

第**30**回

日本トキシコロジー学会学術年会

The 30th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology

2003年7月18-20日

18-20 July 2003

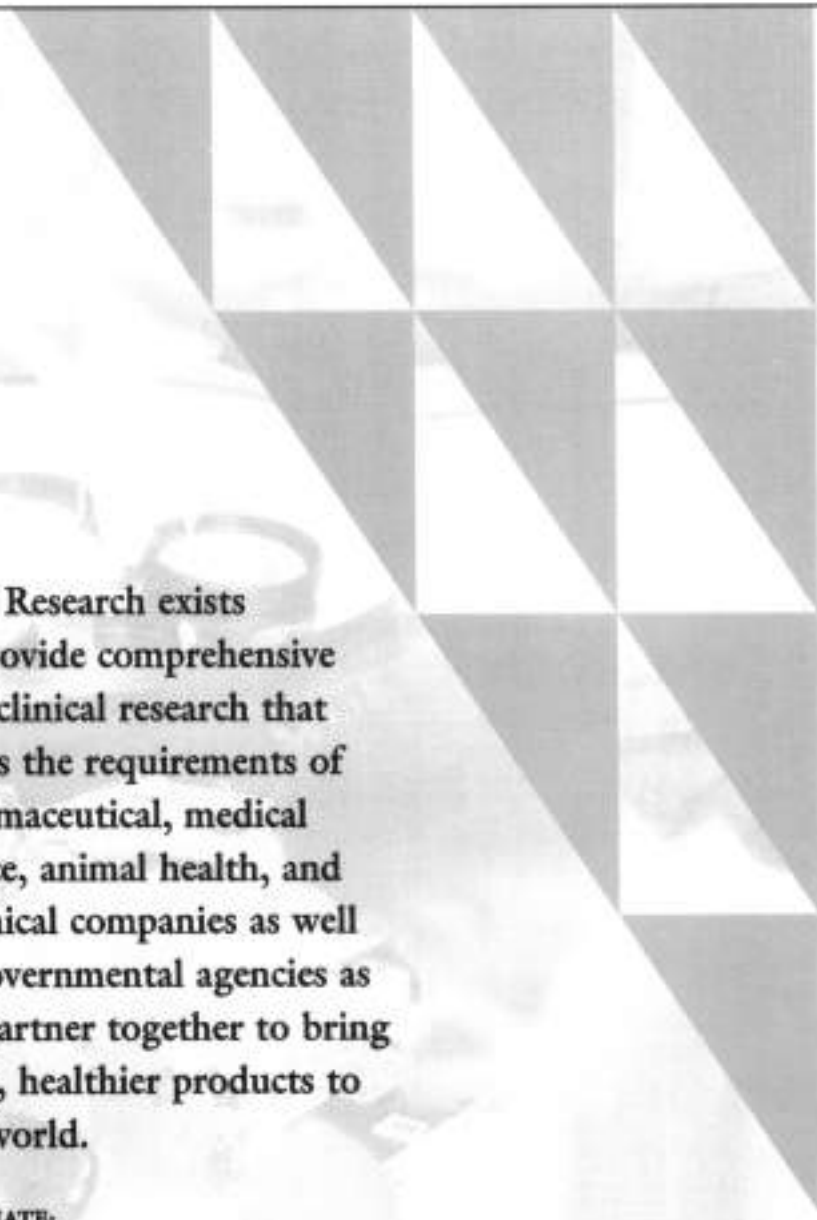
プログラム・要旨集

Program・Abstract
Exhibition

30th JST KANAGAWA 2003




Green Hall Sagami-Ohno
Azabu University



MPI Research exists
to provide comprehensive
non-clinical research that
meets the requirements of
pharmaceutical, medical
device, animal health, and
chemical companies as well
as governmental agencies as
we partner together to bring
safer, healthier products to
the world.

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 OFFICE:

OGGI Corporation
Mr. Yoshikazu Hasegawa
Nishiki-cho Yasuda Bldg. 6F
3-20 Kanda Nishiki-cho
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0054
Ph: 03-3518-0171
Fax: 03-3518-0178
Email: ogsun@mti.biglobe.ne.jp

INTEGRITY • PERFORMANCE • EXCELLENCE



MPI
RESEARCH
WWW.MPIRESEARCH.COM

54943 North Main Street
Mattawan, MI 49071
Tel: 269.668.3336 • Fax: 269.668.4151

第30回

日本トキシコロジー学会学術年会

会期：2003年7月18日（金）～20日（日）

会場：グリーンホール相模大野（18日）・麻布大学（19日・20日）

麻布大学

〒229-8501 神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71

グリーンホール相模大野

〒228-0803 神奈川県相模原市相模大野 4-4-1

年会長：赤堀 文昭（麻布大学 獣医学部）

企画委員：（50音順）

井上 達（国立医薬品食品衛生研究所）
今井 清（（財）食品農医薬品安全性評価センター）
大野 泰雄（国立医薬品食品衛生研究所）
唐木 英明（東京大学大学院 農学生命科学研究科）
仮家 公夫（神戸学院大学 薬学部）
黒川 雄二（（財）佐々木研究所）
玄番 宗一（大阪薬科大学 薬学部）
佐藤 哲男（千葉大学）
佐藤 秀蔵（武田薬品工業（株））
高橋 道人（病理ピアレビューセンター）
土井 邦雄（東京大学大学院 農学生命科学研究科）
野村 護（第一製薬（株））
堀井 郁夫（ファイザー製薬（株））
前川 昭彦（（財）佐々木研究所）
三森 国敏（東京農工大学 農学部）
宮嶋 宏彰（（株）新日本科学）
吉田 武美（昭和大学 薬学部）

