして本年中のステップ2達成も予想される緊急な事態となった。

本日のシンポジウムでは、S7A及びS7Bのラポーター(議長)である藤森先生にS7Bでの議論経過を、QTデータベース構築プロジェクトの日米のリーダーである日本製薬協の山本さんと米国製薬協のBassさんに各極での取り組みを、それぞれご紹介頂くことになっております。

中谷先生と杉山先生にはin vitro試験とin vivo試験とに分けて非臨床評価法に関する研究を、堀江先生には臨床評価法に関する研究をご紹介頂き、本シンポジウムのオーガナイザーである橋本先生が非臨床評価法及び臨床評価法の現況と将来を総括して頂けるものと期待しております。

最後に追加発言として、ドイツのGENION社のNetzerさんが心臓の各種イオンチャンネルへの影響を評価するHTSアッセイ系の創薬研究での有用性についてご紹介されます。

非循環器用薬によるQT延長リスクの回避は、創薬段階でのシード・リード探索研究から、開発段階での非臨床試験や臨床試験による安全性評価、PMS段階での安全性情報サーベイに到る医薬品開発の全域で考慮すべき課題であります。今回のシンポジウムのタイミングは非臨床試験と臨床試験のICH-GLがステップ2段階を迎える重要な局面にあり時期を得たものといえます。日米欧三極の規制当局によるステップ4に向けたプロセスに、学界と産業界が如何に協調して情報提供できるかが、この二つのGLの命運を握っているといっても過言ではありません。このプロセスでの日本トキシコロジー学会会員の皆様の貢献に多いに期待致します。

Introduction by the co-organizer

Toshiyasu HONBO, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Toxicology Research Laboratories,
1-6, Kashima 2-Chome, Yodogawa-Ku, Osaka 532-8514, JAPAN

Se1-2 ICH に関して

藤森 観之助

医薬品副作用被害救済研究振興調査機構治験指導部
100-0013 東京都千代田区霞ヶ関 3-3-2, 新霞ヶ関ビル

Q-T 間隔延長に関するガイドラインのための国際的ハーモナイゼーションすなわち (ICH-S7B) が ICH で討議されるに至った理由は、2000 年 11 月にサンジエゴで Step 4 に達した安全性薬理試験ガイドライン (ICH-S7A) 作成過程での心血管系に関する試験項目 (コアバッテリー) における心電図測定、即ち医薬品の有する再分極と伝導における異常、特に Torsade de Pointes (TdP) に大きく関連する QT 延長作用の検出と評価に関する討議の結果、QT 延長を非臨床試験において検討する試験が早急に必要であると合意されたことが基になっている。S7B は 2001 年 5 月に東京会議で ICH 正式議題として開始して以来、カナダでの 2 回の EWG 会議および 1 回のビデオ EWG 会議での討議を経て、2002 年 2 月のブラッセル会議でステップ 2 に到達した。本ガイドライン作成の背景には 80 年代から報告されてきた市販医薬品が引き起こす重篤な心室性不整脈の存在と、その対応のための EU-CPMP の Points to consider の存在があり、さらに作業の進行を早めた背景にはカナダガイダンスが最終 draft になったことと同時に US-FDA において非臨床および臨床 QT 評価に関するガイダンスが近々完成予定とされていたことがある。ステップ 2 ガイドライン案の特徴は非臨床試験として現在推奨しうる試験系の提示および QT 評価に関する試験の進め方であり、内容はガイドラインの目的と背景、原則と意義、評価のために勧告すべき試験の種類、非臨床 QT 延長の評価の進め方、現在利用可能なインビボ、インビトロ非臨床試験系およびその長所と短所、に関しての情報を提示したものである。評価のために勧告すべき試験の種類は 1. 薬理的・化学構造的な分類、2. イオン電流 (IKr)、3. 心筋再分極過程、4. In vivo 心電図 QT 評価であり、非臨床 QT 評価の進め方は、臨床 QT 評価と切り離すが、必然的に臨床試験の進め方に影響することを考慮して、潜在的な QT 延長の危険性を示すシグナルの有無を検討することを意図とした。本ガイドライン案がステップ 4 に至るには、上記の試験で用いられる試験系のデータベースの不足が指摘されており、現在、データを収集することが急務となっている。なお臨床 QT 延長評価ガイドラインに関しては、ICH 運営委員会において FDA と H-Canada 側の条件付で ICH で Fast track procedure として対応することが合意されている。

ICH-S7B

Kanosuke Fujimori

The Organization for Pharmaceutical Safety and Research, Clinical Trails Guidance Department
Shin-kasumigaseki Bld., 3-3-2, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo, 100-0013 Japan

Se1-3 製薬協の現状と取り組み

山本 恵司

武田薬品工業株

QT 間隔延長評価のための安全性薬理試験の ICH ガイドライン S7B が 2002 年 2 月に Step 2 に到達した。また、本ガイドラインが Step 4 へ到達するために、今後のデータの蓄積を待つことが ICH で合意され、このデータ収集のために、医薬品評価委員会基礎研究部会で進行中の「医薬品による心電図 QT 間隔延長に関するデータベース構築プロジェクト（以下、QT データベース構築プロジェクト）」にも大きな期待が寄せられている。

データベース構築プロジェクトでは、ヒトで QT 間隔延長を引き起こす陽性薬物（予定 8 検体予定）及び陰性薬物（予定 8 検体）について、サルテレメトリー、イステレメトリー、ミニプクテレメトリー、イス麻酔下、モルモット乳頭筋などの各種試験系を用いて心電図あるいは活動電位データを取得する予定である。また、将来的に IKr アッセイも追加検討する予定である。このプロジェクトの主な目的は、①臨床における QT 間隔延長及び関連する不整脈（Torsade de Pointes など）の危険性予測に、非臨床データを活用するためのデータベースの基礎を構築すること、ならびに②非臨床における QT 間隔又は心室再分極パラメータのデータ取得及び評価の方法について、臨床試験デザインに寄与できる信頼性の高い（感度、再現性など）技術を確立することである。

今回のセミナーでは、QT データベース構築プロジェクトについて紹介するとともに、これまでに得られた知見について紹介する。

Se1-4 Effects on Ventricular Repolarization: A Critical Evaluation of the Strengths and Weaknesses of Current Methodologies and Regulatory Practices.

Alan Stuart Bass

Ancillary Pharmacology and Safety Pharmacology, Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, New Jersey, 07033-0539.

Cardiovascular toxicity produced by drug-acquired prolongation of ventricular repolarization may progress to the potentially life-threatening arrhythmia, torsades de pointes. For many non-cardiac drugs, the estimated incidence of torsades de pointes is relatively small (i.e. 1 in 120,000 individuals). As a result of this low incidence, surrogate biomarkers of ventricular repolarization are used in preclinical and clinical testing to detect drugs possessing this potential toxicity. Two cardiac ion channels are prominent in repolarization of human ventricular myocardium, hERG and KvLQT1, the pore forming α subunits that express the currents I_{Kr} and I_{Ks} , respectively. Of these two channels, most compounds producing prolongation of ventricular repolarization and torsades de pointes have been shown to block I_{Kr} .

The preclinical strategy of testing new drugs for cardiovascular safety follows a tiered approach. At the simplest level is evaluation of the effects of a drug on cloned potassium channels (hERG) expressed in mammalian cell lines. Inhibition of potassium channel currents is indicative of a drug that may prolong ventricular repolarization. The next level involves measurement of drug effects on the action potential waveform in isolated cardiac tissue (e.g. Purkinje fibers or papillary muscle). The action potential waveform encompasses the entire cardiac cycle and prolongation may be an indication of a drug's potential to delay ventricular repolarization. The highest level is the whole animal where ion channels, hormones, and neuronal systems are capable of influencing the cardiac responses to drugs. Major metabolites may also be formed in the whole animal, whereas *in vitro* systems require testing as separate studies. Indices of ventricular repolarization may include monophasic action potentials, effective refractory period, QT interval, or the rate corrected QT interval [QTc interval]. The development of a risk assessment derives from consideration of the concentration at which effects are noted in preclinical studies in relation to human exposure at an efficacious dose.

Preclinical testing of drug effects on ventricular repolarization is presently directed by the CPMP 'Points to Consider' document entitled "Assessment of potential for QT prolongation in non-cardiovascular drugs" (CPMP 986/96, December 1997). International guidelines entitled Guideline on safety pharmacology studies for assessing the potential delayed ventricular repolarization (QT Interval Prolongation) by human pharmaceuticals (ICH Topic S7B) are being written, having achieved Step 2 in February 2002. The development of promising new drug therapies targeted at unmet medical needs highlights the importance of adopting a carefully considered strategy for cardiovascular safety testing. The strengths and weaknesses of various methodologies and the regulatory expectations for cardiovascular testing of new drugs will be considered in the course of this talk.

Se1-5 QT 延長薬物の細胞電気生理学的毒性評価： 単離心筋細胞および再構成系を用いた検討

中谷 晴昭

千葉大学大学院医学研究院薬理学

近年、抗アレルギー薬、精神神経作用薬、抗生物質、消化管作用薬など多くの非循環器作用薬が心筋細胞の K^+ チャネルを抑制し、心電図 QT 間隔の過度の延長、Torsades de pointes (Tdp) をおこすことが明らかとなり、臨床問題となっている。これらの後天性 QT 延長症候群を未然に防ぐためには、創薬の早い段階から、開発中の薬物が K^+ チャネル遮断作用を持つか否かを評価することが重要である。心筋細胞の活動電位の再分極には第 1 相のノッチ部分の形成に関与する一過性外向き電流 (I_{to})、第 2 相から第 3 相への移行に重要な遅延整流 K^+ 電流 (I_K)、第 3 相後半の再分極と静止膜電位の維持に重要な内向き整流 K^+ 電流 (I_{K1}) が関与し、 I_K はさらに活性化過程が速い I_{Kr} と遅い I_{Ks} の二つのコンポーネントからなる。これらの多くの K^+ 電流の中で、QT 延長薬物が主に抑制する電流は I_{Kr} であり、この電流を通過させる HERG (human ether-a-go-go-related gene) が標的イオンチャネルであることは良く知られるところである。

薬物の I_{Kr} に対する作用を検討する場合、従来はモルモットを中心とした単離心筋細胞からパッチクランプ法で膜電流を記録する方法が用いられてきた。しかしながら、 I_{Kr} 等の電流が混在するため、その評価は難しいことが多い。特にモルモット心室筋細胞を用いる場合、心房筋細胞に比して I_{Kr} の密度が低く、 I_{K1} の密度が高いためその電流記録からの評価には十分な電気生理学的知識が必要となる。しかしながら、単離心室筋細胞を用いる場合、カレントクランプ法で記録した活動電位に対する作用も同時に評価できることが利点である。

HERG チャネルに対する薬物の作用を直接的に検討する場合、最も感受性が高いのは哺乳類の培養細胞に発現させた場合である。Xenopus oocyte に発現させた場合は 10-100 分の 1 程度に感受性が低くなることも考慮しなければならない。また、HERG チャネル抑制薬の多くは open channel blocker であり、チャネルポアにトラップされ解離が遅いため、通常のパルスプロトコールで評価可能であるが、解離が比較的速い薬物の場合は HERG チャネル遮断作用の頻度依存性の増強があるか否かについても検討しなければならないであろう。

最近、QT 延長薬物による Tdp の発生には患者側の因子も大きく影響することが指摘されている。低 K^+ 血症、徐脈、性といった因子ばかりでなく、患者の HERG チャネルそのものが K^+ チャネル遮断薬に高い感受性を示す場合もある。MiRP1 (MinK-related peptide 1) という HERG チャネルの付属蛋白が存在し、その遺伝的多型性が QT 延長薬物の感受性に影響を与えるという報告もなされている。このような点を考慮すると創薬の初期の段階で出来る限り HERG チャネルに影響を与えない薬物を選択することが重要と思われる。

Evaluation of the Risk of Drug-Induced Long QT Syndrome: Electrophysiological Analysis Using Native Cardiac Cells and Cultured Cells Expressing HERG Channels

Department of Pharmacology, Chiba University Graduate School of Medicine

Haruaki Nakaya, M.D.

Se1-6 生体位心臓の再分極過程に対する薬物の作用

杉山 篤

山梨医大・薬理学

【目的】 イス摘出血液灌流心室筋標本、ハロセン麻酔犬、慢性完全房室ブロック犬を用いて I_{K_r} チャンネル抑制作用を有する薬物の電気生理学的作用を比較検討した。

【方法・結果】 血液灌流心室筋標本を用いて、クラスⅢ抗不整脈薬セマチリドの催不整脈作用を評価した。セマチリドは単相性活動電位持続時間 (MAP_{90})、有効不応期 (ERP) および電気的受攻期に相当する活動電位終末相 ($TRP = MAP_{90} - ERP$) を用量依存的かつ逆傾度依存的に延長した。基本刺激間隔 1000-2000 msec において、期外刺激により Torsades de Pointes (TdP) が再現性をもって誘発された。TdP が誘発された期外刺激の連結期の範囲は TRP にはほぼ一致した。次に、ハロセン麻酔犬に、クラスⅢ抗不整脈薬：ドフェチリド、ニフェカラント、アミオダロン、抗不整脈薬以外の薬物：シサプリド (消化管運動促進薬)、アステミゾール (抗ヒスタミン薬)、スルピリド (向精神薬)、ハロペリドール (向精神薬)、スバルフロキサシン (抗菌薬)、シルデナフィル (PDE5 阻害薬)、トボリノン (PDE3 阻害薬) を静注し、電気生理学的作用を評価した。アミオダロン、シルデナフィルおよびトボリノン以外の薬物は、 MAP_{90} 、ERP および TRP のすべてを延長した。アミオダロンは MAP_{90} および ERP を延長したが、 MAP_{90} に比べて ERP の延長が大きく TRP はむしろ短縮した。シルデナフィルはいずれにも変化を示さなかった。トボリノンは MAP_{90} を短縮、ERP を延長したので、TRP は短縮した。最後に、房室ブロック犬を用いて、薬物の催不整脈作用を評価した。クラスⅢ抗不整脈薬：セマチリド、ニフェカラント、アミオダロン、抗不整脈薬以外の薬物：シサプリド、テルフェナジン、スルピリド、スバルフロキサシンを無麻酔状態で経口投与した。アミオダロン以外の薬物は臨床使用量の 5-40 倍量で TdP を誘発した。アミオダロンは、臨床使用量の 10 倍 (30 mg/kg) を投与しても TdP を誘発しなかった。

【総括】 I_{K_r} チャンネル抑制作用を有する薬物が、必ずしも生体位心臓の再分極過程を延長するとは限らないことが判明した。ハロセン麻酔犬を用いた実験において活動電位終末相を延長した薬物だけが、慢性完全房室ブロック犬に TdP を誘発したので、薬物の活動電位終末相に対する作用を評価することは致死性不整脈発生の子知に有用であると考えられた。

Effects of clinically available drugs on the repolarization process of the heart assessed by the in vivo canine models

Atsushi Sugiyama

Department of Pharmacology, Yamanashi Medical University

Se1-7 QT 延長症候群—日本人における遺伝子変異・SNP 解析

堀江 稔

京都大学医学研究科循環病態学

循環器病薬のみならず多種多様な薬物により QT 延長, さらに, まれながら心室細動に移行する多形性心室頻拍 (torsade de pointes) が誘発されることがあり, 薬剤安全管理の面から注目されている。一方, 以前より家族 (遺伝) 性に QT 延長をきたす疾患群が知られている。臨床像 (Phenotype) として, (1) 単独で QT 延長を示す Romano-Ward 症候群, (2) 嚔唾を伴う Jervell and Lange-Nielsen 症候群, さらに (3) 周期性四肢麻痺や骨格異常を伴う Andersen 症候群が有名である。遺伝形式としては, (1) と (3) は常染色体優性, (2) は, 通常, 常染色体劣性遺伝である。近年の著しい分子遺伝学と細胞電気生理学の進歩により, これらの遺伝性 QT 延長症候群が, 心筋の再分極過程を決定する多種類のイオンチャネル遺伝子の変異により招来されることが明らかとなってきた。変異のために障害されるチャネルの機能異常には, K チャネルで見られる loss-of-function (LQT1,2,5,6; JLN; Andersen) や Na チャネルで見られる gain-of-function (LQT3) がある。いずれにしても心室筋活動電位の再分極が遅れるために持続時間が延長し, Phenotype としての QT 時間が延長する。薬剤による 2 次性 QT 延長症候群の Phenotype は, LQT2 と呼ばれる, HERG 遺伝子の変異による病態と類似していることが分かってきた。この HERG は, 心筋遅延整流 K チャネルの内, 早い活性化を示す I_{Kr} をコードしているが, 多くの薬剤がこの I_{Kr} チャネルをターゲットとすることが電気生理学的な研究により判明した (Mitcheson et al, Proc Natl Acad Sci USA, 2000)。この研究では, 人為的に加えた HERG チャネルの S6 内の aromatic residue をアラニンに置換する変異を加えると, 種々の薬剤 (いわゆる I_{Kr} ブロッカー) による抑制作用が消失した。逆に, 自然発生的に, このような部位にミスセンス SNP (single nucleotide polymorphism) が仮に存在したとすると, その個体 (ヒト) は QT 延長を起こす薬剤に対して耐性を獲得することになる。このような発想もあり, 我々は 1995 年当時から 2 次性 QT 延長も対象を含めて, QT 延長症候群関連遺伝子の遺伝子解析を行ってきた。たとえば, ある種の抗不整脈薬は QT 延長を起こす (再分極を遅らせる) ことが薬効である訳であるが, 実際, これらの薬剤で臨床容量の投与例で torsade de pointes まで来たす確率は, 非常に低く, 薬物を内服する側, すなわちホスト側の問題も考慮しなければいけない。本ワークショップでは, 本邦における QT 延長症候群の遺伝子解析について実際のケースを呈示し, SNP を含めて 2 次性 QT 延長症候群の患者側の遺伝的背景について紹介したい。

Se1-8 QTc 延長薬物の前臨床評価法のまとめ

橋本 敬太郎

山梨医科大学 薬理学教室

QT 延長を来す薬物は、もともと心筋細胞の不応期を延長させ、リエントリー不整脈を抑制させる薬物として開発された経緯がある。また細胞内への Ca 流入が増えるので強心作用も期待される抗不整脈薬になるはずであり、一部の薬物はその薬効で抗不整脈薬として使われている。しかし催不整脈作用もあることが、非循環系薬での副作用としても出現したことから、現在の問題に発展している。難しいのは、QT が延長する患者数は投与された全体に対して少なく、また QT が延長した患者さんの内、致死性の不整脈の発生にまで至る率が低いことである。結局前臨床試験としては心電図異常を発見する精度を上げる、催不整脈に結びつく電気生理学異常が有るか、実際に不整脈を誘発するかを解明する、K チャネルの抑制を始めとして、将来的には QT 延長を起こしえる Ca、または Na チャネルの開口を促す作用が有るかなどの情報を総合し、さらに QT 延長が副次的な作用の場合には、主作用の重要性、独創性を加味しなければ、薬物としての開発、認可などは出来ない。現時点では定量的に十分なデータはなく、認容できる基準値などを決めることは出来ないので、結局は個別の薬物につき判定し、それらのデータを蓄積して将来的には、経済的にも時間的にも節約が出来るアプローチが必要になろう。

Preclinical evaluation of QT prolonging drugs

Keitaro Hashimoto

Department of Pharmacology, Yamanasahi Medical University

Se1-9 Screening lead compounds for QT interval prolongation

Rainer Netzer

Evotec OAI AG, Ion Channel Division, GENION, Schnackenburgallee 114, 22525 Hamburg, Germany

The late detection of cardiotoxic side effects, such as QT prolongation, induced by compounds of pharmacological interest can dramatically impede drug discovery and development projects, and consequently increase their cost. The launch of new drugs with undetected cardiotoxic side effects could have hazardous consequences and could trigger lethal cardiac dysrhythmias in patients. It is desirable, therefore, to test for the potential cardiotoxic side effects of compounds at an early stage of drug development.

Several test systems were developed during the past years. Examples are cellular-based fluorometric high-throughput assays to investigate functional interaction performed with large numbers of compounds and electrophysiological test systems to characterise the effect of compounds in detail. These tests are available for cloned human cardiac ion channels. The investigations are performed with focus on HERG, but also on KCNQ1/KCNE1 and on SCN5A. These test systems are important tools in the preclinical safety evaluation of drugs and newly developed compounds. In the presentation a comparison of the available test-systems will be provided.

セミナー 2

TOXICOLOGY

Se2-1 医薬品の免疫毒性試験の進め方

澤田純一，中村和市

国立医薬品食品衛生研究所，塩野義製薬(株)

非臨床毒性試験の一環として免疫毒性試験を行う必要性が認識されてきており，EUにおいては，既に反復投与毒性試験に追加する形で免疫毒性試験を行うことが要求されている。米国においてもガイダンス案が公表されており，日本においてもガイダンス中間案が作成されている。三極の免疫毒性試験に対する考え方には，若干の相違があり，いずれはICHにおいてハーモナイズされる必要があるが，しばらくの間は，異なったガイダンスの下で免疫毒性試験を行う状況が生じつつある。

本セミナーにおいては，まず，三極のガイダンスの相違点や問題点を比較し，将来のハーモナイゼーションのためにクリアすべき点を明らかにしたい。また，企業サイドからの免疫毒性試験の進め方を例示して頂く予定であり，医薬品開発における免疫毒性試験のストラテジーを考えるよい機会になればと考える。本セミナーを通じて，将来の免疫毒性試験の方向性をいくらかでも示すことができれば幸いである。

Strategies for immunotoxicity testing during the development of pharmaceuticals

Jun-ichi SAWADA and Kazuichi NAKAMURA

National Institute of Health Sciences, Setagaya, Tokyo and Developmental Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd., Osaka.

Se2-2 免疫毒性試験法ガイダンス中間案について

澤田 純一

国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部

EUでは、既に免疫毒性試験を反復投与毒性試験に追加して行うガイダンスが用いられており、米国においては、免疫毒性試験に関するガイダンスが現在ドラフトの段階であるが、近いうちに最終化されるといわれている。日本においても、現在、医薬安全総合研究事業「国際的動向を踏まえた医薬品等の新たな有効性及び安全性の評価に関する研究」の分担研究の一つである「免疫毒性試験法の標準化に関する調査研究」班において、免疫毒性試験法ガイダンス案を作成中である。この間、ICHにおいて、免疫毒性試験のトピックス化に関する議論がなされたため、研究班において作成された中間案を参考資料として提示した。今後、この中間案を内外の意見を基に修正する作業が必要と予想される。

中間案における免疫毒性試験の大きな流れとしては、反復投与毒性試験の結果により、機能的な免疫毒性試験を段階的に追加して行うことになっている。反復投与毒性試験の中には、多くの免疫毒性関連検査項目があり、それらを有効に利用するという考え方が基本にある。反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査項目で異常が認められた場合には、第1段階の免疫毒性試験（抗体産生試験）を行う。そこで、異常がある場合には、さらに、詳細な試験、第2段階の免疫毒性試験を行い、その免疫異常の性質（標的細胞や標的器官の同定、免疫毒性発現様式等）を明らかにすることが必要とされている。

ただし、例外として、化学構造の類似性から免疫毒性が疑われる場合、免疫不全症に適用される場合、免疫抑制剤と併用される場合には、反復投与毒性試験の結果如何に関わらず、第1段階の免疫毒性試験（抗体産生試験）を行うことが要求されている。

以下、各試験の詳細を説明したい。

反復投与毒性試験において、注目すべき免疫毒性関連検査項目は、免疫系器官の重量と病理組織学的検査が中心となる。反復投与毒性試験の際に、追加して、末梢血のリンパ球サブセット検査又は脾臓の免疫組織化学的検査を追加して行うことが推奨される。これらの検査は、末梢血リンパ球の表面マーカーをフローサイトメトリー等により調べるか、脾臓の組織切片を免疫化学染色することにより行うことができる。

第1段階の免疫毒性試験である抗体産生の試験では、ヒツジ赤血球等のTリンパ球依存性抗原により免疫し、PFCアッセイまたは血清抗体価測定（ELISA法）を行う。また、抗体産生検査に用いた試験動物について、一般状態、体重、脾臓重量、胸腺重量、及びその他特に必要とされる項目の検査を行う。オプションとして、NK細胞活性の試験を行ってもよいが、別途、試験動物群を用意する必要がある。

第1段階免疫毒性試験のプロトコールとしては、試験動物は反復投与毒性試験に用いた動物（通常は雌または雄のラットまたはマウス）とし、動物数は1群当たり8匹以上、投与経路は臨床適用経路とされている。用量は原則として3段階で、対照群として溶媒投与群を設定する。投与期間は、反復投与毒性試験に準じる。

第2段階の免疫毒性試験は、免疫毒性の標的細胞とその作用を明らかにすることが目的であり、例示された項目から最適な試験系を選択し、試験を行うこととされた。

第2段階の免疫毒性試験としては、骨髄細胞の型別百分率（大腿骨）、リンパ球サブセット検査（末梢血または脾臓：Bリンパ球、Tリンパ球、Tリンパ球サブセット、NK細胞、その構成比）、血液化学的検査（血清タンパクの電気泳動）、免疫グロブリンクラス検査（血清のIgM、IgG、IgA、IgEのレベル）、免疫組織化学的検査（リンパ系組織、腎臓（免疫複合体沈着）、皮膚等）が検討可能であり、さらに、免疫機能検査としては、抗体産生やNK細胞活性の他に、マイトゲン等によるリンパ球増殖反応、細胞障害性T細胞活性、血清補体価、サイトカイン産生、マクロファージ又は多型核白血球の貪食活性、遅延型アレルギー反応、宿主抵抗性、腫瘍リンパ節反応、即時型アレルギー反応、自己抗体、尿タンパク等を指標に用いることができる。当然のことながら、新たに優れた試験法が開発された場合には、それらを第2段階の試験に取り込むことが勧められている。

Interim draft guidance for immunotoxicity testing

Jun-ichi SAWADA

Division of Biochemistry and Immunochelministry, National Institute of Health Sciences

Se2-3 ICHにおける免疫毒性試験のトピック化の動向

中村 和市

塩野義製薬(株), 新薬研究所

ICHの3極において免疫毒性試験に関するガイダンス作成の動きが活発である。EUは、1999年12月16日にガイダンス案を提示し、2000年7月21日にはこれを最終化している。一方、FDAは2001年4月10日付のガイダンス案を公表し、また厚生労働省と日本製薬協も2001年12月20日にガイダンス中間案をICH事務局へ共同で提出している。いずれのガイダンス(案あるいは中間案)も段階的評価法を採用しているのであるが、EUのガイダンスにおいては全ての新規医薬品について一部の免疫機能検査が要求されている。

厚生省(当時)と日本製薬協は、地域的ガイダンスの作成が将来大きな問題となっていくであろうと考え、2000年11月7日のICH運営委員会会議において免疫毒性試験をICHの新規トピックとして共同提案した。この会議でFDAは近々自身のガイダンス案を公表すると述べ、次の会議においてFDA案を見てから再度審議することになった。2001年5月23日のICH運営委員会会議においてトピック化の議論は平行線をたどったが、免疫毒性試験に関する非公式専門家会議を開き検討するという議長提案が了承された。免疫毒性試験に関する非公式専門家会議は2002年2月7日に開かれ、この時点で揃っていた3極のガイダンス(案あるいは中間案)を比較後、まずICHガイドラインの必要性が合意された。そして、2003年の11月に開催が予定されているICH6の際に、各極ガイダンスのもと各製薬企業が実施した試験データや学会などで公表された基礎データを持ち寄り、検討会を開くことが決まった。これらの点については、ICH運営委員会においても了承された。ICHトピック化へ向けて大きく前進したと言える。

日本製薬協医薬品評価委員会基礎研究部会では、免疫毒性試験の国際的動向を見極めつつ共同研究などを通じて実力を蓄えてきた。受託研究機関を含む計38施設の御参加を頂いた「医薬品の免疫毒性評価手順を検討するための共同研究」における第1回連絡会を、偶然にもEUの免疫毒性ガイダンス案が公表された1999年12月16日に開催している。現在、試験データの解析も進み、臓器重量も含む病理学的検査において変化が認められた場合に免疫機能検査を行う必要があるという結論が導かれている。これは、ICH事務局へ提出された日本のガイダンス中間案を支える基礎資料の1つともなった。また、今後ICHにおいて基礎データが検討されることになったが、その点でも貴重な資料となるであろう。

厚生労働省と日本製薬協は率先して免疫毒性試験をICH新規トピックとして提案してきたが、ようやく国際的なハーモナイゼーションの大きな流れが出来つつある。

International Harmonization of the Immunotoxicity Study Guidelines

Kazuichi NAKAMURA, Developmental Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

Se2-4 医薬品開発と免疫毒性

杉原 芳樹

エーザイ(株) 薬理安全性研究所

免疫系は生体を感染やガンなどより防御する重要な機能を担っており、この免疫系に及ぼす薬剤の影響は、その他の毒性と同様に評価する必要がある。

薬剤の免疫系への影響は、1) 免疫抑制・亢進作用、2) 抗原性、3) 自己免疫誘発性の3つに分類することが出来るが、近年、免疫抑制・亢進に関する試験法の評価が国内外で行われ、ラットを用いる免疫毒性試験法は実用化の段階に至っている。そこで、免疫抑制・亢進作用に絞って、この免疫毒性について実施、評価したケースを紹介すると共に、免疫毒性試験を実施する上での課題や戦略について触れたい。

ケース1. 細胞障害性に基づく免疫抑制がみられたケース

サイクロフォスファミドをラットに1週間反復経口投与した際の成績を示す。通常検査項目では、リンパ球数の減少と胸腺重量の減少が、さらに病理組織学的検査では、骨髓造血の低下、脾白脾髄萎縮、胸腺萎縮がみられたが、この群では体重の増加抑制はみられなかった。免疫毒性試験項目では、脾細胞数の減少、フロサイトメトリーによる解析の結果 T cell, B cell 数の減少、LPS 刺激によるリンパ球幼若化反応の低下、T 細胞依存性抗原である羊赤血球 (SRBC) を用いた抗体産生能の低下を検出することが出来た。したがって、反復投与試験で免疫関連臓器に異常がみられた際には、T cell と B cell 等のリンパ球機能検査を中心とした免疫毒性試験法は有用であった。

ケース2. 生体防御機構の抑制が示唆されたケース

弊社で開発中であったシクロオキシゲナーゼ阻害剤の犬を用いた13週間反復投与試験中に、急性化膿性リンパ節炎を発症した事例を紹介する。被験薬剤を投与開始後17日、22日に各1例で急性化膿性リンパ節炎がみられ、切迫屠殺した。内側咽頭後リンパ節、肩前リンパ節、鼠径リンパ節に化膿巣がみられ *Corynebacterium* spp. が検出された。血清グロブリン濃度測定の結果、IgM 分画は8日目に、IgG 分画は15日目に上昇していた。そこで、感染に対する抗体産生反応は働いていると判断し、非特異的な生体防御機構に注目し解析した。好中球の貪食殺菌能に及ぼす影響をみた結果、*in vitro* で被験物質を作用させた際には 10^{-4} M で抑制がみられた。さらに、マウスを用いた大腸菌実験的感染に対する影響をみた結果、薬剤投与によりマウスの感染抵抗性は減弱した。なお、影響のみられた用量と薬効量との差が大きいことより、临床上問題にはならないと判断し、この薬剤の開発は継続された。

ケース3. 臨床試験で免疫亢進作用により副作用が増悪したケース

抗菌剤を投与した volunteer に眼科検査を実施したところ、12名中8名に播種状紅斑が出現した。この高頻度に発疹が出現した原因を追求する目的で、眼科検査時に用いた検査薬とこの抗菌剤について、モルモットを用いた全身性 rash モデルにより検討した。その結果、検査薬の Fluorescein により抗菌剤の遅延型アレルギー反応性が亢進し、発疹の頻度が上がったことが示唆された。

以上の3つのケースで垣間見られたごとく、免疫系は多種類の構成要素より成り、さらにそれらの相互作用が複雑であることより、免疫機能の評価は多岐に亘る。したがって、ラットを用いる免疫毒性試験法を基本とし、各薬剤の反復投与試験あるいは臨床試験の結果、作用メカニズム、適応対象となる患者さんの背景、類似薬剤の情報などを考慮し、最も適した試験を選択し、免疫毒性を評価する必要がある。さらに、バリデートされた試験種を増やすと共に、新しい技術や手法を応用し免疫毒性の評価法を開発することも望まれる。

Drug developments and Immunotoxicity

Yoshiki Sugihara

Drug Safety and Disposition, Eisai Co., Ltd.

Se2-5 Strategic Immuno Toxicity Evaluation of Pharmaceuticals

André H. Penninks, PhD

Experimental Immunology TNO Pharma P. O. Box 360, 3700 AJ Zeist, the Netherlands

Possible adverse effects of pharmaceuticals on the immune system have become a matter of increasing concern to the scientific, industrial and public community in recent years. In this respect immune dysregulation (suppression/enhancement), allergic reactions, and autoimmune disorders can be of relevance. This growing awareness of the possible unwanted immune-modulating effects of drugs has resulted in the release of several regulatory (draft) guidance documents for immunotoxicity testing. In Europe the EMEA has issued the "Note for guidance on repeated-dose toxicity including guidance on immunotoxicity" (CPMP/SWP/1042/99, in operation from October 2000), in the US the FDA (CDER) has released a draft "Guidance for Industry: Immunotoxicology evaluation of investigational drugs" (released April 2001) and in Japan the MHLW and JPMA will officially release a draft guidance document by approximately mid 2002.

In these different guidance documents a step-wise immunotoxicity testing strategy of new drugs is proposed, viz. initial testing, extended/secondary testing and eventually third immunotoxicity testing. The initial immunotoxicity testing is mainly focussed on assessing quantitative effects in order to flag potential immunotoxic compounds on cell numbers and the weight and histopathology of collected lymphoid organs/tissues. Extended/secondary immunotoxicity testing deals with more qualitative effects on the immune system using specific immune function- and host resistance assays. In the third immunotoxicity testing phase more mechanistic studies are performed. For the initial preclinical immunotoxicity testing in repeated-dose toxicity testing main endpoints in all guidance documents can be summarized in what is called "enhanced immunopathology testing". This includes; haematology, weights and histopathology of various lymphoid organs, and histopathology or cellularity of bone marrow. How to approach the identification and (semi) quantification of histopathological changes in lymphoid organs and tissues will be demonstrated by the experience obtained from various morphological changes induced by immunotoxic/immunomodulatory compounds. Differences in the various (draft) guidance documents which will be discussed are mainly restricted to this initial screening phase and concern the inclusion of lymphocyte subset analyses of spleen and/or peripheral blood by flow cytometry, the NK cell assay and/or antibody production to a T cell-dependent antigen. In the extended/secondary immunotoxicity testing phase different follow-up studies can be performed based on the nature of the immunological changes observed in the initial screening. Various immune function study protocols will be presented and discussed like the testing of the antibody production against T cell-(in) dependent antigens (i.e. the Plaque Forming Cell assay with SRBC and the measurement of antibody titers by ELISA against KLH as T cell-dependent antigen), Delayed Type Hypersensitivity tests, host resistance models for specific and non-specific immunity (i.e. the Immunization Challenge Assay with *Listeria monocytogenes* and the *Listeria monocytogenes* infection model, respectively). Finally, hypersensitivity testing of pharmaceuticals, either with respect to mainly Type I humoral sensitization or Type IV cellular sensitization will be presented and discussed.

Se2-6 EMEA perspective on immunotoxicology testing of pharmaceuticals

Esther Putman MSc. Ph. D.

Medicines Evaluation Board, Den Hague, The Netherlands

The Note for Guidance on Repeated Dose Toxicity was released in July 2000 by the CPMP (<http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/104299en.pdf>). This NfG was revised to update the guidance on immunotoxicity. Immune toxicity screening is incorporated in the NfG in accordance to the tiered testing approach, i.e. an initial screening phase and extended studies. The tiered testing approach is considered sufficiently reliable to be used in a regulatory setting. Tiered testing strategies have been developed to assess direct immunotoxicity (suppression or stimulation). Hypersensitivity or testing for autoimmune potential is not in scope of this Note for Guidance. For guidance on hypersensitivity testing see (<http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/214500en.df>).

In attempting to prevent an increase in animal use and number of studies the SWP decided not to issue a separate guideline on immunotoxicity, but to update the Note for Guidance on Repeated Dose Toxicity. As a result, the repeated dose toxicity test evaluation has been extended to include immunotoxicity screening. The NK-cell activity assay and lymphocyte subset phenotyping are selected because they enhance the sensitivity of standard toxicity testing for immune toxic effects, without the use of satellite animals. As an alternative, the primary antibody response to T-cell dependent antigen is suggested which allows a more holistic screen of the immune system. For the interpretation of the initial immunotoxicity screen the CPMP document advocates an integrative analysis of the changes in the immune system and other types of toxicity and the health status of the test animal.

If the initial screening phase suggests direct immunotoxicity, follow-on studies in animals may be warranted on a case-by-case basis to further study the altered immune response. The design of extended animal studies will depend on the nature of the immunological changes observed in the initial screening phase. It should include comprehensive *in vivo* or *ex vivo* assays of immune function.

Since the release of the NfG industry has raised a number of questions with regard to the implementation of the NfG. These questions focus on;

- a) preferred endpoints of routine screening i.e., lymphocyte subsets or a primary antibody response to a T-cell dependent antigen, etc.
- b) timing of testing, i.e., during early development or parallel to phase II clinical trials?

This presentation will handle these and other questions with regard to immunotoxicity testing as requested by the CPMP Note for Guidance.

Se2-7 総合討論

一般演題(口演)

TOXICOLOGY

0-01

2,4,6-トリニトロフェノールの新生児反復投与毒性および若齢動物毒性試験結果との比較

○和泉宏幸¹、和田 肇¹、小泉睦子²、鎌田栄一²、長谷川隆一²

¹(株)パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究部 安全性研究室、

²国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室

【目的】3種の化学物質の毒性が、新生児で増強することを昨年の本学会で報告した。本研究では2,4,6-トリニトロフェノールを用い、前回と同様に出産直後から生後21日までのラットに投与し、すでに既存化学物質点検の一環として化審法に基づいて実施された若齢動物を用いた28日間反復投与毒性試験（以下、28日試験）結果との比較検討を行った。【材料及び方法】2,4,6-トリニトロフェノール（CAS No.88-89-1、純度81.4%）を0.1% Tween 80 添加0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁し、予備試験では20、100及び500 mg/kgで4日齢の雌雄SD系SPFラットに18日齢まで強制経口投与した。本試験では5、20及び80 mg/kgで21日齢まで強制経口投与し、発生の指標を含め詳細に解析した。なお、全ての試験は化審法GLP下で行った。【結果及び考察】予備試験の500 mg/kg群では投与4日までに全動物が死亡し、100 mg/kg群では雄で体重増加抑制、肝及び腎比重量の増加が、雌では半数（2/4）が死亡したが、20 mg/kg群では異常は認められなかった。本試験では80 mg/kg投与群までいずれの毒性指標にも影響は認められなかったため、本試験条件下における本物質の無毒性量は80 mg/kg/dayと判断した。若齢動物を用いた28日間試験では100 mg/kgで軽微ではあるものの貧血と肝への影響が認められたため無毒性量は20 mg/kg/dayとなり、見かけ上新生児で毒性が軽減されたが、全体の結果から実質的にはほぼ同等の毒性が発現したと考えられた。

Repeated dose toxicity of 2,4,6-trinitrophenol in newborn rats and the comparison with that in young rats

Hiroyuki IZUMI¹, Hajime WADA¹, Mutsuko KOIZUMI², Eiichi KAMATA², Ryuichi HASEGAWA², ¹Department of Toxicology, Panapharm Laboratories Co. Ltd., Kumamoto, Japan, ²Div of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

0-02

3-アミノフェノールの新生児反復投与毒性試験結果と若齢動物毒性試験結果の比較

○西村信雄¹、横並倫宜¹、池谷政道¹、小泉睦子²、鎌田栄一²、長谷川隆一²

¹(株)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 総合評価研究室

【目的】昨年の本学会において4-ニトロフェノール、2,4-ジニトロフェノール及び4-クロロフェノールの新生児に対する毒性と若齢動物に対する毒性を比較検討し、報告した。また、前2物質については更に詳細な検討を加え、新生児が若齢動物より約2-4倍感受性の高いことを示した。本研究では、既存化学物質点検の一環として化審法に基づく28日間反復投与毒性試験（以下、28日試験）において若齢動物での毒性が公表されている3-アミノフェノールを、前回と同様に生後4日のラットに生後21日まで投与し、28日試験の結果と比較検討した。【材料及び方法】3-アミノフェノール（CAS # 591-27-5、純度99.7%）を1% CMC-Na 溶液に懸濁し、24、80及び240 mg/kgで4日齢の雌雄SD系SPFラットに21日齢まで強制経口投与し、発生の指標を含め詳細に解析した。半数の動物は12週齢まで無処置で維持し、同様の解析を行った。なお、本試験は化審法GLP下で行った。【結果及び考察】240 mg/kg投与群では振戦、体重増加抑制などに加え、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大、肝臓及び腎臓重量の増加がみられた。80 mg/kg投与群では、雄で肝臓重量の増加が、雌で血中グルコースの減少がみられた。24 mg/kg投与群では、いずれの検査項目にも被験物質投与の影響は認められなかった。本試験条件下における本物質の無毒性量は80 mg/kg/dayと判断した。28日試験での無毒性量は720 mg/kgでの振戦、貧血、肝への影響から240 mg/kg/dayであったことから、3-アミノフェノールの場合も新生児で約3倍感受性が高いと考えられた。

Repeated dose toxicity of 3-aminophenol in newborn rats and the comparison with that in young rats

Nobuo NISHIMURA¹, Tomonori ENAMI¹, Masamichi IKEYA¹, Mutsuko KOIZUMI², Eiichi KAMATA², Ryuichi HASEGAWA², ¹Bozo Research Center Inc., Gotemba Laboratory, Shizuoka, Japan, ²Division of Risk Assessment Biological Safety Research Center National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

O-03

ラットにおける血中心臓ホルモンの日内変動及び麻酔の影響について

○大野理絵, 宮田裕人, 白根里加, 岩城理進, 木村正明

大正製薬(株) 医薬動態安全性センター 安全性研究室

【目的】 ANP 及び BNP は、心臓において生合成され血液中に分泌される心臓ホルモンとして知られている。我々は第 27、28 回本学会において ANP、BNP がラット心障害時の指標になり得ることを報告してきた。今回は、ANP 及び BNP の背景値を確認する目的で両ホルモンの日内変動及び麻酔による影響について検討を行なった。【方法】 生後 10 週齢の Crj:CD (SD) IGS 系雄性ラットを使用した。日内変動の検討としては、4 時間毎に計 6 ポイント、各 5 匹ずつを断頭し、血液を採取した。また麻酔による影響の検討として、エーテル、ペントバルビタール、ウレタン処置を各 8 匹ずつ行ない、それぞれ麻酔下で血液を採取した。なおこの際比較対照として無麻酔(断頭処理)群を設定した。ANP、BNP の測定は RIA 法により行った。【結果及び考察】 (1) 日内変動の検討: 22:30~2:30 に ANP の高値、BNP の低値がそれぞれ認められた。(2) 麻酔による影響: エーテル麻酔で ANP の高値、ペントバルビタール・ウレタン麻酔で BNP の高値及びバラツキの増大がそれぞれ認められた。ラットの一般毒性試験では、エーテル等の麻酔薬が常用されているが、測定値の解釈には麻酔による影響を考慮した解析が必要と思われる。また、日内変動を認めたことから日中の一定時間に速やかに採血を行なうことが望ましいと考えられた。

Circadian rhythms and effect of anesthesia on plasma cardiac natriuretic peptide levels in rats

Ohno RIE, Miyata HIROTO, Shirane RIKI, Iwaki YOSHINOBU, Kimura MASAOKI, Toxicology Laboratory, Drug Metabolism and Toxicology Research Center, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd

O-04

ビーグル犬における尿及び血中ブドウ糖濃度並びに耐糖能試験についての基礎検討

○渡辺 大, 中良裕美, 石井俊也, 薄口謙基, 赤木圭介, 水口浩康, 長島吉和, 岡庭 梓

(株)ポプリアサーチセンター 函南研究所

【目的】 糖質代謝異常検出の前段階としてビーグル犬についての基礎データ整備を目的とした実験を行った。【方法】 10~33 週月齢の雄雌各 5 頭(体重: 雄 8.0~13.5kg, 雌 6.6~10.3kg), 計 10 頭を用い、制限給餌下(DS-A, 300g/頭/日, 自由給水)で実施。いずれも約 16 時間絶食後に試料採取。血糖測定: 血漿を Gluc-DH 法で定量。Fructosamine: 血漿を FOD-TOOS 法で定量。耐糖能: 50%ブドウ糖溶液を 5mL/kg, BW の用量で経口投与。投与前, 投与 30, 60, 90, 120 及び 180 分後に採血。ブドウ糖濃度を定量。尿糖測定: 非絶食試料を血糖と同様に測定。検査は 1 週間間隔で 2 回実施。【結果】 (それぞれ雄雌を合わせた第 1 回及び第 2 回の値) 尿糖: 平均 13.4 又は 12.5mg/16hrs. (実測値 10.4~16.9 又は 1.9~19.5mg/16hrs.), 血糖: 平均 97 又は 96mg/dL (実測値 90~111 又は 88~112mg/dL), Fructosamine: 平均 109 又は 107 μ mmol/L (実測値 93~123 又は 98~119 μ mmol/L), 耐糖能: 120 分値平均 111.3 又は 106.8mg/dL (実測値 89~149 又は 63~145mg/dL) 【まとめ】 1 測定の尿糖定量値が著しい低値を示したが、同時点での他の測定値は他例と異なることなく、偶発的変動と考えた。経口耐糖能試験では 120 分後の血糖値は空腹時血漿値に近かった。以上、実験用ビーグル犬の正常値として、尿糖値は 20mg/16hrs. 以下(試験紙による半定量試験では-)、血糖値は 120mg/dL 以下であり、Fructosamine 値は 100~120 μ mmol/L、いずれも再現性に富むこと、経口耐糖能試験の判定は 2 時間が適当と考えた。

Basic study to define baseline values on sugar-related parameters in beagle dogs

Dai WATANABE, Hiromi NAKARA, Toshiya ISHII, Yasumoto MIZOGUCHI, Keisuke AKAGI, Hiroyasu MIZUGUCHI, Yoshikazu NAGASHIMA, Azusa OKANIWA, Kannami Laboratories, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan

0-05

ブレオマイシン誘発肺障害モデルを用いた肺毒性評価

○鈴木 睦, 山本由紀子, 井出陽一, 川原潤一

キリンビール 医薬カンパニー 開発本部 医薬開発研究所

【目的】ブレオマイシン誘発肺障害モデルラットを用いて、正常ラットで肺障害性を示さない新規抗癌剤の肺障害性について検討した。【方法】7週齢の雄性SD (IGS) 系ラットを用い、エーテル麻酔下で生理食塩液に溶解したブレオマイシン [1mg力価/body, 100 μ L/body] を気管内投与した。その1週間後に新規抗癌剤の1および3mg力価/kgを3日間反復静脈内投与した。投与期間終了後にエーテル麻酔下で剖検し、肺の病理組織学的検査および電子顕微鏡学的検査を実施した。【結果および考察】ブレオマイシンの気管内投与により、修復期変化として肺に軽度の線維化が認められ、その他に炎症性の細胞浸潤、出血などが認められた。修復期に新規抗癌剤を投与することにより、病理組織学的検査で出血の増悪が認められ、肺胞への細胞性の滲出物が認められた。さらに電子顕微鏡学的検査でII型肺胞上皮の障害および層板小体が認められた。新規抗癌剤のみ投与した正常ラットには、肺で異常は認められなかった。これらの結果から、新規抗癌剤は正常な肺に対して毒性を示さないにもかかわらず、肺にあらかじめ障害がある場合に毒作用を有することが明らかとなった。新規抗癌剤は蛋白合成阻害作用を有しており、ブレオマイシンによる肺障害の修復過程を阻害すること、II型肺胞上皮への障害が顕著であることから正常ラットでは検出しにくい肺への作用が本モデルを使用することで明らかにされたと考えられた。

Lang toxicity evaluation using rat bleomycin-induced injury model

Mutsumi SUZUKI, Yukiko Yamamoto, Youichi Ide, Junichi Kawahara, 2-2 Soujya-Machi 1 Choume Maebashi-shi Gunma, Japan

0-06

アルビノラットにおけるパターン反転刺激による視覚誘発電位を利用した
エタンブトール (EB) の視覚毒性検出の検討

○佐々木正治, 八木久美子, 栗原明義, 宮田裕人, 中村 勇, 岩城理進, 木村正明

大正製薬(株) 医薬動態安全性センター 安全性研究室

視覚誘発電位 (VECP) の検出は、ラットでは多くの場合F-VECPを指標としており、P-VECPの報告は少ない。我々は現在までにIGSラットにパターン刺激を与え、再現性よくVECP波形を検出している。今回、視覚毒性物質のEBを4週間反復投与したラットにパターン刺激を与えVECPを測定し、視覚への影響を検討した。(材料及び方法)9週齢のIGS雌性ラットを12例使用した。VECP測定のための電極装着は、測定の1週間前までに麻酔下で実施した。電極は、脳波用ビス電極をbregmaの前方2mm, 正中線側方2mm (不閉電極) 及び後方6mm, 正中線側方4mm (閉電極) に埋め込み、歯科用セメントで固定した。群構成は対照群 (p.o.2W+s.c.2W: C群), EB250mg/kg (p.o.2W+s.c.2W: L群), EB500mg/kg (p.o.2W+s.c.2W: H1群), EB500mg/kg (s.c.4W: H2群) の4群, 各群3例とした。VECP測定は、1週間間隔で実施した。測定条件は、モニターまでの距離: 150mm, Checker Size: 100mm, 刺激頻度: 2Hz, モニターの平均輝度: 25cd/m², 加算回数: 200回, 解析時間: 300msec, Reject Level: ± 4 div, Low-filter: 1Hz, High-filter: 100Hzとした。得られたVECP波形のP1波の潜時及びPIN1の振幅について解析した。(結果及び考察) C群のP1潜時は投与期間中変化しなかったが、H1群及びH2群では投与4WにP1潜時の延長が認められた。PIN1の振幅については、EBによる影響は明確でなかった。以上の結果は、ラットにおけるパターン刺激によるVECPが、P1潜時を指標とすることにより、薬物性視覚障害検出法として有用であることを示唆している。

Ocular toxicity of Ethambutol detected by visually evoked cortical potential (VECP) using pattern-reversal stimulation in albino rats

Shoji SASAKI, Kumiko YAGI, Akiyoshi KURIHARA, Hiroto MIYATA, Isamu NAKAMURA, Yoshinobu IWAKI, Masaaki KIMURA, Toxicology Laboratory, Drug Metabolism and Toxicology Research Center, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama, Japan

0-07

トキシコキネティクスに関する国内製薬企業へのアンケート調査について

○杉山明男, 竹川晃司, 伯木英夫, 本橋道生, 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】医薬品開発におけるトキシコキネティクス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実施した。【調査方法】アンケート調査は前期（H11-12）と後期（H13-14）に分けて2回実施した。前期アンケートでは、日本製薬工業協会加盟88社を対象に67社より得られた回答結果を集計した。後期アンケートでは、日本製薬工業協会加盟83社を対象に40社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】前期調査テーマは「効率的な医薬品開発のためのトキシコキネティクスの有効活用」と題し、TKデータ解釈上の問題点、臨床における安全性との関連解釈や適切な毒性試験設定の支援という観点でTK活用の実態調査を行った。その結果、各社におけるTKの現場からより多くの具体的な事例を集めることができ、有用な情報としてまとめることが出来た。また、後期調査テーマは「研究・開発初期段階でのスピードアップおよび評価の質向上におけるPK/TKの有効活用」と題し、創薬段階にポイントを絞り、その戦略的PK/TK実施の実態および関連技術に関するアンケート調査を行い、今後の医薬品開発の初期探索時の参考となる情報が得られた。本演題では、上記TK関連のアンケート調査の全体を総括し、実施の背景、内容、結果概要について紹介するとともに、今後の展望についても触れる。具体的な調査結果については、以下の4演題にて報告する。

Summary of questionnaire surveys of toxicokinetics in pharmaceutical industries in Japan

Akio SUGIYAMA, Kouji TAKEKAWA, Hideo HAKUSUI, Michio MOTOHASHI, Toshiaki MATSUZAWA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

0-08

トキシコキネティクスの有効活用に関する国内製薬企業へのアンケート調査（TKPJ活動その1）

○筒井 将, 若園 博, 岩崎正和, 川瀬一郎, 石河芳治, 金丸 博, 西 直樹,
松島英司, 田中 眞, 尾崎潤一郎, 松澤景子, 石井成幸, 望月 勉, 小野田 誠,
山田 弘, 田中由夫, 本橋道生

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】「効率的な医薬品開発のためのトキシコキネティクスの有効活用」と題して、1) 各種毒性試験におけるTK上の問題点と対策、2) ヒト安全性評価に役立つTKデータの利用等の観点からTK活用の実態調査を行った。【調査方法】日本製薬工業協会加盟88社を対象にアンケート調査を実施し、67社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】各種毒性試験のTKにおいては、用量相関、反復変動、個体差等の変動要因および代謝物の存在といったTK担当者にとってより現実に直面した部分での評価上の問題点が多くあげられ、それらに対する問題解決の具体的な事例も回答より得られた。特にヒト特有代謝物については、その代謝物の存在をより早期に確認し、安全性を担保しておきたいとする姿勢が窺えた。また、ヒト安全性評価に役立つTKデータの利用については、安全域評価および臨床用量設定との関連において、各社の様々な考え方を得ることができた。更に精度の高い評価を行うためには、ヒト試料を用いたin vitro試験やPPKデータの獲得により、TKデータと併せて総合的に考察することが必要と考えられた。TKガイダンスが施行されて約4年目の調査結果であるが、本アンケート調査を通して、各社での医薬品の安全性評価におけるTK利用はほぼ定着したことが確認された。

Questionnaire survey for effective applications of toxicokinetics in pharmaceutical industries in Japan

Masaru TSUTSUI, Hiroshi WAKAZONO, Masakazu IWASAKI, Ichiro KAWASE, Yoshiharu ISHIKAWA, Hiroshi KANAMARU, Naoki NISHI, Eiji MATSUSHIMA, Makoto TANAKA, Jyunichiro OZAKI, Keiko MATSUZAWA, Nariyuki ISHII, Tsutomu MOCHIZUKI, Makoto ONODA, Hiroshi YAMADA, Yoshio TANAKA, Michio MOTOHASHI, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

0-09

創薬段階における in silico 評価〔物性、薬物動態、毒性〕に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その2)

○竹川晃司, 杉山明男

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】医薬品の研究・開発初期段階における PK/TK および関連技術についてアンケート調査を実施し、国内製薬企業における創薬段階での in silico 評価の実施状況をまとめた。【調査方法】日本製薬工業協会加盟 83 社を対象にアンケート調査を実施し、40 社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】In silico スクリーニングは、回答した約 4 割の企業で実施されていた。一方、未実施の企業が半数以上ではあるが、導入予定および導入を考えている企業がそのうちの 7 割近く存在し注目度が高いことが窺えた。今後は多くの企業で整備・運用が取り進められるものと考えられた。但し、現状の問題点としては予測精度や導入/運用コスト面があげられた。また、探索、合成、動態および毒性などの幅広い部門で利用されているが in silico のデータだけで評価している施設は少なく、実測値との組み合わせで評価する考え方が比較的多かった。このことは、予測精度の問題もあるがむしろ自社データベース化との関連があるものと考えられた。今回の調査を通して、本分野における各社の関心度は高いことが確認され、in silico 評価をスクリーニングのプロセスに効率的に組み込むためには、現有ソフト等の機能や精度を十分に把握し、その目的や重み付けを明確にした上で使用することが望ましいと考えられた。本発表では、各社における in silico 評価利用の現状と考え方等について調査結果を報告する。

Questionnaire survey of in silico evaluation (physicochemical property, pharmacokinetics and toxicity) in pharmaceutical industries in Japan

Koji TAKEKAWA, Akio SUGIYAMA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

0-10

探索薬物動態試験とその効率化に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その3)

○河津剛一, 麻生良典

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】医薬品開発における初期探索段階での戦略的 PK/TK 実施の実態に関するアンケート調査を実施し、“薬物動態”の観点からまとめた。【調査方法】日本製薬工業協会加盟 83 社を対象にアンケート調査を実施し、40 社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】探索薬物動態試験 (消化管吸収、血中動態、代謝酵素阻害・誘導など) の実施目的は動態特性・安全性面に優れる化合物の選択、動態面からの構造提案が主であった。また、試験結果の妥当性や化合物選択に関わる判断基準を設定している企業は少なかった。絶対評価ではなく、薬物固有の薬理ポテンシャルを勘案しながら一連の化合物群での順位付けを実施しているものと推察された。効率化の観点からは、薬物濃度測定の高速化に対する事例が多く、LC/MS/MS や多連プレート等を用いた、短期間での分析法確立や測定の実施が、効率化に寄与していることが窺えた。以上、探索薬物動態試験の構成や個々の手厚さは各企業の考え方によると考えられるが、開発候補化合物の特徴に応じて少ない情報でいかにその動態特性を説明・評価できるかが開発効率化のポイントになるものと思われる。更に、遺伝多型、P-gp など薬物輸送担体に関するアンケートも実施したが、近年急速に進歩しているゲノム関連技術を探索研究に取り入れることにより、開発のスピードアップ、精度の向上 (ヒトへの外挿性の向上) など探索研究の効率化に貢献することが期待される。

Questionnaire survey of exploratory pharmacokinetic research and its efficiency in pharmaceutical industries in Japan

Koushi KAWAZU, Yoshinori ASO, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

0-11

探索毒性試験および TK とその効率化に関する国内製薬企業へのアンケート調査 (TKPJ 活動その 4)

○奥村修造, 木村哲夫

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】医薬開発における初期探索時の参考となる情報を“毒性試験および TK”の観点からまとめた。【調査方法】日本製薬工業協会加盟 83 社を対象にアンケート調査を実施し、40 社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】探索段階における毒性スクリーニングおよび TK の有効活用に関する各社の実態および考え方についてまとめた結果を報告する。調査の結果、探索段階での毒性スクリーニングは約 9 割の企業で実施されており、小動物を用いた一般毒性試験及び変異原性試験が主な試験種であった。またそのうちの約 7 割が、一般毒性試験で TK を実施しており、動物種としてはラット、イス、マウスの順が多かった。一方、in vitro 試験を探索毒性スクリーニングに組み込んでいる企業は約 7 割を占め、遺伝毒性 (細菌や哺乳類培養細胞)、肝毒性 (初代培養肝細胞)、心毒性 (心筋細胞や心室乳頭筋等)、腎毒性の順が多かった。TK 試験の評価ポイントとしては暴露確認と安全域評価が主であったが化合物のデザイン情報、選択、見極めに有効に利用されていた。但し、化合物の取捨選択基準には各社により大きな差異が認められ、ケースバイケースとする企業も多かった。毒性スクリーニングのスピードアップには、使用化合物の少量化と共に in vitro 試験の活用及びその HTS 化、in vivo 試験においてはそのデザイン (検査項目、n 数及び用量数) の絞り込み等の工夫がなされていた。

Questionnaire survey of exploratory toxicity studies, toxicokinetics and their efficiency in pharmaceutical industries in Japan

Shuzo OKUMURA, Tetsuo KIMURA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

0-12

ダイオキシン類の甲状腺機能への影響とそのメカニズムの検討

○西村典子¹, 末元純三^{2,3}, 遠山千春^{1,3}

¹国立環境研究所 環境健康領域, ²国立環境研究所 環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクト, ³科学技術事業団・CREST

甲状腺ホルモン (thyroxine; T4, triiodothyronine; T3) はエネルギー産生、成長、分化の促進に必要である。ダイオキシン類や PCBs (polychlorinated biphenyls) は甲状腺ホルモン代謝に影響を及ぼすことが知られているが、ダイオキシン類による血中 T4 の低下は肝の薬物代謝酵素の誘導により T4 のグルクロン酸抱合が促進され、胆汁への排泄が亢進する結果であると考えられている。一方、PCBs は中枢神経系に甲状腺ホルモンを輸送するトランスサイレチン (Transthyretin; TTR) と結合して T4 濃度の低下を起こすといわれている。甲状腺ホルモンは周産期における脳の発生・分化に重要な役割を果たしており、このホルモンの欠如や過剰が発生過程で生じると不可逆的に中枢神経系へ影響を及ぼすことから、母体のダイオキシン類曝露による子の甲状腺機能への影響が注目されている。我々は胎児期及び授乳期のダイオキシン類による曝露が仔ラットの甲状腺機能へ及ぼす影響について検討を行い、さらにダイオキシン受容体 (aryl hydrocarbon receptor; AhR) 欠損マウスおよび TTR 欠損マウスを用いて、ダイオキシン類による T4 低下のメカニズムの検討を行った。ダイオキシンの周産期曝露により離乳期の T4 の低下に続いて甲状腺過形成が起こることを認め、さらにダイオキシンの甲状腺機能への影響が AhR 依存性であることを確認した。

Mechanisms of a hypothyroxinemia by the exposure of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat

Noriko NISHIMURA¹, Jyunzo YONEMOTO^{2,3}, Chiharu TOHYAMA^{1,3}, ¹Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan, ²Endocrine Disruptors & Dioxin Research Project, National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan, ³JST, CREST, Kawaguchi, Japan

0-13

Phenobarbital および 3-methylcholathrene のラット甲状腺ホルモン
および UDP-GT 活性に及ぼす影響

○向井大輔, 稲垣成憲, 村田共治, 井上博之

(財)食品農医薬品安全性評価センター

【目的】ラットにおいて, phenobarbital (PB) や 3-methylcholathrene (3-MC) などの UDP-GT 誘導剤は血清中の甲状腺ホルモンレベルを減少させることが知られている。今回, 両化合物を併用投与した場合のラットに与える影響を単独投与の場合と比較した。【方法】PB 80 mg/kg/day と 3-MC 20 mg/kg/day をそれぞれ単独または併用で F344 系雌性ラット (9 週齢) に 5 日間経口投与した。血清について全自動化学発光免疫測定装置 ACS180 PLUS で total triiodothyronine (T_3), free triiodothyronine (Free- T_3), total thyroxine (T_4) および free thyroxine (Free- T_4) 濃度を測定するとともに ELISA 法で thyroid stimulation hormone (TSH) 濃度を測定した。また, ^{125}I T_4 を基質として肝臓中 T_4 UDP-GT 活性を測定した。【結果】対照群と比較して, PB 投与群および PB と 3-MC の併用投与群において血清中 T_4 および Free- T_4 が有意な減少を示し, 肝臓中 T_4 UDP-GT 活性が有意な増加を示した。これらの変化は併用投与群において明らかに強い変化がみられた。また, 3-MC 投与群においても有意差は認められなかったが, 軽度と同様の傾向がみられた。なお, いずれの群においても血清中 T_3 , Free- T_3 および TSH 濃度には変化は認められなかった。【結論】PB および 3-MC の, 血清中 T_4 , Free- T_4 および肝臓中 T_4 UDP-GT 活性に対する作用は, 両者を併用することによって増強されることが示された。

Effect of phenobarbital and 3-methylcholathrene on thyroid hormone and UDP-GT activity in rats.

Daisuke MUKAI, Shigenori INAGAKI, Kyouji MURATA, Hiroyuki INOUE, Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides, Shizuoka, Japan

0-14

Kanechlor-500 投与ラットにおける血清中サイロキシン濃度の低下と肝 UDP-glucuronosyltransferase
活性との関連性

○加藤善久¹, 山崎友樹¹, 生城真一², 伊藤由里子¹, 原口浩一³, 井柳 亮⁴, 木村良平¹, 出川雅邦¹

¹静岡県立大学 薬学部 薬理学教室, ²姫路工業大学 理学部 生命科学科 生体物質化学 I 講座,

³第一薬科大学 健康化学教室, ⁴静岡県立大学 薬学部 衛生化学教室

【目的】Kanechlor-500 (KC500) 投与ラットにおける血清中サイロキシン (T_4) 濃度の低下が肝 UDP-glucuronosyltransferase (UDP-GT) 活性増加に起因しているか否かを明らかにすることを目的とした。【方法】7~8 週令の Wistar 系雌性ラットあるいは UGT1 欠損ラット, Gunn ラットに KC500 (100 mg/kg) を腹腔内投与し, 投与後 4 日に血清中 total T_4 , 総トリヨードサイロニン (total T_3) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度を測定するとともに, 肝ミクロソームにおける抱合活性および特異的ペプチド抗体を用いた UGT 分子種の発現量を測定した。【結果・考察】KC500 投与により, Wistar 系ラットおよび Gunn ラットともに肝ミクロソームの chloramphenicol-UDP-GT (UGT2B1) の発現量および抱合活性が増加し, その増加は Wistar 系ラットの方が Gunn ラットより顕著であった。また, Wistar 系ラットでは T_4 -UDP-GT (UGT1A1 および 1A6) の発現量やその活性が顕著に上昇したのに対して, Gunn ラットでは全く変化しなかった。一方, 血清中 total T_4 濃度には両ラットともに同程度の著しい低下が認められ, total T_3 および TSH 濃度には両ラットともに変化は見られなかった。以上, KC500 投与により, Wistar 系ラット, Gunn ラットともに, 血清中 total T_4 濃度が有意に低下することを明らかにした。Aroclor1254 投与時の血清中 T_4 濃度の低下は UDP-GT の誘導による T_4 抱合活性促進に起因すると考えられてきたが, 本研究により UDP-GT の発現や活性上昇が見られない Gunn ラットでも T_4 濃度の低下が惹起されることが明らかとなり, この低下は UDP-GT 非関与の別の作用機序によるものと考えられた。

Relation between the increase in hepatic UDP-GT and the decrease in serum thyroxine level in Kanechlor-500-treated rats

Yoshihisa KATO¹, Tomoaki YAMAZAKI¹, Shinichi IKUSHIRO², Yuriko ITO¹, Koichi HARAGUCHI³, Takashi IYANAGI⁴, Ryobei KIMURA¹, Masakuni DEGAWA⁴, ¹Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan, ²Himeji Institute of Technology, Faculty of Science, Hyogo, Japan, ³Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka, Japan, ⁴Department of Molecular Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan

O-15

2,2',4',5'-Tetrabromobiphenyl (TetraBrB) のメチルスルホン代謝物のラット肝 UDP-glucuronosyltransferase の誘導

○加藤善久¹, 伊藤由里子¹, 原口浩一², 山崎友朗¹, 木村良平¹

¹静岡県立大学 薬学部 薬理学教室, ²第一薬科大学 健康化学教室

【目的】3-Methylsulfonyl-および4-methylsulfonyl-TetraBrBs (3-MeSO₂-および4-MeSO₂-TetraBrBs), および TetraBrB のラット肝 UDP-glucuronosyltransferase (UDP-GT) 活性に対する効果, およびそれらの肝 UDP-GT 活性の増加と血清中サイロキニン (T₄) 濃度の低下の関連性について検討した。【方法】Sprague-Dawley 系雄性ラットに 3-MeSO₂-および4-MeSO₂-TetraBrBs, および TetraBrB (各 20 μmol/kg) を 1 日 1 回 4 日間腹腔内投与し, 最終投与後 1 日の肝臓の UDP-GT 活性, 血清中 total T₄, 総トリヨードサイロキニン (total T₃) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度を測定した。【結果・考察】Chloramphenicol-UDP-GT (UGT2B1) 活性は, いずれの化合物を投与した場合にも有意に増加し, その増加は 3-MeSO₂-TetraBrB を投与した場合に顕著であった。3-MeSO₂-TetraBrB 投与により, T₄-UDP-GT (UGT1A1/6) 活性は有意に増加したが, 血清中 total T₄ 濃度は変化しなかった。一方, TetraBrB 投与により, T₄-UDP-GT 活性は変化しなかったが, 血清中 total T₄ 濃度は有意に低下した。4-MeSO₂-TetraBrB 投与により, それらの変化は見られなかった。また, 血清中 total T₃ および TSH 濃度は, いずれの化合物投与によっても変化は認められなかった。以上の結果から, ラットにおいて 3-MeSO₂-TetraBrB は肝 UGT2B1, UGT1A1/6 を誘導すること, 4-MeSO₂-TetraBrB および TetraBrB は肝 UGT1A1/6 を誘導することが明らかになった。また, TetraBrB は血清中 total T₄ 濃度の低下作用を有することが示された。さらに, この低下は, 肝の T₄-UDP-GT 活性の増加では説明が困難であることが示唆された。

The induction of hepatic microsomal UDP-glucuronosyltransferase by the methylsulfonyl metabolites of 2,2',4',5'-tetrabromobiphenyl in rats

Yoshihisa KATO¹, Yuriko ITO¹, Koichi HARAGUCHI², Tomoaki YAMAZAKI¹, Ryohei KIMURA¹, ¹Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan, ²Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka, Japan

O-16

表面プラズモン共鳴センサーを用いた迅速内分秘かく乱物質スクリーニング法

○小野 敦¹, 浅野和信², 橋本せつ子², 井上 達¹, 香野 純¹

¹国立医薬品食品衛生研究所 毒性部, ²ピアコア(株) 開発部

食品や環境中に含まれるホルモン様物質による内分秘かく乱作用が懸念されている。数方におよぶ物質について, そのホルモン様作用を再評価する必要性から, 迅速で信頼性の高いスクリーニング法が求められている。我々は, ホルモン受容体の作用機構に焦点をあてた cell free スクリーニング法として, 表面プラズモン共鳴センサー (BIACORE) を用いた内分秘かく乱化学物質スクリーニング法を構築し, 数十種類の化学物質について用量依存的結合活性化度の測定を行い, スクリーニング系としての有意性, 再現性について検討した結果を報告する。エストロゲンレセプター (ER) などのホルモン受容体は, リガンド依存性転写因子で内在性リガンドの結合により立体構造が変化して, 標的遺伝子上流の応答配列 DNA 上に転写コファクターを伴って結合し, 遺伝子転写を活性化する。BIACORE のセンサーチップに ER の応答配列 (ERE) を含む DNA およびコファクターのレセプター結合部位を含むペプチドを固定し, 化学物質のエストロゲン受容体への作用を ER と ERE あるいは ER とコファクターペプチドとの相互作用変化として検討できることが明らかとなった。またさらに速度論的解析より ER のアゴニスト, アンタゴニストを区別できる可能性が示された。結果から, 本法が化学物質のホルモン受容体作用を簡便かつ定量的に測定できる内分秘かく乱化学物質スクリーニング法として有用であることが示された。

High-throughput screening method of endocrine disrupting chemicals using surface plasmon resonance sensor

Atsushi ONO¹, Kazunobu ASANO², Setsuko HASHIMOTO², Tohru INOUE¹, Jun KANNO¹, ¹Division of Toxicology, National Institute of Health Science, Tokyo, Japan, ²Biacore K.K., Tokyo, Japan

0-17

バイオ医薬品の非臨床試験における全般的留意点

○紙田祐介^{1,2}、古賀照二^{2,3}¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²住友製薬(株)、³興和(株)

【目的】「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」については平成12年に医薬審第326号として制定されている。日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会 一般毒性グループでは、新しいバイオ医薬品の非臨床試験における問題点の抽出を行い、留意点としてまとめる作業を行っており、昨年度には会員社を対象に「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床試験に関するアンケート」も実施した。本発表では、バイオ医薬品の非臨床試験実施にあたっての全般的な留意点について考察した結果を紹介する。【結論】バイオ医薬品の薬理作用、すなわち生物活性は一般合成医薬品より選択性が高く、このことが動物を用いた安全性評価を困難なものにしている。動物種を選択：バイオ医薬品に反応する適切な種を選択することが肝要である。適切な種が存在しない場合、対応する人型タンパクを発現させたトランスジェニック動物や当該動物の相同タンパクが役立つことがある。最高投与量の設定：バイオ医薬品の場合、毒性が観察されない場合も少なくない。臨床用量の何倍程度で十分な安全域を確保できるかはケースバイケースであるが、AUCに基づく最高臨床用量の5倍程度を目安にするという考えもある。毒性変化と薬理作用：薬理作用の過剰発現による生体反応しか認められない場合、毒性と考える必要がないことも少なくない。

General Heeding Points in Non-clinical Studies on Biotechnology-Derived Pharmaceuticals

Yusuke KAMITA^{1,2}, Teruji KOGA^{1,2}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Sumitomo Pharmaceutical Co. Ltd., Osaka, Japan, ³Kowa Company, Ltd., Fuji, Japan

0-18

バイオ医薬品の毒性試験における留意点

○黒川美佐男^{1,2}、前田康行^{1,2}¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²特田製薬(株) 総合研究所 安全性研究室、³日本たばこ産業(株) 医薬総合研究所 安全性研究室

【目的】一般毒性グループではバイオ医薬品の非臨床試験における安全性評価問題点を抽出し、留意点をまとめる作業を行い、昨年度には会員社を対象にバイオテクノロジー応用医薬品の非臨床試験に関するアンケートも実施した。本発表ではこれらの考察を紹介する。【結論】単回投与試験：バイオ医薬品では概略の致死量を高い投与量では求めにくい。反復投与試験の初回投与や安全性薬理試験のデータなどで評価可能である。長瀬、西村、谷口らの発表参照。長期投与試験：異種動物の中和抗体、非中和抗体確認は重要だが、抗体産生だけでは試験の中止の根拠にはならない。堀籠、紙田らの発表参照。また、2種類の動物種で試験を実施するが、適切な動物が1種類のみ場合は1種類でも良い。生殖毒性試験：適切な動物の有無、妊娠、妊娠可能な女性への適用などを考慮し、条件によっては試験の省略も有り得る。遺伝毒性試験：バイオ医薬品の遺伝毒性試験は必要とされないが、その有機構造的な解析、細胞増殖促進活性の有無などで実施するかを判断する必要がある。がん原性試験：バイオ医薬品のがん原性試験は必要とされないが、臨床投与期間、対象疾患患者群などによってはがん原性試験を評価する必要がある。

Heeding Points in Toxicity Studies on Biotechnology Derived Pharmaceuticals

Misao KUROKAWA^{1,2}, Yasuyuki MAEDA^{1,2}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Mochida Pharmaceutical Co., Ltd., Research Center, Toxicology Laboratory, Fujieda, Shizuoka, Japan, ³JAPAN TOBACCO INC. Toxicology Research Laboratories, Central Pharmaceutical, Research Institute, Hatano, Kanagawa, Japan

0-19

バイオ医薬品の安全性薬理および薬物動態試験における留意点

○野村明生^{1,2}, 柴田雅美^{1,3}, 海野 陸^{1,4}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²参天製薬(株), ³日研化学(株),
⁴日本オルガノン(株)

【目的】バイオ医薬品の非臨床試験は、ケースバイケースをコンセプトとした ICH-S6 ガイドラインに規定されたが、より具体的な立案指針の充実が求められている。日本製薬工業会/医薬品評価委員会/基礎研究部会・一般毒性グループでは、討議とアンケート調査を通じてバイオ医薬品の非臨床試験における問題点を抽出し、留意点としてまとめた。本発表では安全性薬理ならびに薬物動態試験について考察した結果を紹介する。【結論】1) 安全性薬理試験 バイオ医薬品の安全性薬理試験は、独立して、または毒性試験に組み込まれた形で実施し、毒性試験と共通の認識に基づき、種特異性を考慮して動物種の選択および投与量の設定などを行う。標準的には Core Battery (中枢・循環器・呼吸器系) および腎臓系に、必要に応じてフォローアップ・補足的試験を加えて検討する。In vitro 電気生理学的試験の実施は in vivo 心電図結果に基づいて判断する。2) 薬物動態試験 毒性試験用または臨床用製剤を用い、想定臨床投与経路で吸収および全身性曝露を評価する。放射性標識体は必ずしも利用できるとは限らないが、使用にあたっては標識体と非標識体との同等性、定量的な標識の付加と標識率、標識の脱着や無関係なタンパクへの再利用、安定性などを配慮する。天然型アミノ酸のバイオ医薬品の場合は生体内変化を調べる必要はないが、非天然型アミノ酸を含む場合には有用なことがある。

Heading Points in Safety Pharmacological Studies and ADME Studies on Biotechnology-Derived Pharmaceuticals

Akio NOMURA^{1,2}, Masami SHIBATA^{1,3}, Takashi UNNO^{1,4}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Santen Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan, ³NIKKEN CHEMICALS CO., LTD. Tokyo, Japan, ⁴Nippon Organon K.K. Osaka, Japan

0-20

構造からみたバイオ医薬品の非臨床試験における留意点

○堀龍博^{1,2}, 古賀朋子³, 門田利人⁴

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²ノボ ノルディスク ファーマ(株),
³ノバルティス ファーマ(株), ⁴日本ベーリンガーインゲルハイム(株)

【目的】バイオ医薬品の非臨床試験に関するガイドラインが平成 12 年に制定されているが、新しいタイプのバイオ医薬品の開発に伴い、より具体的な事例を考慮したガイダンスが求められている。日本製薬工業会/医薬品評価委員会/基礎研究部会・一般毒性グループで検討した、構造からみたバイオ医薬品の非臨床試験における留意点を紹介する。【結論】タンパク製剤：ヒト型タンパク誘導体では、天然型との生物活性の強度と質ならびに抗原性の差異を考慮する必要がある。非天然型アミノ酸を含むヒト型タンパク誘導体の場合は、さらに、当該アミノ酸を含むフラグメントの生物活性特性及び体内挙動にも注意を要する。ヒト型タンパクと合成化合物とのバイオコンジュゲートについても同様の考え方が適用される。ヒト型タンパクと他のタンパクとのバイオコンジュゲートの場合、生体に対する相互作用も考慮する必要がある。ペプチド製剤：基本的にタンパク製剤と同様の考え方が適用される。抗体：使用動物の組織あるいは細胞上にエпитープが発現していることを確認した上で試験評価を行うことが重要である。必要に応じ、T/G 動物の利用も考えられる。化学物質を結合させたイムノコンジュゲートに関しては、合成化学物質を結合させたバイオコンジュゲートと同様の考え方が適用される。ペプチドミミック、遺伝子治療医薬品及びアンチセンス医薬品：バイオ医薬品の範疇に入らず、バイオ医薬品ガイドラインも適用されないが、基本原則が参考になる。

Heading points in non-clinical studies for each category of biotechnology-derived drugs.

Hiroaki HORIGOME^{1,2}, Tomoko Koga³, Toshihito Kadota⁴, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Novo Nordisk Pharma Ltd., Tokyo, Japan, ³Novartis Pharma K.K., Tsukuba, Japan, ⁴Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd., Kawanishi, Japan

0-21

ペプチドミミック、アンチセンス、リボザイムの非臨床試験における留意点

○庭野吉己^{1,2}, 志垣隆通^{1,2}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²佐藤製薬(株) 医薬研究部,
³化学及血清療法研究所

【目的】新しいタイプのバイオ医薬品の毒性試験については、ICH-S6のガイドラインでは対応できないケースも想定される。日本製薬工業協会/医薬品評価委員会/基礎研究部会・一般毒性グループでは、新しいバイオ医薬品の非臨床試験における問題点の抽出を行い、留意点としてまとめる作業を行ってきた。本発表では、新しいバイオ医薬品の中でペプチドミミック、アンチセンスおよびリボザイムに焦点を当て非臨床試験の留意点について考察した結果を紹介する。【結論】ペプチドミミック：アンタゴニスト活性を持つケモカインミミックなどが想定される。検討しようとするペプチドミミックがヒト型受容体に特異的に作用する場合には、一般の毒性試験で用いる動物種では十分な反応が得られないことがある。このような場合には、ICH-S6ガイドラインを参考にして試験デザインを組むことにより適切な安全性評価が可能となることがある。アンチセンスおよびリボザイム：それぞれ「ある遺伝子から転写された mRNA と相補的な DNA 分子を細胞に投与して二重鎖を形成させ、その発現を遺伝子特異的に抑制する」および「触媒機能を持つ RNA であり、RNA を部位特異的に切断できる“RNA 制限酵素”として作用する」という薬剤であり、核酸によってヒトの遺伝子発現を制御するという共通点を持つ。従って、これら2つのタイプは、ICH-S6のガイドラインの対象としては不適切であり、遺伝子治療の範疇で扱うべきであると結論した。

Heading points in preclinical studies on peptide-mimics, antisense DNAs and ribozymes

Yoshimi NIWANO^{1,2}, Takamichi SHIGAKI^{1,2}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Pharmaceutical Research Department, Sato Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan, ³The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Kumamoto, Japan

0-22

単回投与毒性試験ガイドラインにおける日米欧の相違点

○長瀬英泰^{1,2}, 松澤利明¹

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²大日本製薬(株), ³山之内製薬(株)

日米欧での新医薬品の承認申請データを相互に活用できるよう規制等の環境を整え、動物等の資源を削減するとともに患者への迅速な医薬品の供給を図ることを目的に、日米欧医薬品規制ハーモナイゼーション国際会議(ICH)の活動が行われている。1991年11月にブリュッセルで開催されたICH-1において、トピックの1つとして単回投与毒性試験についての検討がなされた。この検討結果を踏まえ、単回投与毒性試験におけるLD₅₀値の算出については、継続的方向で各種のガイドラインの改正やそれに向けての活動が行われてきており、三種での統一見解となりつつある。一方、会議での検討はなされたものの未だハーモナイズされずに現在まで至っている事項の一つとして、単回投与毒性試験での使用動物に非げっ歯類は必須か否かという点がある。この事項について三種の規制当局に統一見解がなく、ガイドラインがハーモナイズされていないことが、各種で実施された試験のデータ相互受け入れの障壁となっているケースが見受けられる。

Differences among Japan, US, and EU in the Guidelines of Single Dose Toxicity Study

Hideyasu NAGASE^{1,2}, Toshiaki MATSUZAWA¹, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan, ³Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

0-23

非げっ歯類単回投与毒性試験の現状

○西村千尋^{1,2}、島山茂樹^{1,2}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²日本化薬(株)、³日清キョーリン製薬(株)

【目的】現在、ICHの議論で非臨床試験法のハーモナイゼーションが進められている。その中で、単回投与毒性試験に用いる動物の選定について、日本と米・EUの間で一致が見られていない。そこで、製薬協/基礎研究部会一般毒性グループでは、非げっ歯類での実施が必要かを検討し、ハーモナイズを図ることを目的に、当該試験の現状について製薬協加盟各社へアンケート調査を行なった。【結論】製薬協加盟企業61社から回答を得た。3/4が国内企業であり、1/4が外資系企業であった。日本での開発では、非げっ歯類を用いた単回投与毒性試験を実施する企業が多数を占めた。実施の理由は、ガイドラインで要求されているからが最も多かった。これは、当該試験のみで検出される毒性はほとんど無く、短期反復投与毒性試験などで十分代替可能であるとの理由による。当該試験を実施せずに臨床試験を実施あるいは申請した経験のある企業もあり、行政当局から求められた理由に対して、反復投与毒性試験での初回投与の結果などによる適切な説明により了承されている。一方、米・EUでの開発では、当該試験を実施せずに申請し、行政当局から指摘を受けた企業は1社も無かった。以上のことから、非げっ歯類の単回投与毒性試験は、その試験のみで検出される毒性はほとんど無く、日本での開発では、科学的な必要性よりも制度上の面から実施されている場合が多いというのが現状であった。

The present state of the single dose toxicity study in non-rodents

Chihiro NISHIMURA^{1,2}, Shigeki HATAKEYAMA^{1,3}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Nippon Kayaku Co., Ltd., Tokyo, Japan, ³Nissin Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama, Japan

0-24

今後の非げっ歯類単回投与毒性試験のあり方

○谷口勝彦^{1,2}、小林勇二郎³、佐神文郎⁴

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室、³(株)ツムラ 創薬研究所 安全性評価研究グループ、⁴エーザイ(株) 薬事政策部

【目的】非げっ歯類単回投与毒性試験の今後のあり方について、各社の考え方についての調査を実施した。【調査方法】製薬協加盟会社を対象にアンケート調査を実施した。【結果】将来も日本で非げっ歯類単回投与毒性試験が必要かどうかという質問に対し、約半数の企業が原則必要と回答した。原則必要な場合でも、ほとんどすべての企業が他の試験データ等(臨床試験データ、非げっ歯類反復投与試験、非-GLP非げっ歯類反復投与試験)があれば、不必要と答えた。また非げっ歯類単回投与毒性試験が必要なケースとして、臨床使用頻度、臨床に使用する剤型あるいは被験薬の生物活性に由来する等の例があげられた。非げっ歯類単回投与試験今後のあり方について意見を調査した結果、ICHガイドラインとの不整合、動物福祉や科学的な意義の点から、非げっ歯類単回投与毒性試験が不要と考える意見や、被験薬の特性や臨床用途などを考慮して、ケースバイケースで実施すべきと考える意見が複数あった。【考察】以上の結果から、非げっ歯類単回投与毒性試験について約半数の企業が将来も原則必要と考えているものの、非-GLP試験を含め代替試験が実施されれば不要と考えている事が明らかとなった。一方、被験薬の特性などで非げっ歯類単回投与毒性試験が必要なケースもある事から、今後は被験薬の特性等から試験実施の科学的妥当性を考慮した上でケースバイケースに対応できるように、ガイドラインの改訂が望まれる。

The ideal vision for the single dose toxicity study in non-rodents

Katsuhiko TANIGUCHI^{1,2}, Yujiro Kohayashi^{1,3}, Fumio Sagami^{1,4}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Laboratories Toray Industries Inc., Shiga, Japan, ³New Drug Discovery Laboratory, R&D Division TSUMURA&CO, Ibaraki, Japan, ⁴Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co.Ltd. Tokyo, Japan

0-25

試験モニター 委託試験の実態調査

○佐神文郎^{1,2}、谷口勝彦^{1,3}、斉藤明美^{1,4}、林 万律子^{1,5}、小林弘幸^{1,6}、原田勝彦^{1,7}、樋口史郎^{1,8}、松澤利明^{1,9}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²エーザイ(株) 薬事政策部、
³東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室、⁴北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、
⁵日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、⁶協和発酵工業(株) 医薬総合研究所 開発研究所、
⁷キリンビール(株) 医薬カンパニー 医薬開発研究所 ノンクリニカルグループ、
⁸わかもと製薬(株) 開発本部 薬事情報室、⁹山之内製薬(株) 薬事部

【目的】ICHによる非臨床ガイドラインのハーモナイズが進み、非臨床試験のアウトソーシングが増加している。アウトソーシングには、リスクも伴うことから、試験委託時の試験モニターの役割が重要と考えられる。本研究部会では、2001年度試験モニター教育に関するプロジェクトを発足し、アウトソーシングの現状を把握する目的で、製薬協加盟82社を対象に、毒性、薬物動態、安全性薬理の3領域からのアンケート調査を実施した。本モニタリングでは、これらアンケート結果より、アウトソーシングにおけるトラブル例を中心に、問題点とその対応、対策について検討した。【結果】毒性試験領域のアンケートは、82社中64社から回答が寄せられ、回答の殆どの会社が何らかのアウトソーシングを実施していた。試験の委託先は、国内を主体とする企業が多いが、海外の委託施設にも多くの企業からの委託が行われていた。委託先の選定理由は、信頼性をあげる企業が最も多く、次に技術・専門性、費用があげられた。試験モニターは、毒性試験担当者の兼任が主で、毒性試験の経験は、5年以上の企業が多かった。モニターの実施時期は、試験の実施段階に比べ、計画書と報告書のモニターが多く実施されていた。モニターの教育制度については、殆どの企業で設けていなかった。また、アウトソーシングに伴い、社内試験の技術の空洞化が始まっている事が明らかとなった。各試験実施段階のトラブル事例から、モニター教育の必要性が示唆された。

Study Monitor The examination for actual circumstances of outsourcing

Fumio SAGAMI^{1,2}, Katsuhiko Taniguchi^{1,3}, Akemi Saito^{1,4}, Mariko Hayashi^{1,5}, Hiroyuki Kobayashi^{1,6}, Katsuhiko Harada^{1,7}, Shiro Higuchi^{1,8}, Toshiaki Matsuzawa^{1,9}, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo Japan, ²Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd., Tokyo Japan, ³Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Laboratories, Toray Industries Inc., Shiga Japan, ⁴Research Division Research & Development HQ, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Fukui Japan, ⁵Department of Preclinical Science Nippon Roche Research Center (NRRC), Nippon Roche KK, Kanagawa Japan, ⁶Drug Development Research Laboratories, Pharmaceutical Research Institute, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Shizuoka Japan, ⁷Pharmaceutical Division, Pharmaceutical Development Laboratories, Kirin Brewery Co., Ltd., Gunma Japan, ⁸Regulatory Affairs & Information Department, Development Division, Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo Japan, ⁹Drug Regulatory Affairs Department, QA & RA Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo Japan

0-26

試験モニター 委託試験の実態調査 試験契約から in life 試験操作まで

○谷口勝彦^{1,2}、斉藤明美^{1,3}、林 万律子^{1,4}、佐神文郎^{1,5}、松澤利明^{1,6}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室、
³北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、⁴日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、
⁵エーザイ(株) 薬事政策部、⁶山之内製薬(株) 信頼保証本部 薬事部

【目的】毒性試験アウトソーシング時の現状を把握する目的で、製薬協加盟64社にアンケート調査を実施した。調査結果の内、試験契約から in-life 試験操作(投与、一般状態観察、体重、摂餌、摂水量測定)の結果を報告する。「結果」：試験モニター(書面調査を含む)については、各社ともに投与前のモニターは高頻度で実施しているが、投与前はあまり実施されていない事が明らかとなった。一方トラブルは、投与前の投与濃度測定バリデーション、調製、濃度測定その他、投与期間中の投与操作や一般状態観察で、多く発生していた。委託先を国内海外で比較した場合、海外での特徴的なトラブルは被験物質などの通関に関するものであった。また、トラブルの内スポンサーが試験の信頼性に影響を及ぼすと判断したものは検体調製と投与操作で多く報告され、その多くが再試験、追加試験あるいは試験中止などの対応がとられた。また、重大なトラブルにはなっていないが、一般状態観察における用語の不統一などの報告も多くあった。「考察」以上のアンケート結果から、試験のトラブルはスポンサーのモニター頻度の低い操作でも発生している事が明らかとなった。トラブルの発生原因は、操作技術に起因するものが多く、委託先との事前の打ち合わせや試験(施設)モニターを実施する事で、ある程度回避可能と考えられた。国内外では、海外委託時の通関トラブル以外には、国内海外に特徴的なトラブルはなかった。

Study Monitor The examination for actual circumstances of outsourcing - from study contract to in life manipulation-

Katsuhiko TANIGUCHI^{1,2}, Akemi Saito^{1,3}, Mariko Hayashi^{1,4}, Fumio Sagami^{1,5}, Toshiaki Matsuzawa^{1,6}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo Japan, ²Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Laboratories Toray Industries Inc., Otsu Japan, ³Research Division Research & Development HQ, Katsuyama, Japan, ⁴Department of Preclinical Science Nippon Roche Research Center (NRRC) Nippon Roche K.K., Kamakura, Japan, ⁵Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co.Ltd, Tokyo, Japan, ⁶Drug Regulatory Affairs Department, QA & RA Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co. Ltd, Tokyo Japan

0-27

試験モニター 委託試験の実態調査
-臨床検査、病理検査、トキシコカインेटィックス、特殊毒性試験-

○斉藤明美^{1,2}、谷口勝彦^{1,3}、林 万律子^{1,4}、佐神文郎^{1,5}、松澤利明^{1,6}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、
³東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室、⁴日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、
⁵エーザイ(株) 薬事政策部、⁶山之内製薬(株) 薬事部

【目的】医薬品の研究開発のスピードアップが切望されている現在、コスト削減や時間短縮を目的に非臨床試験のアウトソーシングが製薬企業において増加している。このような状況の中で安易なアウトソーシングやリスクマネジメントの欠如及び試験をモニターする人材等に由来する様々な問題が起こっていると考えられた。これらを踏まえ、アウトソーシングの現状を把握する目的で製薬協加盟 82 社にアンケート調査を依頼し、回答のあった 64 社について結果をまとめた。調査は 2001 年 9 月から 11 月に実施し、期間は過去 5 年間に限定した。調査結果の内、毒性試験における臨床検査、病理検査、トキシコカインेटィックス、がん原性試験や生殖毒性試験等の特殊毒性試験において発生したトラブルについて、その具体例と対応、対策について報告する。【結果】各検査段階において必ずモニターを実施するという会社は非常に少なかったが、問題の発生件数は少なかった。トラブルは特に病理組織評価や TK サンプル採取、バリデーションなどで多く発生し、信頼性に影響を及ぼすような事例では、再検査や再試験が実施されていた。また、試験期間に影響した事例も多く、トラブルを未然に防ぐためのモニターの重要性が確認された。

Study Monitor The examination for actual circumstances of outsourcing-clinical examination, pathology, toxicokinetics, special toxicity-

Akemi SAITO^{1,2}, Katsuhiko Taniguchi^{1,3}, Mariko Hayashi^{1,4}, Fumio Sagami^{1,5}, Toshiaki Matsuzawa^{1,6}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo Japan, ²Research Division, Research & Development HQ, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Fukui Japan, ³Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Laboratories, Toray Industries Inc. Shiga Japan, ⁴Department of Preclinical Science Nippon Roche Research Center(NRRC), Nippon Roche KK, Kanagawa Japan, ⁵Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd., Tokyo Japan, ⁶Drug Regulatory Affairs Department, QA & RA Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo Japan

0-28

試験モニター 委託試験の実態調査 -最終報告書案、最終報告書、資料保管、信頼性保証-

○林 万律子^{1,2}、谷口勝彦^{1,3}、斉藤明美^{1,4}、佐神文郎^{1,5}、松澤利明^{1,6}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会、²日本ロシュ(株) 研究所 前臨床科学研究部、
³東レ(株) 医薬品研究所 安全性研究室、⁴北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、
⁵エーザイ(株) 薬事政策部、⁶山之内製薬(株) 薬事部

【目的】毒性試験アウトソーシング時の現状を把握する目的で、過去 5 年間に限定し、製薬協加盟 82 社にアンケート調査を依頼した。回答のあった 64 社における調査結果のうち、最終報告書草案、最終報告書、資料保管、信頼性保証について報告する。【結果】最終報告書草案及び最終報告書は、試験契約、試験計画書と並び、試験モニター項目のなかでも「必ず実施する項目」として取り上げられている。一方、資料保管、信頼性保証のモニターに関しては、「実施しない」、「ケースバイケース」、「必ず実施」がほぼ均等であり、委託する側の事情で異なる傾向が認められた。最終報告書草案に関しては、国内・国外委託ともに、トラブル件数の多さで上位を示し、評価に影響ありとの回答例も投与に関するトラブルに次いで多かった。主なトラブルはデータ評価上の意見の相違、質的な不備、作成の遅滞などがあげられる。最終報告書については草案の段階ではほとんどが解決されるためか、評価に影響するようなトラブル件数はなかった。資料保管、信頼性保証に関しても、評価に影響するものではないがトラブルが散見された。今回は、トラブル事例をもとに、試験モニターのあり方を考えてみたい。

Study Monitor The examination for actual circumstances of outsourcing-Draft final report,Final report, Storage, Quality assurance-

Mariko HAYASHI^{1,2}, Katsuhiko Taniguchi^{1,3}, Akemi Saito^{1,4}, Fumio Sagami^{1,5}, Toshiaki Matsuzawa^{1,6}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo Japan, ²Department of Preclinical Science, Nippon Roche Research Center, Nippon Roche KK, Kanagawa Japan, ³Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Laboratories, Toray Industries Inc. Shiga Japan, ⁴Research Division Research & Development HQ, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Fukui Japan, ⁵Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd., Tokyo Japan, ⁶Drug Regulatory Affairs Department, QA & RA Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo Japan

○原田勝彦^{1,2}, 本坊敏保^{1,3}, 今別府 進^{1,4}, 浦野陽介^{1,5}, 佐神文郎^{1,6}, 松澤利明^{1,7}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²キリンビール医薬開発研究所,

³藤沢薬品工業(株) 安全性研究所, ⁴協和発酵工業(株) 安全性研究所,

⁵日本ワイズレダリー(株) 医薬研究所, ⁶エーザイ(株) 薬事政策部, ⁷山之内製薬(株) 薬事部

【Introduction】 The occasions to order pharmacological studies from outside institutes to get discovery/application data are recently more increasing in Pharmaceutical companies. However, it will be afraid of arising troubles between sponsor and CRO. Therefore, we surveyed the circumstances and the problem of the pharmacology studies using CROs as outside sources. **【Method】** We had sent out questionnaire for 84 companies of Japan Pharmaceutical Manufacturers Association and got the answers from 70 members. **【Results and Discussion】** The studies using CROs were impartially conducted in each research stage, seeding, discovery, pre-clinical stages, manufacturing and analysis. The majority of companies have conducted the studies in all and/or a part of safety pharmacology studies using CROs, and approximately 90% of that have been conducted in domestic CROs. Most of the sponsors have inspected domestic CROs before the initiation of studies, while they have undergone troubles, the deviation from protocol and/or the other troubles even in domestic studies. These troubles may be due to poor knowledge and unskilled technique of CRO's staff about safety pharmacology studies, the insufficient communication between CRO's staff, especially foreign one, and sponsors and so on. The countermeasures by CROs to observe ICH guidelines S7A and S7B are also thought to be insufficient from this survey result. Holding more sufficient communication, data compliance assessment and discussion about draft report and so on are very important, furthermore, preparation of monitor and approval meeting records between CROs and sponsors were pointed out in the case of using foreign CROs.

Survey of pharmacology study conduct using outside sources in pharmaceutical companies in Japan

Katsuhiko HARADA^{1,2}, Toshiyasu HONBO^{1,3}, Susumu IMABEPPU^{1,4}, Yosuke URANO^{1,5}, Fumio SAGAMI^{1,6}, Toshiaki MATSUZAWA^{1,7}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Pharmaceutical Development Laboratories, Kirin Brewery Co., Ltd., Gunma, Japan, ³Toxicology Research Laboratories, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan, ⁴Toxicological Research Laboratories, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Yamaguchi, Japan, ⁵Medical Research Laboratories, Wyeth Lederle Japan, Ltd., Saitama, Japan, ⁶Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd., Tokyo, Japan, ⁷Drug Regulatory Affairs, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

薬物動態研究外部委託における実態調査

○小林弘幸^{1,2}, 柏水英夫³, 小幡淳雄⁴, 河津剛一⁵, 長井晶彦⁶

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²協和発酵工業, ³第一製薬,

⁴アベンティスファーマ, ⁵参天製薬, ⁶トアエイヨー

【目的】 定量法バリデーション, トキシコキネティクス, 臨床検体濃度測定, in vitro および in vivo 薬物動態試験の外部委託時の留意点を明らかにする。 **【調査方法】** 協会加盟 82 社を対象に委託の実態, トラブル事例に関するアンケート調査を実施し, 62 社より得られた回答結果を集計した。 **【結果】** 各試験の国内 CRO への委託経験は, それぞれ 82.3, 66.1, 74.2, 64.5, 85.5% であった。一方, 海外 CRO への委託経験はそれぞれ 46.8, 35.5, 48.4, 22.6, 29.0% であり, 特に薬物動態試験の委託経験は国内外の開きが大きかった。選定理由では, すべての試験で信頼性, 技術, 費用が上位であり, 信頼性, 技術面での評価が重要な要因であった。モニター方法として, 書面調査はほぼ 100% 実施されていたが, 必ず実地調査している企業は国内委託で約半数, 海外委託では 20-30% であった。国内 CRO 委託時では試験開始前と終了後, 海外 CRO 委託時では試験終了後のモニター実施の比率が高かった。各試験実施のトラブル事例では, 国内・海外 CRO ともバリデーションが最も多く, 計画書が作成されない, 自社での結果が再現しない, 計画書通りに実施されない, 判断基準が異なる, QC 不十分で間違いが多いなどが報告された。定量法の確立は, 動態だけでなく安全性・臨床試験計画にも波及することから, 医薬品の効率的な開発の観点から最適なモニター法を確立していく必要がある。

Research for the outsourcing of Pharmacokinetics and Drug Metabolism

Hiroyuki KOBAYASHI^{1,2}, Hideo HAKUSUI³, Atsuo OBATA⁴, Kouichi KAWAZU⁵, Akihiko NAGAI⁶, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan, ²Kyowa Hakko Kogyo, Tokyo, Japan, ³Daiichi Pharmaceutical, Tokyo, Japan, ⁴Aventis Pharma, Tokyo, Japan, ⁵Santen Pharmaceutical, Osaka, Japan, ⁶Toa Eiyo, Tokyo, Japan

0-31

非臨床試験の信頼性確保についての試験モニターの責任

○樋口史郎^{1,2}, 松本信太郎^{1,3}, 橋爪武司^{1,4}, 中津 武^{1,5}, 佐神文郎^{1,6}, 松澤利明^{1,7}

¹日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会, ²わかもと製薬(株) 開発本部 薬事情報室,
³山之内製薬(株) 信頼性保証本部 薬事監査部, ⁴第一製薬(株) 信頼性保証部 QAU グループ,
⁵武田薬品工業(株) 医薬開発本部 薬事管理部 監査室, ⁶エーザイ(株) 薬事政策部,
⁷山之内製薬(株) 薬事部

【目的】アウトソーシングの現状を把握する目的で、製薬協加盟会社を対象に、毒性、薬物動態、薬理の3領域からのアンケート調査を実施した。そしてこれらアンケート結果より、アウトソーシングにおけるトラブル例を中心に、問題点とその対応・対策について報告されてきた。これらのトラブルを回避し、スムーズな試験の進行と信頼性の高い試験データを得るために以下の点に着目し検討した。1. 外部委託試験のトラブル例 2. 受託試験施設への適切な情報の提供とパートナーシップ 3. 試験の進行に合わせたモニター業務の遂行 4. 外部委託試験のフォローアップ **【結果】**各々のアンケートから、アウトソーシングを実施するにあたり、試験の委託先に対して試験モニターとしての対応方法、さらに、試験の信頼性を高めるためのモニターの役割も明確になってきた。さらに、モニター教育を含む委託側での問題解決への道も明確化してきた。試験を順調に進行させるには、委託先との情報提供を含むコミュニケーションの重要性を認識し、単なる委受託関係だけでなく、お互いがパートナーとして、質の高い試験を実施するために何をなすべきかを自覚し、共同作業としてすすめるとともに、お互いがスキルアップを図っていくことが大切である。

Responsibility of monitor for Quality Assurance of Outsourcing Non-clinical Studies.

Shiro Higuchi^{1,2}, Shintaro Matsumoto^{1,3}, Takeshi Hashizume^{1,4}, Takeshi Nakatsu^{1,5}, Fumio Sagami^{1,6}, Toshiaki Matsuzawa^{1,7}, ¹Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo Japan, ²Regulatory Affairs & Information Department, Development Division, Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan, ³Regulatory Affairs Supervision Dept. QA&RA Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo Japan, ⁴R & D Quality Assurance Department, Quality Assurance Unit Group, DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD., Tokyo Japan, ⁵QUALITY ASSURANCE, REGULATORY AFFAIRS DEPT., PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT DIV, TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD., Osaka Japan, ⁶Medical, Regulatory Affairs and Pharmacovigilance Department, Eisai Co., Ltd., Tokyo Japan, ⁷Drug Regulatory Affairs Department, QA & RA Division, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo Japan

0-32

Current status of GLP system in Korea

○金 忠龍

Korea Institute of Toxicology

Korean Good Laboratory Practices (GLP) has been developed to assure the quality and integrity of the safety data in non-clinical laboratory study. The first Korean GLP was enacted by the Ministry of Health and Welfare for pharmaceuticals in 1986. The Ministry of Environment is responsible for industrial chemicals, while the Rural Development Administration is responsible for pesticides. According to the revised OECD GLP Principles of 1997, the Korean governmental bodies revised their GLP regulations covering all the chemical categories. Especially, Korea Food and Drug Administration (KFDA) has enacted a harmonized GLP principle for pharmaceuticals in 2000. In Korea, four facilities have been designated as GLP facilities for pharmaceuticals since the Korean GLP was prepared. The Korean Society of Good Laboratory Practices organized in 1998 has helped to improve Korean GLP system. In 2000, OECD GLP panels visited Korea and inspected a representative GLP facility (e.g., Korea Institute of Toxicology: KIT), reporting that Korea GLP system is enough for mutual acceptance of data. In 2003, KFDA is going to require only the GLP-based safety data for approval of pharmaceuticals. For better understanding of the current Korean GLP system, the GLP facility of KIT will be presented.

Current status of GLP system in Korea

Churyu KIN, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea

0-33

薬効薬理・薬物動態試験データの信頼性確保

○樋口史郎^{1,2}、武政俊彦^{1,3}、馬場 淳^{1,4}、木村真二^{1,5}、小林一則^{1,6}、上野百代^{1,7}、貫井悦子^{1,8}、高橋裕美^{1,9}、石井由子^{1,10}、勝 謙政¹

¹日本QA研究会 GLP 部会 第3分科会、²わかもと製薬(株) 開発本部 薬事情報室、
³ゼリア新薬工業(株) 信頼性保証室、⁴明治製薬(株) 薬事部、⁵ノバルティスファーマ(株) 薬事部、
⁶三菱ウェルファーマ(株) 信頼性保証部 信頼性保証室、⁷藤沢薬品工業(株) 薬物動態研究所、
⁸協和発酵工業(株) 医薬総合研究所 研究推進室、⁹北陸製薬(株) 研究開発本部 研究統括部、
¹⁰万有製薬(株) 研究開発業務審査室

現行の医薬品製造承認審査体制においては、申請資料が薬事法施行規則第18条の4の3に規定する信頼性の基準に適合していることを求めており、それを確認するための書面調査が1997年より実施されている。申請に用いる動物試験データのうち、安全性分野についてはGLPに基づきデータの信頼性を確保するための詳細な方法論が確立しているが、他の分野、特に薬効薬理試験については、GLPをそのまま適用することは困難であり、また適切でもないと考えられた。この点に関して、日本製薬工業協会と日本QA研究会(JSQA)は共同プロジェクトとして「効力を裏付ける試験の信頼性確保のための手引き」を作成し、1999年1月7日に公表した。JSQA・GLP部会第3分科会では、1998-1999年度の活動より、上記「手引き」の考え方を基本として、動物試験(薬効薬理及び薬物動態試験)において信頼性基準に適合したデータを得るための具体的な方法論について検討している。2000-2001年度の活動では、試験の信頼性に関わる問題事例の要因分析及対策、作業の標準化のポイント、及び海外データの信頼性に関わる問題について検討した。これらの活動を通じて、GLPも一部参考にしつつ、当該分野における試験の実態を踏まえた信頼性確保の考え方・運用法がまとまりつつある。

Quality assurance in pharmacology and ADME studies

Shiron HIGUCHI^{1,2}, Toshihiko TAKEMASA^{1,3}, Jun BABA^{1,4}, Shinji KIMURA^{1,5}, Kazunori KOBAYASHI^{1,6}, Momoyo UENO^{1,7}, Etsuko NUKUI^{1,8}, Hiromi TAKAHASHI^{1,9}, Yoshiko ISHII^{1,10}, Kanemasa KATSU¹, Japan Society of Quality Assurance, Tokyo, Japan, ²Regulatory Affairs & Information Department, Development Division, Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan, ³Quality Assurance Department, Zeria Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama, Japan, ⁴Registration & Regulatory Affairs, Pharmaceuticals, Meiji Seika Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan, ⁵Drug Regulatory Affairs Department, Novartis Pharma K.K., Tokyo, Japan, ⁶Quality Assurance Department, Non-clinical Study Assurance Office, Mitsubishi Pharma Corporation, Yoshitomi, Japan, ⁷Biopharmaceutical and Pharmacokinetic Research Laboratory, Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan, ⁸Research Planning and Administration Department, Pharmaceutical Research Institute, Kyowa Hakkō Kogyo Co., Ltd., Mishima, ⁹Research Support Department, Research Division, Research & Development H.Q., Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Katsuyama, Japan, ¹⁰R & D Monitoring & Quality Assurance, Banyu Pharmaceutical Co., Ltd., Tsukuba, Japan

0-34

安全性薬理試験におけるプロセス調査の検討

○小島基義、齋 好孝、野原正志、辻 哲男、木村恵子、久保雄嗣、長沢孝二郎、
 国分寺悦子、藤森茂樹、能島康幸、谷口英巳、中原治樹、村上和生、木下貴一、
 青柳有美子、山下彰三、和田重次

日本QA研究会 GLP 部会 第2分科会 第2グループ

2001年6月21日に安全性薬理試験ガイドラインが通知され、本邦においても安全性薬理試験はGLPを準用して実施することとなった。安全性薬理試験は安全性試験とは異なり、多くの試験が短期間に繰り返し実施されることが予想され、これまでのQAUによる現場調査の方法では対応しきれないことが懸念された。我々は、この問題に対して海外で実施されている「プロセス調査」が活用できるのではないかと考え、GLP省令やOECD-GLP原則からプロセス調査の概念の解釈とその導入の可能性を検討した。さらに、アンケート調査により安全性試験の現場調査の実施状況を把握し、どのような業務がプロセス調査可能であるかを解析し、安全性薬理試験におけるプロセス調査の可能性について検討した。その結果、一定の条件を満たせばプロセス調査が可能であり、試験の信頼性を保証できるのではないかと結論に達した。一方、各試験施設には施設特有の要素である「試験実施数」、「長期試験及び短期試験のリスクに対する考え方」、「試験の重要な段階に対する考え方」の相違から、施設の状態に応じた様々な方法で現場調査が行われていることが明らかになった。従って、プロセス調査に対する考え方も各試験施設により異なり、その導入を困難にしているものと考えられる。そこで、各試験施設においてプロセス調査を組み合わせる際の判断基準となるよう、プロセス調査実施の条件として「試験業務の要件」及び「施設の要件」を提案する。

Process-based Inspections in Safety Pharmacology Studies

Motoyoshi KOJIMA, Yoshitaka INO, Masashi NOHARA, Tetsuo TSUJI, Keiko KIMURA, Yuji KUBO, Kojiro NAGASAWA, Etsuko KOKUBUNJI, Shigeki FUJIMORI, Yasuyuki NOJIMA, Hidemi TANIGUCHI, Haruki NAKAHARA, Kazuo MURAKAMI, Takaichi KINOSHITA, Yumiko ADYAGI, Syozo YAMASHITA, Shigetugu WADA, Group 2, Subcommittee 2, GLP steering committee, Japan Society of Quality Assurance (JSQA), Tokyo, Japan

0-35

分析試験の信頼性確保

○酒井 茂^{1,2}, 寺島 充^{1,2}, 松岡隆夫^{1,4}, 佐藤 泉^{1,2}, 千海恵美子^{1,4}, 生沼永興^{1,2}, 勝 謙政^{1,2}

¹日本QA研究会 GLP 部会 第3分科会, ²大正製薬(株) 医薬事業グループ QA室,

³協和発酵工業(株) 医薬総合研究所 研究推進室,

⁴日本臓器製薬(株) 生物活性科学研究所 業務統括部 信頼性保証部,

⁵キリンビール(株) 医薬カンパニー 生産本部 品質管理部, ⁶塩野義製薬(株) 品質保証部,

⁷ポーラ化成工業(株) 医薬品事業部 医薬監査室, ⁸エーザイ(株) 研開発験監理部 QCR室

【目的】医薬品の承認申請は、申請資料の信頼性の基準（GLP、GCP、信頼性基準）を考慮した上で行う必要がある。GLP、GCPにおいてはその具体的な内容が省令として定められているが、信頼性基準が適用される試験（承認審査資料区分：ロ・ハ・ホ・ヘ）については詳細な指針が示されていないのが現状である。このうち分析試験（ロ・ハ）では、適合性書面調査において、承認審査資料に生データが正確に反映されていない、根拠となる生データがない等の信頼性基準違反が医薬品機構から指摘されている。この様な状況から、日本QA研究会GLP部会第3分科会では、分析試験の信頼性を確保するために最低限必要であろう事項について検討した。【結果】メンバーを対象として、分析試験の信頼性確保に関する疑問点・問題点を抽出し、解決策について討議し、意見を集約した。また、分析機器についても点検・校正をどのように行っているかを調査した。分析試験の信頼性確保に必要な不可欠と思われる項目を「分析試験の信頼性確保のための基本的な方向性」として提示し、信頼性基準の基本である正確性、完全性、資料の保存を確保するためにどのような方法が考えられるかについて一定の見解を示した。また、分析試験を実施する上で特に重要である分析機器の取り扱いについて、点検・校正の実施項目と必要性についてまとめた。

Quality Assurance in Analytical Studies

Shigeru SAKAI^{1,2}, Mitsuru TERAJIMA^{1,3}, Takao MATSUOKA^{1,4}, Izumi SATO^{1,5}, Emiko CHIKAI^{1,6}, Nagaoki OINUMA^{1,7}, Kanemasa KATSU^{1,8}, ¹Japan Society of Quality Assurance, Tokyo, Japan, ²Department of Quality Assurance, Prescription Operation Group, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama, Japan, ³Research Planning and Administration Department, Pharmaceutical Research Institute, Kyowa Haido Kogyo Co., Ltd., Shizuoka, Japan, ⁴Quality Assurance Unit, Institute of Bio-Active Science, Nippon Zeki Pharmaceutical Co., Ltd., Hyogo, Japan, ⁵Pharmaceutical Division, Production Department, Kirin Brewery Co., Ltd., Gunma, Japan, ⁶Corporate Quality Assurance Department, Shionogi & Co., Ltd., Osaka, Japan, ⁷Pharmaceuticals Division, Quality Assurance Unit, Pola Chemical Industries, inc., Kanagawa, Japan, ⁸R&D Scientific Review and Quality Assurance Department, Eisai Co., Ltd., Ibaraki, Japan

0-36

ラット摂餌量減少時の骨髄毒性評価に関する血液学的検討

○浅沼富美子¹, 宮田裕人¹, 白根里加¹, 大野理絵¹, 岩城理進¹, 木村正明¹, 松本清司²

¹大正製薬(株) 医薬動態安全性センター 安全性研究室, ²信州大学医学部 附属動物実験施設

【目的】薬物誘発性血球減少の要因の一つに血球産生能の低下があるが、ラットでは摂餌量減少時に骨髄細胞が減少するため、両者の判別が毒性評価上重要である。摂餌量減少が認められる試験系での薬物の骨髄への影響を明確にする目的で、ラットに5-FUを投与する群と、5-FUの摂餌量と同量を給餌する給餌制限群を設け、血液・骨髄検査値を比較検討した。【材料及び方法】6週齢のCrj:CD(SD)IGS系ラットに5-FUの12、15及び18mg/kgを飽食飼育下で14日間経口投与した。5-FU各投与群の摂餌量と同量を給餌する群（R12、R15、R18）については、同期間の給餌制限を行ない、各群について体重測定、血液、骨髄及び病理検査を実施した。【結果及び考察】5-FU群の摂餌量は全ての群で減少し、体重の増加抑制又は減少がみられた。5-FU群では15及び18mg/kgに網赤血球数、総白血球数、骨髄有核細胞数、骨髄総赤芽球系細胞数、骨髄総顆粒球系細胞数並びに骨髄リンパ球数の減少、骨髄実質の萎縮等がみられた。これらの変化の多くが給餌制限群でも同程度に認められたが、骨髄総顆粒球系細胞数の減少については、5-FUと給餌制限群に相違がみられ、5-FU群では骨髄顆粒球の形態異常も認められた。以上の結果から、ラットにおいて骨髄毒性を評価する際には、摂餌量を十分考慮するとともに、血液形態学的及び病理組織学的に精査して総合的に解析する必要があると考えられた。

Hematological evaluation of myelotoxicity in dietary reduced rats.

Fumiko ASANUMA¹, Hiroto MIYATA¹, Rika SHIRANE¹, Rie OHNO¹, Yoshinobu IWAKI¹, Masaaki KIMURA¹, Kiyoshi MATSUMOTO², ¹Toxicology Laboratory Drug Metabolism and Toxicology Research Center Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., ²Institute of Experimental Animals Shinshu University School of Medicine

0-37

アリルハイドロカーボン受容体を介したベンゼンの造血毒性発現

○平林容子¹, 尹 秉一¹, 川崎 清¹, 児玉幸夫¹, 金子豊蔵¹, 菅野 純¹, 井上 達²

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

ベンゼンのヒトへの健康障害は、歴史的には靴職人の「ベンゼン白血病」で知られる 1887 年に遡る。近年の大気中に存在する低用量暴露に至るまでヒトに直接の関わりが深く、その作用機構には最新の論点が集積する今日的課題である。ベンゼンは明らかに genotoxic な化学物質であるがそのものに変異原性はなく、肝臓での CYP2E1 を始めとする cytochromeP450 や骨髄 myeloperoxidase などによるフェノール類やキノン類などの代謝物による生体内酸化活性のみではベンゼンの造血毒性を十分に説明できない。こうした中で我々は、ベンゼンの造血毒性の発現に、アリルハイドロカーボン受容体 (AhR) を介したシグナル経路の関与を見いだした。即ち、AhR 遺伝子欠失 (KO) マウス (東北大学、藤井義明教授より供与) に、ベンゼンを 1 日 6 時間、週 5 日を 2 クール、300ppm の濃度で吸入暴露すると、野生型で観察される骨髄細胞・白血球数・造血前駆細胞 (CFU-GM) 数などの減少は、KO マウスでは極度に低下する。さらに、ベンゼンの造血毒性発現機序として、p53 を介した p21 の発現亢進による細胞回転の停止現象を見いだしたが (本学会第 26 回学術年会)、AhR-KO マウスでは、p21 は誘導されなかった。ここでベンゼンの代謝産物として知られるフェノールとハイドロキノンを腹腔内投与すると、KO マウスの反応性には、野生型と同様の造血毒性が再現した。ベンゼン代謝酵素として知られる Cyp2E1 の発現量を見たところ、野生型ではベンゼン暴露後に Cyp2E1 の発現量が約 2 倍に増加したが、AhR-KO マウスでは、誘導されなかった。

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) mediates benzene-induced hematotoxicity

Yoko HIRABAYASHI¹, Byung-il Yoon¹, Yasushi Kawasaki¹, Yukio Kodama¹, Toyozou Kaneko¹, Jun Kanno¹, Tohru Inoue², ¹Cellular & Molecular Toxicology Division, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

0-38

マウス骨髄細胞から誘導した樹状細胞を用いた *in vitro* 抗原性試験法の検討
- 抗原暴露による細胞表面マーカーの発現 -

○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

化合物の抗原性の検出は、抗原特異的免疫反応により行うことが通常であるが、最近の研究では、抗原提示細胞レベルでの変化を捕らえることによって、検出できる可能性が示唆されている。今回、マウスの骨髄細胞から *in vitro* で誘導した樹状細胞を用い、既知の抗原に *in vitro* で暴露後の MHC class II および T cell co-stimulatory 分子の発現の変化について調べたので報告する。【方法】8~12 週齢の BALB/c マウス大腿骨から骨髄細胞を採取し、rmIL-4 および rmGM-CSF を含む培養液中で 3~6 日間培養した。培養終了 1~6 日前に既知の抗原性物質 (2,4-dinitrobenzenesulfonic acid, sodium salt, penicillin G, trimellitic anhydride, nafamostat mesilate, bovine serum albumin) を添加し、培養終了後に Ia, CD40, CD80, CD86 を蛍光抗体染色し、FACSCalibur にてそれらの発現を解析した。【結果および考察】マウス骨髄細胞を rmIL-4 および rmGM-CSF を含む培養液中で培養することにより、樹状細胞様の形態をした細胞が出現し、Ia, CD40, CD80, CD86 の陽性細胞が出現した。これらの細胞を既知の抗原に暴露することにより、各マーカー共に陽性細胞の増加が認められ、抗原提示に重要な細胞表面分子 (MHC class II, T cell co-stimulatory 分子) の発現が亢進することが分かった。

Investigation of *in vitro* antigenicity study by using dendritic cells induced from mouse bone marrow cells. Expression of cell surface markers by exposure to antigens.

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

O-39

慢性関節リウマチモデルマウスにおける酸化ストレス応答タンパク質およびシトクロム P450 の変動

○芦野 隆¹, 小黒多希子¹, 塩田清二², 岩倉洋一郎³, 吉田武美¹

¹昭和大学 薬学部 毒物学教室, ²昭和大学 医学部 第一解剖学教室,
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】炎症や感染症時には、生体防御機構が働き免疫系が賦活化されるが、過剰な賦活化は酸化ストレスが生じ生体に悪影響をおよぼすことが知られている。このため生体には様々な酸化ストレスに対する防御機構が存在し、Heme oxygenase-1 (HO-1) や Metallothionein (MT) のアップレギュレーションおよびシトクロム P450 (CYP) のダウンレギュレーションなどを通して、生体を保護していると考えられている。しかし、実際に炎症性疾患でこれらを実証している例はほとんどない。そこで、我々は関節リウマチを高発する、Human T cell leukemia virus type-1 トランスジェニック (HTLV-1 tax tg) マウスを用い CYP および酸化ストレス応答タンパク質の変動について検討した。【方法】関節炎発症後2ヶ月以上経過している HTLV-1 tax tg マウスから肝臓、腎臓、肺を摘出し、ノーゼンおよびウエスタンブロット法により CYP, HO-1, MT mRNA およびその産物としてのタンパク質の変動を検討した。【結果および考察】Wild マウスと関節炎発症マウスで CYP 含量, CYP3A, 2C, 2E1 の各タンパク質および mRNA を検討したところ、有意な差は認められなかった。また酸化ストレス応答タンパク質である MT は肝、腎、肺の各臓器で、また HO-1 は肝で Wild マウスに比べ有意な増加が見られた。以上の結果より、関節リウマチによる酸化ストレスに対し防御機構が機能していることが示唆された。

Change of oxidative stress responsive protein and cytochrome P450 in Rheumatoid arthritis model mouse

Takashi ASHINO¹, Takiko OGURO¹, Seiji SHIODA², Yoichiro IWAKURA³, Takemi YOSHIDA¹, ¹Dept. Biochem. Toxicol. Sch. Pharmacol. Sci., Showa Univ., Tokyo, Japan, ²Dept. Anatomy Sch. Med., Showa Univ., Tokyo, Japan, ³Inst. Med. Sci., Tokyo Univ., Tokyo, Japan

O-40

Closed-formula, open-formula の飼料で飼育した場合の uterotrophic assay, Hershberger assay の結果比較

○大村 実, 井上尚英

九州大学 大学院医学研究院 衛生学分野

【目的】closed-formula 飼料 (C-F 飼料) で飼育した動物と、open-formula 飼料 (O-F 飼料) で飼育した動物で、uterotrophic assay および Hershberger assay の結果を比較した。【実験方法】C-F 飼料としては CE-2 を、O-F 飼料としては Clea 精製飼料基礎配合 (いずれも日本クレー) を用いた。実験動物としては Kud:Wistar ラットを用いた。各 assay に用いた動物は、10 週間の前交配期間・交配期間・妊娠期間・授乳期間を通じて C-F 飼料または O-F 飼料で飼育した動物の仔動物であり、この仔動物自身も assay が終了するまで各被験飼料で飼育した。uterotrophic assay では生後 22 日目から 17 β -estradiol (E2) を 3 日間皮下投与、Hershberger assay では生後 70 日目に去勢した動物に生後 77 日目から testosterone propionate (TP) を 5 日間皮下投与し、最終投与の 24 時間後に動物を安楽死させ、評価対象臓器の重量を測定した。【結果・考察】uterotrophic assay では、C-F 飼料群では 0.6 μ g/kg 以上の E2 投与で子宮重量が有意に増加したのに対して、O-F 飼料群では 0.3 μ g/kg 以上で有意な増加を認めた。なお、E2 非投与群の子宮重量は O-F 飼料群の方が有意に重かった。Hershberger assay では、前立腺前葉重量の増加については飼料による差はなかったが (両飼料群とも 0.06 mg/kg 以上で有意な重量増加あり)、精囊重量は C-F 飼料群では 0.12 mg/kg 以上の TP 投与で有意に増加したのに対して、O-F 飼料群では 0.06 mg/kg 以上で有意な増加を認めた。以上の結果から、closed-formula 飼料と比較して open-formula 飼料では両 assay の検出感度が上昇することが示された。

Effect of rodent diets on uterotrophic assay and Hershberger assay in rats

Minoru OMURA, Naohide INOUE, Department of Hygiene, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan

0-41

Ethinyl estradiol の経胎盤、母乳汁曝露によるラット出生児への影響

○野田修志、佐藤正邦、室井貴子、山崎寛治

財団法人 化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所

Ethinyl estradiol の経胎盤、母乳汁曝露によるラット出生児への影響○野田修志、佐藤正邦、室井貴子、山崎寛治財団法人 化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所エストロゲン作用物質である ethinyl estradiol (EE) の子宮内、経胎盤曝露による出生児への影響について検討した。雌 Crj:CD(SD) IGS ラットに妊娠 7 日から分娩後 18 日まで EE を 0, 0.5, 5, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ の用量 (2 匹/群) で強制経口投与した。得られた出生児は生後 4 日 (PND 4) に 1 母動物当たり雌雄各 4 匹となるよう個体数調整後、PND 19 に離乳した。出生児の発達、性分化の指標として、雌雄とも体重測定、肛門生殖突起間距離を測定、離乳後雌については陰茎龟头型分類、雌については腔開口検査、腔開口翌日から性周期検査を実施した。雄は 8 週齢になった時点で剖検し、腹葉前立腺、精囊、精巣、副腎重量を測定した。雌は 8 週齢以降器スミアで休止期であることが確認された当日に剖検し、子宮、卵巣、副腎重量を測定した。その結果、何れの EE 投与群においても出生児の体重推移、肛門生殖突起間距離、陰茎龟头型の推移日齢、腔開口日齢、器官重量、性周期検査では明らかな異常所見はみられなかった。しかしながら 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 群の雌出生児の外陰部において尿道開口部の過剰な開裂及び外陰部正中における皮膚の不完全な癒合がみられた。これらの変化はこれまでに報告されておらず、興味深い所見と考えられる。

Effects of in utero and lactationally exposure to ethinyl estradiol in rats

Syūji NODA, Masakuni SAWAKI, Takako MUROI, Kanji YAMASAKI, Chemicals Assessment Center, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan.

0-42

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について - 生殖発生毒性試験：新生児を用いた試験 -

○堤 俊輔¹、浜田悦昌¹、熊澤俊彦¹、横山 篤¹、沼 敏章¹、遠藤芳彦¹、森田 健²

¹アベンティス ファーマ(株)、²ファイザー製薬(株)、³(株)三和化学研究所、⁴清水製薬(株)、

⁵日本シエーリング(株)、⁶ファルマシア(株)、⁷グラクソ スミスクライン(株)

「新医薬品の製造又は輸入の承認申請に際し承認申請書に添付すべき資料の作成要領について」(医薬審発第 899 号、2001.6.21 付)において、「CTD-非臨床に関する文書の作成要領に関するガイドライン」の生殖発生毒性試験の項に、「新生児を用いた試験」が加えられた。現在、日本では小児への適応を目的とした医薬品を開発する場合、「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドラインについて」(医薬審第 1019 号、1998.11.13 付)に基づいて、「幼若動物を用いた試験」を実施する場合がある。そこで、この「幼若動物を用いた試験」がどのような観点から実施されているかを明らかにすることは「新生児を用いた試験」を計画・実施する上で有用であると考え、製薬協加盟 83 社を対象に「幼若動物を用いた試験」の経験並びに研究者の立場からみた「新生児を用いた試験」についてのアンケート調査を実施した。回収したアンケート回答 (61 社) から、「幼若動物を用いた試験」を実施した施設のある施設は 21 社であった。将来、「新生児を用いた試験」の必要性を考えたとき、薬効分類としては中枢神経系 (22 社/51 社) 及びホルモン作用 (23 社/51 社) を有する薬剤、試験実施の判断根拠としては小児への適応 (50 社/55 社)、試験デザインとしては発生神経発達検査を含んだ反復投与毒性試験 (23 社/55 社) と回答した施設が最も多かった。今回、本学会において、回収した回答から研究者の立場からみた「新生児を用いた試験」の考え方についての詳細な報告をする。

Practical use of ICH guidelines for special toxicology studies - studies in juvenile animals for reproductive and developmental toxicity -

Shunsuke TSUTSUMI¹, Yoshimasa HAMADA¹, Toshihiko KUMAZAWA¹, Atsushi YOKOYAMA¹, Toshiaki NUMA¹, Yoshihiko ENDO¹, Takeshi MORITA¹, ¹Aventis Pharma Ltd., Saitama, Japan, ²Pfizer Inc., Aichi, Japan, ³Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd., Nagoya, Japan, ⁴Shimizu Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan, ⁵Nihon Schering K.K., Osaka, Japan, ⁶Pharmacia K.K., Tokyo, Japan, ⁷GlaxoSmithKline K.K., Tokyo, Japan

O-43

Aminophenylnorharman 類による遺伝子毒性と変異スペクトル

○小田美光¹, 島田 力¹, 戸塚ゆかり², 若林敬二², 大江 武³

¹大阪府立公衆衛生研究所 公衆衛生部, ²大阪府立公衆衛生研究所, ³国立がんセンター,
⁴国立がんセンター, ⁵京都女子大学

【目的】ノルハルマンとアニリンとの複合体である aminophenylnorharman (APNH) とノルハルマンとオトルイジンとの複合体である aminomethylphenylnorharman (AMPNH) 及びハルマンとアニリンとの複合体の aminophenylharman (APH) による遺伝子毒性の代謝的活性化に、どのようなヒト P450(CYP) 分子種とヒトのアセチル転移酵素 (NAT) が関与しているのか、さらに、その変異スペクトルについても、バクテリアの試験菌株を用いて検討したので報告する。【方法】umu 試験菌株は、サルモネラ TA1535/pSK1002 (親株), NM2009 (O-AT 高産生株), NM6001 (ヒト NAT1 産生株), NM6002 (ヒト NAT2 産生株) 及び 7 種類のヒトの CYP と O-AT を同時に発現する試験菌株を用い、変異スペクトルの検出には 11 種類の大腸菌を用いて調べた。【結果・考察】APNH と AMPNH は、親株よりも O-AT 高産生株の方が高い感受性を示した。ヒトの NAT の場合、APNH と APH は、NAT2 の方が高感受性を示したが、AMPNH は、NAT1 の方が高い感受性を示した。7 種類の CYPs を発現する菌株では、APNH と APH が CYP1A2 の発現菌株でのみ検出できた。一方、AMPNH は CYP1A1 と CYP1A2 を発現する菌株で検出できた。APNH, AMPN および APH による変異スペクトルは、主に -2 (C-G-G-C) のフレームシフト型の変異を検出した。

Genotoxicity and mutational specificity induced by aminophenylnorharman and related heterocyclic amines

Yoshimitsu ODA¹, Tsutomu SHIMADA¹, Yukari TOTSUKA², Keiji WAKABAYASHI², Takeshi OHE³, ¹Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka 537-0025, Japan, ²Osaka Prefectural Institute of Public Health, Osaka 537-0025, Japan, ³National Cancer Center, Tokyo 104-0045, Japan, ⁴National Cancer Center, Tokyo 104-0045, Japan, ⁵Kyoto Women's University, Kyoto 605-8501, Japan

O-44

タール系合成食用色素の in vivo 遺伝毒性評価 (第 2 報)

○川口恵未¹, 奥谷苺子¹, 横濱奈津恵¹, 富田晴美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 獣医公衆衛生

昨年の本学会において、わが国で一般に用いられている合成食用色素である赤色 2 号, 102 号, 104 号, 105 号, 黄色 4 号には結腸で強い遺伝毒性が認められたことを報告した。これらの癌原性試験では一日あたりの投与用量が 2000mg/kg を越えるものの、いずれについても癌原性陽性の結果は得られていない。一般に、遺伝毒性試験は単回投与で行われるのに対し、癌原性は混餌、混水投与で長期投与で検討される。癌原性試験においても、混餌、混水投与のほうが強制投与よりも陽性率が低いことが報告されている (Johnson, 2002)。ここでは、昨年遺伝毒性陽性と報告した食用色素について、強制連投、混水投与による遺伝毒性を検討した。各食用色素を 2000mg/kg/day で 24 時間間隔で 3 回強制経口投与した。また、2000mg/kg/day 相当用量を最高として 1~7 日間混水投与した。強制経口投与では最終投与の 3~24 時間後に屠殺し、肝と消化管の DNA 損傷を Comet assay で検出した。混水投与では、投与 2 日目から 24 時間間隔で経時的に屠殺した。強制経口投与では単回投与の 24 時間後には多くの食用色素が結腸で陽性を示すものの、3 回投与の 24 時間後ではいずれも陰性であった。混水投与でも 1 日の投与期間の後では多くの食用色素が結腸で陽性を示すものの、投与期間の延長に伴って陰性となった。このことから、食用色素の遺伝毒性試験の結果には投与形態が重大な影響を及ぼすことが示唆された。

Second report on the evaluation of in vivo genotoxicity of synthesized food colors by the comet assay with mouse multiple organs

Satomi KAWAGUCHI¹, Masayo KINUKAWA¹, Natsue YOKOHAMA¹, Harumi TOMITA¹, Yu F SASAKI¹, Shuji TSUDA², ¹Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan, ²Iwate University, Morioka, Japan

0-45

マウス始原生殖細胞の ENU による遺伝子突然変異と遺伝子内組換えの誘発

○澁谷 徹, 鈴木 聡, 武田和香子, 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】私達はこれまでに、ENU がマウス生殖細胞の根幹となる始原生殖細胞 (Primordial germ cells; PGC) に高頻度で遺伝子突然変異 (GM) を誘発することを確認した。今回、Pun マウスを用い ENU による PGC での遺伝子内組換え (Intragenic recombination; IGR) を調べた【材料と方法】Pun マウスは C57BL/6 に P 遺伝子の主要エクソンが重複した p unstable (pun) 遺伝子をホモに保持し、淡色の毛色とピンクの眼色を有する。そのため、体細胞においては高い頻度で IGR を起こし、野生型 P 遺伝子に復帰する。雄雌 Pun マウスを交配し、発生 10.5 日の胎児に種々の用量の ENU を経胎盤的に投与し、得られた雄を Pun 雌と交配した。PGC およびその子孫生殖細胞に IGR が誘発されれば全身黒色の個体 (Whole mutants; WM) が、受精後の発生初期に IGR が誘発されればモザイク個体が得られ、それらを合計して生殖細胞系列における ENU による誘発 IGR 頻度を求めた。【結果および考察】無処理群の pun 遺伝子の IGR 頻度は低かった。ENU 処理によって、これまでに得られた GM 頻度よりもきわめて高い頻度で IGR が誘発され、その頻度は用量依存的に上昇した。これらの pun 遺伝子のきわめて高い IGR 頻度については、これまで調べた GM とは異なった“遅延型・非標的突然変異”による可能性が考えられた。

Gene mutations and intragenic recombinations in mouse primordial germ cells by ENU

Tohru SHIBUYA, Satoshi SUZUKI, Wakako ENDO-TAKEDA, Hirohisa MATSUMOTO, Hajime SUI, Takumi HARA, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Hadano, Kanagawa, Japan

0-46

コメットアッセイにおいて間接変異原検出のためのラットとヒトの肝 S9、および Hep G2 細胞の有効性

○佐々木 有¹, 奥谷 芽子¹, 斉藤 宏美², 絹川 賢代³, 松本 寛⁴, 佐藤 哲男¹, 鈴木 聡¹

¹八戸工業高等専門学校 物質工学科, ²三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所,

³北海道環境研, ⁴HAB 協議会附属室長補佐機能研究所

In vitro 遺伝毒性試験では、phenobarbital/5,6-benzoflavone (PB/FB) で酵素誘導したラット肝 S9 を加えることが一般的である。しかし、ラット肝 S9 を用いたデータをそのままヒトに外挿することには未知の部分が多く、ヒト肝 S9 を常時用いることは供給のみならず倫理的にも問題が多い。そこで、ヒト肝癌由来で薬物代謝活性の一部を保有する培養細胞である Hep G2 細胞による間接変異原の検出と、ヒトリンパ種由来の WTK1 細胞にラットおよびヒト肝 S9 を用いた場合 (斉藤ら, 奥谷ら, 本学会) の検出感度との比較を約 40 化合物について試みた。用いた S9 はラット非誘導, PB/FB 誘導の肝 S9, ヒト肝 S9 (15 個体のプールされたものと CYP 活性が高い 1 個体由来のもの), ヒト胎 S9 である。PB/FB 誘導の酵素誘導したラット肝 S9 を用いた場合には他の S9 の場合および Hep G2 細胞の場合よりも migration が高い傾向にあった。しかし、一部で大きな種差 (ラット S9 > ヒト S9, ラット S9 < ヒト S9) がみられたものもあった。Hep G2 細胞を用いた場合には、ヒト肝 S9 を用いた場合とほぼ同等な結果が得られた。このことから、結果をヒトに外挿する目的においても、種の相違はあるものの、従来から使われている酵素誘導したラット肝 S9 の有効性は損なわれず、内在性の代謝活性化系を有する Hep G2 細胞の利用も有効であると考えられた。

Detection of genotoxicity of promutagens using WTK1 cells under rat or human liver S9 and Hep G2 cells without S9

Yu F SASAKI¹, Saeko OKUTANI¹, Hiromi SAITOH², Masayo KINUKAWA³, Yutaka MATSUMOTO³, Tetsuo SATOH⁴, Satoshi SUZUKI¹, ¹Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan, ²Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd. Kashima Laboratory, Hasaki, Japan, ³Hokkaido Institute of Environmental Science, Sapporo, Japan, ⁴Biomedical Research Institute, HAB Consortium, Shiroi, Japan

O-47

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について—製薬協のアンケート調査—

- 森田 健, 小林裕幸, 斉藤明美, 原 敦子, 庄司陽子, 木村 敬, 益本吉廣,
久田 茂, 安場正子, 淺野開光治, 中井康晴, 荒木春美, 大澤浩一, 林 浩行,
若田明裕, 堤 俊輔, 遠藤芳彦, 熊沢俊彦, 浜田悦昌, 沼 敏章, 横山 篤

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

医薬品の安全性評価のための特殊毒性試験に係る ICH ガイドライン (がん原性: S1, 遺伝毒性: S2, 生殖発生毒性: S5) の三極での合意を受け, 我が国でそれぞれ対応するガイドラインが制定されてから数年が経過した。これらのガイドラインは, 適切な試験デザインや結果の評価の指針を示し, 安全性試験の国際調和に多大な寄与を果たしている。しかしながら, 動物数や試験期間等の試験デザインに科学的柔軟性をもたせるとともに, 新しい適切な検査手法の導入等が推奨されているため, その解釈や運用方法は各企業および試験を実施する研究者によって異なっている可能性がある。そこで我々は, ガイドラインの解釈や運用にどのような相違があるかを明確にし, より適切な ICH ガイドラインとなるように働きかけていくために, 製薬協加盟 83 社に対しアンケート調査を実施した。調査のポイントは, (1) がん原性試験: 試験実施の決定要因と試験デザインならびに代替法, (2) 遺伝毒性試験: 異数性誘発物質の検出方法および追加 in vivo 試験, (3) 生殖発生毒性試験: 発生神経毒性評価としての新生児を用いた検討法においた。調査期間は 2001 年 10 月 19 日~11 月 20 日, 回収率は 76% (63/83) であった。本学会では, アンケートの主要項目における解析結果をもとに特殊毒性分野の動向を紹介し, さらに, より詳細な内容を各試験分野毎に報告する予定である。

Practical use of ICH guidelines for special toxicology studies - Questionnaire survey by JPMA

Takeshi MORITA, Hiroyuki KOBAYASHI, Akemi SAITO, Atsuko HARA, Yoko SHOJI, Takashi KIMURA, Yoshihiro MASUMOTO, Shigeru HISADA, Masashi YASUBA, Koji ASANOMA, Yasuharu NAKAI, Harumi ARAKI, Koh-ichi OHSAWA, Hiroyuki HAYASHI, Akihiro WAKATA, Shunsuke TSUTSUMI, Yoshihiko ENDO, Toshihiko KUMAZAWA, Yoshimasa HAMADA, Numa TOSHIKI, Atsushi YOKOYAMA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

O-48

PCB126 胎生期曝露・次世代 DMBA 誘発ラット乳腺癌における CYP1A1, CYP1B1 の発現について

- 武藤朋子¹, 和久井 信², 政岡俊夫², 吉里征国¹

¹杏林大学 医学部 病理, ²麻布大学 獣医学部 比較毒性学

【目的】現在, ダイオキシン類の次世代・発癌性への影響は重要な研究課題であることが提唱されている。しかし, 乳癌に関しては, ダイオキシン類が抗エストロゲン作用を示すことから発生進展との関わりは少ないとする報告もある。これに対し, 我々は過去, ダイオキシン類である Co-PCB 胎生期曝露が, 出産ラットでの DMBA 誘発乳腺癌に影響を与えることを報告してきた。上記メカニズム解明のため, PCB126 胎生期曝露・次世代の DMBA 誘発乳腺癌におけるチトクローム P450 の CYP1A1, CYP1B1 の mRNA 発現誘導について検討を行った。【方法】SD (alc) ラット妊娠 13-19 日目まで PCB126 を 7.5ug, 250ng, 2.5ng, 25pg/kg/day 連日経口投与し, 対照群も設定した。生後 50 日目の次世代ラットに DMBA20mg/ml を単回経口投与し, 17 週後までの乳腺癌について RT-PCR による CYP1B1/CYP1A1 の発現比の検討を行った。【結果】7.5ug 群では DMBA の乳腺癌発癌率は対照群に比べ有意に低いのにに対し, 250ng 群, 2.5ng 群では乳腺癌発癌率は有意に高値を示した。CYP1B1/CYP1A1 の発現比は 7.5ug 群では対照群に比べ低下したのにに対し, 250ng 群, 2.5ng 群では発現比の上昇が認められた。【考察】PCB126 胎生期曝露は, 次世代の生体内環境を攪乱させ DMBA 誘発乳腺癌では, 乳癌の悪性度のパラメータとされる CYP1B1mRNA/CYP1A1mRNA の発現比に対照群と違いが認められた。

Expression of CYP1A1, 1B1mRNA in DMBA induced rat mammary carcinomas after prenatal exposure to PCB126

Tomoko MUTO¹, Shin WAKUI², Toshio MASAOKA², Masakuni FURUSATO¹, ¹Department of Pathology, Kyorin University, School of Medicine, Tokyo, Japan, ²Comparative Toxicology Laboratories, Azabu University, School of Veterinary Medicine, Kanagawa, Japan

0-49

フルメキンのマウスにおける肝イニシエーション作用及び DNA 損傷性の検討

○渡邊隆夫¹, 佐々木 有², 櫻田陽子¹, 高橋明子¹, 三森国敏¹

¹東京農工大学 農学部 獣医学科 家畜病理学教室, ²八戸工業高等専門学校 物質工学科

【目的】動物用医薬品のフルメキン (FL) は、キノロン系抗菌剤であり、マウス肝に対し発癌性を示すことが報告されている。FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (JECFA) では、本物質が遺伝毒性を示さず、肝細胞の壊死、再生がみられることから、その発癌は非遺伝毒性メカニズムによるものとして許容一日摂取量 (ADI) を設定している。しかしながら、近年 FL にイニシエーション作用を示唆する成績が得られている。今回、肝発癌感受性の高い C3H マウスを用いて FL のイニシエーション作用の有無を検討するとともに、その *in vivo* 遺伝毒性をコメットアッセイを用いて検討した。【方法】4000ppm の FL をイニシエーション時期にマウスに 2 週間経断投与し、プロモーション期に肝発がんプロモーターである 500ppm のフェノバルビタール (PB) を 13 週間経断投与し、肝について病理組織学的検索を行った。さらに、成熟マウスに 500 ないし 250mg/kg の FL を強制経口投与、また、新生児マウスおよび肝 2/3 部分切除を行ったマウスに同量を投与し、コメットアッセイにより、FL の DNA 損傷性を検索した。【結果及び考察】FL+PB 群では 2/8 例に肝細胞小増殖巣が誘発され、弱いながらも FL にイニシエーション作用があることが示された。コメットアッセイ解析では、投与 3 時間で胃、結腸と膀胱が陽性を示した。また、同量を投与した新生児マウスおよび肝 2/3 部分切除を行ったマウス肝臓において投与 3 時間で陽性を示した。以上の成績から、FL には DNA を障害する作用があることが強く示唆された。

Investigation on liver initiation activity and DNA damages of flumequine in mice

Takao WATANABE¹, Yu F. SASAKI², Yoko KASHIDA¹, Akiko TAKAHASHI¹, Kunitoshi MITSUMORI¹, ¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan, ²Laboratory of Genotoxicity, Faculty of Chemical and Biological Engineering, Hachinohe National College of Technology

0-50

N-ニトロソアミン類の変異原活性化におけるヒトと実験動物の CYP2A の役割

○宮崎雅史, 井上朋子, 清谷一馬, 山崎浩史, 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】ヒトとラット、マウスおよびハムスターなどに発現している各 CYP2A 分子種はアミノ酸配列において 70-90% の相同性を示す。当研究室では CYP2A6 が 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ことを見いだした。また、上述の実験動物において NNK の投与により肺がんが誘発されることが報告されている。そこで本研究では、たばこ煙中の各 *N*-ニトロソアミン類に対するヒト、ラット、マウスおよびハムスターの各 CYP2A の活性化能を比較検討することを目的とした。【方法】ヒト (CYP2A6 および CYP2A13)、ラット (CYP2A1, CYP2A2 および CYP2A3)、マウス (CYP2A4, CYP2A5 および CYP2A12) およびハムスター (CYP2A8, CYP2A9 および CYP2A16) の各 CYP2A を発現するサルモネラ菌 YG7108 株を樹立した。これらを用いた変異原性試験により、7 種類の *N*-ニトロソアミン類 (NNK, *N*-nitrosodibutylamine, *N*-nitrosodiethylamine, *N*-nitrosodimethylamine, *N*-nitrosomethylethylamine, *N*-nitrososornicotine, *N*-nitrosopyrrolidine) に対する各 CYP2A の活性化能を検討した。【結果および考察】検討した *N*-ニトロソアミン類の活性化には主として CYP2A3, CYP2A4, CYP2A5, CYP2A6, CYP2A8, CYP2A13 および CYP2A16 が関与した。とりわけ、CYP2A3, CYP2A4, CYP2A5, CYP2A13 および CYP2A16 は NNK を nM レベルで極めて効率よく活性化した。以上のことから、ラット肺に発現している CYP2A3、マウス肺に発現している CYP2A4 および CYP2A5、ハムスター肺に発現している CYP2A16 が、NNK による肺がんの誘発に寄与している可能性が示唆された。

Toxicological roles of human and rodent CYP2As in the mutagenic activation of *N*-nitrosamines.

Masafumi MIYAZAKI, Tomoko INOUE, Kazuma KIYOTANI, Hiroshi YAMAZAKI, Ken-ichi FUJITA, Tetsuya KAMATAKI, Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan

0-51

Thalidomideによる embryo fibroblastの増殖阻害の機構

○宮田昌明, 本木和子, 田村悦子, 山添 康

東北大学 大学院 薬学研究科

催奇形性作用を有する thalidomide は、近年その免疫抑制作用、血管新生阻害作用等が明らかとなりハンセン病、エイズ、重篤な腫瘍の治療薬として臨床に応用されている。Thalidomide の血管新生阻害や催奇形性の作用発現には代謝的活性化が必要とされるが、その機構についての知見は限られている。本研究では embryo fibroblast (EF) の増殖阻害を指標として thalidomide の代謝活性化の機構を解析した。妊娠 14 日のマウス、19 日のウサギ肝臓よりマイクロソームを、胎児より EF を調製した。Thalidomide を肝マイクロソームと 30 分反応させた後 EF に 48 時間処理した。細胞増殖は neutral red あるいは ^3H thymidine の細胞内取り込みを指標として解析した。Thalidomide (100 μM) をマウスあるいはウサギの EF に直接処理しても細胞増殖阻害は認められなかった。Thalidomide のウサギ肝マイクロソーム代謝物でマウスおよびウサギ EF の濃度依存的な細胞増殖阻害が認められたが、マウス肝マイクロソーム代謝物では認められなかった。この細胞増殖阻害作用は反応溶液中に CYP1A 分子種の特異的阻害剤である α -naphthoflavone (4 μM), furafylline (4 μM) あるいはラット CYP1A1 抗体を添加することで消失した。さらに活性酸素のスカベンジャーである 2-mercaptoethanol (50 μM) 添加で消失し、superoxide dismutase と catalase により軽減した。以上の結果より thalidomide による EF の増殖阻害作用の発現にウサギ CYP1A 分子種による代謝と活性酸素が関与する可能性が示唆された。

Mechanism for proliferation inhibition of embryo fibroblasts induced by thalidomide

Masaaki MIYATA, Karuko MOTOKI, Etsuko TAMURA, Yasushi YAMAZOE, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Sendai, Japan

0-52

CYP2A6 遺伝子欠損と発がんリスク：喫み煙草と口腔がん

○山崎浩史¹, 千葉逸郎², Topcu Zeki³, 藤枝正輝⁴, 柴田敏之⁵, 有吉範高¹, Sevgican Figen¹, Muthumala Malsantha⁴, 小林 博⁵, 鎌滝哲也¹

¹北大薬, ²北大歯, ³岐大医, ⁴Kalutara 病院, ⁵札幌がんセミナー

【目的】CYP2A6 はニコチンなどの酸化的代謝およびタバコ関連発がん性ニトロソアミンなどの代謝的活性化に関与することが知られている。当研究室では、日本人男性喫煙者の肺がんリスクが、CYP2A6 全欠損 (CYP2A6*4C) によって約 4 分の 1 に低下したことを既に明らかにしている。そこで、本研究では肺がん以外のがんである口腔がんリスクと CYP2A6 遺伝子多型との関連について、スリランカ人喫みタバコ常用者を用いた症例-対照研究を行った。【方法】口腔がん前癌病変群 286 名と、対照群として喫みタバコ常用者 135 名の血液検体よりゲノム DNA を調製し、CYP2A6 の遺伝子多型である野生型 (CYP2A6*1A)、置換型 (CYP2A6*1B) および全欠損型 (CYP2A6*4C) を PCR-RFLP により判定した。【結果および考察】頻度解析の結果、CYP2A6*4C/*4C の頻度は、対照群では 4.4% であったのに対し、口腔がん病変群では 0.7% であった。口腔がん病変群においては CYP2A6*4C をヘテロおよびホモ接合体で有するヒトでは、野生型 (CYP2A6*1) をホモ接合体で有するヒトと比較して、オッズ比がそれぞれ約 3 分の 1 および約 7 分の 1 低かった。以上のことから、喫煙者の肺がんと同様に、喫みタバコに起因すると推察される口腔がんにかかりやすいヒトも、CYP2A6 の遺伝子多型によって影響を受けていることが示唆された。

CYP2A6 gene deletion reduces oral cancer risk in betel quid chewers in Sri Lanka

Hiroshi YAMAZAKI¹, Itaru CHIBA², Zeki Topcu³, Masaki FUJIEDA⁴, Toshiyuki SHIBATA⁵, Noritaka ARIYOSHI¹, Figen Sevgican¹, Malsantha Muthumala⁴, Hiroshi KOBAYASHI⁵, Tetsuya KAMATAKI¹, ¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, ²Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University, ³Gifu University School of Medicine, ⁴General Hospital Kalutara, ⁵Sapporo Cancer Seminar Foundation

0-53

植物エストロゲン genistein のヒト肝における二重抱合体の生成

○小倉健一郎, 平塚 明, 渡部 烈

東京薬科大学 薬学部 第二衛生化学教室

【目的】大豆食品中に多く含まれるイソフラボン類 genistein (GS) は、エストロゲン受容体に対し親和性を示し、近年ヒトに対するホルモン様作用が注目されている。ヒトにおける GS の抱合代謝物として、硫酸およびグルクロン酸単抱合体ならびに各二重抱合体そして硫酸-グルクロン酸二重抱合体 (sulfoglucuronide) が尿中から検出されている。本研究では各抱合体の生成に関わるヒト肝 sulfotransferase (SULT) および UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 分子種を明らかにすることを目的とした。【方法】GS 硫酸抱合反応は [³⁵S]PAPS 存在下、ヒト肝可溶性画分または精製ヒト SULT1A1, 1A3, 1E1 および 2A1 を用いて行い、GS のグルクロン酸抱合反応は [¹⁴C]UDPGA 存在下、ヒト肝ミクロソーム画分またはヒト UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A9, 2B7 および 2B15 を発現させた昆虫細胞由来の S19 細胞ミクロソーム画分を用いて行い、生成した放射能標識抱合体を TLC-radioluminography により分離定量した。【結果・考察】GS の硫酸およびグルクロン酸単抱合体の生成において位置選択性が認められ、いずれも GS の 7-位の水酸基が優先的に抱合された。各種発現ヒト SULT および UGT 各分子種を用いて検討した結果、SULT1A1 および 1E1 が硫酸抱合に、UGT1A9 および 1A1 がグルクロン酸抱合反応にともに大きく寄与していることが強く示唆された。GS の二重抱合体 GS 7,4'-disulfate の生成には、SULT1A1 および 1E1 がともに大きく関与していた。GS sulfoglucuronide の生成は、GS 7-glucuronide を経由して SULT1E1 により GS 7-glucuronide 4'-sulfate が生成する経路が最も主要であると考えられた。

Formation of diconjugates from the phytoestrogen, genistein, in human liver

Ogura KENICHIRO, Akira HIRATSUKA, Tadashi WATABE, Department of Drug Metabolism and Molecular Toxicology, School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Science, Tokyo, Japan

0-54

H2 ブロッカーの HERG 電流及び心室筋の活動電位に対する作用

○クリスティーナ ビネリ, 永山伸一, 桑野康一, 永田良一, 鬼頭 剛

(株) 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不整脈作用を有するものが数多く報告されている。臨床で H2 ブロッカーにおいて不整脈作用 (QT 延長, 心室頻拍 (torsades de pointes)) が報告されている。そこで、我々は、patch-clamp 法を用いて HERG (human ether a go-go related gene) チャネルとしてのカリウム電流 (HERG 電流) 及びモルモット単一心室筋細胞の活動電位に対する H2 ブロッカーの作用を検討した。【方法】HERG 導入 HEK293 細胞株を用いて HERG 電流を測定した。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 Ca²⁺-free の Tyrode 液で Langendorff 装置を用いて灌流し、KB 液中に心室筋細胞を遊離させ、活動電位を測定した。【成績および総括】H2 ブロッカーとして cimetidine と famotidine について調べた。両化合物は HERG 電流については 10nM~100 μM で濃度依存的に抑制が見られた。APD90 及び APD50 (90% 及び 50% 再分極時の活動電位持続時間) については 1 μM~100 μM で顕著な延長を示さず、静止膜電位、振幅及び最大立ち上がり速度にも顕著な作用を示さなかった。従って H2 ブロッカーは、HERG チャネルを抑制することが示唆された。

Effect of H2 blocker on HERG current and action potential in single ventricular myocytes.

Pinelli Christina, Shinichi Nagayama, Koichi Kuwano, Ryoichi Nagata, Go Kito, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Kagoshima 891-1394, Japan.

0-55

安全性薬理における催不整脈評価-HERG 電流及び心室筋細胞の活動電位に対する各種薬剤の作用-

○永山伸一, クリステローナ ビネリ, 桑野康一, 永田良一, 鬼頭 剛

(株)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各種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。そこで、今回我々は、patch-clamp法を用いてHERG電流及びモルモット単一心室筋細胞の活動電位(AP)に対する各種薬剤の作用を検討した。【方法】〔HERG電流〕HERG導入HEK293細胞株を用いた。〔活動電位〕モルモット(300~600g)の摘出した心臓をコラゲナーゼを含むCa²⁺-freeのTyrode液でLangendorff装置を用いて灌流し、細胞を遊離させ、測定した。【成績及び総括】催不整脈作用を有する薬剤として注目されているastemizole及びterfenadineについて検討した。I_{Kr}の選択的阻害薬E-4031と同様にastemizole及びterfenadineは1nM~1μMで濃度依存的にHERG電流を抑制し、30nM~3μMで濃度依存的にAPD90(90%再分極時のAP持続時間)の延長を示した。(±)-Sotalol(30μM)は、HERG電流においてはわずかな抑制であったが、APD90の延長を示した。また、Verapamil(1μM)はHERG電流を抑制したが、APD90の短縮を示した。これらのことより、催不整脈評価においてHERG電流と活動電位の両方を測定する必要性が示めされた。そこで、さらに、その他の薬剤についても検討したので、その成績も合わせて発表する。

Evaluation of the proarrhythmia on safety pharmacology -Effects of drugs on HERG currents and action potentials-

Shinichi NAGAYAMA, Pinelli Christina, Kouichi Kuwano, Ryoichi Nagata, Go Kito, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Kagoshima, Japan

0-56

Establishment and its application of primary uroepithelial cell culture of the canine urinary bladder

○横藤浩一¹, 石井良和², 神藤敏正¹, 古濱和久¹

¹第一製薬(株) 安全性研究所, ²第一製薬(株) 研究技術センター

In order to establish the primary cell culture for *in vitro* study of the canine urinary bladder, we tried to develop the primary uroepithelial cell culture based on some modified method of rabbit uroepithelial cell culture (Steven et al., 1999). Using the urinary bladder of healthy beagle dogs, uroepithelial cells were scraped from the underlying connective tissue in minimum essential medium including dispase, resuspended in the keratinocyte medium to make a concentration of 6.0~7.0 × 10⁵/mL, added to the apical chamber of the transwell, cultured for 3 or 4 days and recultured in keratinocyte medium containing 1 mM CaCl₂. These cultured cells consisted of an underlying cell layer, an intermediate cell layer and an upper cell layer and revealed high transepithelial electric resistance (TER, >10000 Ω cm²) which are functional characteristics of the physiological urinary bladder. Immunofluorescence observation showed ZO-1 and E-cadherin bands, and electron microscopic examination revealed the superficial cells formed tight junction. To evaluate the usefulness of this system for an *in vitro* study, we investigated the effect of cytochalasin-B, which depolymerized the cytoskeletal elements, on these cells for 48 hours by TER measurement and immunohistochemical analyses of ZO-1. Exposure to cytochalasin-B (5 mg/mL) remarkably and progressively reduced TER from 1 hour and induced a disruption of the ZO-1 band, spotty appearance of ZO-1 protein along cells and the superficial cell detachment 48 hours later. It was suggested that cytochalasin-B had the effect on the tight junction in the urinary bladder. These results indicate that the primary uroepithelial cell culture system can evaluate both TER and morphologic changes and serves as a useful tool to analyze barrier function and morphology of urinary bladder epithelial cells.

Establishment and its application of primary uroepithelial cell culture of the canine urinary bladder

Koichi GOTO¹, Yoshikazu Ishi¹, Toshimasa Jindo¹, Kazuhisa Furuhashi¹, Drug Safety Research Laboratory, DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD., Tokyo, Japan, ²Research Technology Center, DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD., Tokyo, Japan

0-57

マグネシウム補給による慢性シクロスポリン A 腎障害の改善機序における NF- κ B の関与

○三浦克之¹, 浅井利大², 玉田 聡³, 出代孝一郎², 岡村幹夫⁴, 金 勝慶², 岩尾 洋², 仲谷達也³

¹大阪市立大学 大学院 医学研究科 薬効安全性学,

²大阪市立大学 大学院 医学研究科 分子病態薬理学,

³大阪市立大学 大学院 医学研究科 泌尿器科学,

⁴大阪市立大学 大学院 医学研究科 腎臓病態内科学

【目的】転写因子である Nuclear factor kappa B (NF- κ B) は炎症性のメディエータの遺伝子発現に関与することが知られており、腎炎や腎臓の間質病変の発現に重要であることが示唆されている。我々は以前よりシクロスポリン A (CsA) の長期投与によって生じる腎臓細管間質病変がマグネシウム (Mg) の補給により著明に改善することを報告しており、この改善効果に NF- κ B が関与しないか検討した。**【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 投与群に分け、腎皮質より核蛋白を調製、NF- κ B の DNA 結合活性をゲルシフトアッセイで検討するとともに腎臓間質へのマクロファージの浸潤ならびに組織学的検討を行った。**【成績】**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状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 食では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。NF- κ B の DNA 結合活性は CsA 投与 2 週、4 週と経時的に上昇し、Mg 補給により著しく抑制されたがベナゼプリルによる抑制は軽微であった。**【結論】**低 Mg 血症改善に伴う CsA 腎障害改善効果には CsA による NF- κ B の DNA 結合活性の上昇を抑制することが重要である可能性が示唆された。これらの作用にレニン・アンジオテンシン系の関与は少ないと考えられる。

Role of nuclear factor κ B in Mg-induced attenuation of chronic cyclosporine A nephrotoxicity

Katsuyuki Miura¹, Toshihiro ASAI², Satoshi TAMADA³, Koichiro TASHIRO³, Mikio OKAMURA⁴, Shokei KIM², Hiroshi IWAO², Tatsuya NAKATANI², ¹Department of Applied Pharmacology and Therapeutics, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ²Department of Pharmacology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ³Department of Urology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ⁴The First Department of Internal Medicine, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan

0-58

ラット腎皮質切片のセファロリジン障害における ERK 活性化の関与

○幸田祐佳, 平松 純, 玄香宗一

大阪薬科大学 薬理学

【目的】我々はラットを用いてセファロリジン (CER) によるフリーラジカル性腎障害へのプロテインキナーゼ C (PKC) の関与について報告した。今回、ラット腎皮質切片を用いて CER 腎細胞障害への PKC より下流の細胞内シグナル伝達を担う MEK/ERK 経路の関与について検討した。**【方法】**SD 系雄性ラットの腎皮質切片を薬物の存在下で、インキュベート後、核およびサイトゾル画を調製し、リン酸化 ERK 量をウェスタンブロット法にて検出した。また、フリーラジカル障害の指標として、切片から反応液中へ遊離する過酸化脂質 (チオバルビツール酸誘導性物質, TBARS) 量を、細胞障害の指標として LDH 遊離量を測定した。**【結果】**CER は、腎皮質切片において TBARS 量および LDH 遊離量を増大させ、核におけるリン酸化 ERK 量を増大させたが、サイトゾル画分では、変化はなかった。MEK1/2 の阻害薬である PD98059 は、CER によるリン酸化 ERK 量のみならず TBARS 量および LDH 遊離量の増大も抑制した。**【考察】**MEK1/2 阻害薬は CER による ERK の活性化を介したフリーラジカル産生を抑制することで腎細胞障害を軽減したと考えられ、CER によるフリーラジカル性腎障害に MEK/ERK 経路が関与する可能性が示唆される。

Participation of ERK in cephaloridine-induced injury in rat renal cortical slices

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

一般演題(ポスター)

ポスター示説(白鳥南ホール)
パネル番号と演題番号の対比表

パネル番号 Panel No.	6月18日 18 Jun	6月19日 19 Jun	6月20日 20 Jun
	演題番号 Theme No	演題番号 Theme No	演題番号 Theme No
1	1	30	56
2	4	33	59
3	7	36	62
4	10	39	65
5	13	42	68
6	16	45	71
7	19	48	74
8	22	51	77
9	25	54	57
10	28	31	60
11	2	34	63
12	5	37	66
13	8	40	69
14	11	43	72
15	14	46	75
16	17	49	58
17	20	52	61
18	23	55	64
19	26	32	67
20	29	35	70
21	3	38	73
22	6	41	76
23	9	44	78
24	12	47	
25	15	50	
26	18	53	
27	21		
28	24		
29	27		
30	掲示用	掲示用	掲示用

特定の場所に視聴者が集中するための回避策

P-01

マウスにおける無麻酔頸静脈反復採血法

○山住美由紀, 乾 嘉孝, 西田信之

武田薬品工業(株) 医薬研究本部 薬物機能第二研究所 光支所

【目的】マウスの毒性試験においては、血漿中薬物濃度測定用の採血は麻酔下に開腹して実施することが多い。このため多数の動物を用意しなければならないという問題がある。そこで、動物数の削減を目的に、無麻酔下で頸静脈からの経日反復採血を試みた。【方法】6週齢の雌雄 B6C3F1 マウスを用い、無麻酔下で頸静脈からの採血を実施した。採血前に頸部付近を剃毛し、鎖骨下の胸筋を介して注射針 (25G) を頸静脈に刺入した。各個体について、1日あたり1回、体重の0.8%に相当する量の血液をヘパリン加注射筒内に吸引した。これを初回採血とし、2あるいは4週間後にも同様の操作を実施した。この間に一般状態観察、体重及び摂餌量測定を行い、初回採血から4週間後には血液学的検査を実施した。【結果・考察】ほぼ全例の動物において、無麻酔・無切開下で頸静脈から採血することができた。また、誤って頸動脈に刺入した場合を除き、一般状態、体重及び摂餌量に異常は認められなかった。また採血に2週間以上の間隔をあけることで、血液学的検査にも異常はみられなかった。以上より、頸静脈採血の影響はなく、実験手技の面からも本法は毒性試験等に適用可能であると考えられた。また、本法は同一個体から経日反復採血ができることから、使用動物数を削減することができ、動物愛護につながる。さらに、血漿中薬物濃度測定時における麻酔の影響を排除できる点でも有用と考えられる。

A method for repeated blood sampling from the jugular vein in conscious mice

Miyuki YAMAZUMI, Yoshitaka INUI, Nobuyuki NISHIDA, Hikari Branch, Drug Safety Research Laboratories, Pharmaceutical Research Division, Takeda Chemical Industries, LTD., Japan

P-02

完全静脈栄養法のラット静脈内持続投与試験への応用

○浅沼健太郎, 小松俊一朗, 熊野英一, 小泉富彦, 三沢保幸, 杉本哲朗, 千葉修一

中外製薬(株) 安全性研究所

【目的】一般状態の悪化に伴う低栄養による毒性は、被験物質の毒性との判別に苦慮する場合がある。完全静脈栄養 (TPN) は、輸液のみで栄養状態を維持する方法で、摂餌の影響を除いた毒性評価ができる可能性がある。ラットで汎用される Steiger らの方法は前大静脈内留置カテーテルによるもので、手技の難易度が高く、施行期間中の事故による脱落もある。そこで、我々は、手技が簡便なテールカフ法 (カテーテル留置: 後大静脈, 導出: 尾部) による TPN 施行を試みた。【方法】無処置群, 5% D-Mannitol (MAN) 群および TPN 群を設け、各群 5 例の S/c:SD 雄性ラット (10 週齢) を充当した。無処置群および MAN 群は固型飼料を自由摂取, TPN 群は絶食とした。TPN 群は高カロリー輸液 (ビーエスツイン 3 号), MAN 群は MAN をテールカフ法により 2 週間持続投与 (投与速度: 約 10mL/kg/h) した。投与期間中, 経時的に体重測定, 尿検査, 血液化学的検査, 投与期間終了後に剖検を行った。【結果】TPN 群および MAN 群とも無処置群と同様に体重が推移した。TPN 群および MAN 群で液量効果による尿量の増加, TPN 群で投与カロリー不足による BUN, PL, TG, TP および Alb の軽度な減少と肝臓重量の低値, 高張液による血管周囲組織の水腫 (2/5 例) が認められた。【結論】テールカフ法による TPN は, 施行期間中の脱落がなく, 栄養状態をコントロールした毒性評価モデルとして有用な方法と考えられた。

Applications of total parenteral nutrition to the continuous intravenous infusion study in rats

Kentaro ASANUMA, Shun-ichiro KOMATSU, Eiichi KUMANO, Tomihiko KOIZUMI, Yasuyuki MISAWA, Tetsuro SUGIMOTO, Shuichi CHIBA, Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P-03

低リン状態からの回復期に認められる血中および尿中カルシウム、リンの検討

○高井 了, 小泉富彦, 小田部耕二, 三沢保幸, 藤井悦子, 杉本哲朗, 千葉修一

中外製薬(株) 安全性研究所

【目的】低リン (P) 血症は、P の摂取量減少、腸管からの吸収減少、副甲状腺機能亢進、腎からの排泄増大などで起こり、骨やカルシウム (Ca) 代謝への影響はよく研究されている。低 P 血症は吸収障害等により毒性変化として誘発される可能性があるが、その回復過程に関する報告はみあたらない。そこで、低 P 飼料摂取後に通常飼料を摂取させた条件下で P および Ca について回復期の変化を検討した。【方法】P 濃度 0.2% の低 P 飼料を 24 例の SD 系雄ラットに 4 週間給餌し、その後、回復性検討のために通常飼料を 7 日間与えた。低 P 飼料給餌終了日、通常飼料給餌後 (回復) 1, 3 および 7 日に各 6 例ずつ剖検し、血中および尿中 Ca, P 濃度測定および石灰沈着好発部位の病理学的検査を実施した。【成績・考察】低 P 飼料給餌により低値を示した血中 P 濃度は、回復 1~3 日に高値に転じた後、7 日に対照群と同レベルとなった。尿中 P 排泄量は低 P 飼料給餌中にはほぼ消失したが、回復 3 日まで徐々に増加し、以降、対照群と同レベルとなった。Ca 濃度は血中および尿中共に低 P 飼料給餌中に高値を示し、血中 Ca は回復 1 日、尿中 Ca は 3 日以降、対照群と同レベルとなった。異栄養性石灰化の指標である血中 Ca・P 積は低 P 飼料給餌中に低値を示し、回復 1 日が高値に転じた後、3 日以降、対照群と同レベルとなった。病理学的検査において低 P 飼料給餌による影響は回復期間を通して認められなかった。以上、低 P 状態からの回復期では急激な血中 P 濃度および Ca・P 積の上昇が認められ、7 日後には正常化することが明らかとなった。

Recovery of blood and urine Ca and IP level after low phosphorus state

Ryo TAKAI, Tomihiko KOIZUMI, Kouji OTABE, Yasuyuki MISAWA, Etsuko FUJII, Tetsuro SUGIMOTO, Shuichi CHIBA, Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P-04

カニクイザルの骨折治癒におよぼすアレンドロネートの作用

○関 あずさ

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】リモデリング動物であるカニクイザルの大腿骨に施した骨折の治癒におよぼすアレンドロネートの影響を確認した。【方法】9 歳の雌の育成カニクイザル 2 頭を用いた。麻酔下および無菌的な条件下で左大腿骨の骨幹部を外科的に切断してモデルを作製した。骨外膜面にプレートをあて、ビスで固定した。モデル作製後 1 週目より 0.05mg/kg もしくは 0.25mg/kg のアレンドロネート (ALN) を 2 週間に 1 回、24 週間背部皮下に投与し、2 週間に 1 回の割合で作製部位の X 線撮影を行い、治癒の状態を観察した。さらに、大腿骨を摘出後三点まげ強度試験を行った。【結果】ALN 投与個体では 2 週日以降でカルスの形成を認め、6 週目までカルスの石灰化と増大を認め、同条件で生理食塩水を投与した個体 (対照個体) よりも形成が早く大きかった。0.05mg/kg と 0.25mg/kg ではカルスの形成にはほとんど差を認めなかったが、0.25mg/kg の方が骨折線を明瞭に認めた。骨強度は非骨折側の大腿骨では、破断変形および破断エネルギーとも対照個体より高値を示した。骨折側では対照個体と比べて、0.05mg/kg は破断変形は同値、破断力はやや高値、破断エネルギーは高値を示した。0.25mg/kg は破断変形および破断力はやや低値、破断エネルギーは高値を示した。【考察およびまとめ】ALN 投与によりカルスの形成は早く起こり、また、吸収も遅延した。骨折部位では骨折線の残存を認め、0.25mg/kg 投与個体の方が治癒が遅れていた。

Effect of Alendronate on Bone Fracture Healing of Cynomolgus Monkeys

Azusa seki, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan.

P-05

ビーグルにおける頻回採血の臨床検査への影響

○上田隆弘, 春山恵美子, 中間和浩, 米盛幸治, 田中 穰, 山下裕史

(株)新日本科学 安全性研究所

【目的】大動物を用いる一般毒性試験では、同一個体で血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中薬物濃度測定を実施するため、検査頻度が多い場合は採血の各検査への影響が懸念される。そこで、今回、ビーグルを用いて、頻回採血を実施し、主として血液学的検査及び血液生化学的検査への影響を調べた。【検査頻度】ビーグルの頻回採血を(1)15~90 mL/日で6日間間隔で4回及び(2)6~60 mL/日で3日間間隔で5回実施し、その影響を調べた。【成績・総括】6日間間隔で頻回採血を実施した場合、90 mL/日採血群では1回目採血時以降、60 mL/日採血群では2回目採血時以降、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の減少が散見された。3日間間隔で頻回採血を実施した場合、60 mL/日採血群では2回目採血時以降、30及び15 mL/日採血群では3回目採血時以降に赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の減少がみられ、経時的に増悪する傾向がみられた。なお、これらの変化は5回目採血後13日に回復した。一般状態、摂餌量、体重及び血液生化学的検査ではいずれにおいても頻回採血による影響はみられなかった。以上の結果から、頻回採血における血液及び血液生化学的検査に影響を及ぼさないと考えられる1日当りの採血量の上限は、6日間間隔で採血を実施する場合は30 mL/日、3日間間隔で採血を実施する場合は9 mL/日であると考えられる。

Effects of frequent blood sampling on clinical examinations in beagles

Takahiro UEDA, Emiko HARUYAMA, Kazuhiro NAKAMA, Yukiharu YONEMORI, Joe TANAKA, Yuji YAMASHITA, SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.

P-06

Crj:CD (SD) IGS と Sle:SD ラットの血小板凝集能の比較

○周 玉, 倉田昌明, 北澤郁恵, 石川由美, 飯高 健, 永井良和, 山田 弘

ファイザー製薬 中央研究所 安全性研究部統括部 探索毒性研究課

【目的】血小板凝集能の検査は、薬物による血液凝集能への影響を評価するための重要な検査項目である。我々は、前回の本学会において実験動物血小板の凝集感受性及び凝集機構の種間差異に関する検討結果を報告した。しかしながら、同じ系統内での差異については知見が乏しいことから、今回は、毒性試験において汎用される Crj:CD(SD)IGS と Sle:SD ラットを用い、血小板凝集能の系統内の差異について検討した。【方法】動物は、雄性、5~6週齢の正常な IGS と Sle:SD ラットを用いた。凝集能測定用血小板浮遊血漿及び洗浄血小板浮遊液は、全血から遠心分離法により血小板を用いて調整した。血小板最終濃度は 5×10^6 cells/mL とした。血液凝固系において重要な役割を担う Collagen, ADP 及び Thrombin の刺激に対する凝集率は、HEMATRACER を用いて求めた。【成績】1. 血小板浮遊血漿においては、Collagen 及び ADP の刺激に対する凝集感受性の差異は両ラットで認められなかったが、ADP で凝集を惹起した場合、IGS ラットで Sle:SD ラットより長い凝集維持時間が認められた。2. 洗浄血小板浮遊液においては、Thrombin 及び ADP でのいずれの刺激に対しても IGS ラットが Sle:SD ラットより強い凝集反応を示した。以上の結果より、刺激に対する正常な IGS ラット血小板の凝集感受性は Sle:SD ラットより高いことが明らかになり、系統内差異を示す成績が得られた。

Comparison of platelets aggregation between Crj:CD(SD) and Sle:SD rats

Yu ZHOU, Masaki Kurata, Ruse Kitazawa, Yumi Ishikawa, Takeshi Iidaka, Yoshikazu Nagai, Hiroshi Yamada, Exploratory Toxicology, Drug Safety Evaluation, Global Reserach & Development, Pfizer Pharmaceuticals Inc.

P-07

安全性薬理試験における心臓電気生理学的検討に関するアンケート調査

○尾崎秀次¹, 塚本 修², 内田 武², 葛西智恵子², 桑 悦子², 齋藤 守², 中澤隆弘²,
中辻勝義², 山本恵司², 松澤利明²

¹明治製菓(株) 薬品総合研究所 安全性研究所。

²日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的】近年、医薬品による副作用の一つとして心室再分極時間の延長とそれに関連した Torsade de Points のような致死性不整脈の発現が注目されるようになり、安全性薬理試験の ICH ガイドラインにおいてこれらに関する検討の必要性が盛り込まれたことから、同テーマに関する国内製薬企業を取り組みおよび考え方を調べる目的でアンケート調査を行った。【調査方法】日本製薬工業協会加盟 87 社を対象にアンケート調査を実施し、65 社より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】本アンケートの調査時点(2000年12月)では、「QT 間隔の延長に焦点を当てた *in vivo* または *in vitro* での安全性評価試験を実施している」と回答したのは 65 施設中 57 施設 (88%) であり、その全施設が「動物を用いた心電図検査」を実施していた。「心電図以外の試験も実施している」と回答した施設は 36 施設であり、その試験として「摘出心筋の細胞内電位測定」が最も多かった (30 施設)。「単一心筋細胞を用いた patch clamp 法」あるいは「遺伝子導入によるイオンチャネル発現系」を用いて試験を実施している施設は少なく (それぞれ 9 および 12 施設)、多くの施設が未経験であることがわかった。また、致死性不整脈の予測に有用と思われる基礎試験についての調査では、ヒトで不整脈や著明な QT 延長を示した薬剤 (9 化合物) において、個々の基礎試験では有意な変化がみられない場合があるものの、複数の基礎試験を組み合わせて実施することにより、検出感度が上昇することが示唆された。

Questionnaire survey of cardiac electrophysiological evaluation in safety pharmacology

Ozaki SYUJI¹, Osamu TSUKAMOTO², Takeshi UCHIDA², Chieko KASAI², Etsuko KUME², Mamoru SAITO², Takahiro NAKAZAWA², Katsuyoshi NAKATSUJI², Keiji YAMAMOTO², Toshiaki MATSUZAWA², ¹Meiji Seika Kaisha LTD. Pharmaceutical Research Center, Toxicology lab., Yokohama, Japan, ²Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P-08

無拘束ビーグル犬における心電図パラメーターのテレメトリー法による日内変動の解析

○高松直子, 宮崎裕康, 吉田 睦, 池田孝明, 松本浩良

万有製薬(株) 安全性研究所

【緒言】テレメトリー長時間心電図は拘束ストレスが無い反面、明暗周期、動物の覚醒・睡眠周期、不測の興奮や運動の影響を受ける。本検討は無拘束ビーグル犬における心電図パラメーター (RR, PR, QT, QRS 間隔) の日内変動及びこれらの変動と影響因子との関係を明らかにし、評価系の構築を試みた。【材料及び方法】テレメトリー送信器をインプラントし回復させたビーグル犬 12 匹を試験に供した。心電図は第 II 誘導で 24 時間連続測定し、各パラメーターを 1, 12, 24 時間毎、また、安静・覚醒時に分けて平均し日内リズム及び変動域を解析した。また、活動量をモニターすると共に、R-R 間隔を Power Spectrum 解析し、自律神経バランスの日内変動を検討した。【結果及び考察】睡眠・覚醒周期は 2 つの比較的大きな周期とその間の短い散発的な周期から成っていた。RR および QT 間隔は活動周期に同調して変動したが、PR 間隔はむしろ明暗周期と同調した。一方、自律神経バランスの変動は睡眠・覚醒周期と一致した。本検討の結果、無拘束ビーグル犬における RR, QT 間隔はイス特有の活動周期に同調しているが、PR 間隔はむしろ明暗周期に同調していることが示唆された。また、RR, PR, QT, QRS 間隔の日内変動域はそれぞれ $456 \pm 61 - 808 \pm 37$ msec, $79 \pm 5 - 92 \pm 9$, $182 \pm 11 - 236 \pm 22$, $39 \pm 3 - 47 \pm 6$ (Min \pm SD ~ Max \pm SD) だった。

Diurnal variation of ECG parameters using a telemetry systems in freely moving beagle dogs.

Naoko TAKAMATSU, Hiroyasu MIYAZAKI, Mutsumi YOSHIDA, Takanori IKEDA, Hiroyoshi MATSUMOTO, Safety Assessment, Banyu Pharmaceutical CO., LTD., Saitama, Japan

P-09

ビーグル犬のテレメトリー長時間心電図におけるQT補正法の検討

○宮崎裕康¹, 多田政弘²

¹万有製薬(株)安全性研究所, ²日本獣医畜産大学 獣医外科学教室

【緒言】無拘束ビーグル犬におけるテレメトリー長時間心電図のQT補正法について、どのような補正が適切であるか未だ充分な論議が無い。本検討はQT補正の基礎となるQTとRRの相関関係及び影響因子を解析し、新たな補正法の確立を試みた。【方法】まず、無拘束ビーグル犬の心電図をテレメトリー法により連続24時間記録し、QT-RR散布図のLog回帰係数(傾斜: β)を安静時と活動時に分けて解析した。また、QTの日内変動と動物の活動周期及び自律神経バランスの変化との関係を解析した。次に、共分散分析を利用して試験前値から傾斜(β)を個体毎に算出し補正した方法とBazett, Matsunaga, Van de Waterの各補正式のQT補正能、また、抗不整脈薬SotalolのQT延長における検出力を比較した。【結果】傾斜(β)は活動時と安静時で有意な差がみられ、24時間平均は 0.276 ± 0.052 だった。QT及びRRは動物の活動周期及び自律神経バランスの変動に同調して日内を変動した。また、共分散分析を利用した補正法はMatsunaga, Van de Water, Bazettと比較して、心拍数の影響を良好に補正し、QT延長の検出力も優れていた。【結論】無拘束ビーグル犬におけるテレメトリー長時間心電図のQTを補正する場合、測定条件に合わせて個体毎に傾斜(β)を算出することが可能な補正が理想的であり、共分散分析を利用した補正は適切であると考えられた。

Correction technique for QT interval of long-term telemetry ECG recording in freely moving beagle dogs

Hiroyasu MIYAZAKI¹, Masahiro TAGAWA¹, ¹Safety Assessment, Banyu Pharmaceutical Co. Ltd., Saitama, Japan, ²Division of Surgery, Nippon Veterinary and Animal Science University, Tokyo, Japan

P-10

無麻酔下ラットのchlorpromazine投与による呼吸機能の変化: Whole body plethysmograph法の検討

○藤原 淳, 片山誠一, 海上 智

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】無麻酔下での呼吸機能測定法の1つに、ラットを用いたwhole body plethysmograph法(WBP法)があげられる。フェノチアジン誘導体の代表的薬物であるchlorpromazine(CPZ)は中枢神経抑制作用等、多様な薬理作用を持つことが知られている。今回、我々は、CPZを無麻酔下でラットに投与し、WBP法によって投与後の呼吸機能変化を評価した。【方法】SD(IGS)系雌性ラット(7週齢, 10匹/群)にCPZ(20および100 mg/kg群)あるいは生理食塩液(対照群)を単回強制経口投与した。投与前、投与0.5, 1, 2, 4, 6および8時間後の呼吸機能を呼吸機能測定装置(BioSystem XA, Buxco Electronics, Inc.)を用いてWBP法により評価した。測定項目はf(呼吸数), TV(1回換気量), MV(分時換気量), Penh(気道狭窄の指標), PIF(最大吸気流量), PEF(最大呼気流量), RT(呼気量がTVの65%になるまでの時間), Ti(吸気の開始から終了までの時間), Te(呼気の開始から終了までの時間)とした。【結果】CPZ 20 mg/kg群で投与1~6時間後にPenhの有意な高値が認められた。CPZ 100 mg/kg群で投与0.5~8時間後にPenhおよびTiの有意な高値が、TV, MV, PIFおよびRTの有意な低値が認められた。これらの結果から、本試験条件下においてCPZ(20および100 mg/kg)はラットの呼吸数には影響をおよぼさず、呼吸波形を変化させ、呼吸波形を構成するパラメーターに対し影響をおよぼすことが明らかとなった。現在、CPZ投与による呼吸機能の変化について週齢差の検討を行っており、その結果も併せて報告する。

Effect of chlorpromazine on the respiratory system in unanesthetized rats: A study on the usefulness of whole body plethysmograph system

Atsushi FUJIWARA, Seiichi KATAYAMA, Satoshi UNAKAMI, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan

P-11

覚醒および麻酔イスの心電図ならびにモルモット摘出乳頭筋の活動電位に対する dl-sotalol の影響

○佐々木篤志, 小田切剛夫, 鈴木将光, 日誌信吾, 海上 智

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】抗不整脈薬の中には心電図のQT間隔を延長させる薬物が知られている。今回、抗不整脈薬であるdl-sotalolのQT延長作用が*in vivo*における覚醒および麻酔イス心電図や、*in vitro*における乳頭筋活動電位測定で捉えられるか否かについて検討した。【方法】動物はビーグルを用いた。覚醒下心電図測定はテレメトリー方式で、麻酔下心電図測定は心室 pacing により心拍数固定で行った。モルモットの摘出乳頭筋活動電位は微小電極法で、dl-sotalolの血中濃度はHPLC法で測定した。【結果およびまとめ】覚醒イスのQTcはdl-sotalolの1および3mg/kg経口投与では影響されなかったが、10および30mg/kgで有意に延長した。Pacing条件下ではdl-sotalolは3mg/kgの静脈内投与でQT間隔を有意に延長させた。dl-Sotalolの血中濃度は覚醒下の10mg/kg投与時で4 μ g/mL(約10 μ mol/L)、また麻酔下の3mg/kg投与時でも同じ4 μ g/mLであった。これとはほぼ同じ濃度のdl-sotalolを摘出乳頭筋に適用した場合、活動電位持続時間(APD90)は適用前と比較して約10%、30 μ mol/Lでは約20%程度の有意な延長を示した。以上のことから、dl-sotalolは覚醒イスの心電図QTc、麻酔イスの pacing 心電図QT間隔および摘出乳頭筋の活動電位持続時間(APD90)をすべて延長させたことから、これらの方法が安全性薬理試験として有用な方法であると考えられる。

Effect of dl-sotalol on ECG in conscious and anesthetized dogs, and on the action potentials in isolated guinea pig papillary muscle.

Atushi SASAKI, Norio ODAGIRI, Masamitsu SUZUKI, Shingo HIZUME, Satoshi UNAKAMI, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute, Ibaraki 314-0255, Japan.

P-12

覚醒カニクイザルにおける terfenadine の心電図QT間隔延長効果に関する検討 - terfenadine と ketoconazole の併用効果 -

○小田切剛夫, 佐々木篤志, 鈴木将光, 日誌信吾, 海上 智

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】Terfenadine (TF) は経口投与では、初回通過効果により未変化体としてはほとんど血中に存在しない。しかし、薬物代謝酵素阻害剤などの併用によりTFが高濃度で認められるようになり、QT間隔を延長させることがヒトで知られている。今回、TFがCYP3A4阻害作用をもつketoconazole (KZ)の前処置により、補正QT間隔(QTc)の延長を引き起こすかどうかについて覚醒カニクイザルを用いて検討した。【方法・結果】カニクイザル(雄)にTF10, 30, 100mg/kgを経口投与したところ、QTcは10, 30mg/kgでは影響されず、臨床量の約100倍に相当する100mg/kgで軽度延長した。KZ10, 20, 50, 100mg/kgとの併用では、100mg/kgの前処置により、QTcはTF30mg/kgでも約20%の有意な延長を示した。このときのTFのC_{max}は26.1ng/mLで、TF30mg/kg単独投与時の3.1倍の高値であった。なお、KZ 100mg/kg単独ではQTcに変化はみられなかった。【結論】覚醒カニクイザルのQTcは、臨床量の約100倍に相当するTFの経口投与によっても軽度な延長しか示さない。しかし、CYP3A4阻害作用をもつketoconazoleの前処置により、QTcに影響を与えない30mg/kgのTF投与でも、TFの血中濃度が上昇し、QTcを有意に延長させることが明らかとなった。

Prolongation effect of Terfenadine on ECG QT interval in conscious Cynomolgus Monkeys -Combination of Terfenadine with Ketoconazole-

Norio ODAGIRI, Atushi SASAKI, Masamitsu SUZUKI, Shingo HIZUME, Satoshi UNAKAMI, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute, Ibaraki, Japan

P-13

薬物の QT 間隔に対する電気生理学的評価

○天野秀人, 山本由穂, 大保真由美, 日詰信吾, 海上 智

(株)三菱化学安全科学研究所

【目的】安全性薬理試験において、薬物の不整脈作用の有無を評価することが義務付けられている。薬物の QT 間隔の延長作用を推測する *in vitro* 試験として、活動電位持続時間 (APD) に対する作用を検討する方法があるが、各イオンチャンネルに対する詳細な解析は困難であった。近年、QT 間隔の延長作用と関係がある急速活性化遅延整流 K^+ チャンネル (I_{Kr}) の電流に対する作用を検討する方法として、human ether-a-go-go related gene (HERG) を導入した HEK293 細胞を用いたパッチクランプ法が注目されている。そこで、我々は覚醒動物 (イスおよびサル) において QT 間隔の延長作用が認められた sotalol および terfenadine について、HERG 導入 HEK293 細胞を用いた I_{Kr} 電流に対する作用および活動電位持続時間に対する作用を検討した。【方法および結果】 I_{Kr} 電流は、Wisconsin 大学から入手した HERG 導入 HEK293 細胞を用い、ホールセルパッチクランプ法で測定した。APD に対する作用の検討は Hartley 系雄性モルモットの右心室乳頭筋を用いた。Terfenadine は I_{Kr} 電流の抑制したが、APD の延長効果は認められなかった。一方、sotalol では、 I_{Kr} 電流の抑制は弱かったものの、APD の延長効果は認められた。陽性対照薬の cisapride は、 I_{Kr} 電流を抑制し、APD を延長させた。【考察】以上の結果から、*in vitro* 試験において QT 間隔に対する薬物の作用を推測するには、HERG 導入 HEK293 細胞を用いた I_{Kr} 電流に対する作用と APD に対する作用を組み合わせて評価することが重要であると考えられた。

Electrophysiological studies for assessing drug induced QT interval prolongation

Hideto AMANO, Yoshinori YAMAMOTO, Mayumi OBO, Singo HIZUME, Satoshi UMAKAMI, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute, Ibaraki, Japan

P-14

EFFECTS OF DOFETILIDE ON GUINEA-PIG MONOPHASIC ACTION POTENTIAL DURATION, DOG PURKINJE FIBRE ACTION POTENTIAL DURATION AND HERG CURRENTS.

○L Patmore, M R A Skinner, K McCulloch, K A Lansdell, J Harkins, A G B Templeton, D J Gallacher

Quintiles Limited, Riccarton, Edinburgh, UK.

We have investigated the effects of dofetilide on monophasic action potential duration (APD) in the anaesthetized guinea-pig, dog Purkinje fibre APD and HERG tail currents. Epicardial monophasic action potentials were recorded using a suction electrode during atrial pacing in pentobarbitone-anaesthetized, vagotomized and β -adrenoreceptor-blocked guinea-pigs. The effect of *i.v.* doses of dofetilide (3, 7, 20 and 70 $\mu\text{g}/\text{kg}$, cumulative 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was evaluated on MAPD_{70} and MAPD_{90} . Dofetilide produced a 15% increase in MAPD_{70} and MAPD_{90} at a dose of 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *i.v.*, with a maximal increase of 24% at a cumulative dose of 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *i.v.* The effect of increasing concentrations of dofetilide (0.1–1000 nM) was evaluated on the cardiac action potential recorded from dog Purkinje fibres maintained at 35–36 °C. A concentration- and inverse frequency-dependent increase in APD_{70} and APD_{90} of 7–79% at 1 Hz and 10–113% at 0.5 Hz was observed. The effect of dofetilide (1–100 nM, 10 min/concentration) was assessed on HERG tail current recorded, using whole-cell patch-clamp (22–24 °C), from HEK293 cells stably transfected with HERG cDNA. Peak tail current was recorded and % residual current calculated. Dofetilide inhibited HERG tail current in a concentration-dependent manner, producing an inhibition of 92% at 100 nM and an IC_{50} of 30 nM. An intravenous dose of ~8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dofetilide in man resulted in peak plasma levels of 9 ng/ml and produced an increase in QTc interval of 11% and a 27% increase in MAPD_{90} . In the present studies, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *i.v.* dofetilide prolonged MAPD_{90} by 22% in the anaesthetized guinea-pig while 10 nM (~5 ng/ml) dofetilide blocked HERG tail current by ~22% and increased APD_{90} in dog Purkinje fibres (paced at 1 Hz) by 33%.

EFFECTS OF DOFETILIDE ON GUINEA-PIG MONOPHASIC ACTION POTENTIAL DURATION, DOG PURKINJE FIBRE ACTION POTENTIAL DURATION AND HERG CURRENTS.

Patmore L, R A Skinner M, McCulloch K, A Lansdell K, Harkins J, G B Templeton A, J Gallacher D, Quintiles Limited, Riccarton, Edinburgh, UK.

P-15

ラット肝初代培養細胞を用いた毒性検討へのマイクロアレイの応用に関する予備検討

○島田奈央子, 桐富直哉, 浜野宝子, 手塚智章, 石井健久, 務台 勇, 井上裕章, 阿部俊一

三菱ウェルファーマ 研究本部 安全性研究所

我々は、ラット肝初代培養細胞を用いた毒性評価へのマイクロアレイ技術の応用の予備検討として、脂質過酸化による細胞膜傷害・細胞死を誘発することが知られている肝毒性物質である四塩化炭素 (CCl_4) の影響を検討した。10 週齢の雄性 BrlHan:Wist ラットの肝臓より、肝細胞をコラーゲナーゼ灌流法により単離した。肝細胞はコラーゲンコートした 6-well プレートに播種し、2 時間の前培養を実施した。その後、培地を DMSO に溶解した CCl_4 (0~5400 μM) を添加した培養液 (DMEM +10% FBS+ストレプトマイシン+ペニシリン) に交換し、さらに 6 時間または 24 時間培養した。培地中の LDH 量を測定した結果、200 μM の CCl_4 暴露後 24 時間培養した際に、軽微な漏出 LDH 活性の上昇が認められたことから、同処理群の遺伝子発現の変化を、ラット毒性遺伝子解析用 GeneChip (RT-U34, AFFYMETRIX) で解析した。コントロール (0.5% DMSO) と比較し、2 倍以上に発現が上昇したものとして *Heat shock protein* や *catalase* などのストレス関連遺伝子、1/2 以下に減少したのものとしてグルタチオン関連遺伝子などが挙げられた。同濃度では酸化ストレスによる細胞機能の低下および、それに対応する防御機構のパスウェイが作動していると推測される。現在は遺伝子発現変化の用量依存性および経時推移について解析中である。

Preliminary investigation in application of microarray technique to toxicity evaluation using rat primary cultured hepatocytes.

Naoko SHIMADA, Naoya MASUTOMI, Takako HAMANO, Toemaki TEDUKA, Takehisa ISHII, Mamoru MUTAI, Hiroaki INOUE, Shunichi ABE, Toxicology Laboratory, Pharmaceuticals Research Division, Mitsubishi Pharma Corporation, Japan

P-16

ラット初代培養肝細胞系でのペルオキシソーム増生関連酵素活性及び遺伝子発現変動の評価

○古川直子, 京川吉正, 原内敏夫, 若林美津子, 大野浩司

塩野義製薬(株) 新薬研究所 安全性研究部門

【目的】薬物の有する肝毒性を示唆する所見の一つに肝重量増加(肥大)が上げられ、ラットで肝肥大を惹起する化合物の中に肝ペルオキシソームの増生を伴うものが知られている。そこで、ラット初代培養肝細胞のペルオキシソーム増生関連遺伝子の mRNA 発現量を定量的 RT-PCR 法により測定し、遺伝子発現を指標としたペルオキシソーム増生の *in vitro* 評価系の構築を試みた。【方法】ラット肝細胞に 250 μM クロフィブレート (Cfb) を 8, 24 及び 48 時間暴露し各タイムポイントで肝細胞を回収した。また 10~250 μM Cfb または 0.1~10 μM WY14643 を 24 時間暴露後肝細胞を回収し、酵素活性及びペルオキシソーム増生関連遺伝子の mRNA 量を測定した。【結果・考察】両化合物の暴露により、時間及び濃度依存的に酵素活性と相関したペルオキシソーム増生関連遺伝子発現の上昇を検出した。このことからラット初代培養肝細胞による遺伝子発現レベルでの薬物のペルオキシソーム増生能評価が可能であると考えられる。また、最近ラットで肝ペルオキシソーム増生を惹起する化合物がヒト肝細胞においてミトコンドリア酵素遺伝子の発現を誘導することが報告されていることから、この系はヒトのミトコンドリア酵素群の誘導を類推する系としての利用も可能であると考えられる。現在 HepG2 細胞を用いて両化合物のミトコンドリア酵素遺伝子の発現誘導を確認中である。

Utility of RT-PCR technique to evaluate chemical induced peroxisome proliferation in rat primary hepatocyte cultures

Naoko FURUKAWA, Yoshimasa KYOKAWA, Toshio HARAUCHI, Mitsuko WAKABAYASHI, Kouji OHNO, Drug Safety Evaluation, Developmental Research Laboratories, SHIONOGI&CO., LTD., Osaka, Japan

P-17

CPIB あるいは PB を投与したラット肝臓の遺伝子発現解析

○清沢直樹, 平尾 潤, 牧野俊彦, 佐久間恵子, 五十嵐 功, 矢本 敬, 真鍋 淳

三共(株) 安全性研究所 実験動物研究グループ

【目的】遺伝子発現情報の毒性学への応用には、供試動物の遺伝的背景、一般状態の観察、病理組織学的解析、生化学的解析、血液化学的解析等を含め総合的な解析および考察が必要である。今回、GeneChip システム (Affymetrix) を用い、Clofibrate (CPIB) あるいは Phenobarbital (PB) を投与した雄性 F344 ラットの肝臓の遺伝子発現情報を網羅的かつ経時的に収集し、薬物代謝酵素活性等の他のパラメータとともに解析した。【材料と方法】9 週齢の雄性 F344 ラット (1 群 4 例) に、CPIB (0, 20, 200 mg/kg) あるいは PB (0, 10, 100 mg/kg) を強制経口反復投与した。1, 2, 4, 7 あるいは 14 日間の投与後に安楽死させ、肝臓を採材して解析に用いた。【結果と考察】CPIB 投与群: CYP4A, PCNA 等の誘導および JAK1, HNF4 等の抑制が認められた。PB 投与群: CYP2B, CYP3A, PCNA 等の誘導および HNF3, HNF4 等の抑制が認められた。1 日目から顕著に誘導される遺伝子群 (CYP2B, PCNA 等) は肝肥大の発現に直接関与している因子群であると考えられる。一方、引き続いて誘導される遺伝子群 (MEKK1, アミロイド β 前駆タンパク質: APP 等) は肝肥大に対する適応性反応と考えられる。APP の誘導は免疫組織染色によっても確認できたことから、GeneChip の未知毒性関連因子探索への応用が期待できる。

Gene Expression Analysis on the Rat Liver Treated with Clofibrate or Phenobarbital.

Naoki KIYOSAWA, Jun HIRAO, Toshihiko MAKINO, Kyoko SAKUMA, Isao IGARASHI, Takashi YAMOTO, Sunao MANABE, Medicinal Safety Research Lab. SANKYO Co. Ltd.

P-18

DNA チップを用いた遺伝子発現解析結果に摂餌条件が与える影響

○大林久佐郎¹, 大町 康², 谷 吉朗¹, 山本秀樹¹, 鎌井陽子¹, 遠藤和夫¹, 前田尚之¹, 真鍋 淳²

¹三共(株) 安全性研究所, ²三共(株) 安全性研究所, ³放射線医学総合研究所

【目的】遺伝子 (mRNA) 発現解析を行う際、解剖前の摂餌条件 (非絶食あるいは絶食) で結果が異なることがあるということがわかってきた。そこで肝に対して影響がある化合物 (clofibric acid) をラットに投与し、摂餌条件で肝の遺伝子発現がどのように変化するかを調べた。【方法】7 週齢の雄性 Crj: Wistar ラットを 1 群 5 例、対照群/投与群にそれぞれ非絶食/絶食群を設定し、合計 4 群 20 例に配した。Clofibric acid (CA) は 0.5% CMC に懸濁して 200 mg/kg/day で 3 日間反復経口投与し、絶食群は解剖前 16 時間から絶食とした。遺伝子発現解析には GeneChip を用い、Palmitoyl CoA β -oxidase 活性および CYP4A 蛋白発現も同時に調べた。【結果および結論】絶食だけで脂質代謝系をはじめとする種々の分子の遺伝子発現が大きく変動した。このため、絶食対照群-絶食投与群間での遺伝子発現解析結果と非絶食対照群-非絶食投与群間のそれとは大きな差がみられた。蛋白質レベルでは、CA 投与により Palmitoyl CoA β -oxidase 活性および CYP4A 蛋白発現の上昇がみられたが、絶食による影響はわずかであった。以上の結果から、遺伝子発現を解析する際は、解剖前の摂餌条件を十分考慮する必要があることが示唆された。

Effect of feeding condition on gene expression analysis using DNA chip

Hisakuni OBAYASHI¹, Yasushi OHMACHI¹, Yoshiro TANI¹, Hideki YAMAMOTO¹, Yoko KAMAI¹, Kazuo ENDO¹, Naoyuki MAEDA¹, Sunao MANABE², ¹Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., Tokyo, Japan, ²Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., Shizuoka, Japan, ³National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan

P-19

DNA チップによる慢性腎症の解析

○平尾 潤, 清沢直樹, 佐久間恭子, 瀬畑信哉, 牧野俊彦, 真鍋 淳, 矢本 敬

三共(株) 安全性研究所

【目的】慢性腎症は、雄性 F344 ラットにおいて高率に自然発症する腎臓の加齢性病変である。今回、我々は慢性腎症により惹起される遺伝子発現プロファイルの変化を、DNA チップを用いて解析した。【材料および方法】16 週齢 (n=4)、50 週齢 (n=4) および 140 週齢 (n=5) の雄性 F344/DuCrj ラット (日本チャールス・リバー(株)) より腎臓を採材した。採材後、病理組織学的検査および DNA チップ解析を実施した。【結果および考察】病理組織学的検査では、140 週齢の動物にのみ慢性腎症が認められた。遺伝子発現量は、140 週齢の動物で 16 週齢の動物と比べて 250 セットの遺伝子プローブで増加を、39 セットの遺伝子プローブで減少を示した (ただし、EST や 2 倍以上の変化が認められなかったものなどを除く)。このうち、細胞周期関連遺伝子群 (PCNA など) の増加、コラーゲン産生関連遺伝子群の増加は尿細管上皮の再生、間質の線維増生を裏付ける変化と思われる。一方、トランスポーター類の減少は腎機能の低下を推測させる。なお、50 週齢の動物では、病理組織学的検査において慢性腎症は認められなかったが、クラスター解析では 16 週齢の動物とは異なるクラスターに分類された。このことは、形態学的には確認できない微細な変化も、DNA チップで検出できる可能性を示唆している。

Analysis of nephropathy using DNA chip

Jun HIRAO, Naoki KIYOSAWA, Kyoko SAKUMA, Shinya SEHATA, Toshihiko MAKINO, Sunao MANABE, Takashi YAMOTO, Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

P-20

多環芳香族炭化水素による PPAR α 標的遺伝子の発現抑制とその分子機構

○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 代謝分析学分野,

²Laboratory of Metabolism, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, 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 (PAH) は発がん促進、生殖毒性や脂質代謝異常など生体内に様々な毒性を引き起こす。PAH の毒性発現のほとんどは、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。AhR は CYP1A1 や CYP1B1 などの薬物代謝酵素を誘導することが知られているが、それらの誘導だけでは PAH の多岐にわたる毒性発現を説明することは困難である。そこで、我々は、DNA マイクロアレイを用いて新たな AhR 標的遺伝子を探索し、PAH による毒性発現機構を解明することを目的とした。【結果および考察】DNA マイクロアレイの結果より、脂質代謝酵素や、脂質代謝に関与する遺伝子の発現を制御している核内転写因子 peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR α) の標的遺伝子群が MC により抑制されていることを見出した。AhR 欠損マウスを用いた解析から、これらの遺伝子群の発現抑制は AhR に依存的であった。そこで、PPAR α を介するシグナル伝達経路の因子について検討したところ、PPAR α と二量体を形成する retinoid X receptor α (RXR α) の mRNA 量が MC により減少していた。さらに、PPAR α 結合配列を介する転写活性も MC や benzo (a) pyrene などの PAH により抑制されていた。以上のことより、PAH による PPAR α を介するシグナル伝達の抑制および PPAR α 標的遺伝子の発現抑制は RXR α mRNA 量の減少によるものであり、これらの現象は PAH による脂質代謝異常の原因であると考えられた。

Suppression of PPAR target gene expression caused by polycyclic aromatic hydrocarbons

Manabu NUKAYA¹, Yoshiki TAKAHASHI¹, Gonzalez FRANK J², 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, USA

P-21

脱泡ミキサーを用いた薬物の懸濁液調製法に関する研究

○塚本剛司, 佐藤まゆみ, 鈴木祥太, 土井孝良

武田薬品工業(株) 薬物機能第二研究所

[目的] 毒性試験では投与量が高いため高濃度の懸濁液を調製する頻度が高い。しかし、特に水に対してぬれが悪い化合物の場合懸濁液の調製は困難である。脱泡ミキサーは各種ペイント等を混ぜ合わせながら同時に脱泡する攪拌・脱泡機である。原理は材料の入った容器を自転させながら公転させ、材料の中の気泡を押し出すと同時に混和する。本研究では脱泡ミキサーを用いた化合物懸濁液の調製について検討した。[方法] 水に対してぬれが悪い化合物 A およびぬれが良い化合物 B について、粉体と 0.5% メチルセルロース溶液を容器に入れ脱泡ミキサーで自転・公転させた。[結果] 化合物 A あるいは B を脱泡ミキサーで回転させた場合、懸濁液の含量および均一性は許容範囲内であり、濃度、調製量、運転時間を変えても原末の粒子径との差はみられなかった。一方、化合物 A では乳鉢、ホモゲナイザー、モルターグライNDER で懸濁液の調製は不可能であった。化合物 B ではこれら従来法で懸濁液が調製されたが、粒子径が大きい場合のホモゲナイザーによる懸濁液の調製で、粒子径が若干小さくなる傾向がみられた。また、脱泡ミキサーの容器の中に投与液ビンを固定するホルダーを装備することで、投与液を直接投与液ビンに調製することが出来た。[結論] 脱泡ミキサーを用いることで、従来法では懸濁液の調製が困難な化合物でも簡便に懸濁液の調製が可能であった。また、本法を用い投与液を直接投与液ビンに調製するのが有用であった。

Study on suspension preparation using a defoaming conditioning mixer

Takeji TSUKAMOTO, Mayumi SATOU, Shobta SUZUKI, Takayoshi DOI, Drug Safety Research Laboratories, Takeda Chemical Industries, LTD., Osaka, Japan

P-22

INVESTIGATIONS OF CARBOXY-HEMOGLOBIN OF ADULT SMOKERS OF CONVENTIONAL CIGARETTES AND AN ELECTRICALLY HEATED CIGARETTE

○Jan Oey, J Roethig H, L Nelson B, A Walk R

Worldwide Scientific Affairs, Philip Morris, U.S.A.

The inhalation of carbon monoxide, a major component of cigarette smoke in most conventional cigarettes, leads to the formation of carboxy-hemoglobin (CO-Hb) in blood. A study was conducted to determine whether CO-Hb differs among smokers of 2 conventional cigarettes (CC), delivering largely different amounts of CO when smoked in smoking machines by the FTC method (CC1: 11 mg tar, 0.8 mg nicotine, 12 mg CO; CC2: 3 mg tar, 0.3 mg nicotine, 4.0 mg CO), an electrically heated cigarette (EHC: 2 mg tar, 0.2 mg nicotine, 0.7 mg CO), and a no-smoking group. The conventional cigarettes and the EHC used were market products. Study design: Controlled, randomized, 4 parallel groups, stratified for gender and number of cigarettes smoked per day, switching of CC1 smokers at baseline. Study population: 90 healthy, adult male and female subjects smoking 5 - 25 CC1 per day. After consenting, smokers of CC1 were screened to meet inclusion and exclusion criteria. Eligible subjects were confined for 10 days to control for smoking (number of cigarettes per day and smoking times). Subjects were randomized to one of the 4 groups: CC1, CC2, EHC, or no-smoking group. Investigations: CO-Hb in blood samples was measured by spectro-photometry using a CO-Oximeter. Data analysis: Data were calculated as change from baseline and compared between the different groups. Results: CO-Hb decreased in the group smoking CC2, with levels in the CC2 being 22-45% lower than in CC1 when smoking similar number of cigarettes. CO-Hb levels in the EHC group were not different from no-smoking subjects, irrespective of the number of EHC's smoked. Conclusion: The technology of heating tobacco rather than burning offers an opportunity to produce a cigarette that results in a greatly reduced biologically effective dose (CO-Hb) in smokers.

investigations of carboxy-hemoglobin of adult smokers of conventional cigarettes and an electrically heated cigarette

Jan Oey, J Roethig H, L Nelson B, A Walk R, Worldwide Scientific Affairs, Philip Morris, Richmond, U.S.A.

P-23

カドミウムトランスポーターとしてのヒト Nramp2

○細山田 真¹, 大久保正人², 柴崎敏昭¹, 遠藤 仁¹

¹吉林大学 医学部 薬理学教室, ²国立薬科大学 薬物治療学講座

【目的】カドミウムの腸管吸収は Zn^{2+} , Ca^{2+} の影響を受けるほかに、体内貯蔵鉄量の低下に伴い吸収が亢進するとされている。腸管における鉄のトランスポーターであり、体内貯蔵鉄量の低下に伴い発現が亢進する Nramp2 のカドミウム輸送への関与を検討する。【方法】ヒト腎臓 mRNA からヒト Nramp2 cDNA を PCR クローニングし、ツメガエルの卵母細胞発現系を用いて $^{109}CdCl_2$ をトレーサーとしてカドミウム輸送活性を検討した。【結果】pH6.0 ではコントロールに比べて Cd^{2+} の取込みが 265 倍増加しており、外液の pH が 7.4 の時の取込みに比べて pH6.0 の時は、11 倍の Cd^{2+} 取込み増加が認められた。Nramp2 による $^{109}Cd^{2+}$ の取込みは Michaelis-Menten 型の輸送様式を示し、 $K_m=0.96 \mu M$, $V_{max}=18.5 pmol/hr/oocyte$ であった。Cold の $CdCl_2$, $FeCl_2$, $CuCl_2$ により $^{109}Cd^{2+}$ の輸送は有意に抑制されたが、 $NiCl_2$, $HgCl_2$, $ZnCl_2$ では抑制しなかった。【結論】腸管細胞に pH 依存的に Cd^{2+} が取り込まれる経路として、Nramp2 を介した経路が存在する可能性が高いことが示された。

human Nramp2 as a cadmium transporter

Makoto HOSOYAMADA¹, Masato OOKUBO², Toshiaki SHIBAZAKI¹, Hitoshi ENDOU¹, ¹Department of Pharmacology, Kyorin University School of Medicine, Mitaka, Japan, ²Department of Pharmaceutical Therapeutics, Kyoritsu College of Pharmacy, Tokyo, Japan

P-24

歯科鑄造合金の正常ヒト骨芽細胞を用いる毒性試験：L929 及び V79 細胞毒性試験との比較

○伊佐間和郎, 松岡厚子, 配島由二, 土屋利江

国立医薬品食品衛生研究所 検査部

【目的】正常ヒト骨芽細胞の増殖及び分化を指標とする歯科鑄造合金の毒性試験を行い、L929 及び V79 細胞毒性試験と比較した。【方法】試験材料は、同一製造元の歯科鑄造用金銀パラジウム合金 JIS T6106 適合品及び不適合品を用いた。正常ヒト骨芽細胞を試験材料の上で微小集積培養し、増殖度、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、カルシウム (Ca) 含量を測定した。L929 MEM Elution Assay は USP XXII に、V79 Colony Assay は「医療用具及び医用材料の基礎的な生物学的試験のガイドライン」に基づいた。【結果】JIS 不適合品における骨芽細胞の増殖度、ALP 活性、Ca 含量は、JIS 適合品におけるそれらと比較して、いずれも有意に低かった。L929 MEM Elution Assay において、 $6cm^2/ml \cdot 24h$ 及び $48h$ の抽出条件では JIS 適合品と JIS 不適合品の間に有意差はなかった。V79 Colony Assay において、JIS 適合品のコロニー形成率はコントロールと有意差はなかったが、JIS 不適合品では有意に低かった。JIS 不適合品の IC_{50} は、 $3cm^2/ml \cdot 72h$ 抽出では 91%、 $6cm^2/ml \cdot 24h$ 抽出では 68%、 $6cm^2/ml \cdot 72h$ 抽出では 66% であった。【考察】歯科鑄造用金銀パラジウム合金の JIS 不適合品は、正常ヒト骨芽細胞の増殖及び分化を JIS 適合品に比べて抑制した。JIS 不適合品の培地抽出液は、V79 Colony Assay で細胞毒性を検出できたが、米国の試験法である L929 MEM Elution Assay では、血清含有培地で抽出しても細胞毒性を検出できないことが明らかとなった。

In vitro toxicity test of dental casting alloy using normal human osteoblast: Comparison with L929 and V79 cytotoxicity tests

Kazuo ISAMA, Atsuko MATSUOKA, Yuji HAISHIMA, Toshie TSUCHIYA, Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-25

メチル水銀の細胞毒性発現におけるアミノ酸トランスポーターの役割

○金井好克, 金 捷慶, 松尾洋孝, 遠藤 仁

吉林大学 医学部 薬理学教室

水俣病の起因为物質であるメチル水銀は、生体内で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持つ化合物を形成するため、アミノ酸トランスポーターを介して細胞膜を透過するとされている。我々は、すでにメチオニンを含む大型中性アミノ酸を輸送する輸送系Lと呼ばれるアミノ酸トランスポーターの分子実体 (LAT1 及び LAT2) を明らかにし、それらがメチル水銀システイン複合体を輸送することを示した。本研究は、メチル水銀による細胞毒性が、輸送系Lを介するメチル水銀システイン複合体の輸送に依存することを実証するために、LAT1を高発現するT24細胞 (ヒト膀胱癌由来) を用い、メチル水銀細胞毒性に対する輸送系L抑制薬 BCH の効果を検討した。T24細胞によるメチル水銀システイン複合体の取り込みはBCHにより高度に抑制され、メチル水銀システイン複合体の細胞への集積は大部分が輸送系Lを介することが確認された。メチル水銀システイン複合体暴露によるT24細胞の生存率は、同濃度のメチル水銀暴露による場合に比べて大幅に低下していた。また、メチル水銀システイン複合体による細胞毒性は、輸送系L抑制薬 BCH によって軽減された。以上により、メチル水銀による細胞毒性が、輸送系Lを介することが実証された。この事実は、輸送系Lの高親和性抑制薬の開発により、メチル水銀の毒性回避が可能となることを示唆するものである。

The role of amino acid transporters in the cytotoxicity of methylmercury

Yoshikatsu KANAI, Do Kyung Kim, Hirotsuka Matsuo, Hitoshi Endou, Department of Pharmacology and Toxicology, Kyorin University School of Medicine

P-26

4-ヒドロキシノネナールによるヘムオキシゲナーゼ-1転写活性化機構

○石川牧恵, 沼澤 聡, 吉田武美

昭和大学 薬学部 臨床毒理学教室

【目的】誘導型ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) は、様々なストレスに応答し発現する。我々は、脂質過酸化最終生成物である4-ヒドロキシノネナール (4-HNE) によるHO-1誘導はPKC阻害剤により抑制されることを明らかにしている。本研究は、4-HNEによるHO-1遺伝子転写活性化におけるPKCの役割を解明することを目的とした。【方法】ヒトHO-1遺伝子の転写開始部位より-10kb及び-4kbに存在する抗酸化剤応答配列 (ARE) のクラスターを、ルシフェラーゼ遺伝子の5'上流に連結したリポーターベクター (ARE1-Luc, ARE2-Luc) を用いた。【成績】ARE1-Luc, ARE2-Lucを導入したHEK293細胞では、いずれも4-HNE添加によりルシフェラーゼ活性の誘導が認められたが、ARE1-Lucでより顕著であった。COS-7細胞においてARE1の転写活性化は、PKC阻害剤Ro-31-8220により阻害された。一方、Nrf2の強制発現によりARE1転写活性化は著明に増加し、Keap1の共発現により減少した。更にaPKC γ の発現量及び4-HNE添加量依存的にKeap1の効果は減弱した。【結論】本研究により、4-HNEによるHO-1転写活性化には-10kbのAREクラスターが重要であることが明らかになった。また、4-HNEはPKCを介してNrf2-Keap1複合体の解離を促進することによりHO-1誘導に関連することが示唆された。

The mechanism of induction of HO-1 gene transactivation by 4-HNE

Makie ISHIKAWA, Satoshi NUMAZAWA, Takemi YOSHIDA, Department of Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, University of Showa, Tokyo, Japan

P-27

内分泌攪乱作用の疑われている Bisphenol A によるラット肝発がん修飾作用および生殖系への影響

○市原敏夫^{1,2}, 今井則夫¹, 玉野静光¹, 今井田克己³, 白井智之³

¹大塚会医科学研究所, ²香川医科大学 第1病理学, ³名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験腫瘍学

【目的】内分泌攪乱作用が懸念されている bisphenol A (BPA) による肝発がん修飾作用について中期肝発がん性試験法を用いて検討した。【方法】6週齢の雄性 F344 ラットを用い、diethylnitrosamine 200mg/kg,bw を単回投与し、その2週間後に BPA を 0,25,250,2000ppm の濃度で飼料中に混じて6週間経口投与した。また、生食を投与後、BPA を 0,2000ppm で投与する群を設けた。いずれの群も実験3週目に2/3肝部分切除を行った。実験期間8週間で屠殺剖検し、肝の前がん病変である glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞数の定量的解析を行った。さらに精子検査、精巣のステージ鑑別および血清中テストステロン濃度の測定についても行った。【結果】肝 GST-P 陽性細胞数の数および面積はいずれの投与量においても差を認めなかった。体重は 2000ppm 投与群で増加抑制を認めた。臓器重量では 2000ppm 投与群で前立腺、精囊、肛門括約筋-球海綿体筋の絶対および相対重量が低値を示し、腎臓、精巣および精巣上体の相対重量が高値を示したが、これらは低体重の影響と推察された。精子検査、精巣のステージ鑑別および血清テストステロン濃度には影響を認めなかった。【結論】BPA はラット肝発がんに対して影響しないことを明らかにした。さらに、雄性生殖系に対しても明らかな影響を有さないことが示された。

Effect of bisphenol A, an endocrine disruptor, on hepatocarcinogenesis and on reproductive system in medium-term liver bioassay

Toshio ICHIHARA^{1,2}, Norio IMAI¹, Seiko TAMANO¹, Kathumi IMAIDA², Tomoyuki SHIRAI¹, ¹Daiyu-kai Institute of Medical Science, Nagoya, Japan, ²Department of Pathology, Kagawa Medical University, ³Department of Experimental Oncology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Science

P-28

沖縄産薬草中の抗酸化成分と aldose reductase 阻害作用

○安仁屋洋子, 糸数里枝, 下地絵理

琉球大学 医学部 保健学科

糖尿病の高血糖状態では Schwann 細胞、腎メサンギウム細胞、網膜血管周囲細胞、血管内皮細胞にインスリン非依存性にグルコースの取り込みが増加し、グルコース→ソルビトール→フルクトース代謝（ポリオール代謝）が亢進する。このポリオール代謝の亢進による代謝物蓄積、酸化蛋白等の増加は酸化ストレスを生じ、合併症（網膜症、末梢神経傷害、腎症）発症に関与しているといわれており、このグルコースからソルビトールへの変換酵素の aldose reductase (AR) 阻害物質は糖尿病合併症を抑制することが期待される。今回、抗酸化作用を有する沖縄産薬草およびその抗酸化成分の AR への影響を検討した。【方法】沖縄産薬草としてグアバ (G)、ウコンイソマツ (U)、ボタンボウフウ (B)、ペニバナボロギタ (BE) およびそれらの抗酸化成分として同定されたケルセチン配糖体 (QE)、没食子酸 (GA)、クロロゲン酸 (CG) およびイソクロロゲン酸 (IC) を使用し、市販の AR に、NADP、グリセルアルデヒドと共に 0.2M リン酸緩衝液 (pH 6.2) 中で反応させた。【結果・考察】用いた薬草はいずれも AR 阻害作用を有し、特に U と G は強い阻害を示した。抗酸化成分の AR 阻害活性は IC₅₀ が IC (0.98), CG (1.51), QE (1.54), GA (41.4 μg/ml) であった。これより、QE を含有する G に糖尿病合併症予防効果が示唆された。

Effect of antioxidants in Okinawan medicinal herbs on aldose reductase activity

Yoko ANIYA, Satoe ITOKAZU, Eri SHIMOJI, School of Health Sciences, University of the Ryukyus, Nishihara, Okinawa, Japan

P-29

薬物誘発性脂質症の簡便なスクリーニング系の確立

○小関直輝, 宮脇 出, 堀江泰志, 梶谷高敏, 青木泰啓, 安場正子

大日本製薬(株) 安全性研究所 安全性研究グループ

【目的】薬物誘発性脂質症は、薬物を長期投与した際に起こるリン脂質の蓄積に伴った毒性の一つで、重篤な障害を引き起こす場合がある。そのため、開発の初期段階において新規化合物の脂質症誘発性を評価することは重要であると考えられる。今回、我々は少量の末梢血から容易に多数分離することが可能なリンパ球を、脂質症の誘発が知られている薬物等にて処置し、光学顕微鏡観察下、脂質症の特徴的な形態変化である細胞質内の空胞形成を指標として、そのスクリーニング系の確立を試みた。【方法】ラットの末梢血リンパ球をFicoll-Conary比重遠心法により分離し、薬物にて24時間処置した後、ギムザ染色標本を作製した。薬物添加濃度は、1~100 μ Mの範囲における末梢血リンパ球の細胞生存率から決定した。作製した標本を光学顕微鏡観察下、細胞質内に空胞が形成されているリンパ球の割合(空胞化リンパ球率)を求め、更に電子顕微鏡観察を実施した。【結論】溶媒対照(PBSまたはDMSO処置)および無処置対照の空胞化リンパ球率は、いずれも10%未満であった。一方、脂質症の誘発が知られているクロロキシン等の脂質症陽性の薬物にて処置した場合、添加濃度に比例して空胞化リンパ球率は上昇した。更に電子顕微鏡観察下において、脂質症の特徴的な変化であるミエリン様小体の形成が確認された。以上の結果から、薬物の脂質症誘発性の評価に対するこのスクリーニング系の有用性が示された。

Establishment of a simple screening system of drug-induced lipidosis

Naoteru KOSEKI, Izuru MIYAWAKI, Hiroshi HORIE, Takatoshi KOJITANI, Yasuhiro AOKI, Masashi YASUBA, Toxicology Group, Safety Research Laboratories, Daiippon Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan

P-30

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について

——遺伝毒性：異数性誘発物質の検出と追加 in vivo 試験の現状——

○浅野間光治, 荒木春美, 大澤浩一, 中井康晴, 林 宏行, 若田明裕, 森田 健

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

【目的・方法】ICH 遺伝毒性試験ガイドライン (S2A, S2B) の中から、近年大きな変化を遂げつつある異数性誘発物質の検出ならびに in vitro 試験陽性で in vivo 試験陰性の場合の追加検討としての in vivo 試験法を取り上げ、各企業の現状を調査した。日本製薬工業協会加盟 83 社を対象にアンケート調査を実施し、57 社 (内資系: 43 社, 外資系: 14 社) より得られた回答結果を集計した。【結果・考察】異数性誘発物質の検出: in vitro 染色体異常試験では 81% の施設がチャイニーズハムスター細胞を用いていた。ただし、内資系企業の大部分がチャイニーズハムスター細胞を使用しているのに対し、外資系企業の半数が末梢ヒトリンパ球を使用していた。In vitro 染色体異常試験で分裂指数を測定している施設は、チャイニーズハムスター細胞あるいは末梢ヒトリンパ球でそれぞれ 30% あるいは 70% であった。また、分裂指数の評価に当たっては、約半数の施設が統計手法によらず、対照群に対する一定の基準を設けて判定していた。更に、数値的異常の指標として倍数性の異常のみ評価している施設が 83% であった。In vivo 追加試験: 追加 in vivo 試験の実施経験のある施設は 75% で、肝 UDS 試験が過半数を占めた。また、追加 in vivo 試験として適当と考えられているものの中では肝 UDS 試験、コメットアッセイ、トランスジェニック試験の割合が高かった。本発表では更に詳細な解析を行いたい。

Practical use of ICH guidelines for special toxicology studies—Aneugen detection and additional in vivo genotoxicity assay—

Koji ASANOMA, Harumi ARAKI, Koh-ichi OHSAWA, Yasuharu NAKAI, Hiroyuki HAYASHI, Akihiro WAKATA, Takeshi MORI-TA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P-31

グルタルアルデヒドの *in vivo* ラット皮膚における小核の誘発性

○田代 賢, 鈴木正明, 高信健司, 野口 忠, 山本静護, 松島泰次郎

日本バイオアッセイ研究センター

消毒剤や架橋剤として広く使われているグルタルアルデヒド (GA) は, *in vitro* では変異原性を示すが, *in vivo* の骨髄および末梢血小核試験では変異原性は認められていない。今回我々はラットの皮膚を標的器官とした *in vivo* 小核試験を実施したので報告する。【方法】5ないし6週齢のHWY (ヘアレス) ラット雄の背部に, 0.625%, 1.25%, 2.5%のGAを0.2ml, 24時間間隔で3回塗布した。3回目の投与後24時間後に表皮基底細胞の標本を作製し小核の誘発を検索した。【結果】皮膚小核試験により2.5%で有意な小核の誘発が見られ, また投与量に依存した小核誘発率の有意な増加傾向も認められた。【考察】今回の結果により, GAは*in vivo*においても変異原性を有することが確認され, 過去に実施された試験と結果の相違がみられた。従来の血液細胞の小核試験では投与経路が経口または腹腔内投与である。そのため反応性の高いGAが骨髄に到達する前に他の蛋白質等と反応するので骨髄での十分な濃度が得られないことが考えられる。また, 皮膚小核試験の塗布投与では皮膚はアルデヒド脱水素酵素などの酵素が乏しいためGAが変化せずに直接表皮細胞に作用したことが考えられた。

in vivo Rat Skin Micronucleus Induction of Glutaraldehyde

Tsubasa TASHIRO, Masaaki SUZUKI, Kenji TAKANOBU, Tadashi NOGUCHI, Seigo YAMAMOTO, Taijiro MATSUSHIMA, Japan Bioassay Research Center, Kanagawa, Japan

P-32

MutaMouse の肝臓および小腸における Ethylnitrosourea 誘発変異の経時的検索

○兵庫淳志, 長谷川智子, 三井田由紀子, 真鍋 淳

三共(株) 安全性研究所

MutaMouse は *in vivo* の実験条件下で遺伝毒性を検出する目的で開発されたトランスジェニックマウスである。これまでの各種既知遺伝毒性物質を用いた検討から, 変異発現解析の至適時間が臓器ごとに異なることが明らかとなっており, 臓器による細胞増殖速度の違いがその原因の一つと考えられている。今回, 我々は典型的アルキル化剤である Ethylnitrosourea (ENU) を用い, 細胞増殖速度の異なる2種の臓器 (肝臓および小腸上皮) における変異誘発の経時的変化について検討した。ENU (100mg/kg) を MutaMouse に5日間反復経口投与し, 最終投与後1日目と14日目に安楽死させ, 臓器を摘出した。臓器から抽出したDNAをファージに回収し, 大腸菌に感染させ, *lacZ* ポジティブセレクション法もしくは *cII* セレクション法にて変異頻度を求めた。また, *cII* 陽性プラークのDNAシーケンス解析を実施しDNA変異スペクトルについても検討した。その結果, 小腸では投与後1, 14日目ともに著明な変異頻度の上昇と変異スペクトルの変化が明らかであった。また, 投与後1日目と14日目の変異スペクトルの変化は同質であった。肝臓では投与後14日目に変異スペクトルの変化を伴う有意な変異頻度の上昇が認められたのに対し, 投与後1日目では変異頻度上昇, 変異スペクトルの変化とも明確ではなかった。以上の結果から, 小腸上皮細胞のように細胞増殖が速い臓器においては, 短い時間で変異が固定されるが, 肝臓のように細胞増殖の遅い臓器では, 変異固定に少なくとも14日程度が必要であることが示唆された。

Periodical Examinations of Ethylnitrosourea-induced Mutations in the Liver and Small Intestine of MutaMouse

Atsushi HYOGO, Tomoko HASEGAWA, Yukiko MIIDA, Sunao MANABE, Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., LTD., Fukuroi, Japan

P-33

ヘテロサイクリックアミン、ニトロソアミンの遺伝毒性の検出におけるラット、ヒト肝 S9 の比較検討

○奥谷 芽子¹、網川 賢代¹、善家 茜¹、佐々木 有¹、松本 寛²、佐藤 哲男³、鈴木 聡³

¹八戸工業高等専門学校 物質工学科、²北海道環境研、³HAB 協議会附属雲長類機能研究所

遺伝毒性試験では一般に phenobarbital/5,6-benzoflavone (PB/FB) で酵素誘導したラット肝 S9 が用いられる。しかし、ラットとヒトの肝では発現する P450 の分子種が異なることにも関わらずヒト肝 S9 に関するデータが少ないため、ラット肝 S9 を用いたデータをそのままヒトに外挿することには未知の部分が多い。本研究では、ラットとヒトの 5 種の S9 について、間接変異原の活性化の程度を比較検討した。用いた S9 はラット非誘導、PB/FB 誘導の肝 S9、ヒト肝 S9 (15 個体のプールされたものと CYP 活性が高い 1 個体由来のもの)、ヒト肝 S9 である。実験ではヒトリンパ腫由来の WTK1 細胞を用い、S9 mix 存在下のヘテロサイクリックアミン、ニトロソアミンで 4 時間処理し、コメットアッセイによって DNA 損傷を検出した。ニトロソアミンでは PB/FB 誘導ラット肝 S9 存在下では他の S9 よりも migration が高い傾向があるものの、直鎖アルキル鎖のニトロソアミンではいずれの S9 でも定性的に大きな差は見られなかった。しかし、環状アルキル鎖のニトロソアミンについてはヒト S9 では遺伝毒性を検出できなかった。ヘテロサイクリックアミンでは種差がみられたものもあったが、多くではいずれの S9 でも定性的に大きな差は見られなかった。これらのことから、結果をヒトに外挿する目的においても、一部で種差はみられるものの、従来から使われている PB/FB 誘導のラット肝 S9 の有効性は損なわれまいと考えられた。

Detection of genotoxicity of nitrosoamines and heterocyclic amines by the comet assay under human and rat liver S9 fractions

Saeko OKUTANI¹, Masayo KINUKAWA¹, Akane ZENKE¹, Yu F SASAKI¹, Yutaka MATSUMOTO², Tetsuo SATOH³, Satoshi SUZUKI³, ¹Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan, ²Hokkaido Institute of Environmental Science, Sapporo, Japan, ³Biomedical Research Institute, HAB Consortium, Shiroy, Japan

P-34

コメットアッセイにおいて Hep G2 細胞を用いた間接変異原の検出

○齊藤 宏美^{1,2}、宮川 誠²、奥谷 芽子¹、網川 賢代¹、佐々木 有¹

¹八戸工業高等専門学校 物質工学科、²三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

遺伝毒性試験では、供試細胞に薬物代謝活性が欠損するために、phenobarbital/5,6-benzoflavone (PB/FB) で酵素誘導したラット肝 S9 を外部から加えることが一般的である。しかし、ラットとヒトの肝では発現する P450 の分子種が異なるため、ラット肝 S9 を用いたデータをそのままヒトに外挿することには未知の部分が多い。また、ヒト肝 S9 を常時用いることは、その供給のみならず倫理的にも問題が多い。そこで、ヒト肝由来で薬物代謝活性の一部を保有する培養細胞である Hep G2 細胞による間接変異原の検出と、WTK1 細胞にヒト肝 S9 を用いた場合 (奥谷ら、本学会) の検出感度との比較を試みた。Hep G2 細胞を間接変異原で 4~24 時間処理し、コメットアッセイによって DNA 損傷を検出した。用いた間接変異原はヘテロサイクリックアミンを含む芳香族アミン、ニトロソアミン、アゾ色素等である。ヒト肝 S9 を用いた場合には、4 時間程度の処理でも十分な陽性結果が得られたが、Hep G2 細胞では同程度の濃度域であっても 24 時間という長時間処理のほうが好ましいものであった。しかし、その処理時間の相違にもかかわらず、ヒト肝 S9 存在下で WTK1 細胞を用いた場合と定性的に大きな差は見られなかった。このことから、Hep G2 細胞を用いた in vitro コメットアッセイの結果は、代謝活性化系としてヒト肝 S9 を用いた間接変異原の遺伝毒性検出系の結果とよく一致すると考えられた。

Detection of pro-mutagens using the comet assay with Hep G2 cells

Hiroshi SAITOH^{1,2}, Makoto MIYAGAWA², Saeko OKUTANI¹, Masayo KINUKAWA¹, Yu F SASAKI¹, ¹Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan, ²Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd. Kashima Laboratory, Hasaki, Japan

P-35

化学変異原による Pun マウス胎児体細胞の遺伝子内組換えの誘発

○武田和香子, 澁谷 徹, 鈴木 聡, 森村智美, 須井 哉, 原 巧

(財)食品薬品安全センター 奈野研究所

【目的】私達はこれまでに、ENU がマウス生殖細胞の根幹となる始原生殖細胞 (Primordial germ cells; PGC) に高頻度で遺伝子突然変異 (GM) を誘発することを確認した。今回、Pun マウスを用い ENU による PGC での遺伝子内組換え (Intragenic recombination; IGR) を調べた【材料と方法】Pun マウスは C57BL/6 に P 遺伝子の主要エクソンが重複した p unstable (pun) 遺伝子をホモに保持し、淡色の毛色とピンクの眼色を有する。そのため、体細胞においては高い頻度で IGR を起こし、野生型 P 遺伝子に復帰する。雄雌 Pun マウスを交配し、発生 10.5 日の胎児に種々の用量の ENU を経胎盤的に投与し、得られた雄を Pun 雌と交配した。PGC およびその子孫生殖細胞に IGR が誘発されれば全身黒色の個体 (Whole mutants; WM) が、受精後の発生初期に IGR が誘発されればモザイク個体が得られ、それらを合計して生殖細胞系列における ENU による誘発 IGR 頻度を求めた。【結果および考察】無処理群の pun 遺伝子の IGR 頻度は低かった。ENU 処理によって、これまでに得られた GM 頻度よりもきわめて高い頻度で IGR が誘発され、その頻度は用量依存的に上昇した。これらの pun 遺伝子のきわめて高い IGR 頻度については、これまで調べた GM とは異なった“遅延型・非標的突然変異”による可能性が考えられた。

Induction of intragenic recombinations by chemical mutagens in embryonic somatic cell of Pun mice

Wakako ENDO-TAKEDA, Tohru SHIBUYA, Satoshi SUZUKI, Tomomi MORIMURA, Hajime SUI, Takumi HARA, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Hadano, Kanagawa, Japan

P-36

可塑剤 butyl benzyl phthalate のラット雄胎児における生殖器系発生に及ぼす影響

○江馬 眞, 宮脇英美子, 原岡 景

国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所 生物試験部

我々は先に可塑剤として使われている dibutyl phthalate 及びその代謝物の monobutyl phthalate をラットの妊娠後期に投与したとき、精巣下降不全を有する胎児の発現頻度が上昇し、雄胎児の肛門生殖突起間距離 (AGD) が短縮することを報告した (Toxicol Lett, 111, 271-278, 2000; Reprod Toxicol, 15, 189-194, 2001)。今回は、butyl benzyl phthalate (BBP) をラットの妊娠後期に投与したときの胎児性分化に及ぼす影響について検討した。ラットの妊娠 15-17 日に 0, 250, 500 または 1000 mg/kg の BBP を強制経口投与し、妊娠 21 日に妊娠ラットを屠殺して胎児を調べた。500 及び 1000 mg/kg 投与群において母体の体重増加及び摂餌量の有意の低下が観察された。1000 mg/kg 投与群では一腹当たりの生存胎児数の有意の減少がみられた。雌雄の胎児体重は 1000 mg/kg 投与群で有意に低かった。500 及び 1000 mg/kg 投与群においては精巣下降不全を有する胎児の頻度が有意に高かった。さらに、500 及び 1000 mg/kg 投与群の雄胎児においては AGD が有意に短縮し、AGD の体重による補正值 (AGD/体重の立方根) も対照群に比べて有意に低かった。雌胎児における AGD 及び AGD の体重による補正值には BBP 投与群と対照群との間の差は認められなかった。これらの結果から、ラットの妊娠 15-17 日に投与した BBP は雄胎児の性分化に影響を及ぼすことが明らかになった。

Effects of butyl benzyl phthalate on development of the reproductive system in male offspring of rats.

Makoto EMA, Emiko MIYAWAKI, Akira HARAZONO, Division of Biological Evaluation, National Institute of Health Sciences, Osaka Branch

P-37

ES細胞の遺伝子発現に及ぼすTCDDの影響

○高木篤也、松田菜恵、五十嵐勝秀、菅野 純、金子豊蔵、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

【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培地で浮遊培養した。TCDDは10nMの濃度で添加した。培養4日後及び培養4日から5日 (すなわち24時間後) にRNAを抽出し、種々の遺伝子発現をc-DNAマイクロアレイを用いて検出した。【結果】TCDD添加培養4日後において、上皮-間充織の相互作用に関与することが知られている複数の遺伝子の減少並びに上皮のマーカーとして知られているサイトケラチンの減少が認められた。このことから、TCDDはEBにおいて上皮-間充織の相互作用を阻害している可能性が示唆された。なお、これらの変化はTCDD添加24時間後では明らかでなかった。現在、上記発現に変化の認められた遺伝子を対象にin vivoでも同様な変化が認められるか検索を行っており、その結果についても報告する。

Effects of TCDD on the gene expression of ES cells

Atsuya TAKAGI, Nae MATSUDA, Katsuhide IGARASHI, Jun KANNO, Toyozo KANEKO, Tohru INOUE, Division of Cellular & Molecular Toxicology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-38

ラット精子を用いた先体反応検査に関する検討: Sulfasalazine 投与による精子先体反応に対する影響

○福島民雄、加藤真之、磯貝ゆみ、吉川理恵、浜田悦昌、榎本政夫

ファイザー製薬(株) 毒性研究部

我々は受胎障害時におけるラット精子先体反応 (AR) への影響を調べるため、妊孕性抑制作用を有することが知られている Sulfasalazine (SASP) を一群20匹の雄ラットに300および600mg/kgの用量で28日間投与した後、各群半数例を屠殺し、その精巣上体尾部精子のARおよび運動性を調べた。残りの半数例は無気腫雌との交配検査に供した。AR検査では採取した精子を培養後、FITC-Concanavalin A lectinを用いて染色し、精子先体部に強い緑色の蛍光発色のみられた精子をAR陽性とした。精子の運動性検査ではSASP両群で精子の遊泳速度の低下がみられ、交配検査では600mg/kg群でのみ着床数の減少がみられた。AR陽性率 (%) は、対照群では9.7±4.7 (培養開始時)、12.7±5.9 (培養後1h)、25.1±5.6 (3h)、27.4±4.8 (5h) と培養時間の経過につれ増加した。一方、SASP投与群のAR陽性率は、培養開始時では300および600mg/kg群でそれぞれ7.2±2.0、8.0±2.1と対照群と大差はなかったが、培養後3hではそれぞれ20.8±2.6、14.2±3.9、培養後5hでもそれぞれ22.0±4.6、18.2±3.7で対照群と有意な差がみられ、ARは用量依存的に抑制されていた。以上、SASP 300mg/kg群では精子遊泳速度の低下だけでなくAR陽性率の減少もみられたことから、SASPの受精障害作用には精子の運動性だけでなくARも関与している可能性が示唆された。

Evaluation of the effects of Sulfasalazine, a male reproductive toxicant, on acrosome reaction in rat sperm

Tamio FUKUSHIMA, Masashi KATO, Yumi ISOGAI, Rie KIKKAWA, Yoshimasa HAMADA, Masao HORIMOTO, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Toxicology group, Taketoyo, Japan

P-39

ラット培養胎児における難燃剤テトラブロムビスフェノール A の影響

○秋田正治¹、大隅剛夫²、駒井美穂²、横山 篤²

¹鎌倉女子大学、²神奈川生命記念財団付属研究所

テトラブロムビスフェノール A (TBrBPA) は難燃剤として高層ビルなどに使用され、米国では建築物の 90% に用いられている。ビスフェノール A (BPA) は、数年前より様々な角度からの研究報告がされているが、TBrBPA においては、使用基準も定められていない現状である。この TBrBPA はその構造事象が BPA と非常に似ているため、その安全性には慎重な検討が必要と考えられる。そこで今回我々は、TBrBPA のラット培養胎児に対する影響を検討したので報告する。ラット胎齢 11.5 日目の胎児を子宮より取り出し、48 時間の胎児培養を行った。培養 2 時間後から培養終了時まで TBrBPA を 1 および 100ppm になるように培養液中に処理した。培養終了後に胎児に対する TBrBPA の影響を確認した。対照群は、培養期間中の心拍動数 180 ± 11 beats/min.、培養終了時の胎児の頂殿長 7.2 ± 0.1 mm、総体節数 42 ± 1 であった。TBrBPA1ppm 処理群において、培養 24 時間後に胎児顔面部に血腫 (50%) が認められ、対照群と比較し心拍動数の低下が認められた。また培養 48 時間後には胎児血液循環が低下し、全身の成長抑制と顔面の血腫の悪化が全例に確認された。一方 TBrBPA100ppm 処理群においては、1ppm 処理群と同様の傾向を示したが、その傾向は軽度であった。以上の結果から TBrBPA は、培養胎児において低濃度に強い影響が現れる傾向が示唆され、またこの傾向は BPA とは異なるものであった。日本においてはこの TBrBPA の使用規制がない状態であり、安全性に対する検討が今後必至と考える。

Effects of tetrabromobisphenol A as a flame retarder on cultured rat embryos

Masaharu AKITA¹, Norio Osumi², Miho Komai², Atsushi Yokoyama², ¹Kamakura Women's University, Kanagawa, Japan, ²Life-Science Research Center of Kanagawa, Kanagawa, Japan

P-40

Embryo/Fetal Developmental Toxicity Studies in Dogs Via Intravenous Jugular Vein Infusion.

○スタンプ ドナルド

ワイル リサーチ ラボラトリー インク

According to ICH Guideline 4.1.3, the embryo/fetal development study is typically conducted in two species (one rodent and one non-rodent). The preferred non-rodent species is the rabbit. In cases where the rabbit or other short gestational species are not an appropriate model, the dog can be used as the non-rodent species. WIL Research has conducted a series of studies in Beagle dogs that received intravenous jugular vein infusion on single or multiple days. Jugular vein catheters were implanted on or before gestation day 18 in timed-mated Beagle dogs. The pregnant dogs were fitted with backpack jackets, and the control and test articles were delivered using ambulatory infusion pumps. To maintain patency, a maintenance 0.9% NaCl flow rate of 0.5 mL/hr was used. The control articles (13% human serum albumin [HSA] and 0.9% NaCl) were administered (46.2 mL/kg) to groups of 20 dogs at 0.1 mL/kg/min (approximately 8 hrs) on gestation days 21, 25, 29 and/or 33. All litters were allowed to deliver naturally except when precluded by difficulties at parturition requiring surgical management. The puppies were weighed, sexed, euthanized and examined for external, visceral and skeletal malformations and developmental variations on postnatal day (PND) 1. For the skeletal examinations, radiographs of the puppies were examined. The mean live litter sizes, pup weights and postnatal survival data for the control groups were comparable to the historical data provided by the breeder. The predominant malformations observed in the control pups were cleft palate, hydrocephaly, and unilateral absent kidney. The control mean pup malformation rate was 5.5%. Based on the results of these studies, the dog can be used as an alternative non-rodent species for embryo/fetal development studies by intravenous infusion.

Embryo/Fetal Developmental Toxicity Studies in Dogs Via Intravenous Jugular Vein Infusion.

Donald G. STUMP, WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, OH USA

P-41

ラット肝ミクロソーム P450 に及ぼす除草剤ターブートル (テルブカルブ) の影響

○須賀哲弥¹, 鈴木俊也², 中川好男², 田山邦昭²

¹東京薬科大学 薬学部, ²東京都立衛生研究所

【目的】ターブートル (terbutol, テルブカルブ) はゴルフ場の芝生用の除草剤であるが, その農薬登録は既に失効している。しかし, terbutol は現在もゴルフ場排水や河川水から ppt~ppb のレベルで検出され, その環境中での残留性が問題視されている。terbutol に関する毒性データは非常に少ないことから, 今回, 亜急性毒性試験を行うとともに, 肝ミクロソーム P450 への影響を調べた。【方法】Fischer 344/DuCrj (F344) ラット (5 週齢, 1 群 5 匹) に 0.25, 0.50, 1.0% terbutol 含有 CE-2 を 28 日間自由摂食させた。また, terbutol の肝ミクロソーム酵素への影響を調べるために, 雌性ラットに 1.0% terbutol 含有 CE-2 を自由摂食させ, 7, 14, および 28 日後に肝臓を取り出し, 分画遠心法により肝ミクロソームを調製した。【結果】亜急性毒性試験では, 雌雄ともに肝重量に増加が認められたが, 肝および腎障害は認められなかった。また, terbutol の血清中濃度は低く (<0.1 μM), 4-carboxy-terbutol および 4-carboxy-BHT が主代謝物 (2~7 μM) であった。terbutol の連続投与により, 肝ミクロソームの P450 量, b5 および fp2 は投与 7 日間で対照群の約 2 倍に増加し, terbutol-4-メチル水酸化 (T4MH) 活性は約 9 倍に増加した。terbutol は BROD, T16BH, T6BH, EROD, ECOD, APND および T7AH 活性を増加させた。また, T4MH 活性はラットの CYP2B1 に対するポリクローナル抗体により阻害された。

Effects of herbicide terbutol (terbuzarb) on hepatic microsome P450 in rats

Tetsuya SUGA¹, Toshinari SUZUKI², Yoshio NAKAGAWA², Kuniaki TAYAMA², ¹Tokyo University of Pharmacy and Life Science, Tokyo, Japan, ²Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan

P-42

Pharmacokinetic Characteristics of Labeled-Nivalenol and -Fusarenon X in mice

○Annart POAPOLATHEP¹, SUGITA-KONISHI Yoshiko², YAMAMOTO Shigeki²,
DOI Kunio³, KUMAGAI Susumu³

¹Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo,

²Department of Biomedical Food Research, National Institute of Infectious Disease,

³Department of Veterinary Public Health, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo

Nivalenol (NIV) and Fusarenon X (FX) are type B trichothecene mycotoxins mainly produced by *Fusarium* spp. In order to investigate the pharmacokinetic behaviors of these toxins, ³H-NIV or -FX was orally administered to ICR female mice. ³H-NIV, ³H-FX and their metabolites were extracted by acetonitrile from serially collected plasma, urine and feces. The extracts were developed with High Performance Liquid Chromatography, and the fractions obtained were determined for radioactivity by a scintillation counter. From these results, a two-compartment pharmacokinetic model was developed to describe the fate and disposition of these toxins. Mean plasma radioactivities of ³H-NIV and -FX were observed to reach peak levels within 60 and 30 min, respectively, after oral administration. The elimination half-lives of ³H-NIV and -FX were 14.34 and 37.63 hrs, respectively. ³H-FX was absorbed from the gastrointestinal tract more efficiently than ³H-NIV, and partially converted to ³H-NIV after being absorbed. ³H-FX was excreted mainly via urine (>50%) while ³H-NIV was in feces (>50%). Radioactivities gradually decreased till 48 hrs, at which time they were near to non-detectable level.

Pharmacokinetic Characteristics of Labeled-Nivalenol and -Fusarenon X in mice

Poapolathep Annart¹, Yoshiko SUGITA-KONISHI², Shigeki YAMAMOTO², Kunio DOI³, Susumu KUMAGAI³, ¹Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, ²Department of Biomedical Food Research, National Institute of Infectious Disease, ³Department of Veterinary Public Health, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo

P-43

リウマチ性疾患治療薬の Th1/Th2 バランスに与える影響

○内田裕之¹、吉野 伸²、森 洋樹³

¹神戸薬科大学 薬学部、²神戸薬科大学 薬学部、³北海道医療大学薬学部

【目的】近年、慢性関節リウマチ (RA) をはじめ多くの自己免疫疾患において Th1/Th2 バランスの関与が示唆されており、RA は Th1 優位の疾患として知られている。しかし、これまでに RA 治療薬が Th1/Th2 バランスに与える影響について検討された例は少ない。そこで今回我々は、RA 治療薬である indomethacin (IND), dexamethasone (DEX), methotrexate (MTX), auranofin (AUR) 及び D-penicillamine (D-PA) を用い、Th1/Th2 バランスに与える影響について検討した。**【方法】**成熟した雄性 DBA/1J マウスを使用した。免疫原として卵白アルブミン (OVA) を用い、完全フロイントアジュバントと混和し、0.1mg を尾根部に皮下注射した。免疫時から 21 日間、各薬物を経口投与した。免疫後 21 日目に採血及び脾臓の摘出を行い、血清中の Th1, Th2 細胞依存性抗体である IgG2a, IgG1 抗体及び脾臓細胞によって産生される Th1, Th2 サイトカインである IFN- γ , IL-10 を ELISA 法によって測定した。**【結果及び考察】**IND, DEX, MTX 及び AUR 投与により抗 OVA IgG, IgG2a, IgG1 抗体産生はすべて抑制されたが、IgG2a は IgG1 と比較してより強い抑制がみられた。又、IFN- γ , IL-10 についても共に産生抑制がみられたが、IFN- γ 産生においてより強い抑制がみられた。しかし、D-PA 投与群においては抗体及びサイトカイン産生に対し、ほとんど影響を与えなかった。以上の結果より、IND, DEX, MTX 及び AUR は Th1 及び Th2 反応を抑制するが、Th1 反応をより強く抑制すると思われる。一方、D-PA は Th1 及び Th2 反応に影響を与えないと考えられる。

Influence of anti-rheumatic drugs on Th1/Th2 balance

Hiroyuki UCHIDA¹, Shin YOSHINO², Yuki MORI³, ¹Department of Pharmacology, Kobe Pharmaceutical University, Kobe, Japan, ²Department of Pharmacology, Kobe Pharmaceutical University, Kobe, Japan, ³Department of Immunology and Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Hokkaido, Japan

P-44

Popliteal Lymph Node Assay (PLNA) の導入

○山田毅史、平岡志津

東レ(株) 医薬研究所 安全性研究室

【目的】医薬品開発の早期段階において化合物のアレルギー性の有無を評価するために Popliteal Lymph Node Assay (PLNA) を導入することを目的とした。**【方法】**7週齢の BALB/c 雌マウスを 1 群 5 匹とし、被験物質を両足趾に皮下投与した。被験物質は、Sodium Dodecylsulfate (SDS), Citral, 2,4,6-Trinitro Chlorobenzene (TNCB) を用い、全て 100% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) に溶解した。測定項目は、リンパ節重量、リンパ細胞数およびリンパ細胞増殖活性 (BrdU 法) とした。今回は、1. アレルギー性と刺激性とを区別するために二次応答試験での投与容量の検討、2. 一次応答と二次応答との比較検討、3. 一次応答試験で中等度のアレルギー性物質 (Citral) の検出を試みた。**【成績】**1. 投与容量について 10 μ L/foot と 50 μ L/foot を比較した結果、10 μ L/foot でいずれの測定項目ともにアレルギー性物質 (TNCB) と刺激性物質 (SDS) との間に有意な差が認められた。2. 一次応答でもアレルギー性物質と刺激性物質との間に有意な差が認められた。3. 一次応答試験において中等度 (Citral) のアレルギー性が検出された。**【結論】**PLNA の導入ができ、強度および中等度のアレルギー性物質の検出が確認できた。

An investigation of modified Popliteal Lymph Node Assay

Kiyoshi YAMADA¹, Shizu HIRAOKA¹, ¹Toxicology Laboratory Pharmaceutical Research Laboratories Toray Industries, Inc.

P-45

マウスを用いた天然由来材料のアレルギー性の評価：種々の投与条件下での即時型アレルギー反応性

○五十嵐良明, 鹿庭正昭, 土屋利江

国立医薬品食品衛生研究所 検査部

天然由来材料によるアナフィラキシーなどの即時型アレルギー反応は、主に材料から溶出したタンパク質に由来するが、こうしたタンパク質のアレルギー性を評価する確立した動物試験法は少ない。また、医用材料の場合、手術などで直接体内臓器に接触するため、食品とは別の要素を加味する必要がある。今回は、試験物質の投与方法の違いによる反応性の差を見るときに、アレルギー性評価の有用な指標を検索することを目的とした。BALB/c系雌性マウスに対して、陽性タンパク質として ovalbumin (OVA) を種々の濃度、期間、アジュバントの有無で投与し、脾臓重量、血清総 IgE 抗体価、OVA 特異的 IgE 抗体価、脾臓リンパ球の IFN- γ および IL-4 産生量を測定した。OVA をアジュバントと混合して腹腔内投与すると血清総 IgE 抗体価が上昇し、1 週後に同様の投与をすることで更に上昇した。一方、OVA をアジュバントなしで投与した場合、総 IgE 抗体価は、溶媒またはアジュバントのみ投与群とほとんど差はなかったが、OVA 特異的抗体量には差が認められた。また、特異的抗体に関しても OVA をアジュバントとともに投与した方が大きな値を示した。脾臓重量は、OVA の投与及び IgE 抗体価と明らかな関係は認めなかった。脾臓リンパ球の Con A 刺激によるサイトカイン産生には、OVA 投与の明らかな効果は認めないが、OVA 刺激による IL-4 産生は OVA の濃度と投与回数に依存的に増加した。

Assessment of the allergenic potential of biological materials in mice: immediate-type hypersensitivity responses under various exposure conditions

Yoshiaki IKARASHI, Masa-aki KANIWA, Toshie TSUCHIYA, Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-46

Assessment of Cell-Mediated Immune Responses in Cynomolgus Monkeys

○ A. Jacob Jabbour¹

¹SNBLUSA, Ltd. Analytical Cytology, WA, USA

Development of cell-specific proliferation and activation assays is expected to enhance the ability to screen drug-induced immunotoxicity in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Ex vivo* antigen-specific and *in vitro* polyclonal immune responses were assayed using flow cytometry and ELISA. Antigen-specific T cell proliferation was measured after *in vivo* immunization with bovine collagen. Peripheral T lymphocytes were enriched and incubated with mitomycin-treated antigen presenting cells (APC) and BrdU in the presence and absence of collagen for 5 days. The effects of varying ratio of APC to T cells on collagen-induced cell proliferation were also examined. Analysis of cell proliferation was performed using two flow cytometric assays to measure either total or cell subset-specific proliferation. Bovine collagen increased total proliferative response of peripheral T lymphocytes above background observed in non-immunized animals. Using a novel flow cytometric assay that allows simultaneous cell proliferation and immunophenotyping analysis, 30-70% of proliferating cells were identified to be CD4+ T lymphocytes. Optimization of analytical methods for cell-mediated immune responses may improve immunotoxicity assessment of investigational new drugs in cynomolgus monkeys.

Assessment of Cell-Mediated Immune Responses in Cynomolgus Monkeys

A. Jacob Jabbour, SNBLUSA, Ltd. Analytical Cytology, WA, USA

P-47

ラットおよびイスでの Beta-agonists 投与時の血液学的検査パラメーター変動に関する検討

○相馬晋司, 窪田 典, 前田奈津江, 武藤信一, 笠原寛子, 有賀恵郷, 高橋哲明,
西山千鶴, 今村卓広, 百瀬泰紀, 黒田淳二, 柴田信男

キッセイ薬品工業(株) 安全性研究所

【目的】ラットおよびイスにおける Beta-agonists 投与後の血液学的検査パラメーターに与える影響について検討した。【方法】代表的な薬物である *l*-塩酸イソプロテレンオールと塩酸リトドリンをラットおよびイスに単回静脈内投与し、血液学的検査パラメーターおよび循環血漿量を測定した。【成績および結論】ラットおよびイスともに、*l*-塩酸イソプロテレンオールおよび塩酸リトドリン投与後に赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値に低下が認められたが、これらは24時間後にはほぼ回復する一過性的変動であった。また、生理的白血球増加症に類似した白血球数の増加も同時にみられた。さらに、上記の変動が薬物投与後の循環血漿量変動に基づくものと推察し、循環血漿量の変動についても検討した。その結果、ヘマトクリット値の変動に相関する循環血漿量の増加が認められた。以上から、Beta-agonists 投与後に認められる赤血球パラメーターの変動は、循環血漿量の変動に基づくものであることが示唆された。

Hematological changes in rats and dogs treated with beta-receptor agonists

Shinji SOUMA, Tsukasa KUBOTA, Natsue MAEDA, Shim-ichi MUTO, Hiroko KASAHARA, Norisato ARUGA, Tetsuaki TAKAHASHI, Chizuru NISHIYAMA, Takahiro IMAMURA, Yasunori MOMOSE, Junji KURODA, Nobuo SHIBATA, Toxicology Research, R&D, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., Nagano, Japan

P-48

カニクイザルを用いた各種抗凝薬の出血時間測定の見直し

○菅原正喜, 土屋俊也, 大内広子, 矢部光一, 丸 ちか子, 平山 隆, 古濱和久

第一製薬(株) 安全性研究所

ヘパリン等の抗凝薬と抗血小板薬を併用した場合、各単剤に比べて出血性副作用の増加が報告されている。しかし、従来の出血時間試験法では血小板凝集の影響が強く、血液凝固系障害による出血リスクを正しく評価できなかった。そこで、抗凝薬の出血リスク評価のために抗ヒト血小板 GP IIb/IIIa 抗体製剤 abciximab (AB) 併用による各種抗凝薬のカニクイザルでの出血時間を測定した。方法：AB 0.25 mg/kg と抗凝薬ヘパリン(HP, 100 IU/kg)、低分子ヘパリン(LMHP, 50 および 150 U/kg)あるいは Xa 阻害薬 DX-9065a (DX, 0.15 および 0.5 mg/kg)を雄カニクイザル(体重約5kg)に単回静脈内に併用投与した。投与後、出血時間の測定および PT, APTT および血小板凝集能を測定した。出血時間は、モンキーチェアに固定したサル尾にシンプレート R(オルガノンテクニカ)で傷をつけ、止血までの所要時間を測定した。結果：抗血小板薬 AB 単独投与により、血小板凝集能は顕著に減少し、出血時間は約2倍に延長した。抗凝薬の単独投与では、いずれの薬物でも PT および APTT の延長がみられたが、出血時間を延長しなかった。AB と各臨床用量の抗凝薬の併用では、HP (100 IU/kg) では出血時間が延長したが、LMHP (50 U/kg) および DX (0.15 mg/kg) では影響しなかった。考察：血小板機能を低下させることにより、抗凝薬の出血時間延長を感度よく検出できた。臨床用量での比較では、HP は LMHP および DX よりも出血時間延長が強いことから、本法は出血性リスク評価に有用と考えられた。

Effect of various anti-coagulants agents on bleeding time in cynomolgus monkeys

Tadaki SUGAWARA, Toshiya Tsuchiya, Hiroko Obuchi, Koichi Yabe, Chikako Maru, Takashi HIRAYAMA, Kazuhisa FURUHAMA, Drug Safety Research Laboratory, Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan

P-49

カニクイザルにおける血液凝固線溶系検査法の検討

○江原裕子, 桜井貴之, 野口規子, 小田部純二, 渡部一人, 杉本哲朗

中外製薬(株) 安全性研究所

【目的】ヒト臨床における血液凝固検査ではPT, APTTに加えて, 病態に応じて凝固線溶分子マーカーなど種々の項目が測定されているが, 実験動物で測定した報告は少ない。今回, ヒトの凝固線溶系検査法の測定系がカニクイザルに適用可能かどうか, 基礎的検討を行った。【方法】3~4歳齢の中国産カニクイザル雄各20匹を使用し, 3.2%クエン酸ナトリウム1容に対し血液9容の割合で採血後, 遠心(1870G, 10分, 4℃)した上清を試料とした。測定はヒト臨床検査用試薬を用いた。全自動血液凝固線溶測定装置 Amelung AMAX (エムシーメディカル) でヘパラスチンテスト, フィブリノゲン (FIB), 自動分析装置 7170 (日立製作所) で可溶性フィブリンモノマー複合体(SF), アンチトロンビン III, プロテイン C, FDP, Dダイマー(DD), α -2 プラスミンインヒビター, プラスミノゲン, ELISA 法でプロトロンビンフラグメント 1+2 および血管内皮細胞障害マーカーとしてトロンボモジュリン (TM), VCAM-1 を測定した。【成績】TM, VCAM-1 は使用したヒト用抗体がカニクイザルに交差しなかったため測定不可能であった。その他の項目は, 変動係数が10%以下の同時再現性を示し, 正常血漿を100%として20%までの範囲で希釈直線性が認められた。FIB, SF, FDP, DD については添加回収試験を実施し, 回収率は83%~119%であった。カニクイザル測定値はヒト文献値とほぼ近似した値であった。さらに保存安定性および日内変動について検討を進めている。

Application of coagulation and fibrinolytic tests for humans to cynomolgus monkeys

Yuko EBARA, Takayuki SAKURAI, Noriko NOGUCHI, Kouji OTABE, Kazuto WATANABE, Tetsuro SUGIMOTO, Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P-50

カニクイザルにおける血小板凝集能の基礎的検討 (その2)

○岡崎啓幸, 森 康男, Lee Byong Lyul, Meyer Steven, 福岡好一郎

SNBL USA, Ltd.

ADP, collagen および Epinephrine (EP) 添加によるカニクイザル血小板凝集において, EP に対する反応が低いことは昨年の本学会で報告した。今回, EP に対する血小板凝集をヒトとカニクイザルで比較検討し, かつ, EP に対するサル血小板の反応性獲得における細胞内情報伝達機構について検討した。血小板凝集は Platelet Rich Plasma (PRP) に血小板凝集剤 (EP) を添加して行った。成人男性から採取したヒト血小板では, EP (300 μ M) 添加後, ほぼ1次および2次凝集反応がみられ, ADP および collagen に比べ個体差がみられた。一方, EP によるサル血小板凝集は凝集曲線が直線的, かつ緩やかで, ヒトに比べて最大凝集率は低値であった。次に, 細胞内情報伝達機構の解明のため, calcium-protein kinase C (PKC) 系の関与について検討した。サル PRP を calcium ionophore で単独処理した結果, 1, 3 および 10 μ M のいずれの濃度でも測定開始後6分間凝集はみられなかったが, EP の添加直後から凝集が開始し, 最大凝集率は容量依存性を示した。EDTA 存在下では, いずれの濃度の calcium ionophore 前処理においても EP に対する反応性の獲得はみられなかった。また, PKC 活性化誘発剤 (PMA) を用いて同様の実験を行った結果, 0.03, 0.10, および 0.30 μ M のいずれの濃度でも, 測定開始後6分間凝集はみられなかったが, EP 添加後, 凝集が開始し, 最大凝集率は用量依存性を示した。EP 添加によるサル血小板凝集はヒトに比べて低反応性を示し, サル血小板では calcium の細胞内流入に伴う PKC の活性化が, EP に対する反応性の獲得に必要と考えられた。

Basic Trials on Platelet Aggregation in Cynomolgus Monkeys - Part 2

Keikou Okasaki, Yasuo mori, Byong Lyul Le, Steven Meyer, Koichirou Fukuzaki, SNBL USA, Ltd., Everett, WA, USA

P-51

幼若雌性ラットを用いた子宮肥大試験における遺伝子発現変化

○片山誠一, 岡村隆之, 永井賢司

三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

【目的】幼若雌性ラットに代表的な estrogen receptor (ER) agonist あるいは antagonist を投与し、子宮肥大試験における標的臓器での遺伝子発現変化を比較した。【方法】ER agonist として ethinyl estradiol (EE 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) および genistein (GEN 100 mg/kg/day), ER antagonist として ICI-182,780 (ICI 1 mg/kg/day) を幼若雌性 SD (IGS) ラット (6匹/群) に3日間反復で強制経口投与した。対照群には、溶媒 (1%エタノール含有コーン油) のみを投与した。最終投与後 24 時間に解剖し、子宮および卵巣重量を測定した後、凍結保存した。これらの臓器から total RNA を抽出し、ER α , ER β および androgen receptor (AR) 遺伝子の発現量変化について、ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems) を用いて real-time RT-PCR 法により評価した。【結果】子宮重量を測定した結果、GEN 100 mg/kg/day 群で有意な高値がみられ、ICI 1 mg/kg/day 群で有意な低値が認められた。卵巣重量は、いずれの被験物質投与群においても変化は認められなかった。子宮における ER α , ER β および AR 遺伝子の発現量変化を real-time RT-PCR 法により評価した結果、GEN 100 mg/kg/day 群では、ER α , ER β および AR 遺伝子に減少傾向がみられ、AR 遺伝子では統計学的に有意な減少が認められた。EE 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 群では、ER α および ER β 遺伝子に増加傾向が認められた。ICI 1 mg/kg/day 群では、ER α , ER β および AR 遺伝子に変化は認められなかった。本会では、卵巣における遺伝子発現変化についても併せて報告する。

Gene expression changes in the uterotrophic assay using immature female rats

Seiichi KATAYAMA, Takayuki Okamura, Kenji nagai, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan.

P-52

妊娠初期から授乳期におけるビスフェノール A の経母体曝露が仔ラットの成長および甲状腺機能に及ぼす影響

○小林健一, 王 瑞生, 宮川宗之, 関口純一郎, 須田 恵, 本間健貴

独立行政法人 産業医学総合研究所

ビスフェノール A (BPA) はポリカーボネイト樹脂の原料等に大量に使用され、弱いエストロゲン様作用をもつことが示唆されているが、経母体性の BPA 曝露による産仔甲状腺への影響についての知見は少ない。そこで我々は、妊娠期から授乳期の BPA 曝露に伴う産仔の成長及び甲状腺機能に及ぼす影響についての検討を行った。IGS-SD 系統妊娠ラットの妊娠期 6 日から授乳期 21 日にかけて、BPA を各群 0, 4, 40 mg/kg/日の用量で経口投与した。産仔は 1, 3, 9 週齢において体重、体長、肛門生殖突起間距離 (AGD) を測定し、AGD の補正値を算出した。9 週齢においては肝臓及び腎臓重量についても測定した。各週齢の血中のサイロキシン (T_4) は化学発光免疫測定法を、甲状腺刺激ホルモン (TSH) は酵素免疫測定法を用いて測定した。また、TSH 刺激試験は 9 週齢の産仔にウシ TSH を投与し、6 時間後の血中 T_4 濃度を測定し、無処置群個体の濃度と比較した。これらの結果より、BPA 曝露群では体重、体長、AGD、AGD の補正値、肝臓重量、腎臓重量、血中 T_4 及び TSH 濃度は、対照群と比べて有意な差が認められなかった。TSH 刺激試験においては、曝露群は対照群と同様、無処置の T_4 濃度と比べて有意な応答上昇が認められた。以上の結果より、BPA (4, 40 mg/kg/日) の経母体性の曝露は、その産仔の成長及び甲状腺の機能に対して明らかな影響を及ぼさないことが示唆された。

Effects of maternal exposure to bisphenol A on growth and thyroid function in the F1 offspring of rats

Kenichi KOBAYASHI, Rui-sheng WANG, Muneyuki MIYAGAWA, Soichiro SEKIGUCHI, Megumi SUDA, Takeshi HONMA, National Institute of Industrial Health

P-53

カニクイザルを用いた副腎毒性スクリーニング系の基礎的検討

○リー ビヨソリユル, ガンサー ジェーン, ビーターソン ベン, 岡崎啓幸
メーヤー スチープン, 福岡好一郎

SNBL USA, Ltd.

サルを用いた副腎毒性スクリーニング系の確立を目的として、副腎機能の変化を検出するため、いくつかの実験方法を検討した。1群3-6匹のカニクイザルを使用し、各種条件下における血中コルチゾール (Cor) と副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の濃度変化を市販の ELISA キットにより測定した。ホルモン測定のための血漿サンプルは前腕または大腿静脈から採血し、EDTA-2K で抗凝固処理した後、遠心分離まで水中にて保存した。血漿は 4℃ # 730;C での遠心分離により採取し、ホルモン測定まで -70℃ # 730;C で保存した。Cor および ACTH の測定に際し、各社の ELISA キットを比較検討した結果、サルホルモンに対する反応性と測定精度の相違から IBL 社製のキットを採用した。雄、雌各6匹のサルの Cor および ACTH の血中濃度の日内変動を測定するために朝 9:00-10:00 と夕 16:00-17:30 の二度に分けて同一サルから採血、ホルモン測定を行った。その結果、早朝に血中 Cor 濃度の明らかな上昇が 12 匹中 11 匹のサルで観察された。また、血中 ACTH 濃度変化と Cor 濃度変化に相関性が観察された。また、ケタミン麻酔の Cor ホルモン産生におよぼす影響も検討した。雄、雌各6匹のサル用ケタミン濃度 10mg/kg での麻酔下と無麻酔下でのホルモン動態を経時的に測定した結果、ケタミン麻酔は血中 Cor 濃度に影響を及ぼさないことが認められた。以上の結果、ケタミン麻酔下によるサル副腎機能の解析を目的とした処置が可能となった。ヒトで用いられるデキサメサゾン抑制試験、ACTH 付加試験等も検討したので報告する。

Basic Investigation on Screening Model for Adrenal Toxicity in Cynomolgus Monkeys

Byong Lyul Lee, Jane Gunther, Ben Peterson, Keikou Okasaki, Steven Meyer, Koichiro Fukuzaki, SNBL USA, Ltd., Everett, WA, USA

P-54

内分泌かく乱化学物質の周産期曝露による児動物下垂体前葉の
ゴナドトロピン陽性細胞数の変動について

○樹富直哉, 渋谷 淳, 高木広憲, 畠山智香子, 高橋則行, 有村卓朗, 広瀬雅雄

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【緒言】我々は既に、genistein, di-isononyl phthalate, 4-nonylphenol, methoxychlor (MXC), bisphenol A, tamoxifen について、母ラットへの経口投与 (妊娠 15 日～出産後 10 日) による児動物への影響を検討し、MXC の最大耐量 (1200 ppm) 曝露例のみで、雄の包皮分離遅延、雌の陰開口早期化及び性成熟後 (11 週目) での生殖器障害を検出している。今回、内分泌かく乱化学物質の周産期曝露影響の下垂体における検出パラメータを確立する目的で、各物質の曝露を受けた児動物の下垂体 gonadotrophin 産生細胞について免疫組織学的手法により定量的に解析した。【方法及び結果】各物質の曝露を受けた児動物 (SD:IGS ラット、生後 3 及び 11 週目) の下垂体について、FSH と LH の免疫組織染色を行い、下垂体前葉に占める各陽性細胞数を計測した。estrogen 作用の陽性対照として 0.5 ppm ethinylestradiol (EE) 曝露群も設定した。3 週目では、1200 ppm MXC 曝露により、雄で FSH、LH 陽性細胞数の減少、雌では LH 陽性細胞数の減少を認めたが、他の物質曝露群では著変を認めなかった。11 週目では、1200 ppm MXC の雄で FSH 陽性細胞数が増加したが、240 及び 24 ppm 群では変動を認めず、他の物質群でも著変を認めなかった。【考察】MXC 曝露例での検索により、3 週目での gonadotrophin 陽性細胞数と春期発動パラメータの変動、および性成熟後での FSH 陽性細胞数の増加と生殖器障害との関連性が示唆された。一方 EE 曝露により、3 週時に雌で FSH 陽性細胞数の増加を認めたが 11 週時には変化は認めず、ホルモン作用の強弱により下垂体への影響の異なる可能性が示唆された。

Alteration of gonadotropin-immunoreactive cell numbers in pituitary anterior lobe of rat offsprings perinatally exposed to endocrine disrupting chemicals.

Naoya MASUTOMI, Makoto SHIBUTANI, Hironori TAKAGI, Chikako UNEYAMA, Noriyuki TAKAHASHI, Takuro ARIMURA, Masao HIROSE, Department of Pathology, National Institute of Health Sciences

P-55

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

○岡崎和志¹, 岡崎修三², 中村英明², 北村泰樹², 高山和久², 若林佐知子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】 Phytoestrogen として知られている Genistein 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。Genistein は 1w/v% CMC-Na 水溶液に懸濁して 0, 120, 400 及び 1000mg/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 23 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。主な検査項目として、上述の性周期観察及び通常の一般毒性学的な検査に加え、神経行動学的な検査、血清ホルモン値の測定並びに精子検査を行った。**【結果】** 血清ホルモン値 (雄のプロラクチン) 及び病理組織学検査 (雌の膣) において、内分泌器官に対する Genistein の作用が検出された。しかし、いずれも軽度な変化あるいは低頻度の出現にとどまった。

A Repeated 28 Days Oral Dose Toxicity Study of Genistein in Rats, Based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for Screening Endocrine-disrupting Chemicals

Kazushi OKAZAKI¹, Shuzo OKAZAKI², Hideaki NAKAMURA², Yasuki KITAMURA², Kazuhisa HATAYAMA², Sachiko WAKABAYASHI², Toshiharu tsuda², Tomoyoshi KATSUMATA², Akiyoshi NISHIKAWA², Masao HIROSE², ¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²BOZO Research Center Incorporation, Shimzoka, Japan

P-56

新規ミトコンドリア型 benzodiazepine 受容体作用薬 AC-5216 の身体依存性に関する検討
-diazepam との比較において

○宮脇 出, 堀江泰志, 小関直輝, 船橋 斉, 安場正子

大日本製薬(株) 安全性研究所 安全性研究グループ

【目的】 benzodiazepine (BZP) 作用薬は、抗不安あるいは睡眠導入など幅広い適用で用いられている。しかし、一方で BZP 系薬物を使用した際に起こる依存性は、臨床使用上あるいは社会上深刻な問題となっている。今回、我々は、ミトコンドリア型 BZP 受容体 (MBR) に特異的に結合し neurosteroid 合成を介して抗不安作用を示す化合物 AC-5216 の退薬症状を中枢型 BZP 受容体 (CBR) 及び MBR に結合する diazepam (DZP) と比較し、AC-5216 の身体依存形成能について評価した。**【方法】** 実験には 6 週齢の SD 系雌ラットを用い、AC-5216 及び DZP の濃度を 0.12 から 0.36% へ増量し合計 2 週間経口投与した。退薬症状は、薬物添加飼料を基礎飼料に置換することで誘発させた。身体依存形成能は、休業後、一般症状の観察並びに体重、摂餌量、摂水量、体温及び自発運動量の測定を実施し、出現した退薬症状を観察することにより評価した。**【成績】** DZP 投与群では休業後、体重減少、摂餌量及び摂水量減少、体温上昇、自発運動量の減少等の退薬症状が認められた。一方、AC-5216 投与では退薬症状は認められなかった。**【結論】** MBR に特異的に作用する AC-5216 では高暴露条件下においても退薬症状が誘発されず、安全な治療薬となる可能性が示唆された。近年、Martinez ら¹⁾が DZP の身体依存の形成には CBR だけでなく MBR の関与について報告しており、BZP 系薬物の身体依存形成における CBR と MBR の役割には不明な点があり、本発表時にはこの点について詳細に検討した結果も合わせて報告したい。1) Pharmacol. Biochem. Behav. 41: p461-464; 1992

Physical dependence on mitochondrial benzodiazepine receptor agonist AC-5216 - in comparison with diazepam

Izuru MIYAWAKI, Hiroshi HORIE, Naoteru KOSEKI, Hitoshi FUNABASHI, Masashi YASUBA, Toxicology Group, Safety Research Laboratories, Daiinippon Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan

P-57

神経毒性試験のFOBにおける雄雄ラットの自発運動量測定とその解析

○町田一彦¹, 橋爪岸夫², 根田公一², 田内清憲²

¹(株)実医研 病理研究部, ²(株)実医研 安全性第1研究部

静電容量を利用したアニメックスを用いてラット自発運動の測定を行い、データの性差、日内変動などにつき、回転ケージによる測定結果と比較・検討したので報告する。【材料および方法】Wistar-Imamichi rat (SPF) の雄5匹、雌10匹を用いた。雄は無処置で使用した。雌については、半数の5例を6週齢にて卵巣を摘出し（以下OVX）、残り5例を無処置群とした。それぞれ7週齢よりアニメックス（室町機械（株）のAUTO MK-110）を用いて測定を開始した。同様の動物につき回転ケージ（シナノ製作所）で測定した運動量は、回転数を走行距離数（km）に換算して表示した。1日は午前10:00～午前10:00までの24時間とした。【結果】回転ケージでは、雄が低値かつ一定の運動量を示すのに対し、無処置の雌に性周期による違いが認められ、発情前期から発情期にかけて明らかな自発運動量の増加が観察された。OVXでは雌に類似して一定していた。全ての群で運動量の約90%が夜間に集中して見られた。これに対して、アニメックスでは性差、性周期による違いは明瞭でなく、OVXも無処置雌群より幾分低値傾向を示したに過ぎなかった。群間を通じて、回転ケージの場合と同様に夜間の運動活性が高かった。【考察および結論】以上の成績から、自発運動はその測定原理の違いにより測定している運動の要素が異なることが伺われた。

Analytical studies of motor activity in Wistar-Imamichi rats

Kazuhiko MACHIDA¹, Kishio HASHIZUME², Koichi NEDA², Kiyonori TAUCHI¹, ¹The Department of Pathology, Nippon Experimental Medical Research Institute Co., Ltd, Gunma, Japan, ²The 1st Department of Safety Evaluation, Nippon Experimental Medical Research Institute Co., Ltd, Gunma, Japan

P-58

塩化トリメチルスズおよびアクリルアミドのラットにおける急性経口神経毒性試験

○根田公一¹, 橋爪岸夫¹, 町田一彦², 田内清憲²

¹(株)実医研 安全性第1研究部, ²(株)実医研 病理研究部

【緒言】今回我々は、神経毒性の検出確認のため、農薬ガイドライン（平成12年）に従い陽性物質である塩化トリメチルスズ（TMT）およびアクリルアミド（ACR）を用いて急性神経毒性試験を実施した。【材料と方法】6週齢のCrj:CD（SD）IGSラット雌雄各群10匹ずつに、TMT 12mg/kgまたはACR 160mg/kgをそれぞれ単回経口投与し、14日間観察した。一般状態の観察を毎日1回以上、体重測定を週1回、詳細な症状の観察と機能検査を行った。観察終了後、各群雌雄5匹を灌流固定、剖検し、神経系について病理組織学的検査および電子顕微鏡検査を実施した。【結果・考察】TMTで雄1例、ACRで雌1例の死亡がみられた。一般状態観察：TMTでは被刺激性亢進、振戦が、ACRでは被刺激性亢進、歩行失調、振戦、自発運動低下、腹臥位、立毛がみられた。詳細な観察：TMTでは被刺激性、振戦の亢進が、ACRでは被刺激性、振戦、歩行失調、立毛の亢進、自発運動の減少がみられた。機能検査：TMTでは握力減少、自発運動量増加が、ACRでは握力減少、自発運動量減少がみられた。神経系の病理組織学的検査および電子顕微鏡検査：TMTでは大脳・小脳に髄質を主とした神経線維の空胞化変性、脊髄の背索に神経線維の空胞化変性、末梢神経に軸索の変性が認められた。ACRでは末梢神経に軸索の変性が認められた。これらの結果から、農薬ガイドラインの急性神経毒性試験方法によって両物質の神経毒性が検出され、神経毒性の評価が可能と判断された。

Acute neurotoxicity study in rats given a single oral administration of trimethyl tin and acrylamide

Koichi NEDA¹, Kishio HASHIZUME¹, Kazuhiko MACHIDA², Kiyonori TAUCHI¹, ¹The 1st Department of Safety Evaluation, Nippon Experimental Medical Research Institute Co., Ltd, Gunma, Japan, ²The Department of Pathology, Nippon Experimental Medical Research Institute Co., Ltd, Gunma, Japan

P-59

動物行動に対する1-ブロモプロパン曝露の影響について

○本間健資, 須田 恵, 倉持光利, 神保 雅, 辻村祐佑

独立行政法人 産業医学総合研究所 健康障害予防研究部

【緒言】地球環境保全の立場からフロンの使用は規制されている。そのためフロン代替化学物質の使用が多くなっており、2-ブロモプロパン (2BP) もそのひとつである。2BPはその毒性情報がほとんど知られていなかったが、金属洗浄等に使用され、韓国で集団中毒の原因となった。乏ないし無精子症や月経停止などが主な症状であり、貧血も発症した。そのため2BPに替わるものとして1-ブロモプロパン (1BP) が使用されている。その後動物実験で1BPの末梢神経障害作用が報告されているが、中枢神経作用はあまり明らかではない。本研究では1BPの中枢神経作用を明らかにする目的でラットに1BPを曝露し、行動変化を検討した。【方法】実験動物としてはF344ラットの雄または雌を用い、1BPを腹腔内投与あるいは全身曝露 (8時間/日) した。行動変化の指標として、自発行動量 SLA (Spontaneous locomotor activity) や学習行動を測定し、いくつかの生理的指標や末梢作用も測定した。脳内神経伝達物質等の脳内物質も測定した。【結果と結論】3週間の1BP曝露により、中程度の曝露濃度でラットの体重は対照群よりも増加した。このとき摂餌量も対照群より多かった。曝露終了後の暗期のSLAは対照群より高値であった。獲得された学習記憶には影響は見られなかったが、Open-field testにおいても曝露群のAmbulation scoreは対照群より高かった。その結果、1BPはラットにおいて何らかの中樞興奮作用を有するものと思われた。

Effects of inhalation exposure of 1-bromopropane on the animal behavior

Takeshi HONMA, Megumi Suda, Mitsutoshi Kuramochi, Masashi Jinbo, Yusuke Tsujimura, Department of Health Effects Research, National Institute of Industrial Health, Kawasaki, Japan

P-60

カニクイザルにおけるSDS-PAGEを用いた尿蛋白分画の基礎的検討

○小田部耕二, 長谷川妙子, 小泉妙子, 小泉富彦, 小松俊一郎, 千葉修一, 渡部一人, 杉本哲朗, 井上 誠

中外製薬(株) 安全性研究所

【目的】SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を用いた尿蛋白分画の解析は腎臓障害の早期診断・経過観察に有用である。ヒトでは多くの検討がされているがカニクイザルでの報告はみあたらないことから、健康な個体を用いて尿蛋白分画を解析するとともに日内・日差変動を検討した。【材料・方法】3~4歳齢の中国産カニクイザル雌雄各4匹を用いた。飼育ケージにメッシュの金網と採尿パットを設置して採尿し、採尿中の尿は冷蔵した。11~15時 (給餌11時) に採尿した4時間尿を用いて遠心 (470×g, 5min) の影響および採尿後1,7,14,28日間の保存安定性 (4℃, -80℃) を検討した。また、7~11時 (給餌前), 11~15時および15~19時 (給餌9時) の4時間尿における日内変動, 11~15時の4時間尿における3日間の日差変動を調べた。泳動は8~18% Gradient Gel を用いて600V/50mA/30W・80minで行い、蛋白染色は銀染色法を用いた。【結果・考察】健康尿では8例ともほとんど同じ泳動パターンを示し、3本のバンド (85K, 51K, 20K) を主体として27本のバンドが検出された。ウロムコイド (94K) およびアルブミン (67K) を主体に26本のバンドを示すヒトの泳動パターンと類似していた。遠心により最も濃い85Kのバンドが減じた。保存安定性は-80℃で問題はなかったが、4℃では保存7日以降で3例に65Kないし12Kのバンドの消失がみられた。日内および日差変動に関してはほとんど差異は認められなかった。現在、分子量の精査を含め各蛋白バンドの同定を検討中である。

The basic examination of the urinary protein fractions using SDS-PAGE in cynomolgus monkey.

Kouji OTABE, Taeko Hasegawa, Taeko Koizumi, Tomihiko Koizumi, Syunnichiro Komatsu, Syunichi Chiba, Kazuto Watanabe, Tetsuro Sugimoto, Makoto Inoue, Safety assessment laboratory of Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P-61

インドキシル硫酸による腎障害における有機アニオントランスポーターの役割

○榎本 篤^{1,2}、武田理夫¹、丹羽利光²、遠藤 仁¹

¹杏林大学 医学部 薬理学、²名古屋大学医学部予防医療部

【目的】インドキシル硫酸 (IS) は尿毒症毒素であり、腎不全の進行とともに血中濃度が上昇し、腎内に蓄積し腎障害を増悪させる。IS による腎障害における近位尿細管基底側に存在するラット有機アニオントランスポーター 1 および 3 (rOAT1, rOAT3) の役割について検討した。【方法】(In vivo) 慢性腎不全ラットに IS を投与し、IS、rOAT1 および rOAT3 の免疫組織学的検出を行った。(In vitro) rOAT1, rOAT3 発現マウス近位尿細管細胞 (S₂rOAT1, S₂rOAT3) を作成し用いた。IS は HPLC で測定した。【成績】(In vivo) 慢性腎不全ラットに IS を投与すると、腎不全の進行は促進された。また IS は rOAT1, rOAT3 が発現している尿細管に共存していた。(In vitro) 1. IS は rOAT1, rOAT3 による有機アニオン輸送を抑制した。2. S₂rOAT1, S₂rOAT3 による IS 取り込みは mock より有意に高く、それは有機アニオン阻害薬である probenecid により抑制された。3. IS により S₂rOAT1, S₂rOAT3 の細胞生存率は mock に比べて有意に低下し、それは probenecid により抑制された。【結論】rOAT1, rOAT3 は IS の尿細管細胞内への取り込みおよび IS による腎障害の増悪に関与する。rOAT1, rOAT3 は脳にも発現しており、これらトランスポーターによる IS の取り込みが、IS による神経症状に関与する可能性も示唆された。

Role of organic anion transporter in the induction of indoxyl sulfate-induced nephrotoxicity

Atsushi ENOMOTO^{1,2}, Michio TAKEDA¹, Toshimitsu NIWA², Hitoshi ENDO¹, ¹Department of Pharmacology and Toxicology, Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan, ²Department of Clinical Preventive Medicine, Nagoya University School of Medicine

P-62

ヒト薬物トランスポーターを用いた薬物間相互作用の予測

○千葉正悦¹、成川新一¹、長濱 昇¹、鈴木 晃¹、黒岩幸雄¹、遠藤 仁²

¹(株)富士バイオメディックス、²杏林大学医学部薬理学教室

目的 薬物間相互作用は、薬物代謝酵素における相互作用ばかりではなく、吸収や排泄に関与するトランスポーターにおける薬物間相互作用も存在すると考えられる。本研究では、H₂-受容体拮抗薬であるシメチジンの輸送に関わるトランスポーターとその薬物間相互作用について検討を加えた。方法 ヒト腎尿細管において、薬物の排泄に関与しているヒト有機アニオントランスポーター 1,2,3,4 (hOAT1,2,3,4) とヒト有機カチオントランスポーター 1,2 (hOCT1,2) の機能発現細胞を用いて、種々の検討を加えた。方法は、それぞれの機能発現細胞に、放射性リガンドと各濃度のシメチジンを添加し、37℃でインキュベートした後、放射性リガンドの細胞内取り込み量を測定した。結果 1. シメチジンは hOATs と hOCTs の両トランスポーターにより、細胞内に取り込まれることが、放射性リガンドを用いた阻害様式の解析によって実証された。2. ヒト腎排泄に関与する 6 種類のトランスポーターにおけるシメチジンの阻害実験から、hOAT3・hOCT1 においては競合阻害、hOCT2 においては非競合阻害をそれぞれ示し、hOAT1 では競合・非競合の両阻害が認められた。さらに、hOAT2 と hOAT4 の両トランスポーターにおいては、阻害が認められなかった。3. 6 種類のトランスポーターのうち、hOAT3 において最も強い阻害を示し、Ki 値は 29.8 μM であった。結論 シメチジンの他薬剤に対する相互作用は、薬物代謝酵素を介した阻害によるものだけでなく、ヒト腎トランスポーターを介した阻害も生ずることを認めた。

Prediction of the interaction of drug using human drug transporters

Shoetsu CHIBA¹, Shinichi NARIKAWA¹, Noboru NAGAHAMA¹, Hikaru SUZUKI¹, Yukio KUROIWA¹, Hitoshi ENDO², ¹Fuji Biomedix, Kounosu, Japan, ²Department of Pharmacology and Toxicology Kyorin University School of Medicine, Mitaka, Japan

P-63

ラット前立腺過形成モデルを用いたケルセチンの細胞増殖抑制作用の検討

○竹橋 進¹, 国井 誠¹, 松崎健太郎², 本間隆夫², 長村義之¹

¹東海大学 医学部 総合診療学系病理診断学, ²東海大学工学部

【目的】我々は、ケルセチンが前立腺培養細胞株 (PC3) において微小管重合を阻害することにより細胞増殖を抑制することを報告した。今回はラット前立腺過形成モデルを用いて、ケルセチンの微小管重合、細胞増殖に及ぼす作用を検討した。【方法】10週齢のwistar系雄ラットを用い、去勢後、Testosterone propionate (3mg/kg/day) および β -Estradiol 3-benzoate (0.03mg/kg/day) を2週間または5週間皮下投与したものを前立腺過形成モデル (BPH群) とした。このBPH群を4%ケルセチン含有CE2食にて2週間あるいは5週間飼育した。対照は通常のCE2食にて飼育した動物を用いた。【結果・考察】BPH群では、去勢した動物に比較して前立腺重量は著明に増加した。このBPH群をケルセチン食にて飼育することにより前立腺組織重量は有意に抑制された。また、ケルセチン食飼育群の前立腺組織中にはTUNEL染色陽性細胞が増加していた。さらにケルセチン投与群では脱重合した微小管の比率が高くなっていた。以上の結果から、ケルセチンがin vivoの前立腺組織においても細胞増殖を抑制することが明らかとなり、また、その原因としてケルセチンによる微小管重合阻害、アポトーシス誘導が強く示唆された。

The effect of quercetin on rat benign prostatic hyperplasia

Susumu TAKEKOSHI¹, Makoto KUNII¹, Kentaro MATSUZAKI¹, Takao HONMA², Yoshiyuki OSAMURA¹, ¹Department of Pathology, Tokai University School of Medicine, ²Department of Applied Chemistry, Tokai University

P-64

トリニトロベンゼンスルホン酸による腸炎モデルにおける消化管平滑筋収縮性の変化

○尾崎 博, 木下一哉, 佐藤晃一, 榎 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

トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) はハプテンとして働き、これと反応したタンパク質は異物と認識されて免疫反応が惹起される。TNBSをラットやマウスの腸管に作用させると腸炎が誘発されるが、この腸病変はクローン病のそれと酷似することから、クローン病モデル作成の道具として多用されている。クローン病は食道から大腸粘膜に炎症や潰瘍を起こす原因不明の炎症性腸疾患である。クローン病では消化管運動の異常も報告されているが、その機序は不明である。本研究ではこのTNBSモデルラットを用い、炎症による消化管運動の異常について検討した。方法: TNBSを結腸に注入し、2, 7日後に結腸を摘出し、自動運動とカリウム、カルバコール収縮を観察した。TNBSによる収縮の変化における電位依存性Ca²⁺チャンネル活性を関与を検討するため、溶媒あるいはTNB処置したラット結腸輪走筋より単離細胞を作成し、whole cell voltage clamp法によりカルシウムチャンネル電流を観察した。成績: TNB処置により (2, 7日後ともに) 結腸の自動運動は有意に抑制された。KCl, カルバコール収縮もTNBS処置により同様に抑制された。TNBS処置による自動運動、刺激収縮の抑制に対し、インドメタシン、L-NAMEは影響を与えなかった。TNBS処置した結腸輪走筋より単離した細胞ではCa²⁺電流が有意に抑制されていた。考察: TNBS処置したラット結腸では自動運動と刺激収縮が抑制されており、その抑制にはCa²⁺チャンネルの機能あるいは発現の変化が関与している可能性が示唆された。

Changes in smooth muscle contraction in colitis model of rat induced by trinitrobenzenesulfonic acid

Hiroshi OZAKI, Kazuya KINOSHITA, Koichi SATO, Masatoshi HORI, Hideaki KARAKI, Department of Veterinary Pharmacology, Graduate School of Agriculture and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

P-65

LPS 刺激に対するクッパー細胞および単球のラットおよびイスにおける動物種差

○浜野宝子¹, ビンセント トン¹, 林 正男², 田中栄治¹, 務台 尚²

¹三菱ウェルファーマ(株) 研究本部 安全性研究所, ²お茶の水女子大学 理学部 生物学科

【目的】薬剤の肝毒性発現に、クッパー細胞 (KC) の関与が注目されている。私たちは LPS 刺激時のイス KC の細胞障害性および IL-1 β , IL-6 の放出量がラットのそれと比較し顕著に高く、動物種差が存在することを報告した。このことはヒトでの KC を介する肝障害を検討する際には、ヒトの KC を用いる必要性を示しているがその入手は容易ではない。そこで、薬剤の KC への影響を血液中のマクロファージ系細胞である単球 (MC) で代替評価できるかを検討するため、MC の動物種差について KC と比較した。また、LPS 刺激に対する動物種差の発現機序を考察するため、LPS の KC および MC の細胞膜への結合について検討した。【方法】ラットおよびイスの KC または MC と BrdU ラベルした WRL68 細胞および LPS を 24 時間共培養した。その後、培養上清中に放出される BrdU-DNA 量を ELISA にて測定し、WRL68 細胞に対する障害性を評価した。また、KC および MC に LPS を添加し、24 時間培養した際に放出される IL-1 β および IL-6 を測定した。LPS の KC および MC への結合を FITC-LPS を用いてフローサイトメーターで分析した。【結果】MC で認められる細胞障害性および IL-1 β , IL-6 の放出はラットに比ベイスで高く、KC で認められる動物種差と一致していた。また、LPS の KC および MC への結合はラットに比ベイスで多く、LPS に対するイスの高感受性は LPS とマクロファージ系細胞への結合能が高いことが 1 つの要因であると考えられた。以上のことから、KC を介した肝毒性の発現について MC を用いて予測できる可能性が示唆された。

Species difference between rats and dogs in LPS-stimulated Kupffer cells and monocytes

Takako HAMANO¹, Tong VINCENT¹, Masao HAYASHI², Eiji TANAKA¹, Mamoru MUTAI¹, ¹Toxicology Laboratory, Pharmaceutical Research Division, Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan, ²Department of Biology, Ochanomizu University, Tokyo, Japan

P-66

3-Methylcholanthrene (3-MC) によるマウス脂肪肝誘発機構についての検討

○近藤 宏, 平塚一幸, 仲野善久, 川村祐司, 酒井東日, 神藤康弘

明治製菓(株) 安全性研究所

【目的】3-MC などの多環芳香族炭化水素により、種々の動物で血中脂質の変動や脂肪肝が起きることが知られている。これらの脂質代謝異常には arylhydrocarbon receptor (AhR) が関与していると考えられているが、そのメカニズムの詳細は不明である。本研究では Ah 高感受性の C57BL/6N 系マウスと Ah 低感受性の DBA/2N 系マウスにおける肝臓の変化について比較し、3-MC による脂肪肝誘発メカニズムについて検討したので報告する。【方法】3-MC を C57BL マウス (雄, 6 週齢) 及び DBA マウス (雄, 6 週齢) に、それぞれ 100mg/kg の用量で腹腔内に単回投与し、投与後 7 日目に屠殺して、肝臓重量測定、肝薬物代謝酵素測定、並びに肝病理検査を実施した。【結果及び考察】3-MC 投与により、投与 7 日目において C57BL マウスで肝重量の増加、肝臓の黄白色化、肝細胞肥大および空胞化が認められ、脂肪肝の形成が確認された。一方、DBA マウスではこれらの変化は認められなかった。また、肝薬物代謝酵素測定では、C57BL マウスで、EROD 活性が DBA マウスに比べ顕著に上昇した。これらのことから、3-MC による脂肪肝形成のメカニズムには AhR を介した作用が関与していることが示唆された。また、その成因としては AhR 依存性の作用に起因した脂質過酸化および脂肪酸代謝異常などが考えられた。

Mechanisms of fatty liver induction by 3-methylcholanthrene (3-MC) in mice.

Hiroshi KONDO, Kazuyuki HIRATSUKA, Yoshihisa NAKANO, Yuji KAWAMURA, Toki SAKAI, Yasuhiro SHINDO, Toxicology Laboratory, Meiji Seika Kaisha, Ltd., Yokohama, Japan

P-67

LLNA における Positive Control Substances としての Alpha-Hexylcinnamaldehyde (HCA) と 2-Mercapto-Benzothiazole (MBT) の Allergenic Potency の比較

○鈴木博子¹, ウルマン ルドウィグ²

¹日本シイベルヘグナー(株) 医薬品ビジネスユニット RDS 部 受託試験サービスグループ,
²RCC 社

Since the implementation of the OECD Draft Guideline No. 429 during November 2000, the Murine Local Lymph Node Assay (LLNA) has been increasingly used as a predictive test for the identification of contact allergens. For ensuring the sensitivity and reliability of the experimental technique, an adequate justification using positive control substance is needed. The poster here presents some of the results of the positive-control tests of LLNA in RCC, using Alpha-Hexylcinnamaldehyde (HCA) and 2-Mercapto-Benzothiazole (MBT) as control substances. A statistical analysis shows a significant difference of the irritant potency observed between HCA and MBT.

Comparison of the Allergenic Potency of Alpha-Hexylcinnamaldehyde (HCA) and 2-Mercapto-Benzothiazole (MBT) as Positive Control Substances in the Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

Hiroko SUZUKI¹, Ludwig Ullmann², ¹CRO Service Group, RDS Department, Pharmaceutical Business Unit, Tokyo, Japan, ²RCC Ltd, Itingen, Switzerland

P-68

Optimization of Scoring Dermal Erythema when Testing Skin Tinting Chemical in Irritation and sensitization Studies

○鈴木博子¹, ウルマン ルドウィグ²

¹日本シイベルヘグナー(株) 医薬品ビジネスユニット RDS 部 受託試験サービスグループ,
²RCC 社

Currently, in vivo tests are predominantly requested by the authorities for skin irritation and sensitization assessments during the safety evaluation of new drugs, agrochemicals or industrial chemicals. The testing of new industrial chemicals such as pigments or dye-stuff can often create serious problem when trying to determine correctly the irritation or sensitization potential of the test item as they may cause staining of the exposed skin. Techniques are described for cleaning the application site before reading, to avoid misinterpretation of dermal effects, especially of skin erythema. These techniques may be "wet-cleaning" with lukewarm tap water, "stripping" of the stratum corneum with adhesive tape or "depilation" of the skin site using a depilatory agent. Pictures will be presented showing the status of the exposed skin sites with and without the use of the described methods. Histopathological findings of the skin, comparing each of the methods used, will support their benefit for the objective measurement of dermal effects.

Optimization of Scoring Dermal Erythema when Testing Skin Tinting Chemical in Irritation and sensitization Studies

Hiroko SUZUKI¹, Ludwig Ullmann², ¹CRO Service Group, RDS Department, Pharmaceutical Business Unit, Tokyo, Japan, ²RCC Ltd, Itingen, Switzerland

P-69

ラット (SD, Wistar, EHBR, Gunn) を用いた Zomepirac の比較 TK 試験

○杉山明男, 永福由紀子, 池田陽一

三菱ウェルファーマ(株) 研究本部 安全性研究所

【目的】Zomepirac (ZP) はグルクロン酸抱合酵素により、反応性の高い acyl glucuronide (ZAG) に変換され、生体内蛋白と共有結合してハプテンとなり、抗原抗体反応を介して肝毒性、腎毒性などを発現すると考えられている。しかし、ZP の代謝/蛋白共有結合と毒性発現とを *in vivo* モデルで明確に関連づけた報告はない。そこで、ZP の毒性に TK 的アプローチができる実験系の探索を目的とし、4 系統ラットを用いた比較 TK を行った。【方法】雄性ラット (SD, Wistar, EHBR, Gunn) に ZP20 mg/kg を単回経口投与し、1, 2, 4, 8, 24, 48 時間後の血漿中 ZP 及び ZAG を HPLC で測定した。また、血漿中 ZP-蛋白付加体量は、上記 4, 24, 48 時間後の試料について酸-有機溶媒で 10 回洗浄した後の蛋白を加水分解し解離する ZP を HPLC で測定した。【結果】ZP の AUC および Cmax は 4 系統間に差はなかった。一方、ZAG の血漿中濃度は系統間に明確な差異が認められ、その濃度は EHBR > SD = Wistar > Gunn の順で高かった。ZP-蛋白付加体量は SD, Wistar, EHBR の 3 系統間に差はなかったが、Gunn ラットは明らかに低値を示した。【考察】ZP-蛋白付加体生成は EHBR ラットでは ZAG 量と必ずしも相関せず、EHBR ラットの蛋白付加体生成の特異性が原因と推察された。但し、ZP より生成される反応性代謝物 ZAG の全身暴露量は各系統間で明確な差異が認められ、本実験系は今後 ZP の毒性をその代謝動態と関連づけて解析する上で有用と考えられた。

Comparative toxicokinetic study of Zomepirac using various rat strains (SD, Wistar, EHBR, Gunn)

Akio SUGIYAMA, Yukiko EIFUKU, Youichi IKEDA, Toxicology Laboratory, Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan

P-70

ラットにおける尿蛋白 profiling 解析の基礎検討

○奈良岡 準¹, 田畑 肇¹, 斎田美恵子¹, 深瀬 優², 斎藤賢治², 堺 俊治³, 白田真治¹

¹山之内製薬(株) 安全性研究所, ²サイファージェンバイオシステムズ(株)

【緒言】尿は非侵襲的に採取可能な試料であり、尿中蛋白は診断学的価値も高く、毒性学的にも有用なマーカーが多数認められている。また毒性試験での網羅的解析法として、血清では蛋白分画が日常的に行われるが、尿では濃縮などの前処理が必要であり、尿量の少ないラットでは profiling されることは少なかった。今回、濃縮を必要としない高感度蛋白染色法について、腎障害モデルラットの尿を用いて、その有用性を検討した。併せて最近プロテオミクス技術で注目されている ProteinChip® を用いた解析法について試みた。【材料および方法】急性腎障害モデルラットの尿について、支持体にアガロースゲルおよび SDS ポリアクリルアミドゲル (SDS-PAGE) を用いて電気泳動を行い、各々に Acid violet 17 染色および銀染色 (高感度蛋白染色法) を施し、従来のボンソーおよび CBB 染色法との比較検討を行った。また同サンプルについて ProteinChip® を用いた解析を行った。【結果および考察】高感度蛋白染色法を施すことにより、濃縮等の前処理の必要なく、尿中蛋白を分画することが可能であった。ProteinChip® については、検出感度が高く、微量のサンプルで、High throughput な解析が可能であることから、電気泳動法よりも詳細な蛋白 profiling が可能であり、さらに尿中蛋白からの毒性バイオマーカー検索においても有用な手段として考えられた。

Preliminary study of urinary protein profiling analysis in rats

Hitoshi NARAOKA¹, Hajime TABATA¹, Mieko SAITA¹, Yu FUKASE², Kenji SAITO², Toshiharu SAKAI¹, Shinji USUDA¹, ¹Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan, ²Ciphergen biosystems Inc.

P-71

3種アルキルフェノールの新生児ラットにおける発現毒性および若齢ラットとの比較検討

○野田 勇¹, 山口真樹子¹, 山本 謙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 総合評価研究室

【目的】アルキルフェノールである4-エチルフェノール(4-EP), 3-メチルフェノール(3-MP)および2-tert-ブチルフェノール(2-tert-BP)について, 化審法に基づく5~6週齢の若齢ラットを用いた28日間反復投与毒性試験はすでに実施され, その結果は公表〔化学物質毒性試験報告, Vol.8(1), 2001〕されている。今回, これらの3種アルキルフェノールについて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い, 得られた結果を28日間反復投与毒性試験の結果と比較検討した。【方法】哺育期投与毒性試験では, 28日間反復投与毒性試験の場合と同様の方法で調製した投与液を4から21日齢まで強制経口投与して半数を22日齢で解剖し, 残りの半数は飼育を続けて85日齢(28日間反復投与毒性試験での回復群の観察終了と同時期)で解剖した。【結果】4-EP, 3-MP, 2-tert-BPに共通して, 28日間反復投与毒性試験で認められている中枢神経症状および肝臓相対重量の高値が確認された。新生児への投与ではさらに, 体重増加の抑制用量で脳絶対重量の低値(4-EP:雄, 3-MP:雌雄, 2-tert-BP:雌)が認められ, 4-EPおよび3-MPでは休業により体重の回復傾向が認められた85日齢解剖動物においても脳重量への影響が残存していた。また, 新生児ラットへの投与による毒性影響は, 若齢ラットへの投与による28日間反復投与毒性試験と比べて体重当り概ね1/3の用量で発現するものと判断された。

Toxicological study of 3 alkylphenols in newborn rats and comparison to public data in young rats

Atsushi NODA¹, Makiko Yamaguchi¹, Yuzuru Yamamoto¹, Yoshihiko Ito¹, Mutsuko Koizumi², Eiichi Kamata², Ryuichi Hasegawa²,
¹Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology, Kanagawa, Japan, ²National Institute of Health Sciences, Division of Risk Assessment, Tokyo, Japan

P-72

ラットにおける Diethylstilbestrol ならびに Octylphenol 反復投与による膣インピーダンスの変化

○田村 啓, 白田浩二, 小川いづみ, 吉川 賢

日産化学工業(株) 生物科学研究所

【緒言】ラットでは膣インピーダンス(膣粘膜電気抵抗値)の変化から交配適期(発情前期)の判定が可能であることが報告されている。今回, 雌ラットに Diethylstilbestrol (DES) ならびに Octylphenol (OP) を反復投与して, 膣インピーダンスならびに子宮重量の変化を観察するとともに, エストロジェン様作用検出のためのパラメータとして, 膣インピーダンスの有用性について検討した。【方法】実験1:4群の雌ラット(11週齢)に, 卵巣摘出8日後から, それぞれ溶媒(コーン油)のみ, OP 50mg/kg/day もしくは 200mg/kg/day, ならびに DES 10mg/kg/day を7日間皮下投与後, 子宮重量を測定した。膣インピーダンスはインピーダンスチェッカー(室町機械)を用いて卵巣摘出1週間前から投与最終日まで毎日測定した。実験2:3群の雌ラット(5週齢)にそれぞれ溶媒のみ, OP 200mg/kg/day ならびに DES 10mg/kg/day を7日間皮下投与して, 膣インピーダンス及び子宮重量の測定を行なった。【結果】実験1:OP 200mg/kg 群で投与1, 2, 5日目に1/5例, DES 投与群では投与2日目から全例の膣インピーダンスが顕著に上昇した。また OP 200mg/kg ならびに DES 投与群で子宮重量は有意に増加した。実験2:OP, DES 投与群とも投与開始後2日目から膣インピーダンスの顕著な上昇を示す個体が散見された。【まとめ】DES のような強いエストロジェン様物質は膣インピーダンスの変化で検出可能と考えられた。一方, 弱いエストロジェン様作用の検出には投与量増加あるいは投与期間延長が必要であることが示唆された。

Alteration of the vaginal impedances in rats treated with repeated dose of Diethylstilbestrol or Octylphenol.

Toru TAMURA, Koji USUDA, Izumi OGAWA, Satoshi FURUKAWA, Biological Research Laboratory, Nissan Chemical Industries, LTD, Saitama, Japan

P-73

無麻酔イスにおけるクエン酸急速投与による影響

○福田 立、豊島茂樹、山下邦弘、林 正信、川内佳之、石川圭子、中島芳文、
越谷 修、川口義郎、平岡 功

(株)大塚製薬工場 栄養研究所 安全性研究室

【目的】クエン酸は血液製剤の抗凝固剤として使用されており、大量輸血の際に血圧低下、QTc延長等の心電図異常を誘発することが知られている。クエン酸の毒性は、そのキレート作用による血中イオン化カルシウム濃度 (Ca^{2+}) の低下に起因していることが知られているが、基礎データは十分には得られていない。そこで今回、無麻酔下のビーグル犬を用い、クエン酸急速投与による一般状態、血液凝固系及び心電図への影響を検討した。【方法及び結果】無麻酔下のビーグル犬にクエン酸 4mEq/kg を検側皮静脈より投与速度 1、2 及び 4mEq/kg/hr (4、2 及び 1 時間投与、n=4) で投与し、一般状態の観察、血液凝固検査及び心電図検査を行った。また、血中クエン酸濃度及び Ca^{2+} の測定を行った。その結果、1mEq/kg/hr では一般状態及び心電図に影響はみられなかった。2 mEq/kg/hr では投与中より嘔吐、心拍数増加及び QTc の延長が、4mEq/kg/hr ではさらに流涎、潮紅、頻脈等がみられたが、いずれも投与終了後、速やかに回復した。また、血液凝固系に影響はなかった。影響のみられた 2mEq/kg/hr では血中クエン酸濃度が 6.1mEq/L まで上昇 (前値 1.2mEq/L)、逆に Ca^{2+} が 1.8mEq/L まで低下 (前値 3.0mEq/L) していた。【結論】イスにおけるクエン酸急速投与による影響として、2mEq/kg/hr 以上の投与速度で嘔吐、流涎、潮紅、頻脈、QTc 延長等が確認された。

Effect of rapid infusion of citrate in non-anesthetized dog

Tatsuru FUKUDA, Shigeki TOYOSHIMA, Kunhiro YAMASHITA, Masanobu HAYASHI, Yoshiyuki KAWAUCHI, Keiko ISHIKAWA, Yoshifumi NAKASHIMA, Osamu KOSHITANI, Yoshiro KAWAGUCHI, Isao HIRAOKA, Division of Pharmacology, Drug Safety and Metabolism, Otsuka Pharmaceutical Factory, INC., Tokushima, Japan

P-74

Erythrosine Promotes Rat's Appetite?

○沈 連忠、古谷真美、立花滋博、桑形麻樹子、金澤由基子、永田祥子、堀内伸二、
三枝克彦、植田浩子、高島宏昌、小島幸一

財団法人 食品薬品安全センター 薬野研究所

Crj:CD(SD)IGS male rats were administrated erythrosine (ERY) 150 and 450 mg/kg for a 14-day course by gavage to evaluate its thyrotoxicity. Body weight, food consumption and serum thyroid hormones such as T3, T4, TSH, fT3, fT4 were measured on day of 1st, 4th, 8th, 11th, 14th, and 3rd day prior to the treatment. Animals were sacrificed at terminal, and organs such as thyroid gland, pituitary gland etc. were weighed and examined histopathologically. The results indicated that T3 and fT3 decreased while T4 and fT4 increased in both ERY groups. In addition, mean body weight, food consumption, water consumption, urinary volume and urinary calcium increased significantly in treated groups in a dose-related manner. However, no obvious histopathological changes were found. An *in vitro* rat gastric fundus test was performed to examine the direct effect of ERY on gastric tract, and an accumulated dosage method was used. It showed that ERY significantly contracted rat gastric fundus strip at final concentrations more than 2 mg/ml. The results above showed that ERY changed male rat serum thyroid hormone levels at the same time promoted rat's appetite, and the thyroid changes were related to its thyrotoxicity while appetite increase was associated with its direct contracting effect on gastric tract.

Erythrosine Promotes Rat's Appetite?

Lianzhong SHEN, Mami FURUYA, Shigehiro TACHIBANA, Makiko KUWAGATA, Yukiko KANAZAWA, Tomoko NAGATA, Shinji HORIUCHI, Katsuhiko SAEGUSA, Hiroko INADA, Hiromasa TAKASHIMA, Kohichi KOJIMA, Food and Drug Safety Center, Hatano Research Institute, Kanagawa, Japan

P-75

カニクイザルのマイクロプレートリーダーを用いた Evans blue 法による循環血漿量測定の検討

○増山光明¹, 門倉豪臣¹, 佐竹 茂¹, 加島政利¹, 福岡好一郎², 永田良一¹

¹(株)新日本科学 安全性研究所, ²SNBL USA, Ltd.

【目的】カニクイザルは霊長類を用いた毒性試験及び薬理試験で汎用されている種である。それらの試験では種々の生理学的パラメータが指標として用いられており、近年では、循環血漿量測定を実施する機会が増えてきた。循環血漿量測定は、Evans blue を静脈内投与した後、経時的に採血を行う必要がある。そのため、血液検査あるいはTK測定を併せて実施する毒性試験では、採血量を可能な限り少なくし、動物の負担を軽減する必要がある。そこで、採血量を最小限にとどめることを目的とし、マイクロプレートリーダーによる循環血漿量測定の検討を行った。**【実験方法】**カニクイザルに0.5% Evans blue 溶液を0.1 mL/kgで静脈内投与し、投与後10, 30, 60分に約0.3 mL/個体採血した。EDTA-2Naで抗凝固処理した血液を3000 rpm, 15分で遠心分離し血漿を得た。得られた血漿の吸光度を生理食塩液を対照として波長630 nmで測定した。検量線用として、生理食塩液及びプール血漿で250倍に希釈した Evans blue 溶液を作製し、この吸光度から投与後10, 30, 60分の血漿の Evans blue 濃度 C10, C30, C60 ($\mu\text{g/mL}$) を算出した。さらに、C10, C30, C60 を対数変換後、投与直後の Evans blue 濃度 C0 を外挿し、循環血漿量を算出した。**【結果及び総括】**1採血時点あたり100 μL 、合計300 μL の血漿で循環血漿量を測定した結果、1.5~6 kgの範囲で循環血漿量が体重に相関して増加し、従来示されている値(約35~45 mL/kg)となることを確認した。また、利尿剤等を投与した場合の循環血漿量の変動について本学会で紹介する。

Investigation of plasma volume in cynomolgus monkeys by Evans blue method using microplate reader.

Mitsuaki MASUYAMA¹, Hidetomi KADOKURA¹, Shigeru SATAKE¹, Masatoshi KASHIMA¹, Koichiro FUKUZAKI², Ryoichi NAGATA¹, ¹Shin Nippon Biomedical Laboratories Ltd., Kagoshima, Japan

P-76

In vitro 8-hydroxydeoxyguanosine measurement by ELISA method as a marker of DNA bases injuries by hydrogen peroxide or ultraviolet

○稲垣成惠, 木戸亮子, 村田共治, 井上博之

(財)食品農薬薬品安全性評価センター

【Purpose】The oxidative DNA damage is important in relation to carcinogenesis. Furthermore, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), a marker of oxidative DNA damage, is expected to be a good parameter of *in vitro* oxidative stress. There are two methods for measuring 8-OHdG, the HPLC-ECD method and the ELISA method. The HPLC-ECD method has high sensitivity, but the procedure is very complicated. On the other hand, the ELISA method has low sensitivity compared with the HPLC-ECD method, but the procedure is easy. Then, the level of oxidative DNA damage by the oxidative stress such as hydrogen peroxide or ultraviolet was examined *in vitro* by the ELISA method. **【Methods】**The B6C3F₁ mouse liver tissue was homogenized in lysis buffer and the nuclear DNA in the homogenate was extracted using the DNA Extractor WB Kit (Sodium Iodide Method). The extracted DNA was exposed to ultraviolet for 0, 5, 10 or 20 minutes, and was treated with hydrogen peroxide for 15 minutes at 0, 0.03 or 0.3%. After oxidative treatment, the DNA was hydrolyzed to deoxynucleosides and the 8-OHdG level in them was measured by the ELISA method. **【Results and Conclusion】**After ultraviolet exposure, the 8-OHdG formation significantly increased starting 5 minutes after the treatment, depending on the exposure time. After treatment with hydrogen peroxide at 0.03% concentration or higher, the 8-OHdG formation significantly increased in a concentration-dependent manner. Oxidative DNA damage by hydrogen peroxide or ultraviolet was successfully detected *in vitro* by measuring 8-OHdG.

In vitro 8-hydroxydeoxyguanosine measurement by ELISA method as a marker of DNA bases injuries by hydrogen peroxide or ultraviolet

Shigenori INAGAKI, Ryoko KIDO, Kyoji MURATA, Hiroyuki INOUE, Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides, Shizuoka, Japan

P-77

ICH 特殊毒性試験ガイドラインの運用について-医薬品開発におけるがん原性試験の現状-

○小林裕幸, 木村 敬, 斎藤明美, 庄可陽子, 原 教子, 久田 茂, 益本吉廣,
安場正子, 笹台 衛, 森田 健

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

ICH のがん原性試験に関する一連のガイドライン (S1A, S1B, S1C および S1CR) を組み入れて作成された『医薬品のがん原性試験に関するガイドライン』(医薬審 第1607号, 平成11月11月1日; 以下, 改定ガイドライン) が通知されてから2年が経過した。この改定ガイドラインによって, 1: がん原性試験を実施する必要性, 2: がん原性試験のための用量選択, 3: がん原性検出のための試験に関する内容が大きく変更された。さらに, がん原性検出のための *in vivo* 試験に関連して Tg マウスあるいは KO マウスなどを用いたがん原性試験の代替法に対する有用性の検討が国際共同研究プログラム (ILSI-HESI ACT) によって実施され, その ACT 成果が 2001 年に Toxicologic Pathology 誌上で発表された。以上のように, がん原性試験を取り巻く環境にはここ数年で大きな変革がもたらされてきており, 医薬品開発における実際の運用面において, 何らかの対応が必要と思われる問題点が生じている可能性も懸念された。したがって今回, ICH ガイドラインおよび改定ガイドラインが医薬品の研究開発に与えた影響を調査検討するため, 2001 年 10 月に製薬協加盟各社に対し, がん原性試験実施の決定要因, 試験方法及び代替法に関する意識調査及び実態調査を行った。本発表では, アンケートの主要項目についての解析結果をもとに医薬品開発におけるがん原性試験の動向を紹介する。

Practical use of ICH guidelines for carcinogenicity studies- Questionnaire survey by JPMA-

Hiroyuki KOBAYASHI, Takashi KIMURA, Akemi SAITO, Yoko SHOJI, Atsuko HARA, Shigeru HISADA, Yoshihiro MASUMOTO, Masashi YASUBA, Mamoru MUTAI, Takeshi MORITA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P-78

Atrazine の卵巣摘出ラットに対する乳腺発がん修飾作用の検討

○上田 誠¹, 今井俊夫², 小野寺博志², 藤澤 保¹, 高木久宜¹, 三森国敏^{1,2}, 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】 atrazine は triazine 系農薬の一種で生体に対する内分泌攪乱作用が懸念されており, ラット長期発がん性試験においては乳腺腫瘍を誘発することが報告されている。今回, 卵巣摘出ラット乳腺発がんモデルを用いて atrazine の乳腺発がん修飾作用を検討した。【方法】6週齢の SD 系雌ラットに対して 50mg/kg 体重の 7,12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA) を単回胃内投与し, 半数の動物に腫瘍が発生した時点で全例の卵巣を摘出し, atrazine (用量: 500, 50, 5, 0 ppm) を錠剤にて 34 週間投与した (N=12~21)。なお基礎飼料には大豆を除去したものをを用いた。【結果, まとめ】投与開始時に腫瘍のあった動物の 500 および 50ppm 群では, 投与期間を通じて腫瘍体積の増加傾向が観察され, その傾向は投与終了時まで持続した。投与開始時に腫瘍がなかった動物では, 500ppm 群で腫瘍の発生頻度, 個数, 体積の増加傾向が観察され, その傾向は投与終了時まで持続した。また 50ppm 群では投与終了時の腫瘍体積の増加が認められた。以上より atrazine はラット乳腺発がんのプロモーションおよびプログレーションに対し促進的に作用することが示唆された。

Modifying effect of atrazine on DMBA-induced mammary carcinogenesis in ovariectomized rats

Makoto UEDA¹, Toshio IMAI¹, Hiroshi ONODERA², Tamotsu TAKIZAWA², Hinayoshi TAKAGI¹, Kunitoshi MITSUMORI^{1,2}, Masao HIROSE¹, ¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Lab. of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan

C-1 セミナー開催にあたって

松澤 利明

第29回学術年会長、山之内製薬(株)

市民公開ナイトセミナーを主催する日本トキシコロジー学会では、トキシコロジーの啓蒙・普及活動の一環として、中京地域の皆様向けに市民セミナーを開催することになりました。今回のセミナーは、日本RAD-AR協議会、中日新聞社、愛知県病院薬剤師会、愛知県薬剤師会、名古屋市薬剤師会に協賛して頂きました。

トキシコロジー (Toxicology) とは、ヒト・生物の生命現象にたいする医薬品、獣医薬、農薬、化粧品、食品添加物、工業化学品、環境物質等の関わり、特に安全性評価を重点に検討する地道な学問です。トキシコロジー学会は、医学、獣医学、農学、薬学、理学等の領域の専門家から構成され2,000余名の会員が「安全で安心して暮らせる社会」を目指して活動しています。

今回は「新しく薬が生まれるまで」の間に「くすりの安全性は、どのように守られるか」をテーマに高橋道人先生と仮家公夫先生にオーガナイザーと司会をお願いしました。皆様にくすりの安全性対策を少しでもご理解頂ければ幸いです。また、実際に服用されている患者さんに「安心してくすりをのんでいただくために」、別の会場に「個別相談コーナー」を設け、愛知県病院薬剤師会の山村恵子先生と近藤喜博先生にお世話頂きました。お気軽にご相談下さい。

日の長い時期の夜をナイトセミナーで有意義にお過ごし頂きたく思います。

C-2 はじめに

高橋 道人^{*1}, 仮家 公夫^{*2}

^{*1}昭和大学・病理ピアレビューセンター, ^{*2}神戸学院大学薬学部

誰でも、不幸にして病気に襲われると「くすり」のご厄介になります。「くすり」の中にも、「病気に襲われないようにする予防薬」、「病気に襲われてから体力を整える対症薬」や「病氣そのものを退治する原因療法薬」などに分けられます。古くから「くすり」は、「毒物」と紙一重であると言われてきました。医療現場では、「くすり」の取扱いが関わる不幸な問題も起こり、また、指示通りに飲んでも、体質や病状で患者さんが不快感を持つこともあり、その結果、ご自身で「くすりの副作用」を見当違いに心配して、飲まない患者さんもおられます。

「くすり」は、患者さんに使われるまでの過程と、患者さんに使われる際のチェックが「適正」であれば、患者さんが安全にその作用を利用できますし、健康な社会生活に戻ることが出来ます。勿論、病氣によって身体的な傷害を受けないことが前提です。

それでは、「新しいくすり」が医療の場に出て来るまでと、患者さんが安心して、自分の健康のために使える過程から考えてみましょう。先ず「くすり」が医療現場で使用されるまでを簡単に示しますと簡単に説明しますと、このようになります。先ず安全性は、実験動物を使った非臨床試験でおこなわれ、生命に影響を与えることなく、機能上の重篤な障害を起こさないことが確かめられます。次いで健康な成人で安全性を確かめてから、患者さんでの治療効果を確認する臨床試験が行われます。その間には、製品自体が壊れないかを調べる安定性試験も行われます。その後、ヒトに対して安全で有効な「くすり」かどうか確かめられ、それらの試験の結果を基に、国が承認・許可を行います。こうした「くすり」が、患者さんに処方されることとなります。薬剤師さんは「くすり」の適正使用を確認して、何の不安もなく病魔と闘う患者さんに「くすり」をお渡しします。勿論、これらの過程において、患者さんご自身の病氣に対する正しく情報を、お医者さんや薬剤師さんに提供する必要があります。

市民公開セミナーでは、このような過程について、第一線でお仕事をされている方々に、それぞれの立場から「くすり」の安全性への関わりのお話をして頂きます。そして、最後に、皆さんの日頃の疑問にお答えいいただこうと企画しています。

以上



C-3 くすりを探し出す

吉村 義信

武田薬品工業医薬研究本部薬物機能第一研究所

1. はじめに

「くすり」は、最新の生命科学の成果と最高レベルの科学技術を駆使し、多くの人々の睿智と努力と、長い時間をかけて生み出されます。「くすり」は人々が健康な生活をおくられるように提供されるもので、製造若しくは販売承認を得た国の人々だけのものだけでなく、世界の人々に通用する社会性を持った「商品」です。

2. 「化合物」から「くすり」となる確率

日本製薬工業協会の調査¹⁾によると、1996年から2000年までの5年間に日本で承認された日本発の新薬は、わずか35品目です。しかし、検討された化合物数は42万にも上がり、化合物が「くすり」となる確率は、約1/12000ときわめて低いのです。また、新薬として医療現場に提供されても、新たな副作用などで申請段階までに撤退することもあり、「くすり」の開発は製薬企業にとって高いリスクがあります。

3. 「くすり」を探す

「くすり」を探す一候補化合物の選択一過程は「創薬研究」とか「探索研究」と呼ばれています。では、製薬会社の研究者たちがどのようにして「くすり」の種を探すかについて概説します。

「くすり」の種を探すには、対象となるモノと生理活性（効果）を調べる試験法が必要となりますが、モノを主体に概説します。くすりの種として、すぐ頭に浮かぶのは植物や動物などの天然素材(天然物)、細菌などが作り出す抗生物質、それとも最近話題の遺伝子などではないでしょうか？

1) 天然素材で

天然素材としては、動植物がありますが、植物由来のものが「くすり」として最も多く利用されています。いわゆる草根木皮など材料(生薬)を利用する「漢方薬、和漢薬、ハーブ」はご存知だと思います。これらは材料を乾燥後、粉末などに加工されますが、素材そのまま「くすり」として用いられていると言えます。しかし、実際には単一品での使用は少なく、いくつかの生薬を組み合わせて(処方)使用されます。その組み合わせは、古くから伝承されたものが多くあります。

2) 天然物から

キニーネやモルヒネに代表されるように天然物から有効成分を取り出し、精製して利用します。必要な量が得られない場合には、化学合成により作り出します。さらに、有効成分の構造に良く似た構造をもつ化合物を合成し、より活性の強い「くすり」を創製することが行われます。これが、現在までの「くすり」創製の主流でした。また、長年にわたり、多くの研究者により天然物成分が調べられているため、新たな生理活性を持った天然成分を見つけることが困難となっています。そのため、最近では、これまでに人類がほとんど到達していない秘境での動植物や海洋生物(特に深海)が、創薬材料として注目されるようになってきました。

3) 細菌類から

細菌類からはペニシリンなどの例がありますように種々の抗生物質や抗がん剤が得られます。したがって、より生産性の高い菌を選択して、目的とする化合物を造らせ、そのまま製品化することやそれら生産物を化学構造変換することで、より活性の優れた、毒性の少ない化合物の創製も行われています。細菌類も動植物同様により新たな種や生産物の探索研究が続けられており、くすりの種として重要なものです。

4) 生体内から

インスリン、インターフェロンのように生体で種々の生理作用を示すタンパク質類等も、「くすり」の種として重要なものです。しかし、タンパク質は高分子のため、現在の化学合成の技術でも治療に必

要な量を生産することは困難です。最近では、生化学、生物工学の進歩により、細菌や酵母を利用して望む化合物（蛋白質）を人工的に作らせる技術が開発されました。例えば、インスリンは、昔は動物から得ていましたが、今は大腸菌を利用してヒト型インスリンが大量に作られ治療に使われています。このような手法により、ヒト体内で極微量に存在する生理活性物質の探索が、研究者の注目を浴びている。

5) 生理機能から

最近の「くすり」の作用する標的についての報告によると、現在使用されている「くすり」463品目の45%が受容体に影響与える薬物および25%が酵素阻害を目的とした薬物が占めるとされています。体内での受容体や酵素の機能を調べることで、受容体に対しては作用を促進するもの（アゴニスト）、作用を阻害するもの（アンタゴニスト）、また、酵素に対して阻害作用を示す化合物が、「くすり」の候補となります。これらは生化学や薬理学の研究からターゲットを決めることができます。ヒト型の受容体や酵素を生物工学的に作り出し、化合物のスクリーニングや薬理活性の評価試料として活用されます。

6) 遺伝子から

2000年にヒトゲノム全塩基配列の解読が終了したと報告されました。これは染色体のどの位置に遺伝子が存在するかが判っただけで、3万～4万と言われます遺伝子がどのような働きをするのかが判ったわけではありません。遺伝子が体のどこに存在していて、どのような働きをしているかを明らかにすること、疾病によりそれら遺伝子がどのように変化するかなどを解明することが、新しい「くすり」を創製するためには必要です。そのため、今、遺伝子の機能解明研究が、世界中の製薬会社の大きな目標となっています。特に、疾病により変動（増加、減少）する遺伝子を見つけだし、遺伝子の変動が受容体や酵素の産生促進や抑制に影響を与えていることを明らかにできれば、作用ターゲットを決める上で重要となります。そのようなヒト受容体や酵素を生物工学の技術を利用して、細胞等に薬理作用の評価できる仕組みを作り、化合物をスクリーニングすることで、新薬候補化合物を選び出すことができるようになります。

4. おわりに

「くすり」の開発の過程とくに種探しについて概説しました。これまでは経験と偶然で作用標的や化合物が見つけられ、「くすり」が開発されてきました。21世紀に入り、遺伝子情報を基に狙いを定めた疾患を治療する「くすり」の研究開発が始まろうとしています。これまで、良い治療薬のない疾病にも、画期的な新薬が生まれることが期待できます。

以上

C-4 くすりを確かめる

野村 護

第一製薬(株)・研究企画部

1957年10月1日西ドイツのグリュネンタール社から発売された睡眠薬サリドマイドは、脳が起きて身体が眠っている睡眠相(レム睡眠)が残ることから目覚めの良い画期的な睡眠薬として市販され、「つわり」にも有効であったことから妊婦に愛用されていました。当時の急性毒性や慢性毒性による動物実験では毒性の低い物質で臨床的に副作用の少ない睡眠薬と認知され世界数カ国で発売されていました。しかし、2年後にハンブルグの人類遺伝学者レンツは妊娠中にサリドマイドを服薬した妊婦から出生した胎児にフォコモリア(フォコ:アザラシ、メリア:手足の意味)と呼ばれる、手足が異常に短い奇形児(胎芽症)が発生することに気付きました。その後奇形胎児の発生が使用各国で報告されるに至りました。一方、アメリカのFDA(食品医薬品庁)のケルシー女史は、もう一つの副作用である末梢神経炎の本態が不明であることからアメリカでの発売を不許可としました。

このように当時は、医薬品の安全性について有効性と危険性のバランスの上に成り立っているという現在のような考え方はありませんでした。当時の医薬品製造承認申請の際に提出する資料に胎児奇形や次世代への影響をしらべる試験は要求されていませんでした。しかし、この象徴的事件が契機となって、アメリカはキフォーバー・ハリス法によって薬事法を改正(1962)、イギリス(1968)、西ドイツ(1976)が薬事法を改正、日本も昭和43年(1968)に厚生省薬務局長通達によって動物を用いた安全性試験に、催奇形性などの胎児への影響の有無の検討を必須としました。以降、世界各国の医薬品規制当局は、新医薬品許可に際し急性、慢性毒性はもとより催奇形性、発がん作用の検討、蓄積性や代謝などの検索を加え広範な毒性学的検討が要求されることになりました。さらに、日本では殺菌作用を有するニトロフラン系化学物質AF2の食品添加剤による強い変異原性、遺伝毒性と発がん性が判明し市販が中止されました。これらの事態から、ヒトに用いる前に行われる(前臨床あるいは非臨床)動物実験の重要性と厳格な評価が要求されるようになりました。また、FDAでは新薬承認申請データの信頼性に疑義を見出し、1976年にGLP規制案を表明、企業の前臨床安全性試験施設の査察を実施するに至りました。日本では1982年に「医薬品の安全性試験の実施に関する基準」を制定し、現在は薬事法に組み込まれた厚生省令第21号として1997年4月1日から医薬品の安全性を確かめるGLP試験が法制化され、より厳格な調査指導と新薬製造承認審査が実施されています。

本来「くすり」はもろ刃の剣で、副作用のない薬はないといわれていますが、一方ではその使い方と個体側の条件によって副作用の発現は異なることも知られています。化学物質に「くすり」としての市民権を与えるためには副作用をできるだけ正確に、より詳しくリストアップしてサリドマイドのような重篤な副作用を引き起こす「くすり」を、ヒトに与える前に動物実験の段階で排除し、それ程でもない副作用であっても動物実験の段階で安全性に関する情報が得られる事が重要なこととされています。しかし、ここで問題となるのは、実験動物はヒトと同じ反応を示すとは限らないことであり、如何にして動物実験の成績からヒトの副作用を予測することができるかが命題となります。どのような危険が潜んでいるか判らない化学物質を最初からヒトに与えて、効くか効かないか、危険であるかをしらべることは倫理的に出来ません。従って、臨床試験に入る前の段階で実験動物に対する有害作用の有無などの毒性学的評価を行うこととなります。即ち、マウスやラット(げっ歯類)およびイス、ミニブタやサル(非げっ歯類)の2種の動物を使って、最初は単回投与での急性毒性をしらべ、次いで連日反復投与での毒性の増強や蓄積、代謝酵素誘導などをしらべて毒性を発現しない用量と明らかな毒性を発現する用量を求めて、有効性を示す薬効用量との比から安全係数を算出してヒトへの最初の投与量の根拠に使われます。これらの試験は一般毒性試験と呼ばれ、病院で行う人間ドックと同じような検査が行われ機能的な異常の有無を検索すると同時に、各臓器・組織を病理学的に検査して標的臓器の有無や器質的な変化について検索して、化学物質に基づく変化があるいは二次的な変化であるかを評価します。遺伝子に対する影響の評価として変異原性、染色体異常試験および小核試験

が、また次世代への影響、生殖発生に対する評価にはラットやウサギを用いて、生殖細胞の形成から受精、子宮内発育、出生、成熟から死にいたる発生過程への影響（早期死亡、発育遅延、形態異常、機能異常）と不妊や次世代の発育異常についてしらべ、得られた結果をヒトに外挿して、ヒトの生殖発生に対する医薬品の安全性を評価します。このような比較毒性試験法はレギュレーション（規制）試験とも呼ばれ新薬製造承認申請には必須となります。しかし、これらの試験の結果からヒトの副作用を外挿することは容易ではありません。最近の前臨床段階での安全性評価は、よりヒトへの外挿を考慮してヒトの薬物代謝酵素や細胞・組織 *in vitro* で化学物質の動態をしらべる事が主流になりつつあります。また、遺伝学的にヒトと近縁の実験動物としての霊長類であるサル（カニクイザル、コモンマーモセット）を用いた毒性試験がヒトへの外挿に優れ、ヒト生命倫理を尊重できるとの考え方もあるが窮極的には動物実験で安全性を確認したうえで、ヒトに安全に適用して安全性を確認する方法が最善と考えられています。

特に近年増えている、ヒト由来の蛋白、酵素、生理活性物質などのバイオ医薬品における毒性評価は、交差反応の認められる霊長類を用いるか、あるいは遺伝子改変動物などを用いることによるのみ、有効な安全性評価が可能になると考えられています。

難病に苦しむ患者さんを救うため、よりよい「くすり」をより早く届け 貴重な人命を助けることが製薬企業の使命です。尊い動物の犠牲を無益にさせないためにも的確かつ有効な安全性評価を日々考えて「くすり」の安全性を確かめています。

以上

C-5 くすりを験す

小林 真一

聖マリアンナ医科大学薬理学教授、同病院治験管理室室長

多くの患者さんが新薬によって救われてきたことは我々の歴史でも明白です。また、一方で「くすり」による健康被害のニュースはあつと絶ちません。なぜこのようことになるのでしょうか。これはある意味では当然のことなのです。「くすり」とは本来、人体にとって異物であり毒物なのです。しかし、病気のときにはこの毒物が病気の原因となっている細菌を殺してくれたり、体の調子を整えてくれたりします。しかし、根本的には人体にとって異物であるので病気を治す有効性と同時に必ず、人体に有害な毒性をもっています。この「くすり」の有効性と毒性をうまく使い分け、患者さんにとって有益に働くようにすることが「くすり」の上手な使い方となります。では、「くすり」を上手に使うためにはどうしたら良いのでしょうか。そのためには「くすり」個々の有効性、毒性の特長を知ることが重要です。その特長を調べるために、まずはじめに動物を使って研究が行われます。なぜなら初めから患者さん（ヒト）で研究し、思いもかけない危険な毒性が起こったら取り返しが付かなくなるからです。つまり動物で研究してヒトで起こるかも知れない毒性を予測してから患者さんでの臨床試験に移ることになるわけです。しかし、近年科学が進歩し動物とヒトでは「くすり」の反応が違うことが明らかになってきました。最近、患者さんでの臨床試験に入る前にヒト組織を利用した研究の必要性も言われています。

さて、ヒトと動物が違う以上、実際病院で患者さんに有効に、また安全に「くすり」を使うためには、患者さんでの「くすり」の有効性、毒性（安全性）を調べることは必要不可欠のことなのです。患者さんでの臨床試験の必要性から、それではどのようにやるべきかの議論がなされて来ました。ヒトを対象とする研究（臨床試験）を実施する上で大切なことは「科学的」「倫理的」に適正であり、「信頼性」の高い試験であるということです。科学的に適正な臨床研究を実施するためには動物での実験結果を踏まえヒトでの安全性（第一相試験）を確認した後、患者さんでの有効性、安全性（第二・三相試験）を検討し、「くすり」として1日どのくらいの量を1日何回飲んだら良いか、また他の「くすり」との飲み合わせで有害作用は起きないか（薬物相互作用試験）などを検討して、それらの結果を厚生労働省に提出して、「くすり」の製造許可申請をします。一方、臨床試験の倫理的な側面は非常に重要であり、その基本原則は「ヘルシンキ宣言」に述べられています。つまり、臨床試験を実施しようとする者はまずどのような研究をするのか、その研究計画書を作成しなくてはなりません。そしてその計画書などが本当に科学的・倫理的に適正なものであるかを研究者から独立した第三者的立場の倫理委員会で審査を受けなければなりません。ここで承認を得られたということはその臨床試験の実施が社会的に認められたとも考えられますが、この承認が得られたからと言って臨床試験は実施できるとは限りません。どんなに社会的に有意義な試験でも被験者となる患者さん本人から同意がとれなくてはやってはいけないことが世界的なルールだからです。我が国でも最近、この同意取得（インフォームドコンセント）が医療分野で話題になっています。臨床試験に参加するかどうかは患者さんの自由意思であり、例え同意した後でその同意を撤回しても何も不利益を受けないことになっています。しかし、我が国の医療現場では患者さんが医師に対して十分な質問がし難い状況もあり、また現状の保険診療体制の中ではどんなに医師が頑張っても、患者さんが十分臨床試験を理解するだけの説明時間が取れません。その結果として我が国では同意が取りにくいとの声をよく聞きます。この問題を解決したのが治験コーディネータ（CRC）という新しい人たちの活用です。CRCとは看護婦さんや薬剤師さんになっていますが、同意のための説明から臨床試験中の患者さんのケア、また臨床研究のデータ整理等々、臨床試験の信頼性を高めるために大切な医師の重要な協力者となっています。このような医療現場での最先端のお話をさせて頂き、病気で苦しむ患者さんに「くすり」を有効に、安全に提供するためには患者さんの協力による臨床試験が絶対必要であることを御理解頂きたいと思います。

以上

豊島 聡

国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センター

1. くすりの審査の必要性

「くすり」は、飲んだり、つけたり、注射したりすることにより、病気や傷をなおすために使われるものですから、効き目（有効性）が確かであることが必須です。一方、「くすり」は生物に作用する物質ですから、大量に服用するなど誤った使い方をするとう副作用を生じます。「くすり」として使用できるかどうかは、副作用をもとに判断されるリスクと有効性（効き目）をもとに判断されるベネフィットを比べることにより決まります。「くすり」を安心して使用するためにはリスクとベネフィットを評価（審査）することが必要になります。すなわち、効き目はどのくらいあるのか、どのような副作用がありその危険性はどの程度か、効き目があって副作用のない用量はどのくらいかなどを審査しなければなりません。

ある「くすり」の開発になんらかの関与をしますと、その「くすり」に対しどうしても舐鼠目になる可能性があります。従って、「くすり」を安心して使うためには、「くすり」の審査は、公正・中立な立場で行うことが要求されます。国は、公正・中立な立場で「くすり」の審査を科学的に行う場として、平成9年7月に国立医薬品食品衛生研究所に医薬品医療機器審査センターを設立しました。

2. くすりの審査の流れ

「くすり」の審査は、製薬会社での「くすり」の開発のプロセスをたどりながら、安全性・有効性の確認のための試験が正しく行われるとともに評価されているかを調べていくことにより行われます。「くすり」の承認審査のために製薬企業から提出される申請資料には、非臨床と臨床の資料がありますが、非臨床は規格・安定性、毒性、薬理、吸収・分布・代謝・排泄（ADME）に分けられ、いずれも申請された「くすり」の有効性と安全性を評価し、審査するために必要な科学的なデータを含んでいます。規格・安定性は「くすり」の物質としての評価（品質）に重要です。薬理、毒性、ADMEは、ともに密接に関連しており、申請された「くすり」の臨床での有効性と安全性を裏付けるデータが示されているかどうかを審査します。

臨床部分には、臨床試験（治験）のデータが含まれています（治験には、少数の健康な大人を対象にして、「くすり」の安全性、吸収・排泄のようすを調べる第一相試験、「くすり」の効果があると想定される患者を対象（数十人程度）にして、「くすり」の安全性、有効性、使う量・期間などを調べる第二相試験、第二相試験で問題がない時に患者を増やして既にある標準的な「くすり」などと有効性安全性を比較する第三相試験があります）。この臨床試験データを審査することにより、ヒトでの有効性、安全性が評価されます。

以上

C-7 くすりを説明する

鍋島 俊隆

名古屋大学大学院医学研究科医療薬学・附属病院薬剤部

日本トキシコロジー学会のホームページ (<http://www.soc.nii.ac.jp/jsts/>) には、16世紀ヨーロッパの医師パラケルスス (PARACELSUUS 1493-1541) の言葉が引用されています。「すべての物質は毒であり、毒でないものはありえないのであって、まさに用量が毒と薬を区別するのである」。

「くすり」は、体の中でいろいろな作用をします。その作用のうち、症状の改善や病気を治すといった「くすり」本来の目的を「効果 (有効性)」といい、生体に対する望ましくないその他の作用を「副作用」といいます。つまり「くすり」には、効果と副作用が必ずあります。そして「くすり」は、効果と副作用のバランスを考えながら使われています。効果と副作用には、「くすり」に関する情報が大きく影響します。効きめ、使い方、使う量、予想される副作用などの情報です。こうした情報を理解して、使い方や使う量をきちんと守ることで、「くすり」本来の価値が発揮されます。つまり、「くすり」は「情報」が備わって初めて「くすり」の役割をはたすのです。「くすり」は、その副作用をできるだけ抑えて、最大限の効果を得られるようにさまざまな工夫がされています。しかし、その使い方、使う量、使う人の体質などによって、効果と副作用のバランスはひとりひとり違っているのです。副作用は、他の「くすり」、食べ物、飲み物との「のみ合わせ」によっても生じることがあります。決められた使い方、使う量をきちんと守ることで最大限の効果を得ることが出来ます。また、身体的・精神的苦痛が軽減される、治療期間が短縮されることで経済的、精神的負担が下がるといったことも効果に含まれます。

人口の高齢、少子化と医学の進歩に伴って、慢性疾患の治療が多くなって、医療における「くすり」の役割はますます大きくなってきています。とくに高齢者の場合、複数の病気をもち、多科に受診する患者さんが増えています。同じ「くすり」が重なって処方されると、「くすり」同士の相互作用が心配されます。また、一人で数多くの「くすり」をもらうために、患者さん自身で判断して、飲む「くすり」を選んだりする場合も多いでしょう。患者さん自身の「くすり」に対する理解と、自分の治療に関心を持つことが重要です。われわれ医療関係者が意味のある役目を果たすとするれば、「くすり」の正しい使い方と、「くすり」の情報を患者さんに対して提供していくことです。情報提供といっても、単に処方された「くすり」について詳しい情報を提供すれば良いというわけではなく、患者さんの病気に対する正しい認識と、治療のなかで「くすり」に期待する効果への適切な理解と協力が必要なのです。いうまでもなく、患者さんにはそれぞれの性格、知識レベル、心理状態、ライフスタイルなどによって病気・病状はもとより「くすり」に関する情報の求め方や、理解度に違いがあります。「くすり」に関して、患者さんと医療関係者とのコミュニケーションが現実の医療において必ずしも充分でないことも事実です。ごく最近まで、処方された「くすり」の名前すら積極的に知らせないのがあたりまえになっていました。しかし、「くすり」は大切な医療手段の一つです。とくに長期にわたって使用する「くすり」では、毎日の食事と違って、患者さん自身がその意義をよく認識し、特別の意識をもたない限り、服薬忘れや服薬間隔が不規則になるなど不適切な使用がなされやすくなっています。「くすり」の不適切な使用は、副作用を発現したり、あるいは期待した効果を得られずに、病状の悪化を招くなどの弊害をもたらすことになります。

私たちは、「くすり」をより有効に、そして安心して使っていただけるように、様々な情報を集めて、患者さんに提供しています。そのひとつに「気管支ぜんそく吸入療法教室」があります。その活動を通して、「くすり」の特性にかかわる情報伝達の改善だけでは解決できない、さまざまな問題があることに気がきました。今日は、気管支ぜんそくの吸入療法において、「くすり」を説明することがいかに大切であるかをお話します。

「気管支ぜんそく」

厚生省の調査によると、我が国には14万人以上の気管支ぜんそくの患者さんがいらっしゃり、この数は益々増加しています。ぜんそくとはどのような病気なのでしょう。ぜんそくの多くは、遺伝的因子 (アト

ビー体質)に、家の中のホコリやダニの死骸、ペットの毛などの様々な環境危険因子(アレルゲン)が加わります。その結果、アレルギー反応が起こり、気管支粘膜に炎症(アレルギー性炎症)が生じます。炎症を起こした気道は、刺激にたいへん敏感になっており、タバコの煙やホコリっぽい空気を吸い込むことなどによって、気管支がさらに収縮し、内腔がもっと狭くなります。また、異物から粘膜を守るためにたんがたんたん分泌されます。こうして空気の通りがますます悪くなり、息が苦しくなるのです。ところが、気管支が狭くなった状態というのは、二次的な状態であり、ぜんそくの本態は気道の慢性的な炎症なのです。ぜんそくの治療で一番大切なのは、この炎症を鎮めることです。私たちの教室にいらした患者さんは、平均21年の罹患経験をお持ちの方ですが、3割位の方しかこのことを理解していません。ぜんそくの「くすり」には、炎症を鎮める「抗炎症薬」と、気管支を広げ発作を鎮める「気管支拡張薬」の2つがあります。ぜんそく治療の基本は炎症を鎮めることですから、抗炎症薬が第一選択で、気管支拡張薬はあくまでも補助と考えます。昔のぜんそく治療は狭くなった気管支を広げることに重点が置かれていましたが、それでは炎症を鎮めることができません。抗炎症薬でうまくぜんそくをコントロールし、気管支拡張薬を使わないという形が一番望ましいといえます。この「発作を予防するくすり」と「発作を止めるくすり」を誤解していらっしゃる方が非常に多いのです。

抗炎症薬の中で中心となるのは予防薬として使われる「吸入ステロイド薬」です。使い続けていると、タンの量が減り、気管支粘膜の腫れを鎮め、気道の過敏性が改善します。その結果、ぜんそくが改善し、それが発作の予防や気道粘膜の修復、慢性化の防止につながります。ところが、気道の炎症を鎮める薬ですから、最低でも効果が出るまでに数日から1週間ほどかかります。この点が気管支拡張薬の代表「吸入 β_2 刺激薬」と違います。吸入 β_2 刺激薬は発作時の応急処置として使う「くすり」ですから、吸入するとすぐ効果が現れます。そこで、この「吸入 β_2 刺激薬こそ大事なくすり」と思っている方が半数以上いるのです。これにより、ステロイド薬の使用忘れや使用が不規則になるなど不適切な使用がなされやすくなっています。吸入ステロイド薬には、症状があるときだけでなく、毎日規則正しく使うことが大切です。

生体内神経伝達物質であるカテコラミン(アドレナリン、ノルアドレナリンなど)は、強力に気管支を拡張します。それによく似せて気管支拡張作用(β 作用)だけを残した薬が、 β_2 刺激薬です。経口剤、吸入薬、注射薬がありますが、最近では吸入が主流になっています。吸入で特に即効性があり、軽い発作はすぐに収まります。しかし、あくまでも緊急時のための薬剤です。副作用として動悸、手のふるえ、胸(こむら)返りなどがあります。正しく吸入されないと、効果が充分現われず、使用回数も増え、心臓などへの負担や危険性も増加します。一時、 β_2 刺激薬の定期吸入療法が欧米ではやりましたが、かえって死亡率が上がるといふことで廃れ、現在は症状のあるときだけ、発作予防の必要なときだけ、頓用で使うべきであるといわれています。吸入 β_2 刺激薬は一時的に気管支を拡張しますが、病気の本態である気道の炎症を治療しているわけではありません。この「くすり」を3~4日続けて1日3~4回以上使うことは、ぜんそくがうまくコントロールされていないことを意味します。

ステロイド薬というと「副作用が強く、怖い薬」というイメージを抱いている患者さんが少なくありません。確かに経口ステロイド薬を長い間使用した場合、白内障、骨がもろくなるなどの副作用が現れます。ぜんそくの「くすり」には、吸入薬と経口薬(飲み薬)、注射薬があります。これまでは、ステロイド薬、気管支拡張薬ともに、経口薬が中心でした。しかし、ぜんそくは全身的な病気ではありません。気管支の病気ですから、くすりが気管支に直接到達する吸入薬が合理的なのです。経口薬や注射薬は、血流に乗って全身を巡りますから、「くすり」が途中で分解されたりして、肺や気管支にはわずかな量しか到達しません。そのため、投与量を多くする必要があり、それだけ副作用の心配も増します。それに対して吸入薬は、病気の部位にくすりが直接届いて作用しますから、少しの量で効果が得られ、副作用も少ないのです。ただ、口腔カンジダ症、のどの刺激感、声がかすれるなどの口の中やのどの異常がみられる場合があります。吸入後にはしっかりとうがいをして口内に残った薬を洗い流すことが大切です。5割位の患者さんは、うがいをしていません。

エアゾールタイプの吸入薬はとても便利ですが、7割以上の患者さんは、正しい吸入法をしていません。噴霧と吸入のタイミングを上手に合わせないと、口の中にくすりがたまり、気管支にはほとんど到達しません。これでは効果がないばかりか、口の中に「くすり」がたくさん付着するため、口腔カンジダ症などの副作用が増える原因ともなります。スパーサーという吸入補助器も開発されています。スパーサーの中にまず吸入薬をスプレーし、その中の空気とともにくすりを吸い込むもので、「くすり」は効率よく肺の中に入

ります。最近、吸入ステロイド薬では、エアゾールタイプに加えて、粉末（ドライパウダー）タイプの吸入薬が使用されています。吸入方法はさらに簡単で、マウスピース部分を口にくわえて「くすり」を吸い込むだけです。ところが、正しい吸入法をしていないために、半分近くの薬が残っていることもあります。

ぜんそくを治療するためには、病気の程度を正確に知らなければなりません。以前は患者さんの自覚症状から判断していましたが、自覚症状は必ずしも肺機能とは一致しません。ぜんそくの病歴が長い方は、苦しさに慣れてしまっており、症状を過小評価しがちです。苦しくなくても、実際には呼吸機能が非常に低下している場合があります。患者さんの言葉のみを頼り通りに受け取ると、治療不足になることがあります。そこで、患者さんのぜんそくの程度を正しく評価するために、ピークフローメーターによるピークフロー値を測定します。ピークフロー値は、気道の症状を示し、そして毎日、日記に記録します。これによって、患者さんのぜんそくの症状を客観的に評価することができます。ところが、ぜんそく日記やピークフローメーターは、4割～6割の方しか実施していません。日記をきちんと記録するようにすることもぜんそく治療には欠かせません。

「まとめ」

ぜんそくは時に患者さんを死に至らしめることがあります。毎年およそ6,000人の方が亡くなっています。こうした患者さんの多くは、タンが気管支の内側にぎっしり詰まり、息ができなくなり、窒息して亡くなります。ぜんそくの治療では、こうした状態を作らないことが大切です。気管支ぜんそくの吸入療法に限らず、どんな疾患においても、「くすり」の正しい使い方や、「くすり」を用いた治療に関する情報を患者さんに対して提供していくことは、「くすり」の副作用をできるだけ抑えて、最大限の効果を引き出すために、とても重要なことなのです。

以上

C-8 くすりのリスクとベネフィット

海老原 格

日本 RAD-AR 協議会

1. 薬とは何か
 - (1) 定義
 - (2) 品質, 有効性, 安全性, 倫理
 2. 医療とは何か
 3. 医療への参加と権利・義務
 - (1) 医療チームの一員
 - (2) 自分でなすべきこと
 4. くすりのしおり, Get the Answers
 - (1) 医師・薬剤師からの情報
 - (2) 医師・薬剤師に尋ねる情報
- 以 上

併設

おくすりの相談コーナー

—おくすりを安心してのめるように—

6月18日午後4:30~7:30

431会議室 相談室 437会議室 控室

4号館3階

愛知県病院薬剤師会

山村 恵子 名古屋大学医学部附属病院薬剤部

近藤 喜博 相生山病院薬剤部

1. 「くすり」相談のブース

日頃「くすり」の事で、気になっている服薬・使用に対する不安、疑問等を5つのブースで病院薬局薬剤師が分かり易く説明します。

- ・「くすり」何でも相談コーナー
- ・高血圧のくすり相談コーナー
- ・糖尿病のくすり相談コーナー
- ・子供のくすり相談コーナー
- ・喘息のくすり相談コーナー

2. 健康機器およびパンフレット等の展示・体験コーナー

各種健康機器の展示と体験を通して、現在の健康状態を把握しよう

(1) 健康度チェックコーナー。

- ・自動血圧計測定
- ・重心動揺計（バランス・平衡機能を測定）
- ・呼吸機能検査装置（呼吸機能検査）
- ・発汗計（発汗量を測定）
- ・生活習慣改善支援システム（摂取カロリー、消費カロリーの分析、把握）
- ・生活習慣記録機（消費カロリーの分析、把握）
- ・消費カロリー測定機（消費カロリーの測定）
- ・血糖測定（自己血糖の測定）
- ・骨密度測定機（骨密度を測定）
- ・活力年齢計（体脂肪測定、健康年齢測定）
- ・その他：健康茶の試飲コーナー：各種パンフレット類配布

新しく薬が生まれるまで

探索研究 2～3年	薬の基となる新規物質の発見と創製		
	薬の開発は、将来薬となる可能性のある新しい物質（成分）を発見したり、化学的に創り出すための研究から始まります。天然素材からの抽出や、化学合成・バイオテクノロジー等の多様な科学技術を駆使した手法が用いられる。最近ではゲノム情報の活用も進んでいる。さらに新規物質の性状や化学構造を調べ、ふるいわけして取捨選択する。		
非臨床試験 3～5年	新規物質候補の有効性と安全性の研究		
	薬として可能性のある物質を対象に、動物や培養細胞を用いて、有効性（薬効）と安全性（毒性）を研究します。また、その物質の体内での動態（吸収・分布・代謝・排泄の過程）や、品質、安定性に関する試験も行う。		
臨床試験/治験 3～7年	ヒトを対象とした有効性と安全性の試験		
	非臨床試験をパスした薬の候補（治験薬）が、安全でさらに実際にヒトに役立つかどうかを調べる最終的な確認が臨床試験（治験）である。治験は3段階に分かれ、病院などの医療機関で、健康なヒトや患者を対象に同意を得た上で行われる。		
	第1相試験 （フェーズ1）	第2相試験 （フェーズ2）	第3相試験 （フェーズ3）
	少数の健康なヒト（志願者）を対象に、主として副作用などの安全性について確認する。	少数の患者さんを対象に、有効で安全な投薬量や投薬方法等を確認する。	多数の患者さんを対象に、有効性と安全性について既存量との比較などを行う。
	厚生労働省		
承認申請と審査 1～2年	厚生労働省		
	臨床試験で有効性、安全性、品質などが認められた治験薬は、厚生労働省に製造承認の申請を行う。厚生労働省の審査センターや、学識経験者などで構成する薬事・食品衛生審査会による数段階の審査を受け、それにパスすると初めて薬として販売できる。		

— お 願 い —

1. 携帯電話をお持ちの方
事前に電源を切る・マナーモードにする
2. 喫煙される方
会場外の所定の場所で嗜好する
3. カメラ撮影される方
報道・専門カメラマンが行う

次回の年会のお知らせ

第30回日本トキシコロジー学会学術年会
年会長：赤堀文昭（麻布大学教授）

2003年7月開催

- 18日（金）グリーンホール相模大野
（相模原市文化会館）
19日（土）麻布大学100周年記念ホール
20日（日）麻布大学100周年記念ホール

第29回日本トキシコロジー学会学術年会

付設展示会（白鳥ホール南）Exhibition (Shirotori Hall S)

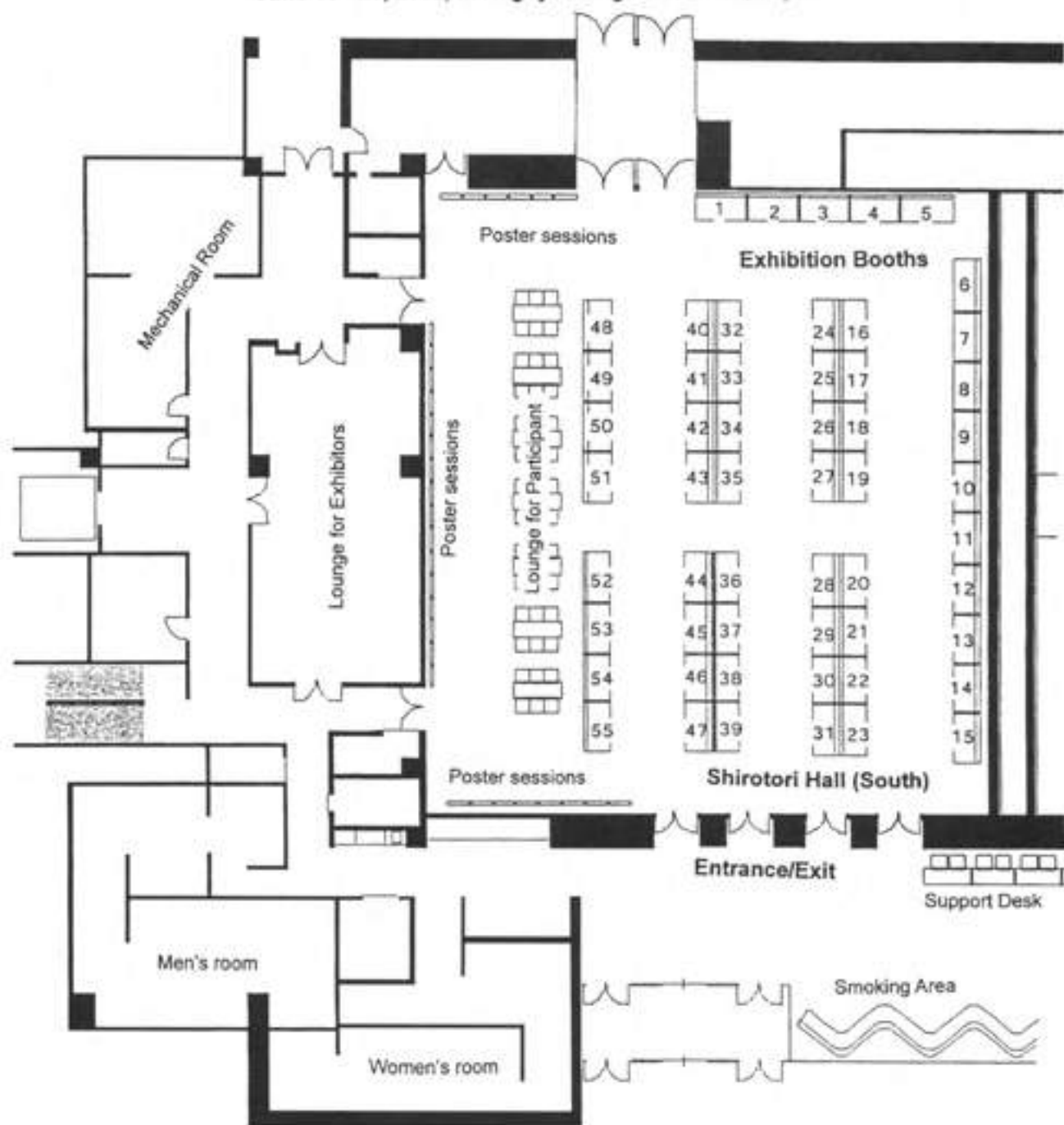
出展団体一覧 List

- | | |
|------------------------------|------------------------------------|
| 1,2 日本チャールス・リバー(株) | 29 第一化学薬品(株) |
| 3 CR-アイテias(株) | 30 (株)日本バイリサーチセンター |
| 4,5 Fraunhofer ITA | 31 (株)イナ リサーチ |
| 6 (株)クリニカルサブライ | 32 TNO Pharma |
| 7,8 コーヴェンス日本支社 | 33,34 サイファージェン・バイオシステムズ(株) |
| 9 (株)日本生物科学センター | 35 ユニーテック(株) |
| 10,11 (株)富士バイオメディックス | 36 (株)住化分析センター |
| 12 フクダエム・イー 工業 | 37,38 日本農産工業(株) |
| 13,14 RCC Ltd | 39 ディスカバリー バイオテクノロジーズ(株) |
| 15 Inveresk Research | 40 (株)シバヤギ |
| 16 室町機械(株) | 41 NOTOX B・V |
| 17 (株)杉山元医理器 | 42,43 (株)新日本科学 |
| 18,19 ビアコア(株) | 44 CTC ラボラトリーシステムズ(株) |
| 20 (株)エイチ・アンド・ティー | 45 MPI Research Inc |
| 21 住商情報システム(株) | 46 (株)三菱化学安全科学研究所 |
| 22 WIL Research Laboratories | 47 (株)パナファームラボラトリーズ |
| 23 (株)東レ リサーチセンター | 48,49 CTBR |
| 24 (財)食品農医薬品安全性評価センター | 50 エル 에스ジ(株) |
| 25 (株)環境バイリス研究所 | 51 Syngenta CTL Ltd |
| 26 シスメックス(株) | 52,53 (株)ボソリサーチセンター |
| 27 (株)平山製作所 | 54,55 Huntingdon Life Sciences Ltd |
| 28 日本クレア(株) | |

書籍展示

436号会議室

Floor map for 2002 JST
29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology (2002JST)
June 18 - 20, 2002, at Nagoya Congress Center, Japan



会社名 日本チャールス・リバー株式会社
英名 Charles River Japan
所在地 神奈川県横浜市港北区新横浜 2-3-8 東伸 24 新横浜ビル B-4 階
国 日本
TEL 045(474)9340 FAX 045(474)9341
E-mail crj-sd@yokohama.email.ne.jp
Internet http://www.crj.co.jp
会社概要 実験動物の国内販売, ヒト由来製品の分譲, 毒性予測ソフトの販売
展示概要 実験動物の国内販売, ヒト由来製品の分譲, 毒性予測ソフトの販売

TEL Fraunhofer ITA
E-mail Nikolai-Fuchs-Strasse 1 30625 Hannover Germany
Internet 0049 511 5350 103 FAX 0049 511 5350 155
kroggel@ita.fraunhofer.de
www.ita.fraunhofer.de
The classical fields of expertise of Fraunhofer ITA, 1. preclinical drug research and development, 2. testing and registration of chemicals, biocides and pesticides, and 3. occupational/environmental toxicology and consumer protection, have been complemented by the area of Drug Research and Medical Biotechnology that opens up the possibility to investigate the correlation between human diseases and changes in the expression of genes and proteins and genetic polymorphisms. A further newly established research area enables the Fraunhofer ITA to conduct clinical studies from phase II to IV.
Thank you very much. We are also very happy that you accept our seminar.
Sincerely,
Claus Kroggel
Tel.: 0511/5350-0
Fax: 0511/5350-155
E-Mail: kroggel@ita.fhg.de
Fraunhofer Institut fuer
Toxikologie und Aerosolforschung
Nikolai-Fuchs-Strasse 1
30625 Hannover

会社名 株式会社 クリニカル・サプライ
英名 Clinical Supply Co., Ltd.
所在地 〒501-6024 岐阜県羽島郡川島町竹早町 3 番地
TEL 058689-4533 FAX 058689-4162
E-mail h-furukawa-cscl@hbc.eisai.co.jp
http://www.sanken.pref.gifu.jp/21/036_clin/
会社概要 エーザイのネットワーク企業の一翼として、「人にやさしい医療用具の提供」を企業理念の基に、新しい製品開発にチャレンジし、各種医療用具を医療現場及び医療・医薬開発研究機関に提供しています。代表的な商品群としては、造影用カテーテル、バルーン付カテーテル、内視鏡システム、ケンキポーター、皮下埋め込み式リザーバーがあります。
展示概要 内視鏡システム：血管や尿管など、管径 1mm 程度からの細径管腔を観察することができます。皮下埋め込み式リザーバー：体腔内あるいは血管内に留置されたカテーテルに接続して皮下に埋め込まれ、経皮的穿刺にてカテーテルを介しての薬液投与ができます。

会社名 コーヴァンスインク日本支社
英名 Covance Inc. Japan Branch (本社：米国)
所在地 〒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
E-mail mitsuzuka@covance.co.jp
Internet <http://www.covance.com>
会社概要 全世界に7,000名を超えるスタッフをかかえ、医薬・農薬各社の開発をサポートする総合頭脳
集団。特に医薬品開発の前臨床から Phase I/PIC への移行を難ぎ目なく行えるのが強み。また、
これを効率良く押し進める SPD プログラムを秀逸なサービスとして提供。
展示概要 本年度の各施設の拡張計画及び新しいサービスの総合的紹介。(多少変更の場合あり)

会社名 株式会社 富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所
英名 Fuji Biomedix Co., Ltd. Kobuchisawa Laboratories
所在地 〒408-0044 山梨県北巨摩郡小淵沢町 10221 番地
国 日本
TEL 0551-36-2455 FAX 0551-36-3895
E-mail kobuchizawa@fbm.co.jp
Internet <http://www.fbm.co.jp>
会社概要 当社は、医薬品の安全性薬理試験ガイドライン制定に伴い、いち早く受託体制を整えました。
また、各種 GLP に適合した受託研究施設として、医薬品、化粧品、農薬、化学物質などにつ
いてマウス、ラット、ウサギ、イス、サル、ブタなどを用いた各種毒性・薬効薬理試験の受託
のほか、ヒトのトランスポーター遺伝子発現細胞を用いた in vitro による薬物動態試験などの
ゲノム技術を応用した試験方法の開発も行っています。
展示概要 受託試験の紹介、受託可能試験パンフレット配布

会社名 インバレスクリサーチ社
英名 Inveresk Research
所在地 Tranent, EH33, 2NE, Scotland
国 United Kingdom
TEL +44-1875-614545 FAX +44-1875-614555
E-mail info@inveresk.com
Internet <http://www.inveresk.com>
会社概要 インバレスクリサーチ社はクライアントの皆様との信頼関係を大切にしています。そのため、
今日まで20年以上にわたり日本の医薬品企業にご受顧頂いております。業務経験の豊富な研
究者、技術者、臨床スタッフが毎月英国より来日しておりますので、皆様の委託試験について
東京の日本総代理店と共にいつでもご相談に応じます。前臨床から臨床まで、医薬品開発業務
のあらゆる段階において、皆様のお役に立つことを目指しております。
お問い合わせは、上記の番号まで。ホームページにも是非お立ち寄り下さい。
展示概要 会社案内パンフレット、ポスター

会社名 ビアコア株式会社
 英名 Biacore K.K.
 所在地 〒105-0011 東京都港区芝公園 2-9-5 向陽ビル 5F
 国 日本
 TEL 03-3459-1083 FAX 03-3459-1085
 E-mail support@biacore.co.jp
 Internet http://www.biacore.co.jp
 会社概要 Biacore社は表面プラズモン共鳴 (SPR) という光学現象を応用した相互作用解析の技術 SPR technology を持つ会社です。この技術分野における世界的バイオニアとして生命科学をはじめ創薬、食品・環境関連分野に積極的なビジネスを米国、ヨーロッパをはじめ世界中で展開しています
 展示概要 現在機器システムのラインナップは7種類で、その中で HTS 前の創薬プロセスに Biacore® 3000 のアプリケーションが活かされています。今回はさらに HTS の次工程に焦点を当て、それに適応できる高性能を備えた新製品「次世代創薬スクリーニング Biacore S シリーズ」の Biacore®S51 を日本トキシコロジー学会付設展示会にてご紹介いたします。

会社名 株式会社 エイチ・アンド・ティー
 英名 H&T INC.
 所在地 〒577-0061 大阪府東大阪市森河内西 2-20-4
 国 日本
 TEL 06-6785-3322 FAX 06-6785-3435
 E-mail mail@ht21.co.jp
 Internet http://www.ht21.co.jp/
 会社概要 当社は、研究者の立場から考えた自由度の高い、安全性試験支援システム（非臨床試験におけるデータ収集コンピュータシステム）の研究・開発を行っています。また、機器制御技術を生かした、マルチメディア住宅の企画・設計も行っていきます。
 展示概要 医薬品等安全性試験支援システム『TOX ランチャー』のデモ展示を行っています。『TOX ランチャー』は、GLP・FDA 21CFR Part11 を十分考慮した、新しいアイデアのシステムとなっています。

会社名 三木産業株式会社
 英名 MIKI & Co., LTD.
 所在地 東京都中央区日本橋 3 丁目 15-5
 国 日本
 TEL 03-3271-4162 FAX 03-3281-5366
 E-mail hitokabe@mikisangyo.co.jp
 Internet http://www.mikisangyo.co.jp http://www.wilresearch.com
 会社概要 創業は三世紀以上前の江戸時代、その歴史を基に化学品に特化した商社として国内・海外との取引先との厚い信頼を大切に創造的チャレンジを重ねております。1986 年以来、米国 WIL Research 社と日本国内営業代理店契約を結んで、このガイドラインに準拠した前臨床試験、安全性薬理試験等を幅広く受託し、安全な新薬の開発と、人や生態系に悪影響を与えない化学品の開発に貢献しています。
 展示概要 米国 WIL Research 社受託試験、Juvenile Toxicology, Neurotoxicology, Safety Pharmacology 等

団体名 (財)食品農医薬品安全性評価センター
英名 Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides
所在地 静岡県磐田郡福田町塩新田 582-2
TEL 0538-58-1266 FAX 0538-59-1170
E-mail fvbm3972@mb.infoweb.ne.jp
Internet http://www.anpyo.or.jp/
施設概要 職員数 142 名、GLP 区域床面積 11,351 m² の総合受託機関。昭和 53 年に厚生労働省および農水省の認可を受け設立。設立以来、特にがん原性試験、遺伝毒性試験の実績が多く、最近では薬効試験にも力を入れている。
展示概要 リフレット、研究所報、広報誌等のセンター発行の出版物。

会社名 シスメックス株式会社
英名 SYSMEX CORPORATION
所在地 〒651-0073 神戸市中央区脇浜海岸通 1 丁目 5 番 1 号
TEL 078-265-0500 FAX 078-265-0524
E-mail
Internet http://www.sysmex.co.jp
会社概要 当社は、臨床検査という専門性の高い分野で培ってきた技術やノウハウを基盤として、さらなるテクノロジーの可能性をもとめ、さまざまな分野でのグローバルな企業活動を展開しております。この度、当社では、Diagnostics に於ける総合サプライヤーとしての強みを生かして、動物関連市場を本格的な事業領域として位置付け、血算、凝固、血液ガス、電解質、生化学、尿の分析装置等の幅広い品揃えと IT 製品の活用によりトータルソリューションの提供を目指してまいります。

社名 株式会社 平山製作所
英名 HIRAYAMA Manufacturing Corp.
所在地 〒344-0014 埼玉県春日部市豊野町 2-6-5
国 日本
TEL 048-735-1241 FAX 048-733-2384
会社概要 ヒラヤマの製品分野は、滅菌器はもとより医療機器・化学機器・環境試験機器など常に優れた機能性と安全性を追求した高品質な製品を提供。国内はもちろん海外においても幅広いユーザーに高い信頼と実績を頂いております。
展示概要 不快な臭いと蒸気を抑える最新鋭の消臭機能付オートクレーブ HVN-50 や、使い易さと機能性を追求したコンパクト乾熱滅菌器 DAF-250 等を出展致します。

会社名 日本クレア株式会社
英名 CLEA Japan, Inc.
所在地 東京都目黒区青葉台2丁目20-14
国 日本
TEL 03-5704-7123 **FAX** 03-3792-2368
E-mail kht-1@clea-japan.co.jp
Internet <http://www.clea-japan.co.jp/>
会社概要 弊社は実験動物・実験動物用飼料等の生産から、飼育技術を礎にした受託飼育・試験業務を行う業務を行っております。また実験動物の飼育器材から実験用器具等に至るまで、実験動物に関するあらゆる商品を取り扱っております。
展示概要 製薬企業等の安全性試験に用いる実験動物は、真に高品質で再現性のある動物を要求しております。弊社では、長期毒性試験に有用な Hanlbm: WIST と短期発癌性試験に使われる rasH2 マウス (CB6F1-Tg rasH2) のデータをご紹介します予定で。

会社名 フェーズワン モレキュラー トキシコロジー社
英名 Phase 1 Molecular Toxicology, Inc
所在地 2904 Rodeo Park Drive East Santa Fe, New Mexico 87505
国 米国
TEL +1-505-424-2108 **FAX** +1-505-471-8205
Internet <http://www.phase1tox.com>
(代理店) 第一化学薬品株式会社 ゲノムビジネス企画部
TEL 03-3272-0676 **FAX** 03-3272-0635
E-mail ueda@daichichem.co.jp
会社概要 フェーズワン モレキュラー トキシコロジー社はトキシコジェノミクスに関するデータベース (DB) の提供および受託サービスを行っている会社です。トキシコジェノミクスは、化合物により特異的に発現する mRNA のパターンを DB 上の毒性既知化合物と比較する事により、化合物の毒性を予測する方法です。この方法はリード化合物最適化などの創薬初期段階や、臨床試験に入る前の候補化合物の毒性予測ツールとして、その有用性が期待されております。
展示概要 会社概要紹介 (カタログ) およびデータベース (TOXBankTM) デモ

会社名 株式会社日本バイオリサーチセンター
英文 Nihon Bioresearch Inc.
所在地 岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地
国 日本
TEL 058-392-6222 **FAX** 058-392-2432
E-mail k-kyuki@oyc.co.jp
Internet <http://www.nbr.co.jp>
会社概要 医薬品、医薬部外品、農業、食品、食品添加物、化学物質等の安全性に関する各種試験の受託
 医薬品等の安全性薬理試験および薬効薬理に関する各種試験の受託
展示概要 弊社で行っている新しい安全性試験の紹介、提案型コントラクトラボとしてお客様のニーズに合わせた試験系を創作いたします。

会社名 株式会社 イナリサーチ
英名 Ina Research Inc.
所在地 本社 長野県伊那市西箕輪 8047 番地
 URL <http://ina-research.co.jp/>
TEL 0265-72-6616 **FAX** 0265-72-6657
E-mail tokyo@ina-research.co.jp osaka@ina-research.co.jp
会社概要 当社は、1974年設立の非臨床試験受託機関で、医薬品、農業など化学物質の安全性試験や薬効・薬理試験を中心に受託しています。幼若動物試験、長時間 infusion 試験、依存性試験、骨粗鬆症モデルによる薬効試験等を得意分野としています。特に、サル試験については国内施設ハード・ソフトを充実させると共に、1995年にフィリピンに現地法人 (INARP) を設立し、育成から試験実施まで一環して行うサル専門の試験施設を運営しています。
展示概要 当社の受託業務全般について、得意分野を中心にご案内する資料類を取り揃え展示いたします。また、今春よりサービスを開始したインターネットを介した試験データ閲覧サービス「Remote Monitoring System」のデモンストレーションを行います。

会社名 ティーエスオーファーマ
英名 TNO Pharma
所在地 Utrechtseweg 48, P.O. BOX 360, 3700 AJ Zeist, The Netherlands
国 オランダ
日本事務所 TNO Pharma Japan
 〒222-0033 横浜市港北区新横浜 2-13-6 第一 KSビル 7F
TEL 045-478-5130 **FAX** 045-473-7959
E-mail kazariga@tno.co.jp
Internet <http://www.pharma.tno.nl>
会社概要 TNO Pharma は 1930 年に設立された総合医薬品開発受託機関で約 700 名の専任技術者がリード化合物スクリーニング、薬理試験、薬物動態および代謝試験、毒性、分析サービス、バイオテクノロジー、ドラッグデリバリー、規制サービス、臨床試験 Phase-I, Phase-II 等の医薬品開発サービスを総合的に取り扱っています。
展示概要 受託サービスに関する資料およびパンフレット。主に安全性薬理試験、毒性試験、薬物動態・代謝試験、ドラッグデリバリー試験、トキシコゲノミクス等。

会社名 ユニーテック株式会社
所在地 千葉県柏市柏 367-2
TEL 04-7164-6899 **FAX** 04-7166-2039
E-mail eigy@uniqtech.co.jp **URL:** <http://www.uniqtech.co.jp>
会社概要 Genomics と Proteomics を統合した「ゲノム創薬」の研究支援を受託サービスする会社です。ユーザーは大学、公的研究所、製薬・化粧品メーカー様です。
受託サービス High technologies and Speed
 1. 遺伝子発現解析 (ATAC-PCR 法, iAFLP 法, RealTime-PCR 法, RT-PCR 法)
 2. 遺伝子組換えタンパク質発現 (クローニング, 発現, 精製, 分析)
 3. 抗体作製 (ポリクローナル抗体: ニワトリ・ウサギ・ヤギ・マウス, モノクローナル抗体: マウス)
 4. SNPs 解析 (シーケンス: ダイレクトシーケンス・クローニングシーケンス, WAVE システム, SSD 法)
 5. シーケンス (ダイレクトシーケンス, プラスミドシーケンス, 生体材料からのシーケンス, TA クローニング)
 6. バイオインフォマティクス (ソフト開発の受注: 遺伝子の情報処理, タンパク質の情報処理)
 7. 遺伝子診断系の開発 (微生物の同定検査, SNPs 診断システム, 遺伝子診断薬の開発)

会社名 株式会社 住化分析センター
英名 Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.
所在地 〒554-0043 大阪市中央区高麗橋4丁目6番17号
国 日本
TEL 06-6202-1000 FAX 06-6202-0005
E-Mail marketing@scas.co.jp
Internet http://www.scas.co.jp
会社概要 各種化学分析・評価・試験・研究の受託
分析機器, HPLC カラムの製造・販売
展示内容 医薬分野の受託分析・評価紹介, HPLC カラムの紹介

会社名 ディスカバリー・バイオテクノロジーズ株式会社
英名 Discovery Biotechnologies Corporation
所在地 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町三丁目7番2号
国 日本
TEL 03-5645-2613 FAX 03-5614-6309
E-mail Support@discoverybio.co.jp
Internet http://www.discoverybio.co.jp/
会社概要 DNA マイクロアレイ事業において、種々のDNAを使用したカスタムマイクロアレイの作製から遺伝子発現解析の受託、周辺機器や関連試薬の提供など限られた予算を効果的に活用するためのトータルソリューションを提供します。オリゴ合成や遺伝子クローン増幅もご相談ください。
展示概要 受託サービス各種（カスタムマイクロアレイ作製・遺伝子発現解析試験）および関連機器・試薬情報のほか、当学会で発表するデータも一部展示予定です。

会社名 株式会社シバヤギ
英名 SHIBAYAGI CO., LTD
所在地 〒377-0007 群馬県渋川市石原1062番地1
国 日本
TEL 0279-25-0279 FAX 0279-23-0313
E-mail syc-info@shibayagi.co.jp
URL http://www.shibayagi.co.jp
会社概要 『シバヤギ』というヤギを実験用動物用と抗体作製用に使用する為に1977年弊社は創立されました。社員14名全員で開発から少量多品種製造販売しています。生活習慣病モデル動物測定キットの共同開発により今後も製品構成を広げていきます。
展示概要 糖尿病・炎症モデル動物用測定キットの紹介。
新製品紹介, キットアプリケーション情報案内。
——『こんな測定キットが欲しい』を聞かせて下さい。——

会社名 NOTOX B.V. (ノートックス)
英文名 NOTOX B.V.
所在地 Hambakenwetering 7, 5203 DL 's-Hetrogenbosch
国 The Netherlands (オランダ)
TEL 31(0)73 640 67 00 FAX 31(0)73 640 67 99
日本事務
所 〒143-0023 東京都大田区山王 1-5-11
TEL 03-3775-0379 FAX 03-3775-0769
E-mail notox@notox.nl (オランダ) notoxjpn@pnsnet.co.jp (日本)
Internet <http://www.notox.nl> (英文版のみ)
会社概要 1983年にオランダで設立された受託研究機関です。
各ガイドラインに沿って、GLPの元に試験を実施しております。
展示概要 各種毒性試験・届け出等

会社名 株式会社新日本科学
英名 Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.
所在地 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦 2438 番地
国 日本
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619
E-mail hsame@snbl.co.jp
Internet <http://www.snbl.com>
会社概要 新日本科学グループでは、安全性試験及び臨床試験の受託並びに医薬品開発コンサルタントをご提供します。
展示概要 安全性試験 (各種毒性試験, 薬理試験, 薬物動態試験など), 臨床試験パンフレット

会社名 シーティーシー・ラボラトリーシステムズ株式会社
所在地 〒154-0012 東京都世田谷区駒沢 1-16-7 中村ビル 6 階
TEL 03-3419-9551 FAX 03-3419-9179
E-Mail chem-g@ctc-g.co.jp
Internet <http://www.ctcls.jp/>
会社概要 化学、製薬、食品会社、大学等の研究期間に対し、化合物データベース管理、高分子設計、安全性試験、開発支援システム、文書管理システム等、各ソリューションの販売、コンサルティング
展示概要 毒性予測エキスパートシステム DEREK は化合物の構造からその毒性を予測する知識ベースのエキスパートシステムで、日米欧において多くの導入実績があります。このシステムの特徴は独自のルールベースにあります。DEREK のルールベースは毒性のある化合物から共通のルールを導き出し、作成されております。ルールベースの作成には Collaborative グループのメンバーから提供された情報や様々な文献情報を用いられ、そのルールの妥当性は Collaborative グループのメンバーにより毎年チェックされております。また、独自のルールベースを追加する事により、より精度の高い各社各様の利用が可能となっております。

会社名 株式会社三菱化学安全科学研究所
英名 Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd.
所在地 〒105-0014 東京都港区芝二丁目1番30号
TEL 03-3454-7571 FAX 03-3454-7573
E-mail ankaken@ankaken.co.jp
Internet <http://www.ankaken.co.jp>

会社概要 医薬、農薬、各種化学物質の総合的な安全性試験・評価を受託しています。安全性、薬理、薬物動態試験設備の大幅な増強、トキシコゲノミクスの研究体制の拡充、米国のCROであるMPI Research, Inc. 及びPAREXEL International Corporationとの提携等、国際的に通用する信頼性No.1の安全性受託研究機関をめざしています。

展示概要 会社紹介、安全性試験・薬理試験・薬物動態試験の技術資料

会社名 株式会社バナファーム・ラボラトリーズ
英名 Panapharm Laboratories Co., Ltd.
所在地 〒869-0429 熊本県宇土市栗崎町1285番
TEL 0964-23-2299 FAX 0964-23-2977
E-mail Daiyou@panapharm.co.jp
Internet <http://www.panapharm.co.jp/>

会社概要 医薬、農薬、各種化学物質の安全性試験を始め、薬理、動態、生化学試験を実施する総合的な受託試験機関です。安全性試験では、各種投与経路での実績がありますが、特に経皮投与の実績は豊富で、また、生化学分野の技術を生かし、GLP適用下での各種ホルモン、サイトカイン等の測定、EIA法による血中濃度測定(TK)も実績があり、特徴のある、信頼性の高い安全性受託研究機関を目指しています。

展示概要 会社紹介、安全性試験・薬物動態試験・薬理試験・生化学試験の技術資料

会社名 MPI Research, Inc.
英名 MPI Research, Inc.
所在地 54943 North Main Street, Mattawan, Michigan 49071 USA
TEL +1-616-668-3336 FAX +1-616-668-4151
E-mail mpi_general@mipresearch.com
Internet <http://www.mpiresearch.com>

会社概要 MPI Researchは、医薬品・化粧品・化学品・医療用に関する安全性試験、安全性薬理試験など前臨床試験の実施と米国FDAへの申請をコンサルティングする受託機関です。MPI Researchの研究者は、毒性・薬理・代謝・臨床病理・生殖・獣医学・神経毒性・免疫毒性・分析化学・コンピュータ科学・申請業務・統計学など幅広くそして高い技術・知識・研究経験をもって試験を実施しています。

展示概要 会社概要、安全性試験・薬理試験等の技術資料

会社名 CTBR (A Member of the Inveresk Research Group)
所在地 87 Senneville Road, Senneville, Quebec, Canada H9X 3R3
TEL (514)630-8203 FAX (514)630-8230
E-Mail japanmarketing@ctbr.com
Internet <http://www.ctbr.com>

会社概要 CTBR (A Member of the Inveresk Research Group) は、前臨床科学の分野において、世界的に高く評価され、医薬品、生物製剤、化学品、農業化学品業界に高品質で広範囲にわたる前臨床試験サービスを提供してまいりました。研究者、技術者、サポート・スタッフを含む従業員総数約 1200 人で、年間 1500 件以上の GLP 準拠前臨床試験を手掛け、報告書オンタイム提出成績 98%を誇っています。

展示概要 CTBR と LSG (CTBR 日本総代理店) のスタッフが展示ブースにてお待ちしております。

会社名 シンジェンタ CTL (Central Toxicology Laboratory)
英名 Syngenta CTL
所在地 Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TJ, UK
TEL 03-5643-2755 FAX 03-5643-2756

E-mail repr@hi-ho.ne.jp
CTL 日本オフィス株式会社リプレ

第 29 回日本トキシコロジー学会学術年会参加

6 月 19 日午前 9:40-10:30 白鳥北ホール

Professor L. Smith 特別講演「The Importance of Mechanism of Toxicity to Risk Assessment」

6 月 19 日午後 15:00-16:30 432 号会議室 Professor Smith を囲んでのパネルディスカッション

検討課題「The Future of Toxicology in Regulatory Decision Making」通訳付き

6 月 20 日午後ワークショップ 3 白鳥北ホール

Dr. G. Orphanides 講演「Application of Toxicogenomics to Mechanism Based Toxicology」
展示ブース (ポスターセッション前)。面会、パネルディスカッションの問い合わせは上記まで。

会社名 株式会社ボゾリサーチセンター
英名 Biology and Zoology Research Center Inc
所在地 〒151-0065 東京都渋谷区大山町 36-7 日本
TEL 03-5453-8101 FAX 03-5453-8109
E-mail info@bozo.co.jp

会社概要 大・小動物を用いた一般毒性試験、特殊毒性試験等総合的に安全性試験・評価を実施しています。特にがん原性試験、インフュージョン試験は豊富な経験と実績を有します。新たな試験としてボゾリサーチセンターグループの一員としての ITR Laboratories (カナダ) ではインハレーション試験を、ボゾでは安全性薬理試験の受託を開始しました。更に、来年 5 月を目標に施設、設備機器の拡充を図るべく計画を遂行しております。

展示概要 インハレーション試験設備を中心として特殊技術、施設、実績等をパネル展示並びに資料にてご紹介致します。

演者索引 (日本名)

- (あ)
- 青木 泰啓 P-29
青柳 有美子 O-34
赤木 圭介 O-04
秋田 正治 P-39
浅井 利大 O-57
浅沼 健太郎 P-02
浅沼 富美子 O-36
浅野 和信 O-16
浅野間 光治 O-47, P-30
芦野 隆 O-39
麻生 良典 O-10
安仁屋 洋子 P-28
阿部 俊一 P-15
天野 秀人 P-13
荒木 春美 O-47, P-30
有村 卓朗 P-54
有古 範高 O-52
有賀 憲郷 P-47
- (い)
- 飯高 健 P-06
五十嵐 功 P-17
五十嵐 勝秀 P-37
五十嵐 良明 P-45
生城 真一 O-14
池田 孝剛 P-08
池田 博信 W4-10
池田 陽一 P-69
池谷 政道 O-02
伊佐間 和郎 P-24
石井 健久 P-15
石井 俊也 O-04
石井 成幸 O-08
石井 良和 O-56
石井 由子 O-33
石川 圭子 P-73
石川 智久 W3-7
石川 牧恵 P-26
石川 由美 P-06
石河 芳治 O-08
石本 吾郎 S2-7
和泉 宏幸 O-01
磯貝 ゆみ P-38
市原 敏夫 W4-3, P-27
- 井出 陽一 O-05
伊藤 由里子 O-14, O-15
伊藤 義彦 P-71
糸数 里枝 P-28
稲垣 成憲 O-13, P-76
稲田 浩子 P-74
乾 嘉孝 P-01
猪 好孝 O-34
井上 達 W1-2, O-16, O-37, P-37
井上 智彰 O-38
井上 朋子 O-50
井上 尚英 O-40
井上 裕章 P-15
井上 博之 O-13, P-76
井上 誠 P-60
今井 俊夫 P-78
今井 剛夫 P-27
今井田 克己 P-27
今井田 克巳 W4-3
今別府 達 O-29
今村 卓広 P-47
井柳 亮 O-14
岩尾 洋 O-57
岩城 理道 O-03, O-06, O-36
岩倉 洋一郎 O-39
岩崎 正和 O-08
- (う)
- 上田 隆弘 P-05
上田 誠 P-78
上野 百代 O-33
臼田 浩二 P-72
臼田 眞治 P-70
内田 武 P-07
内田 裕之 P-43
海上 智 P-10, P-11, P-12, P-13
畠山 智香子 P-54
海野 陸 W1-1
浦野 陽介 O-29
ウルマン ルドウィグ P-67, P-68
海野 陸 O-19
- (え)
- 永福 由紀子 P-69
榎並 倫宣 O-02

榎本 薫	P-61	〈か〉	
江原 裕子	P-49	高西 智恵子	P-07
江馬 眞	P-36	笠原 寛子	P-47
遠藤 和夫	P-18	程田 陽子	O-49
遠藤 仁	P-23, P-25, P-61, P-62	加島 政利	P-75
遠藤 芳彦	O-42, O-47	片山 誠一	P-10, P-51
〈お〉		勝 謙政	O-33, O-35
生沼 永興	O-35	勝赤 俱慶	P-55
王 瑞生	P-52	加藤 英男	W4-4
大内 広子	P-48	加藤 真之	P-38
大江 武	O-43	加藤 善久	O-14, O-15
大久保 正人	P-23	門倉 豪臣	P-75
大澤 浩一	O-47, P-30	門田 利人	O-20
大隅 剛夫	P-39	金井 好克	P-25
大野 浩司	P-16	金澤 由基子	P-74
大野 理絵	O-03, O-36	金丸 博	O-08
大林 久佐邦	P-18	鹿庭 正昭	P-45
大保 真由美	P-13	金子 豊蔵	O-37, P-37
大町 康	P-18	鎌井 陽子	P-18
大村 実	O-40	鎌田 栄一	O-01, O-02, P-71
大保 真由美	W4-11	鎌滝 哲也	O-50, O-52, P-20
岡崎 和志	P-55	紙田 祐介	O-17
岡崎 啓幸	P-50, P-53	唐木 英明	P-64
岡崎 修三	P-55	川内 佳之	P-73
岡庭 梓	O-04	川口 恵未	O-44
岡村 隆之	P-51	川口 義郎	P-73
岡村 幹夫	O-57	川崎 靖	O-37
小川 いづみ	P-72	川瀬 一郎	O-08
奥谷 冴子	O-44, O-46, P-33, P-34	河津 剛一	O-10, O-30
奥村 修造	O-11	川原 潤一	O-05
小倉 健一郎	O-53	川村 祐司	P-66
小黒 多希子	O-39	ガンサー ジェーン	P-53
尾崎 秀次	P-07	菅野 純	O-16, O-37, P-37
尾崎 潤一郎	O-08	〈き〉	
尾崎 博	P-64	北澤 郁恵	P-06
長村 義之	P-63	北村 泰樹	P-55
小田 美光	O-43	吉川 理恵	P-38
小田切 剛夫	P-11, P-12	木戸 亮子	P-76
小田部 耕二	P-03, P-49, P-60	鬼頭 剛	O-54, O-55
小野 敦	O-16	絹川 賢代	O-46, P-33, P-34
小野田 誠	O-08	木下 一哉	P-64
小野寺 博志	P-78	木下 真一	O-34
小幡 淳雄	O-30	金 従慶	P-25
		木村 恵子	O-34

木村 真二	O-33	小島 基義	O-34
木村 敬	O-47, P-77	小関 直輝	P-29, P-56
木村 哲夫	O-11	児玉 幸夫	O-37
木村 正明	O-03, O-06, O-36	後藤 浩一	O-56
木村 良平	O-14, O-15	小林 一則	O-33
木山 亮一	W3-3	小林 健一	P-52
京川 吉正	P-16	小林 孝好	W1-6
清沢 直樹	P-17, P-19	小林 博	O-52
清谷 一馬	O-50	小林 弘幸	O-25, O-30
金 剛慶	O-57	小林 裕幸	O-47, P-77
金 忠経	O-32	小林 勇二郎	O-24
		駒井 美穂	P-39
<<<		小松 俊一朗	P-02, P-60
国井 誠	P-63	近藤 宏	P-66
久保 雄嗣	O-34		
窪田 典	P-47	<さ>	
KUMAGAI Susumu	P-42	斎田 美恵子	P-70
熊沢 俊彦	O-47	斎藤 明美	P-77
熊澤 俊彦	O-42	斎藤 明美	O-25, O-26, O-27, O-28, O-47
熊野 英一	P-02	斎藤 賢治	W3-5, P-70
金 悦子	P-07	斎藤 敏樹	W4-8
倉田 昌明	P-06	斎藤 宏美	O-46
倉持 光利	P-59	斎藤 宏美	P-34
クリスティーナ ビネリ	O-54, O-55	齋藤 守	P-07
栗原 明義	O-06	三枝 克彦	P-74
黒岩 幸雄	P-62	酒井 茂	O-35
黒川 美佐男	O-18	酒井 東日	P-66
黒田 淳二	P-47	埴 俊治	P-70
桑形 麻樹子	P-74	佐神 文郎	S1-1, O-24, O-25, O-26, O-27, O-28, O-29, O-31
桑野 康一	O-54, O-55		
		坂本 憲吾	W4-2
<け>		佐久間 恭子	P-17, P-19
玄番 宗一	O-58	桜井 貴之	P-49
		佐々木 篤志	P-11, P-12
<こ>		佐々木 正治	O-06
小泉 妙子	P-60	佐々木 有	O-44, O-46, O-49, P-33, P-34
小泉 富彦	P-02, P-03, P-60	佐竹 茂	P-75
小泉 隼子	O-01, O-02, P-71	佐藤 泉	O-35
鞍谷 高敏	P-29	佐藤 玄	S1-3
幸田 祐佳	O-58	佐藤 晃一	P-64
古賀 照二	O-17	佐藤 哲男	O-46, P-33
古賀 朋子	O-20	佐藤 まゆみ	P-21
国分寺 悦子	O-34	佐藤 正邦	O-41
越谷 修	P-73	澤田 純一	Se2-1, Se2-2
小島 幸一	P-74		

<し>

沈 連忠	P-74
塩田 清二	O-39
志垣 隆通	O-21
柴崎 敏昭	P-23
柴田 敏之	O-52
柴田 信男	P-47
柴田 雅美	O-19
沢谷 淳	P-54
込谷 徹	O-45, P-35
嶋田 薫	S2-2
島田 力	O-43
島田 奈央子	P-15
清水 憲次	W4-9
下地 絵理	P-28
周 玉	P-06
ジェイコブ ジャブウ	P-46
庄司 陽子	O-47, P-77
白井 智之	W3-8, P-27
白根 里加	O-03, O-36
神藤 敏正	O-56
神藤 康弘	P-66
神保 雅	P-59

<す>

須井 敏	O-45, P-35
須賀 哲弥	S1-5, P-41
菅原 正喜	P-48
SUGITA-KONISHI	
Yoshiko	P-42
杉本 哲朗	P-03
杉原 芳樹	Se2-4
杉本 哲朗	P-02, P-49, P-60
杉山 明男	O-07, O-09, P-69
杉山 薫	Se1-6
杉山 千歳	W4-7
鈴木 聡	O-45, O-46, P-33, P-35
鈴木 祥太	P-21
鈴木 俊也	P-41
鈴木 晃	P-62
鈴木 博子	P-67, P-68
鈴木 正明	P-31
鈴木 将光	P-11, P-12
鈴木 睦	O-05
須田 恵	P-52, P-59

スタンプ ドナルド P-40

<せ>

関 あずさ	P-04
関口 純一郎	P-52
瀬畑 信哉	P-19
番家 西	P-33

<そ>

組馬 晋司	P-47
-------	------

<た>

田井中 均	S2-6
田内 清憲	P-57, P-58
高井 了	P-03
高木 篤也	P-37
高木 久宣	P-78
高木 広憲	P-54
高島 宏昌	P-74
高信 健司	P-31
高橋 明子	O-49
高橋 哲明	P-47
高橋 剛行	P-54
高橋 裕美	O-33
高橋 芳樹	P-20
高松 直子	P-08
多川 政弘	P-09
濑澤 保	P-78
竹川 晃司	O-07, O-09
竹腰 達	P-63
武田 理夫	P-61
武田 和香子	O-45, P-35
武政 俊彦	O-33
田代 孝一郎	O-57
田代 翼	P-31
立花 滋博	P-74
田中 栄治	P-65
田中 慶一	W2-1, W2-7
田中 憲穂	W4-6
田中 穰	P-05
田中 眞	O-08
田中 由夫	O-08
谷 吉朗	P-18
谷口 勝彦	O-24, O-25, O-26, O-27, O-28
谷口 英巳	O-34

田畑 肇	P-70	中川 好男	P-41
玉田 聡	O-57	長沢 孝二郎	O-34
玉野 静光	W4-3, P-27	中澤 隆弘	W1-5, P-07
田村 悦子	O-51	中嶋 園	W4-7
田村 啓	P-72	長島 吉和	O-04
田山 邦昭	P-41	中島 芳文	P-73
		長瀬 英泰	O-22
<ち>		永田 伴子	P-74
千海 恵美子	O-35	永田 良一	O-54, O-55, P-75
千葉 逸朗	O-52	仲谷 達也	O-57
千葉 修一	P-02, P-03, P-60	中谷 晴昭	Se1-5
千葉 正悦	P-62	中津 武	O-31
千葉 雅人	S2-3	中辻 勝義	P-07
		仲野 善久	P-66
<つ>		長濱 昇	P-62
塚本 修	P-07	中原 治樹	O-34
塚本 剛司	P-21	中岡 和浩	P-05
辻 哲男	O-34	中村 勇	O-06
辻村 祐佑	P-59	中村 隆広	W4-1
津田 修治	O-44	中村 英明	P-55
津田 敏治	P-55	中村 和市	Se2-3
土屋 利江	P-24, P-45	永山 伸一	O-54, O-55
土屋 俊也	P-48	中良 裕美	O-04
筒井 将	O-08	奈良岡 準	P-70
堤 俊輔	O-42, O-47	成川 新一	P-62
<て>		<に>	
出川 雅邦	O-14	西 直樹	O-08
手塚 智章	P-15	西川 秋佳	P-55
寺島 充	O-35	西田 信之	P-01
		西村 千尋	O-23
<と>		西村 信雄	O-02
DOI Kunio	P-42	西村 典子	O-12
土井 孝良	P-21	西山 千鶴	P-47
遠山 千春	O-12	丹羽 利光	P-61
戸塚 ゆかり	O-43	庭野 吉己	O-21
富田 晴美	O-44		
富田 勝	EL-2	<ぬ>	
豊島 茂樹	P-73	難谷 学	P-20
		貫井 悦子	O-33
<な>		沼 敏章	O-42, O-47
長井 晶彦	O-30	沼澤 聡	P-26
永井 賢司	P-51		
中井 康晴	O-47, P-30	<ね>	
永井 良和	P-06	榎田 公一	P-57, P-58

<の>		平岡 志津	P-44
野口 忠	P-31	平田 絹子	W4-5
野口 規子	P-49	平塚 明	O-53
能島 康幸	O-34	平塚 一幸	P-66
野田 篤	P-71	平林 容子	O-37
野田 修志	O-41	平松 純	O-58
野原 正志	O-34	平山 隆	P-48
野村 明生	O-19	広瀬 雅雄	P-54, P-55, P-78
		ビンセント トン	P-65
<は>		<ふ>	
配島 由二	P-24	深瀬 優	P-70
伯水 英夫	S2-1, O-07, O-30	福岡 好一郎	P-50, P-53, P-75
橋爪 岸夫	P-57, P-58	福島 民雄	P-38
橋爪 武司	O-31	福田 立	P-73
橋本 敬太郎	Se1-8	藤井 悦子	P-03
橋本 せつ子	O-16	藤枝 正輝	O-52
長谷川 妙子	P-60	藤田 健一	O-50
長谷川 智子	P-32	藤森 親之助	Se1-2
長谷川 健一	O-01, O-02, P-71	藤森 茂樹	O-34
島山 茂樹	O-23	藤原 淳	P-10
島山 和久	P-55	船橋 杏	P-56
馬場 淳	O-33	不明 不明	P-22, P-22, P-22
浜田 悦昌	O-42, O-47, P-38	古川 賢	P-72
浜野 宝子	P-15, P-65	古川 直子	P-16
林 宏行	P-30	古里 征国	O-48
林 浩行	O-47	古濱 和久	O-56, P-48
林 正男	P-65	古谷 真美	P-74
林 正信	P-73		
林 万津子	O-25, O-26, O-27, O-28	<ほ>	
原 敦子	O-47, P-77	北條 博史	S1-4
原 巧	O-45, P-35	細山田 真	P-23
原内 敏夫	P-16	堀 正敏	P-64
原口 浩一	O-14, O-15	堀井 郁夫	W3-1, O-38
原園 景	P-36	堀内 伸二	P-74
原田 勝彦	O-25, O-29	堀江 透	S2-9
春山 恵美子	P-05	堀江 泰志	P-29, P-56
		堀江 繪	Se1-7
		堀越 博亮	O-20
		堀本 政夫	P-38
		本坊 敏保	Se1-1, O-29
		本間 隆夫	P-63
		本間 健真	P-52, P-59
<ひ>			
樋口 史郎	O-25, O-31, O-33		
久田 茂	O-47, P-77		
ピーターソン ベン	P-53		
日誌 信吾	P-11, P-12, P-13		
兵庫 淳志	P-32		
平尾 潤	P-17, P-19		
平岡 功	P-73		

<ま>

前田 尚之	P-18
前田 奈津江	P-47
前田 康行	O-18
牧野 俊彦	P-17, P-19
改岡 俊夫	O-48
梶宮 直哉	P-15, P-54
益本 吉廣	O-47, P-77
増山 光明	P-75
町田 一彦	P-57, P-58
松尾 洋孝	P-25
松尾 昌季	W2-5
松岡 厚子	P-24
松岡 隆夫	O-35
松崎 健太郎	P-63
松澤 景子	O-08
松澤 利明	O-07, O-22, O-25, O-26, O-27, O-28, O-29, O-31, P-07
松島 英司	O-08
松島 泰次郎	P-31
松田 葉恵	P-37
松本 清司	O-36
松本 信太郎	O-31
松本 浩孝	O-45
松本 浩良	P-08
松本 寛	O-46, P-33
真鍋 淳	W3-4, P-17, P-18, P-19, P-32
丸 ちか子	P-48

<み>

三井田 由紀子	P-32
三浦 克之	O-57
三沢 保幸	P-02, P-03
水口 浩康	O-04
溝口 靖基	O-04
三森 国敏	O-49, P-78
宮川 誠	P-34
宮川 宗之	P-52
宮崎 裕康	P-08, P-09
宮崎 雅史	O-50
宮田 裕人	O-03, O-06, O-36
宮田 昌明	O-51
宮脇 出	P-29, P-56
宮脇 英美子	P-36

<む>

向井 大輔	O-13
務台 衛	P-15, P-65, P-77
武藤 信一	P-47
武藤 朋子	O-48
村上 和生	O-34
村田 共治	O-13, P-76
室井 貴子	O-41

<め>

メーヤー スチープン	P-53
------------	------

<も>

望月 勉	O-08
本木 和子	O-51
本橋 道生	O-07, O-08
百瀬 泰紀	P-47
森 康男	P-50
森 洋樹	P-43
森田 健	O-47, O-42, P-30, P-77
森村 智美	P-35
門田 利人	W1-7

<や>

八木 久美子	O-06
安場 正子	O-47, P-29, P-56, P-77
薮内 光	S2-4
矢部 光一	P-48
山内 あい子	W2-6
山口 真樹子	P-71
山崎 寛治	O-41
山崎 友朗	O-14, O-15
山崎 浩史	O-50, O-52
山下 邦弘	P-73
山下 彰三	O-34
山下 裕史	P-05
山住 美由紀	P-01
山添 康	S1-2, O-51
山田 毅史	P-44
山田 弘	O-08, P-06
山本 恵司	Se1-3, P-07
YAMAMOTO	
Shigeki	P-42
山本 静護	P-31
山本 秀樹	P-18

山本 由紀子	O-05
山本 謙	P-71
山本 由徳	P-13
矢本 敬	P-17, P-19

<ゆ>

湯田 浩太郎	W2-2
尹 兼一	O-37

<よ>

横濱 奈津恵	O-44
横山 薫	O-42, O-47, P-39
吉田 武美	S1-6, S1-7, O-39, P-26
吉田 謙	P-08
吉野 伸	P-43
米元 純三	O-12
米盛 幸治	P-05

<り>

リー ビヨンリユル	P-53
-----------	------

<わ>

若園 博	O-08
若田 明裕	O-47, P-30
若林 敬二	O-43
若林 佐知子	P-55
若林 美津子	P-16
和久井 信	O-48
和田 重次	O-34
和田 肇	O-01
渡部 一人	P-49, P-60
渡辺 大	O-04
渡邊 隆夫	O-49
渡部 烈	O-53

演者索引 (英名)

<A>

A G B Templeton P-14
A. Jacob Jabbour P-46
Alan Stuart Bass Se1-4
Albert P. Li S2-5
Amnart
POAPOLATHEP P-42
André H. Penninks Se2-5
Andrew Pilling W1-4

<D>

D J Gallacher P-14
Donald G. Robertson W3-6

<E>

Esther Putman MSc. Se2-6

<F>

FRANK J GONZALEZ P-20

<G>

George Orphanides W3-2
Giles Klopman W2-4

<J>

J Harkins P-14
Joy A. Cavagnaro W1-3

<K>

K A Lansdell P-14
K McCulloch P-14

<L>

L Patmore P-14
Lee Byong Lyul P-50
Lewis Smith PL-1

<M>

M R A Skinner P-14
Mary Ellen Cosenza PL-2
Meyer Steven P-50
Muthumala Malsantha O-52

<O>

Oey Jan P-22

<P>

Philip Neville Judson W2-3
Philippe Alen S2-8

<R>

Rainer Netzer Se1-9

<S>

Sevgican Figen O-52

<T>

Topcu Zeki O-52
T. W. Guentert EL-1

協賛団体一覧 Contribution (donation) List

(財)名古屋観光コンベンションビューロー

旭化成 (株)	Quintiles Ltd
味の素 (株)	(株) ケー・エー・シー
(株) アズウェル	興和 (株)
アストラゼネカ (株)	興和新薬 (株)
アベンティスファーマ (株)	サイファージェン・バイオシステムズ (株)
アムジェン (株)	佐藤製薬 (株)
アラガン (株)	沢井製薬 (株)
(株) 池田理化	三共 (株)
栄研化学 (株)	参天製薬 (株)
エーザイ (株)	(財) 残留農薬研究所
エスエス製薬 (株)	(株) 三和化学研究所
エルメッドエーザイ (株)	シェリング・プラウ (株)
Evotec OAI AG	塩野義製薬 (株)
大塚製薬 (株)	新日本薬品 (株)
(株) 大塚製薬工場	(株) CR-アイティアス
小野薬品工業 (株)	CTBR
(財) 化学及血清療法研究所	清水製薬 (株)
化研生薬 (株)	(財) 食品農医薬品安全性評価センター
科研製薬 (株)	住商バイオサイエンス (株)
カネボウ (株)	(株) 新日本科学
北山ラベス (株)	住友製薬 (株)
キッセイ薬品工業 (株)	生化学工業 (株)
杏林製薬 (株)	ゼリア新薬工業 (株)
協和醗酵工業 (株)	千寿製薬 (株)
キリンビール (株)	大日本製薬 (株)
グラクソ・スミスクライン (株)	第一製薬 (株)
呉羽化学工業 (株)	大正製薬 (株)
グレラン製薬 (株)	大鵬薬品工業 (株)

(株)大雄会医科学研究所
田 辺 製 薬 (株)
武 田 薬 品 工 業 (株)
中 外 製 薬 (株)
(株) ツ ム ラ
テ イ カ 製 薬 (株)
帝 國 製 薬 (株)
帝 国 臓 器 製 薬 (株)
帝 人 (株)
ディスカバリー・バイオテクノロジーズ(株)
テ ル モ (株)
東 レ (株)
ト ー ア エ イ ヨ ー (株)
東 和 薬 品 (株)
鳥 居 薬 品 (株)
富 山 化 学 工 業 (株)
日 研 化 学 (株)
日 本 イ ー ラ イ リ リ ー (株)
日 本 オ ル ガ ノ ン (株)
日 本 化 薬 (株)
日 本 ケ ミ フ ァ (株)
日 本 シ エ ー リ ン グ (株)
日 本 新 薬 (株)
日 本 製 薬 (株)
日 本 臓 器 製 薬 (株)
日 本 た ば こ 産 業 (株)
日本ベーリンガーインゲルハイム(株)
日 本 ロ シ ュ (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 ム リ ー (株)
万 有 製 薬 (株)
菱 山 製 薬 (株)
フ ァ イ ザ ー 製 薬 (株)
フ ァ ル マ シ ア (株)
Philip Morris USA
藤 沢 薬 品 工 業 (株)
富 士 通 (株)
(株)富士バイオメディックス
扶 桑 薬 品 工 業 (株)
ブ リ ス ト ル 製 薬 (株)
北 陸 製 薬 (株)
丸 石 製 薬 (株)
マ ル ホ (株)
三 菱 ウ ェ ル フ ァ ー マ (株)
(株)三菱化学安全科学研究所
三 笠 製 薬 (株)
(株)ミノファーゲン製薬
明 治 製 薬 (株)
明 治 乳 業 (株)
メ ル ク ・ ジ ャ パ ン (株)
メ ル ク ・ ホ エ イ (株)
持 田 製 薬 (株)
森 永 乳 業 (株)
(株)ヤクルト本社

山之内製薬(株) ライオン(株)
ヤンセンファーマ(株) ロート製薬(株)
雪印乳業(株) わかもと製薬(株)

第29回日本トキシコロジー学会学術年会 プログラム・要旨集

発行 2002年5月
発行代表者 松澤 利明
発行所 第29回日本トキシコロジー学会学術年会 事務局
 〒174-8612 東京都板橋区蓮根3-17-1 山之内製薬株 薬事部内
印刷 小宮山印刷工業株
 〒162-0808 東京都新宿区天神町78
使用システム 東京大学大学院医療情報ネットワーク (UMIN) 事務局
 (東京大学医学部附属病院中央医療情報部内)

学会本部

TOXICOLOGY

平成14年度日本トキシコロジー学会評議員会 次第

日 時：平成14年6月19日(水) 午前11時45分～12時35分

場 所：名古屋国際会議場「白鳥ホール」

日本トキシコロジー学会 理事長 遠藤 仁

司会：第29回日本トキシコロジー学会学術年会会長 松澤 利明
担当

- | | |
|--|------------|
| 1. 開会の辞 | 松澤 |
| 2. 理事長挨拶 | 遠藤 |
| 3. 報告および議事 | |
| (1) 各委員会報告 | |
| 1) 総務委員会 | 三森 |
| ②総務委員会報告 | |
| ③評議員選考小委員会報告 | |
| ④名誉会員選考小委員会報告 | |
| ⑤その他 | |
| 2) 財務委員会 | 佐藤秀 |
| 3) 編集委員会 | 吉田 |
| ①編集委員会報告 | |
| ②その他 | |
| 4) 教育委員会 | 大野 |
| ①生涯教育小委員会報告 | |
| ②講習会小委員会報告 | |
| ③認定試験小委員会報告 | |
| ④資格更新について報告 | |
| ⑤IART委員会報告 | 佐藤哲
玄 番 |
| 5) 学術広報委員会 | |
| ①田邊賞選考小委員会報告 | |
| ②用語集作成小委員会 | |
| ③ホームページ小委員会 | |
| (2) 平成13年度決算及び監査報告 | 佐藤秀/監事 |
| (3) 平成14年度補正予算(案)および平成15年度予算(案)、事業計画について | 佐藤秀 |
| (4) 各集会の報告および進捗状況について | |
| 1) 次々期(第31回)日本トキシコロジー学会学術年会について | |
| 2) 第25回トキシコロジー研連シンポジウムについて | 安仁屋 |
| (5) IUTOX 理事会報告、および ICT-X について | 黒川 |
| (6) その他 | |
| 1) 日本学術会議トキシコロジー研究連絡委員会報告 | 唐木 |
| 2) その他 | |
| 4. 次期(第30回)日本トキシコロジー学会学術年会会長挨拶 | 赤堀 |
| 5. 閉会の辞 | 松澤
以上 |

平成14年度日本トキシコロジー学会総会 次第

日 時：平成14年6月19日(水) 12時40分～13時30分

場 所：名古屋国際会議場「白鳥ホール」

日本トキシコロジー学会 理事長 遠藤 仁

司会：第29回日本トキシコロジー学会学術年会会長 松澤 利明

担当

松 澤

遠 藤

- | | |
|--|--------|
| 1. 開会の辞 | |
| 2. 理事長挨拶 | |
| 3. 報告および議事 | |
| (1) 各委員会報告 | |
| 1) 総務委員会 | 三 森 |
| ①総務委員会報告 | |
| ②評議員選考小委員会報告 | |
| ③名誉会員選考小委員会報告 | |
| ④その他 | |
| 2) 財務委員会 | 佐藤秀 |
| 3) 編集委員会 | 吉 田 |
| ①編集委員会報告 | |
| ②その他 | |
| 4) 教育委員会 | 大 野 |
| ①生涯教育小委員会報告 | |
| ②講習会小委員会報告 | |
| ③認定試験小委員会報告 | |
| ④資格更新について報告 | |
| ⑤IART 委員会報告 | 佐藤哲 |
| 5) 学術広報委員会 | 玄 番 |
| ①田邊賞選考小委員会報告 | |
| ②用語集作成小委員会 | |
| ③ホームページ小委員会 | |
| (2) 平成13年度決算及び監査報告 | 佐藤秀/監事 |
| (3) 平成14年度補正予算(案)および平成15年度予算(案)、事業計画について | 佐藤秀 |
| (4) 各集会の報告および進捗状況について | |
| 1) 次々期(第31回)日本トキシコロジー学会学術年会について | |
| 2) 第25回トキシコロジー研連シンポジウムについて | 安仁屋 |
| (5) IUTOX 理事会報告、および ICT-X について | 黒 川 |
| (6) その他 | |
| 1) 日本学術会議トキシコロジー研究連絡委員会報告 | 唐 木 |
| 2) その他 | |
| 4. 次期(第30回)日本トキシコロジー学会学術年会会長挨拶 | 赤 堀 |
| 5. 閉会の辞 | 松 澤 |
| | 以 上 |

IART 運営委員会報告

IART (International Assembly for Recognition of Toxicologists) (国際認定トキシコロジスト連合) は昨年7月の ICT-IX 総会において正式に承認されました。その後、IART 運営委員会では活動方針など今後の在り方について議論を進めて参りました。

本年3月16日に、米国 Nashville において開催された運営委員会において下記の議題が4時間にわたり議論されました。会議には、JST から堀井郁夫委員のほか遠藤理事長、野村理事もオブザーバーとして出席し、佐藤は委員長として会議を司会しました。なお、当日の議事録は目下作成中ですので、完成した段階で JST のホームページに掲載する予定です。下記に会議の要点をご報告します。

1. 会則(案)の検討と承認

昨年、IART 憲章と IUTOX との覚書が承認され、現在までそれに基づいて運営されてきましたが、今回はそれを受けて会則(案)について逐次審議しました。その結果、原案がかなり修正された後に承認されました。

2. IART 役員選挙

運営委員会に出席した IART Member Organization の代表により、会則にしたがって President, Vice President, Secretary/Treasurer の選挙が行われ、次の様に決定しました。なお、任期は本年3月から2年間です。なお、今回は Academy of Toxicological Sciences (ABT) の代表は都合により欠席しました。

President: Tetsuo Satoh (JST, Japan)

Vice President: John Fowler (EUROTOX, UK)

Secretary/Treasurer: Robert Poppenga (ABVT, USA)

3. IART の経済的基盤

現在までに、IART の活動は経済的には加盟団体の self-supporting によりなされています。しかし、正式に IART が活動を開始することによって経済的基盤を確保することが必要になったことから、今回はその対策について議論しました。今回は(1)会費の徴収、(2)賛助会員制度 (Corporate member) などが提案され、中でも JST 堀井委員からは会費制が強く支持されました。しかし、各会員団体により個別に事情が異なるので、結論は次回に持ち越されました。

4. IART 会員団体の共通称号

IART 加盟団体は各自の称号を使用していますが、今回の提案は、それに加えてグローバルな共通の称号 (例、Internationally Recognized Toxicologist, IRT) が提案されました。これが正式に承認されますと、各メンバー団体の認定トキシコロジストは、従来の各称号と共通称号のいずれを選択して使用してもよいこととなります。

なお、次回 IART 理事会は9月ブダペストにおいて EUROTOX 会期中に開催される予定です。

IART 会長 佐藤 哲男

バイオ・医薬系 【派遣・紹介】

www.genomicbrain.com

バイオ・医薬系人材パイオニア、創業35年の実績

(株) ゲノミックブレイン

厚生労働大臣許可
般13-08-0233
13-01-3-0222

新宿

〒160-8790 新宿区西新宿1-12-11 山銀ビル
03 (3346) 0561 (代) agb@genomicbrain.com

銀座

〒104-8790 中央区銀座5-8-5 ニューギンザビル10号
03 (3571) 5161 (代) ggb@genomicbrain.com

さいたま

048 (644) 6151 (代) hgb@genomicbrain.com

朝霞

048 (476) 3391 (代) agb@genomicbrain.com

Taconic
Animal Models



p53

mdr1a

COX-2

Rag-2

ApoB100/CETP

トランスジェニックモデル

ApoE

TNF- α

Mrp

SPLA2

IL-6

FcR γ

Taconic 社各種トランスジェニックモデル取扱いいたします

詳細は弊社営業部までお問い合わせください

IBL

株式会社 免疫生物研究所 / 〒375-0005 群馬県藤岡市中 1091-1 / TEL.0274(22)2888

FAX.0274(23)5746

URL: <http://www.ibl-japan.co.jp> E-mail: do-ibl@ibl-japan.co.jp

TAIHO 大鵬薬品

ハルンケア内服液は、8種の生薬ジオウ、タクシャ、ポタンビ、ブクリョウ、サンシュユ、サンヤク、ケイヒ、炮附子から抽出・濃縮したエキスを主成分に、これらの症状を緩和していきます。

あなたの尿の悩みにハルンケア内服液をお試しください。

ハルンケアで尿の悩みを緩和!



ちょっとしたことでの尿もれ



オシッコ回数が多い



体力の低下、下半身の冷え、手足の冷えを伴う次の症状の緩和

- 軽い尿もれ
- 頻尿(小便の回数が多い)
- 排尿時●尿が出る

生薬配合
ハルンケア 内服液
HORUNKEA

オシッコが終わった後もスッキリしない。
オシッコが出にくくなった。



夜何度もオシッコで目が覚める。
ちょっとしたことでかえる尿もれがある。

このような症状の方におすすめします。



We aspire to be the best human
therapeutics company

We will live the Amgen Values and use science
and innovation to dramatically improve people's lives.

AMGEN[®]

アムジェン株式会社

〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町2-31-1 浜町センタービル 電話: (03) 5641-9955 (代) ホームページ: <http://www.amgen.co.jp/>

OVER

20

YEARS OF
DOING BUSINESS WITH
JAPANESE COMPANIES

インバレスクリサーチ社はクライアントの皆様との信頼関係を大切にしています。そのため、今日まで20年以上にわたり日本の医薬品企業にご愛顧頂いております。

業務経験の豊富な研究者、技術者、臨床スタッフが毎月英国より来日していますので、皆様の委託試験について、東京の日本総代理店と共にいつでもご相談に応じます。インバレスクリサーチ社は、前臨床から臨床まで医薬品開発業務のあらゆる段階において、皆様のお役に立つことを目指しています。

お問い合わせは、以下の番号まで。
ホームページにも是非お立ち下さい。



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 Tel: +1 919 460 9005. Fax: +1 919 462 2520. Japan Tel: +81 3 5634 5858. Fax: +81 3 5634 4934. Website: www.inveresk.com

大雄会医科学研究所は

化学物質の発がん性の有無を短期的に推測することが可能な**中期発がん性試験**を開発確立した研究所です。そのユニークな方法と膨大な過去の成果から国際的に高い信頼と評価を得ており新規化学物質の開発を推進する上で重要なデータを提供することができます。



GST-P陽性細胞像

【受託試験の内容】

食品添加物、医薬品、農薬などの化学物質について、マウスまたはラットを用いた下記の試験をGLP対応により実施いたします。

- 1 中期発がん性試験
(肝、膀胱、胃、腎臓、肺、甲状腺、鼻腔、皮膚等)
- 2 中期多臓器発がん性試験
- 3 発がん性試験
- 4 一般毒性試験(単回および反復投与毒性試験)
- 5 病理組織標本の作製及び検査
- 6 独自開発のがん転移モデルによる試験

このモデルを活用して転移抑制剤の開発に有用なデータを提供することが可能です。



DAIYU-KAI
INSTITUTE
OF
MEDICAL SCIENCE

DIMS

わたしたちは化学物質と人の関係を考えています。

DIMS 株式会社 大雄会医科学研究所

〒491-0113 愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64番地

PHONE 0586-51-1201(代) FAX 0586-51-5834

E-mail: query@daiyu-kai.com

URL: <http://www.daiyu-kai.com/> 情報発信中!

印刷のデザインで培ったノウハウを
他分野でも活かしています。



EST 株式会社 **ベスト・プリンティング**

未来を見つめ現代のニーズに応える美術総合印刷

本 社

〒105-0001
東京都港区虎ノ門5丁目10番13号(マガタニビル)
TEL 03(3438)0886(代)
FAX 03(3433)6283
Email info@bestprinting.co.jp

板橋営業所・板橋工場

〒174-0072
東京都板橋区南常盤台1丁目19番3号(BESTビル)
TEL 03(5965)0121(代)
FAX 03(5965)0122
Email ita-info@bestprinting.co.jp

ホームページ <http://www.bestprinting.co.jp/>

株式会社 組織科学研究所

病理組織標本の作製と評価
医薬品、医療用具、化粧品、食品等の開発支援

業務内容

- 病理組織標本の作製と評価・診断
 - ・GLP試験の病理組織標本の作製
 - ・薬理・薬効試験の病理組織標本の作製と評価
- 病理標本作製技術者の派遣・研修
- 開発支援業務
 - ・非臨床試験・検査委託先の調査・紹介・モニター
 - ・薬事申請書添付資料作成
 - ・非臨床試験プロトコール立案
 - ・翻訳



問い合わせ先: 〒198-0005 東京都青梅市黒沢2丁目984-1 TEL(0428)74-4741 FAX(0428)74-4505

薬事申請資料の作成スタッフを募集しています

お問い合わせは開発支援事業部まで TEL(428)74-4741

E-mail VYX05426@nifty.ne.jp

ELC

エル・アイ・シーの本

～パンフレット・詳細目次を無料送迎いたします～

株式会社 エル・アイ・シー

〒133-0033 東京都文京区本郷3-5-5 野々村ビル4F

TEL (03)3814-5891/FAX (03)3814-0173

非臨床試験マニュアル

<編集委員> 野村謙 第一製薬(株)/堀井郁夫 日本ロシュ(株)研究所/吉田武美 昭和大学薬学部

●61,950円(税込) 2001年7月20日発刊 B5版上製本590頁

【第I章 非臨床試験 — ICH及び内外ガイドラインへの対応と新しい試み】第1節: 単回投与毒性試験/第2節: 反復投与毒性試験/第3節: 遺伝毒性試験/第4節: がん原性試験/第5節: 生殖発生毒性試験/第6節: 神経毒性試験/第7節: 免疫毒性試験/第8節: 依存性試験/第9節: 刺激性試験/第10節: 感覚器毒性試験—科学的検査—/第11節: 感覚器毒性試験(視覚, 聴覚)—電気生理学的手法—/第12節: 安全性薬理試験/第13節: 薬物動態試験/第14節: 非臨床安全性試験の実験時期/第15節: 毒性試験の統計解析/第16節: 試験のアウトソーシング/第17節: CTD—非臨床試験— 【第II章 創薬段階での非臨床評価】第1節: ハイスループット・トキシコロジー/第2節: トキシコゲノミクス・トキシコプロテオミクス/第3節: ヒト肝細胞の調製, 保存, 及び代謝・毒性研究への利用/第4節: モデル動物—鼠—/第5節: モデル動物—心血管—/第6節: モデル動物—老化—/第7節: モデル動物—骨粗鬆症—/第8節: モデル動物—2型糖尿病—/第9節: モデル動物—肥満—/第10節: モデル動物—免疫異常—/第11節: モデル動物—癌—(Human Xenograft Model)/第12節: モデル動物—肝障害—/第13節: モデル動物—腎障害—/第14節: 薬物代謝予測/第15節: DT延長—*in vitro*システム—の応用/第16節: テレメトリーシステム 【第III章 データベースの利用】第1節: 構造活性相関による毒性予測/第2節: 非臨床試験とバイオインフォマティクス 【第IV章 GLP】第1節: 各国GMPとQA要綱/第2節: 試験計画書・最終報告書/第3節: 非GLP試験における信頼性調査

QSAR手法を用いた化学物質の手計算による毒性予測

<著者> 松尾昌幸 大阪大学先端科学技術共同研究センター

『QSAR手法を用いた化学物質の手計算による毒性予測(哺乳動物)』

第1巻 急性毒性(1997年12月15日発刊, A4判154頁)/第2巻 亜急性, 慢性毒性(1998年3月27日発刊, A4判74頁)/第3巻 刺激, アレルギー性(1998年5月20日発刊, A4判102頁)/第4巻 生殖・発生毒性(1998年6月30日発刊, A4判82頁)/第5巻 変異原性(1998年9月15日発刊, A4判136頁)/第6巻 発癌性(1999年3月1日発刊, A4判140頁)/第7巻 吸収, 分布, 代謝, 排泄(ADME)(1999年5月15日発刊, A4判266頁) ●各巻定価10,500円(税込) 全7巻一括購入割引価格70,000円(税込)

『QSAR手法を用いた化学物質の手計算による生態毒性予測(環境生物)』

第1巻 急性, 亜急性, 慢性毒性, 繁殖性など(1999年3月30日発刊, A4判240頁)/第2巻 生分解性(1999年10月31日発刊, A4判114頁)/第3巻 生物濃縮性(1999年11月30日発刊/A4判142頁) ●各巻定価19,950円(税込) 全3巻一括購入割引価格57,000円(税込)

●全10巻一括購入割引価格125,000円(税込)

『QSAR手法を用いた化学物質の手計算による毒性予測(補充2000年版)』

(2000年7月31日発刊/A4判172頁)

●定価/19,950円(税込)

BOZO GROUP

安全性試験
受託機関



御殿場研究所



因南研究所



ITR研究所

一般毒性試験・Infusion Study
薬物動態試験・特殊薬理試験

一般毒性試験・遺伝性試験・生殖試験・刺激性試験・感作性試験・抗原性試験
病理組織標本作成および検索・機器分析・トキシコキネティクス

東京本部, 大阪支部営業部までお問い合わせ下さい。



株式会社 ボゾリサーチセンター



ITR Laboratories Canada Inc.

本 社 東京都世田谷区引根木1-3-11 ボゾリサーチビル
〒156-0042 TEL 03-3327-2111代/FAX 03-3327-2115
東京本部 東京都世田谷区大山町36-1-7
〒151-0065 TEL 03-5453-8101代/FAX 03-5453-8109
大阪支部 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生薬ビル
〒532-0003 TEL 06-397-2851代/FAX 06-397-2852
研 究 所 御殿場研究所・因南研究所・東京研究所

1901 boul Clark Gohier, Basé à Ulfé (Montreal), Québec, Canada H9K 3T1
Tel (514)457-7400 Fax (514)457-7300

重要なヒト遺伝子群でバリデーションされた SNP ジェノタイピング・サービス



QIAGEN Genomic Serviceは、バリデーションされたSNPパネルを用いて薬物代謝、HIV-1感受性、炎症および代謝障害に関与しているヒト遺伝子のSNPジェノタイピング・サービスを提供しています。これらのパネルとQGIの特許をもつMasscode™システムにより、様々な表現型に関与するバリデーション済みSNPsの迅速で正確なジェノタイピングを実現します。

SNPパネルを用いたSNP Genotyping Serviceは：

- 経済的で確実 — 多くの実績をもつMasscode システムとバリデーション済みプライマーセットの組み合わせ
- 有用な情報 — 重要なヒト遺伝子群中にある詳細解析済みSNP
- 正確 — 再現性あるデジタルデータ
- 迅速 — わずか3週間で解析完了

現在供給可能なSNPパネルは：

- ADMET 遺伝子 — CYP2D6、NAT1、NAT2、TPMT、その他
- HIV-1感受性/炎症遺伝子 — TNF α 、TNF β 、RANTES (SCYA5)、ICAM1、CCR5、その他
- グルタチオン合成酵素 (GSS)

目的のSNPパネルを選択し、お客様のDNAサンプルと共にお送りくださるだけで、わずか3週間以内で信頼できるジェノタイピング・データをお手元にお届けします！

Trademarks: QIAGEN®, Masscode™ © 2002 QIAGEN, all rights reserved.

株式会社 キアゲン

〒104-0054 東京都中央区勝どき 3-13-1 Forefront Tower II

Tel: 03-5547-0811

Fax: 03-5547-0818

E-mail: techservice@jp.qiagen.com

www.qiagen.co.jp





MERCK
メルク・ホエイ

確かな品質と世界の医療情報を

ロンミールパワー



胃・心地良好

ツーバイパワー
ロンミールの2×POWER

1. 胃に直接作用し、胃粘膜血流量、内因性プロスタグランジン量を増加させます。
2. 朝食後及び就寝前の1日2回の服用で胃炎・胃潰瘍に有効です。
3. ヘリコバクター・ピロリに対し抗菌作用があります。(in vitro)
4. 活性酸素を消去する作用があります。(in vitro)
5. 副作用は総症例91,660例中135例にみられ、発現率は0.15%です。(再審査結果に基づく)

【禁忌(次の患者には投与しないこと)】

妊婦又は妊娠している可能性のある婦人〔妊婦、産婦、授乳婦等への投与〕の項参照

防御機構増強胃炎・胃潰瘍治療剤

ロンミール[®]
LONMIEL カプセル
(塩酸ベネキサート ベータデクスカプセル)

痛風・高尿酸血症の改善に

●尿酸排泄薬

ナールリシン[®]錠 25mg
ナールリシン[®]錠
(ベンズプロマロン錠)

●高尿酸血症治療剤

ノイファン[®]錠
(アロプリノール錠)

●アシドーシス・酸性尿改善剤

ピナロック[®]錠
ピナロック[®](分包品)
(クエン酸カリウム・
クエン酸ナトリウム配合製剤)

ナガセ医薬品株式会社が販売しておりました製品は2001年10月1日をもってメルク・ホエイ株式会社の販売となりました。

※ 効能・効果、用法・用量、警告、禁忌を含む使用上の注意等は製品添付文書をご参照下さい。

資料請求先

販売 **MERCK**メルク・ホエイ株式会社
大阪市中央区本町2丁目6番6号

製造 **ナガセ医薬品株式会社**
大阪市西区新町一丁目1番17号

薬価基準収載

2002年3月作成

分譲開始！
CRJの
各種ヒト肝細胞

浮遊型凍結ヒト肝細胞

NEW

付着型凍結ヒト肝細胞

NEW

非凍結ヒト新鮮肝細胞

(Donor List/Characterization Listあります)

CRJのサル・ビーグル凍結肝細胞

(Donor List/Characterization Listあります)

CRJのラット凍結肝細胞

(Characterization Listあります)

CRJのヒトマイクロソーム・S9

(Donor List/Characterization Listあります)

CRJの各種動物マイクロソーム・S9

いずれもIVT社(USA)が調製し、各国の研究者から大きな信頼をいただいている製品です。
日本ではCRJ(日本チャールス・リバー)が販売しています。

製品リスト

●ヒト凍結肝細胞 (各male, female)

包装単位: 凍結肝細胞 (5x10⁶ cells/vial以上)

浮遊型ヒト凍結肝細胞 Single donor (5x10⁶ cells/vial以上)

付着型ヒト凍結肝細胞 **NEW** Single donor (5x10⁶ cells/vial以上)
(P450 induction試験用)

●ヒト新鮮肝細胞 **NEW** (非凍結品)

6-96-well Culture Plate, 6-96-well Culture Plate Matrigel,
各種T-Flaskでもご用意できます。(Lanford場地使用可)

数回/月の頻度の入手時の輸入となります。詳細は、電話またはメールにて
お問い合わせください。

●ラット凍結肝細胞 (各male, female)

包装単位: 凍結肝細胞 (5x10⁶ cells/vial以上)

SD-ラット凍結肝細胞 Pooled (5x10⁶ cells/vial以上)

●ヒト小腸マイクロソーム

包装単位: マイクロソーム (5mg/0.25ml)

ヒト小腸マイクロソーム Pooled human (10 Donors)

●SD-ラット誘導肝マイクロソーム・S9 (雄標品のみ)

包装単位: マイクロソーム (10mg/0.5ml), S9 (40mg/2.0ml)

Aroclor 1254, B-Naphthoflavone, Clofibrate, Isoniazid,
Dexamethazone, 3-Methylcholanthrene, Phenobarbitalの各薬剤で
誘導した雄SD-ラット誘導肝マイクロソーム・S9が在庫にございます。
お問い合わせください。

●ヒト肝マイクロソーム・S9 (Single donor: male, female)

包装単位: マイクロソーム (10mg/0.5ml, 20mg/1.0ml)
S9 (30mg/1.5ml)

ヒト肝マイクロソーム Single donor (Donor listあり)

ヒト肝マイクロソーム Pooled human (15 donors)

ヒト肝S9 Single donor (Donor listあり)

ヒト肝S9 Pooled human (15 donors)

●各種動物肝マイクロソーム・S9 (各雌雄)

包装単位: マイクロソーム (10mg/0.5ml), S9 (40mg/2.0ml)

SD-ラット マイクロソーム, S9

ウイスターラット マイクロソーム, S9

フィッシャーラット マイクロソーム, S9

iCR/CD-1マウス マイクロソーム, S9

モルモット マイクロソーム, S9

NZホワイトラビット マイクロソーム, S9

ビーグル犬 マイクロソーム, S9

カニクイザル マイクロソーム, S9

アカゲザル マイクロソーム, S9

●腎マイクロソーム (各雌雄)

包装単位: マイクロソーム (10mg/0.5ml)

ビーグル犬腎マイクロソーム・S9

カニクイザル腎マイクロソーム・S9

※いずれの製品も研究用です。なお、試薬には使用しないでください。キタン濃度は標準を考慮です。実測値は別表(1)及び試料のデータに記載されています。
※いずれもIVT社の調製品です。いずれもハイオバザード品としてお取り扱いください。

あらゆるBio Technical Serviceは、まず当社にご相談ください

お問い合わせ

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 東仲24新横浜ビルB-4F
TEL045(474)9336 FAX045(474)9341

Email: crj-sd@yokohama.email.ne.jp

http://www.crj.co.jp

SNBL

医薬品開発総合受託機関

株式会社 新日本科学

- ・安全性研究所
- ・薬物代謝分析センター
- ・SNBL USA, Ltd.
- ・臨床開発事業本部
- ・臨床薬理研究所





新日本科学グループでは、前臨床試験から臨床試験（Phase I, II, III）の受託、申請概要作成や電子申請のサポートまで医薬品開発にかかわる総合サービスをご提供します。

米国 シアトル郊外にSNBL USA, Ltd.を開設し、海外での医薬品開発をサポート致します。

連絡先：

- | | |
|------|---|
| 本 社 | 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438番地
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619 |
| 東京支社 | 東京都港区虎ノ門1-1-23 虎ノ門東宝ビル
TEL 03-3500-5566 FAX 03-3500-5046 |
| 大阪支社 | 大阪市中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル
TEL 06-6233-8411 FAX 06-6233-8412 |

Homepage: <http://www.snbl.com> <http://www.snblusa.com>

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1200人で、年間1500件以上のGLP準拠前臨床試験を手掛け、報告書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
- インフュージョン・薬理学・神経毒性試験
- 吸入毒性試験
- 病理学的検査
- 生殖毒性試験
- 安全性薬理試験

ご連絡はCTBR 総代理店、エルエスジー株式会社、または CTBR のマーケティング部門まで。



エルエスジー株式会社
〒162-0814 東京都新宿区
新小川町 6-36 S&Sビル3階
TEL: 03 (3513) 6534
FAX: 03 (3513) 6535



CTBR
A Member of The Inveresk Research Group

67 Senneville Road
Senneville, Quebec
Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: japanmarketing@ctbr.com
Web site: www.ctbr.com

私たちは MSI

MITSUBISHI CHEMICAL SAFETY INSTITUTE LTD.

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

また、トキシコゲノミクスにも積極的に取り組んでいます。



毒性試験

- 一般毒性／発癌性試験
- 特殊毒性試験
- 生殖発生毒性試験
- 変異原性試験

代謝試験

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

総合評価

薬理試験

- 一般薬理試験
- 薬効薬理試験
- 生体の機能に及ぼす影響（農薬）

- 1 トキシコキネティクス分析／バリデーションも実施しております。
- 2 放射性代謝物のNMR測定も受託しております。
- 3 サル（カニクイザル、マーモセット）を用いた毒性・薬理・代謝試験も受託しております。
- 4 吸入暴露技術も高い評価を得ております。代謝・薬理試験にも対応可能です。
- 5 UDS 試験、RDS 試験、MLA、肝小核試験、IMC 試験も受託しております。
- 6 神経毒性試験、骨代謝試験、エンドクリンの評価（動物試験から分析まで）にも高い技術力で応えたいします。



株式会社 三菱化学安全科学研究所

本社 〒105-0014 東京都港区芝二丁目1番30号 TEL:03(3454-7571)代 FAX:03(3454-7573)
大阪支店 〒541-0044 大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 TEL:06(6204-6448)代 FAX:06(6204-6449)

<http://www.ankaken.co.jp/> e-mail: ankaken@ankaken.co.jp

Name of the company:

Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol Research, Drug Research and Clinical Inhalation (ITA)

Nikolai-Fuchs-Str. 1

30625 Hannover, Germany

Phone: +49 (0) 5 11 / 53 50-0, Fax: +49 (0) 5 11 / 53 50-1 55

email: info@ita.fraunhofer.de, URL: www.ita.fraunhofer.de

Director of the Institute:

Prof. Dr. Uwe Heinrich

Contact:

Dr. Claus Kroggel

Phone: +49 (0) 5 11 / 53 50-103, Fax: +49 (0) 5 11 / 53 50-1 55

email: kroggel@ita.fraunhofer.de

Main activities that relate to toxicology :

Fraunhofer Institute of Toxicology, Aerosol Research, Drug Research and Clinical Inhalation (ITA)

The Fraunhofer ITA offers an extensive range of research and services including preclinical and clinical drug research, occupational and environmental toxicology as well as consumer protection, and testing and registration of chemicals, biocides and pesticides. When required, analyses of natural products, including the isolation and structure elucidation of active substances from natural product extracts, can be performed.

At the Fraunhofer ITA in Hannover, we develop novel and organ-specific biochips. Using these biochips, effects of pharmaceuticals and environmental chemicals on the human and animal genome can be evaluated faster, more cost-effective, and with greater certainty and fewer animal experiments. According to the requirements of the customer, the development of specific biochips is also possible.

In addition, we conduct multi- and mono-centric clinical studies from phase II to phase IV that clarify questions on the efficacy and safety of novel anti-asthmatic and anti-allergic pharmaceuticals. Different atmospheres with defined climatic conditions can be generated in specially equipped units to investigate the effects of everyday environmental burdens, such as ozone, dust and pollen. The knowledge of our internationally recognized Department of Aerosol Technology is an important prerequisite for conducting these studies.

Furthermore, we study the effects of airborne active substances on the airways of experimental animals as well as in vitro and in clinical studies with test subjects all under one roof, for complementary and comparable results.

Description of our exhibition:

Presentation of the Fraunhofer ITA as partner for contract research.

SCIENTIFIC EXCELLENCE.

THE WORLD OVER.



As the world's leading safety assessment service provider, Covance continually adapts to your changing needs and is committed to investing in the highest quality scientific and operational resources to meet your development requirements.

COMPREHENSIVE SAFETY ASSESSMENT SERVICES

- General toxicology and oncogenicity studies
- Developmental and reproductive toxicology
- Genetic and molecular toxicology
- General and safety pharmacology
- Inhalation toxicology
- Immunotoxicology
- Neurotoxicology
- StudyTracker™
- ADME
- Consulting

For more information on how Covance's safety assessment services can support your development efforts, please call us today.

COVANCE
THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY
Shaping Solutions

The Americas
+1.888.covance
(2682623)

Europe
+44 (0)1423 500888

Asia
+65.5677333

Australia
+61.2.8879.2000

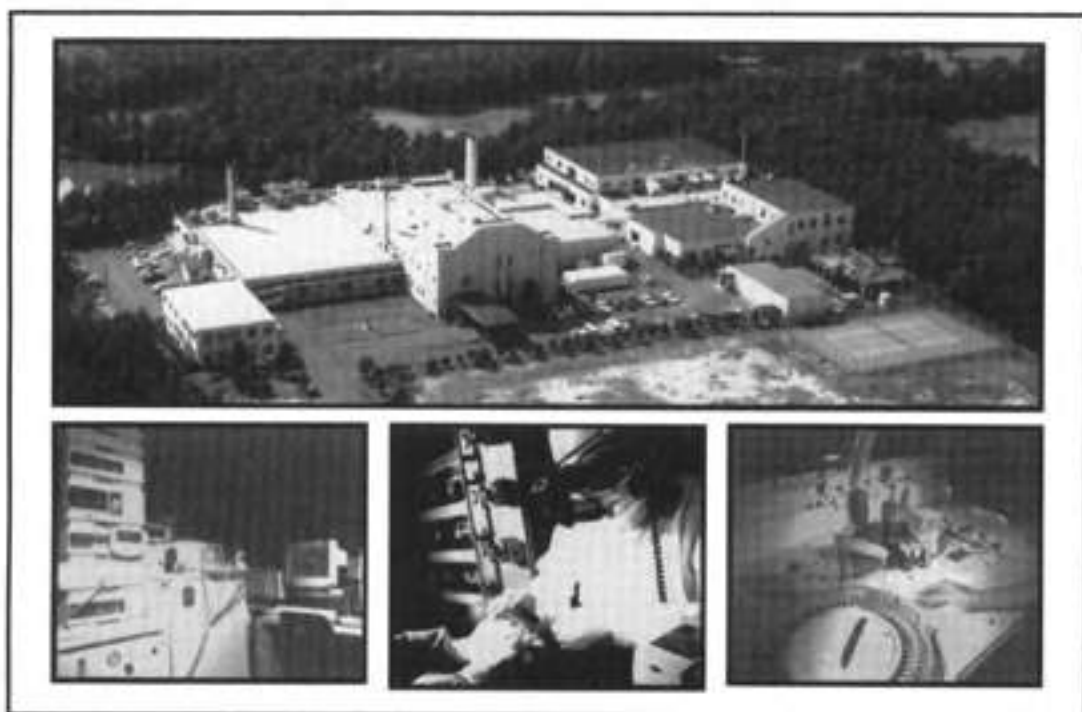
E-mail
info@covance.com

Visit the Covance Web Site
www.covance.com

受託機関に求められるもの！

それは技術レベルの高さに加え、永遠に続くパートナーシップです。

安評センターは、医薬品・農薬・食品・化学物質・医療材料などの安全性に関する各種実験・調査研究を実施しています。



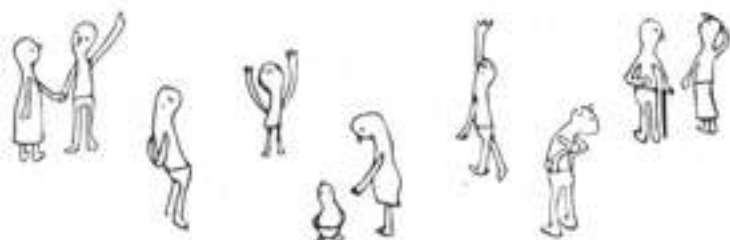
(財)食品農医薬品安全性評価センター

各種スクリーニング試験から安全性試験まで幅広く対応しています。

研究所 〒437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜582-2 TEL (0538)58-1266 FAX(0538)59-1170
東京事務所 〒110-0015 東京都台東区東上野2-18-7 共同ビル5F TEL (03)3837-2340 FAX(03)3837-7850

詳しくはホームページをご覧ください <http://www.anpyo.or.jp/>

未
来
を
拓ひら
く。
○



本当に求められている「こと」や「もの」。
医療のニーズを正しく把握し、
バイオ技術の追究を通じて、夢を現実にしていく。
キリンは、新たな医療価値の創造に
全力で取り組んでいます。

Introducing the Internationally Harmonized
Wistar Hannover GALAS Rat
for Toxicology and Pharmacology



Global Alliance for Laboratory Animal Standardization

 **日本クレア株式会社**
CLEA

TEL.03 (5704) 7011 <http://www.CLEA-JAPAN.co.jp>

INN

International Non-Clinical Assessment

JAPAN / PHILIPPINES

イナ リサーチのサル試験受託体制

イナリサーチのサル試験は、厳選した品質のサルを使用しています。

- 育成段階からの微生物学的コントロール
- 試験操作に合わせた馴化・訓練

【試験項目】**安全性試験**

- 一般毒性試験
- 毒性スクリーニング試験
- 依存性試験（自己投与試験、薬物併別試験）
- 安全性薬理試験（中枢神経系、呼吸・循環器系）
- 催奇形性試験
- 精巣毒性試験

薬効試験

- 骨関連（Osteoporosis）
- 代謝関連（高脂血症）
- 中枢神経系（皮膚掻き、パーキンソン）
- 眼科関連（無麻酔下眼圧測定）
- 血液疾患（DIC）

その他サル試験

- 高齢動物を用いた試験
 - 幼若動物を用いた試験
 - 血中動態試験*
- *専用の動物を長期間確保する委託飼育形式(INARP)

【施設】

試験目的に応じ、国内・第2研究所およびフィリピン現地法人Ina Research Philippines, Inc.(INARP)の両施設で実施しています。両施設とも、検疫・馴化の完了したサルを常時ストックしており、随時試験実施が可能です。



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 / INARESEARCHPHILIPPINES, INC.
 〒309-4501 長野県伊那市西箕輪8047 TEL. 0263-62-0310 FAX 0263-72-6637
 URL <http://www.ina-research.co.jp/>

●お問い合わせは……

東京支所 TEL. 03-3902-2377 tokyoto@ina-research.co.jp
 大阪支所 TEL. 06-6223-1752 osakato@ina-research.co.jp



Lilly

Answers That Matter.

健康への確かなこたえを、
あなたに。

イノベーション &
インフォメーションで
難問にこたえます。

日本イーライリリーの企業スローガンは、「Answers That Matter」とても短いシンプルな言葉ですが、そこには製薬会社としての私たちのまっすぐな思いがこめられています。このスローガンの根底にあるのは、「Innovation & Information」という複眼的な考え方。最先端科学に裏打ちされた研究開発体制で革新的な医薬品を創りながら(イノベーション)、同時にそこで得られた薬や治療に関する最新の情報を、医療関係者のみならず患者さんをはじめ広く一般の人々にも提供していくこと(インフォメーション)。私たちはこのふたつのアプローチから、製薬会社に課せられたさまざまな難問にこたえていこうとしています。

「Answers That Matter」…健康への確かなこたえをあなたに。私たちの出すこたえがあなたにとっての「正解」であることを願って、イーライリリーは日々努力を続けています。

ANSWERS

日本イーライリリー株式会社

〒651-0086 神戸市中央区磯上通7-1-5

リリーの情報はインターネットでご覧いただけます。http://www.lilly.co.jp

Human

See the difference.

Rat

Toxicology

Atlas

Stress

Atlas™ Toxicology Arrays

ヒト、マウス、ラットのストレス/毒性応答遺伝子を搭載したトキシコロジーアレイ

毒性試験の大量高速処理を実現します

Atlas™ Toxicology Arraysは毒性試験などに極めて有用な包括的cDNAメンブレンアレイで、毒性試験時の発現プロファイリングに新たなスタンダードを設定する製品です。

各アレイには、ストレスおよび毒性に反応する各種遺伝子がスポットされており、この既知遺伝子のコレクションは、EPA (Environmental Protection Agency) の毒性学者とClontechの共同研究により集められたものです。試験の目的が環境ストレス物質による影響の研究であろうと、あるいは薬物/生体異物代謝に関与する遺伝子の同定であろうと、Atlas Toxicology Arraysは研究の質を高め、発見を加速する助けとなるでしょう。

毒性化合物への応答をラットモデル系で観測

クロンテックのAtlas Toxicology ArraysはHuman、Mouse、Ratをご用意しております。なかでもRat Toxicology Arrayは、毒性試験およびスクリーニングにおいて最も広く使用されている動物モデル、ラットにおけるストレス・毒性に対する細胞応答研究の拡張を可能とする製品です。Atlas Rat Toxicology 1.2 Array上には、ペルオキシソーム増殖、ステロイド誘導、酸化および熱ストレス、DNA修復、成長因子、細胞死、ダイオキシン誘導応答、シグナル伝達および神経内分泌関連遺伝子など、数種の応答領域に関する遺伝子群が収められています。アレイに含まれる遺伝子の全リストはatlas.clontech.comをご覧ください。またこれらのアレイを使用した実験受託サービスも行っています。実験受託サービスのお申し込みはクロンテックのホームページ (<http://www.clontech.co.jp>) でおこなっていただけます。



図1 Atlas™ Human Toxicology 1.2 Array (47859-1)
 2倍以上の発現上昇 2倍以上の発現低下

Atlas Toxicology Microarrays	遺伝子数	カタログ番号	価格	Custom Atlas Services	カタログ番号	価格
Human 1.2(4)	1,576	7859-1	¥220,000	Custom Atlas Hybridization Service (アレイ毎の実験サービス)	ES2000-1	¥300,000
Human H(2)	588	7733-1	¥146,000	Custom Atlas Image Analysis Service (2枚のアレイ毎の比較解析サービス)	ES2000-2	¥80,000
Mouse 1.2(4)	1,176	7861-1	¥220,000			
Rat 1.2(4)	1,176	7860-1	¥220,000			
Rat H(2)	485	7732-1	¥146,000			

Atlas™ Arrays上にスポットされている遺伝子リストは atlas.clontech.com をご覧ください。
 () 内の数字はキットに含まれるアレイの枚数です。
 ※カスタムサービスに関するお問い合わせはカスタムサービスデスクにお電話ください (03-5319-8370)

クロンテックカンパニー www.clontech.co.jp

〒163-0209 東京都新宿区西新宿2-6-1 新住友ビル5F
 Phone: 03-5324-9609 (テクニカルサポート) FAX: 03-5324-9637 E-mail: tech@clontech.co.jp

BD Biosciences

Clontech
 Discovery Labware
 Immunocytometry Systems
 Pharmingen



クロンテックはBD Biosciencesグループです。

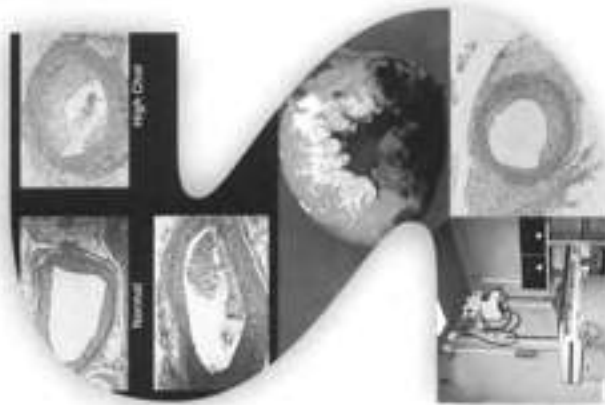
確かな情報をより早く



薬物動態試験

薬理試験

安全性試験



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字川1555
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/>

最新情報は
ホームページで
ご覧頂けます。

SLCの実験動物

SPF動物

- クローズドコロニー
- マウス S/c: ddY
S/c: ICR
- ラット S/c: SD
S/c: Wistar
S/c: Wistar/ST
HOS* Donryu
- モルモット S/c: Hartley
- ウサギ S/c: NZW
S/c: JW/CSK
- ハムスター S/c: Syrian
- 近交系
- マウス BALB/c Cr S/c
C57BL/6 Cr S/c
* C57BL/6J
C3H/He S/c
DBA/2 Cr S/c
NZW/N S/c
* A/J
AKR/N S/c
CBA/N S/c
C3H/He N S/c MTV
* C3H/He J MTV*

- B10 C57BL/10 Sn S/c
- コンヴェニク B10.A/SgSn S/c
B10.BR/SgSn S/c
B10.D2/nSn S/c
B10.QBR/Sx S/c
B10.S/Sg S/c
- ラット F344/N S/c
WKAH/Hm S/c
BN/SsN S/c
LEW/SsN S/c
ACI/N S/c
- モルモット Strain 2/S/c
Strain 13/S/c
- スナネズミ MON/Jms/Gbs S/c

●交雑群

- マウス S/c: BDF1
S/c: CDF1
S/c: B6C3F1

●ミュータント系

- ヌードマウス BALB/c S/c-nu
KSN/S/c
Lasat/S/c

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
- アカゲザル 繁殖生産ザル(電鳥)



*印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。

疾患モデル動物

- マウス NZB/N S/c (自己免疫疾患)
- * MFL/MoJ-lpr (自己免疫疾患)
- * MFL/MoTn-gld (自己免疫疾患)
- * C57BL/6J-lpr (自己免疫疾患)
- * C3H/HeJ-lpr (自己免疫疾患)
- * C3H/HeJ-gld (自己免疫疾患)
- * BXSB/MpJ-Yaa (自己免疫疾患)
- CBA/N-PK-jpc (糖尿病)
- S/c: (NZW × B × SB) F1 (心臓梗塞)
- S/c: NZBWF1 (自己免疫疾患)
- S/c: WBB6F1-W/W* (糖尿病の誘発)
- S/c: WBB6F1-S/S* (糖尿病の誘発)
- NC/Ngaマウス (皮膚炎)
- AKITAマウス (糖尿病)
- ☆HR4 (ヘアレスマウス)
- ラット WBN/Kob S/c (高山病好発)
- DA/Sic (コラーゲン誘発関節炎)
- HWY/Sic (ヘアレスラット)
- S/c: WsRc-Ws/Ws (凝血因子欠損)
- DA/Sic-ag/bg (NK細胞機能低下)
- S/c: Zucker-fa/fa (肥満)
- ☆ DS/Ea-DR/Ea (免疫感受性出血傾向)
- ☆ G-HR/Ea (高ヒルペー症)
- ハムスター ☆ SHR-SHRSP-WKY (高山症)
- ウサギ APA S/c (腎臓移植片形成)
- トリス W-Y-2系 (腎臓 前立腺炎)

その他

実験動物用床敷・ソフトチップ(赤)・ペーパークリーン(黒)
小動物専用染料クイックカラーペイント
実験動物用断日A試薬(デンカ生研)
ラット登録用保定器



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市東区町3371番地の8
TEL:053486-3178(代)

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)

SLCの受託業務内容



- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ)を用いた安全性試験(非GLP)
- サル(カニクイザル、アカゲザル)、ブタを用いた試験・検査
各種投与(経口、静脈内、皮下、皮下、筋肉内等)および一般状態の観察(ビデオ撮影可)ならびに生体試料の採取(血液、尿等)
血液・血液化学的検査、血圧測定、心電図検査等の各種検査
- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌおよびサル)を用いた経時的採血試験(血中濃度試験)
- 日本薬協方等に基づく生物学的試験
- 細胞毒性試験
日本薬協方準拠、医療用具および医用材料の基礎的な生物学的試験準備
- 特殊試験
経腸閉塞内局所刺激性試験(ウサギ)
前尿水置換試験(ウサギ)
- 薬効薬理試験
人為的皮膚創傷ラットを用いた薬物の創傷治癒効果試験
高血圧モデル・ラットを用いた抗高血圧薬の効果試験
食餌性高コレステロールモデル動物を用いた抗コレステロール薬の効果試験(ラット、ウサギ)

血管傷害ラットを用いた抗動脈硬化薬の効果試験
NCマウスを用いた抗アレルギー薬の効果試験
ペニガオザルを用いた育毛効果試験
その他

■特殊動物の作製および各種試験

- 免疫動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ)
- 食餌性病態モデル(高コレステロール飼料、低Mg飼料、その他)
- 薬物病態モデル(TAA肝硬変ラット、STZ糖尿病ラット)
- トレーニング動物(後肢加圧法による痛覚検定用ラット、ロータロッドによる運動協調性試験用ラット)
- ポリクローナル抗体の作製
- 病理組織標本作製および鏡検
- トランスジェニック動物(マウス、ラット)の作製
- ノックアウトマウス(キメラマウス)の作製

お問い合わせは受託試験部まで
(053)437-5348(代)



SLC

■外科的病態モデル動物 および偽妊娠マウス・ラットの販売

- 各種臓器(甲状腺、下垂体、精巣、卵巣、腎臓、副腎、脾臓)摘出モデル
- 精嚢結紮モデル
- 坐骨神経切断モデル
- 抗動脈硬化薬評価のための動脈(頸動脈)内皮損傷モデル
- 痛覚過敏症モデル(CCI)ラット
- 背脊くも膜下カテーテル挿入モデル(ヒカニューレーション)ラット
- 実験動物(マウス、ラット、ハムスター、スナネズミ)の子宮切断術によるSPF化および繁殖
通常動物、トランスジェニックマウスのSPF化および系統の維持・生産
- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、サル)の血液、血清、臓器の販売
- 実験動物(マウス、ラット)の委託生産

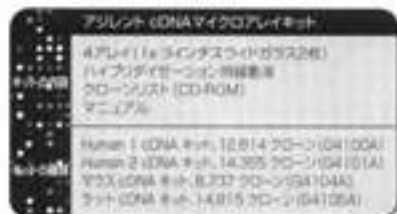
営業専用TEL

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)

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市東区町3371番地の8
TEL:053486-3178(代)



ヒトcDNA、27,169種類。
 マウスcDNA、8,737種類。ラットcDNA、14,815種類。
 ● お手持ちのスキナーで、ホールゲノムスキニングを。



高密度と高品質。

インクジェット技術で作成した、超高密度cDNAマイクロアレイです。
 スライドガラスにHuman 1は12,814種類、Human 2は14,355種類、
 マウスは8,737種類、ラットは14,815種類のcDNAをスポットしました。
 cDNAにはインサイトジェノミクス社のクローンを採用。
 お手持ちのスキナーで。

これら生物のホールゲノムスキニングが可能になりました。
 興味ある遺伝子が見つかったら、クローンやシーケンスを
 インサイト社から購入することで、研究のスピードアップが図れます。
 アジレントがアレイにプリントしたのはcDNAだけではなく、
 品質と再現性、さらに信頼性がプリントされています。
 研究者の方が、自分でアレイを作る時代は終わりました。
 これからは、アジレントにお任せ下さい。

「夢を終わらせない。夢を終わらせない」

● アジレントcDNAマイクロアレイを使ったトレーニングコースも準備しました。

dna_array@agilent.com



Agilent Technologies

横河アナリティカル システムズ株式会社

営業本部 〒110-8543 東京都武蔵野市中町1-15-5 営業部5 電話 0120-477-111

ケー・イー・シーの研究試薬

薬物動態研究・安全性研究にご利用いただけるヒト・動物組織由来研究試薬を幅広く取り揃えております。

写真：ラット肝細胞

ヒト 組織由来 各種動物

取扱い動物種：マウス・ラット・イヌ・サル・モルモット・ウサギ・ハムスター・ミニブタなど

◆ 単層培養用凍結肝細胞

◆ サスペンション培養用凍結肝細胞

◆ LIVERBEADS™ (ゲル封入肝細胞)

◆ 肝・腎・肺・腸由来マイクロゾーム、S9、サイトゾル

■ 供給元



Tissue Transformation Technologies™
(前 TEAM)

BIOPREDIC
INTERNATIONAL

■ ご注文、お問い合わせは……



株式会社 **ケー・イー・シー**

<http://www.kacnet.co.jp>

〒520-3001 滋賀県栗東市東坂91番地

試薬事業部

TEL 077-558-3971

FAX 077-558-3972

e-mail: shiyaku@kacnet.co.jp

〒110-0001 東京都台東区谷中3丁目25-6

東京事業部

TEL 03-3822-9311

FAX 03-3822-9313

e-mail: tokyo@kacnet.co.jp

Taking the lead Specialist services for drug discovery

Evotec OAI is a world leader in providing drug discovery and development solutions. With over 550 employees, our skills and expertise in biology, screening and chemistry enable us to generate value for our customers by reducing the time and cost of bringing new drugs to market.

Whilst we can support clients from target to IND and beyond we also offer specialist services for safety pharmacology and toxicology via our subsidiary Genion.

To predict QT-prolongation we provide:

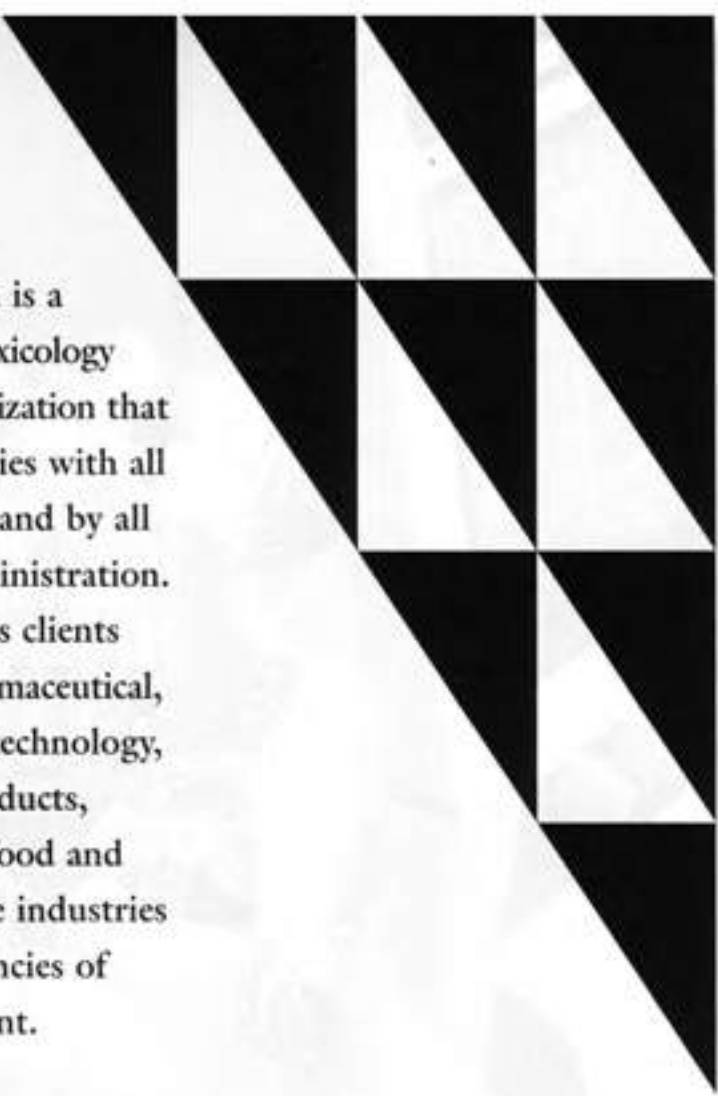
- Fluorescence assays to test compounds on HERG and KCNQ1/KCNE1
- Electrophysiological capabilities (patch-clamp) to investigate effects of compounds on HERG and KCNQ1/KCNE1 and other cardiac ion channels

www.evotecoai.com

German Office:
Evotec OAI AG
Schnackenburgallee 114
D-22525 Hamburg
Germany
+49 (0)40 56081-0
+49 (0)40 56081-333 Fax


Contact: Dr Rainer Netzer
rainer.netzer@evotecoai.com
sales@evotecoai.com

Japanese Office:
Summit Pharmaceuticals
International
Confort Yasuda Bldg.
2-9 Kanda Nishiki-cho
Chiyoda-ku
Tokyo 101-0054
Japan
(03)3294-1613
(03)3294-1614 Fax
www.summitpharma.co.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 USA
Tel: 616.668.3336 • Fax: 616.668.4151
Email: MPI_General@mpiresearch.com
Website: www.mpiresearch.com

A proof of concept

(開発コンセプトの検証)

というニーズにおこたえます。
ハンティンドン ライフサイエンスは
候補化合物最適化スクリーニング
薬効薬理試験
毒性試験
In Vivo および *In Vitro* 代謝試験
安定性試験
創薬から
臨床試験へ進むための
プログラムマネジメントにより
御社の医薬品開発を
質の高いコンサルテーションと
試験報告書により
総合的に支援します。

**Huntingdon
Life Sciences**

Working for a better future

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 番町会館

TEL(03)3238-6381~7 FAX(03)3238-6388~9

imatachi@tokyo.huntingdon.com

www.huntingdon.com