協賛： 日本獣医学会・日本中毒学会・日本薬学会・日本薬物動態学会・
日本薬理学会

年会事務局：〒229-8501 神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71

麻布大学獣医学部薬理学教室内

Tel 042-754-7111（内線）212, Fax 042-752-3415

e-mail : jst2003@azabu-u.ac.jp

http://square.umin.ac.jp/jst2003/

会期中：学術年会事務局及び学会事務局

グリーンホール相模大野 第1練習室

麻布大学 8号館1階 8102号室

INDEX

年会長挨拶	5
会場へのアクセスのご案内	8
会場内のご案内	10
参加者へのご案内とお願い	15
発表者・座長・オーガナイザーの方へ	20
会場と催し物のご案内	26
座長・オーガナイザー一覧	34
プログラム	37
講演要旨	85
理事長基調講演	87
特別講演 1~4	91
学術年会長講演	103
教育講演 1~7	109
シンポジウム 1~3	121
ワークショップ 2~4	137
ラウンドテーブル	157
セミナー	167
一般演題	175
市民公開セミナー	259
パネルディスカッション	273
索引	295
学会本部	311

年会長のあいさつ

このたび第30回日本トキシコロジー学会学術年会を2003年7月18日(金)から7月20日(日)にかけて神奈川県の中核都市、相模原市の麻布大学キャンパス及びグリーンホール相模大野で開催する運びとなりました。

この日本トキシコロジー学会は、現在約2,000人の会員を擁するまでに発展し、これまで地球規模でのトキシコロジー分野/生命安全科学分野においてその中心的役割を果たして参りました。とくに本学会の課題であった「国際認定トキシコロジスト制度」は、2001年7月にオーストラリアのブリスベンで開催された国際トキシコロジー連合(IUTOX)の第9回国際会議において、IUTOXのMember Societyの承認を得て国際認定トキシコロジストの相互承認制度として発足しました。また、その国際認定トキシコロジストの認定機関としてIART(International Assembly for Recognition of Toxicologists)の設置も正式に承認されました。そして日本トキシコロジー学会の認定トキシコロジストは、2002年9月以降国際認定トキシコロジストとして認められることになりました。このことは本学会の歴史に残る出来事として位置づけられます。それ故、日本トキシコロジー学会には日本のみならず、国際的視野に立っての活動が求められています。

一方、トキシコロジー領域ではプロテオーム解析やトキシコゲノミクスといった新しい観点からの研究/生命安全科学の研究が進められてきております。これらの研究成果は、副作用や毒性を発現する個体への投与を避けることにより、新薬を必要とする多くのクライアントに対し、大きな福音をもたらすこととなります。21世紀の医療として、個体差医学を推進する重要な分野のひとつにトキシコロジー/生命安全科学があり、このトキシコロジー関連分野の発展は、社会への大きな貢献につながるとして期待されております。このような立場から日本トキシコロジー学会の学術年会の開催は極めて意義深いことと考えております。

本年度学術年会は日本トキシコロジー学会30年の歴史のなかで記念すべき学術年会として、初めて理事長の基調講演を企画させていただきました。その理由は理事長基調講演をとおして、日本トキシコロジー学会及び/あるいは会員の果たすべき社会への貢献を再認識できればと考えたからです。また、本学術年会の企画委員会は「トキシコゲノミクス・プロテオーム解析と生命安全科学」及び「食の安全性科学」を年会のテーマとしてとりあげました。焦点が絞られていない感も否めませんが、日本トキシコロジー学会は幅広い課題に対応しなければならないと考え、これらのシンポジウムや特別講演などを企画しました(年会のテーマ「21世紀の医療と生命安全科学/食の安全性科学」)。

本年の学術年会が会員・非会員を問わず多くの研究者の参加により、活発な情報交換の場となることを願っております。

第30回日本トキシコロジー学会学術年会長
赤堀 文昭(麻布大学)

Greetings from the Chairperson

Fumiaki Akahori (Azabu University)
Chairperson of the 30th Annual Meeting of
the Japanese Society of Toxicology

It is our great honor to hold the 30th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicology from the 18th (Fri) to the 20th (Sun) of July, 2003, at Azabu University Campus and Green Hall Sagami-Ohno, in Sagami-hara City, one of Kanagawa Prefecture's major urban centers.

The Japanese Society of Toxicology has developed into a society with a membership of approximately 2000 people at present, and has come to play a central role in the fields of toxicology and life security sciences on a global scale. In particular, at the 9th International Congress of the International Union of Toxicology (IUTOX) in Brisbane, Australia in July 2001, a system for the international recognition of toxicologists, an issue the Society had sought to resolve, was approved by the Member Society of IUTOX, and has commenced as a mutual accreditation program of internationally recognized toxicologists. Additionally, the establishment of IART (International Assembly for the Recognition of Toxicologists) was officially approved at the congress as the accreditation organization for the internationally recognized toxicologists aforementioned. Following this, toxicologists accredited with the Japanese Society of Toxicology then became also accredited as internationally recognized toxicologists, effective from September 2002. These achievements seem certain to be characterized as historic events in the history of the Society. Accordingly, the Japanese Society of Toxicology is now required to conduct activities with a more international perspective, and not merely limit our focus to the domestic level.

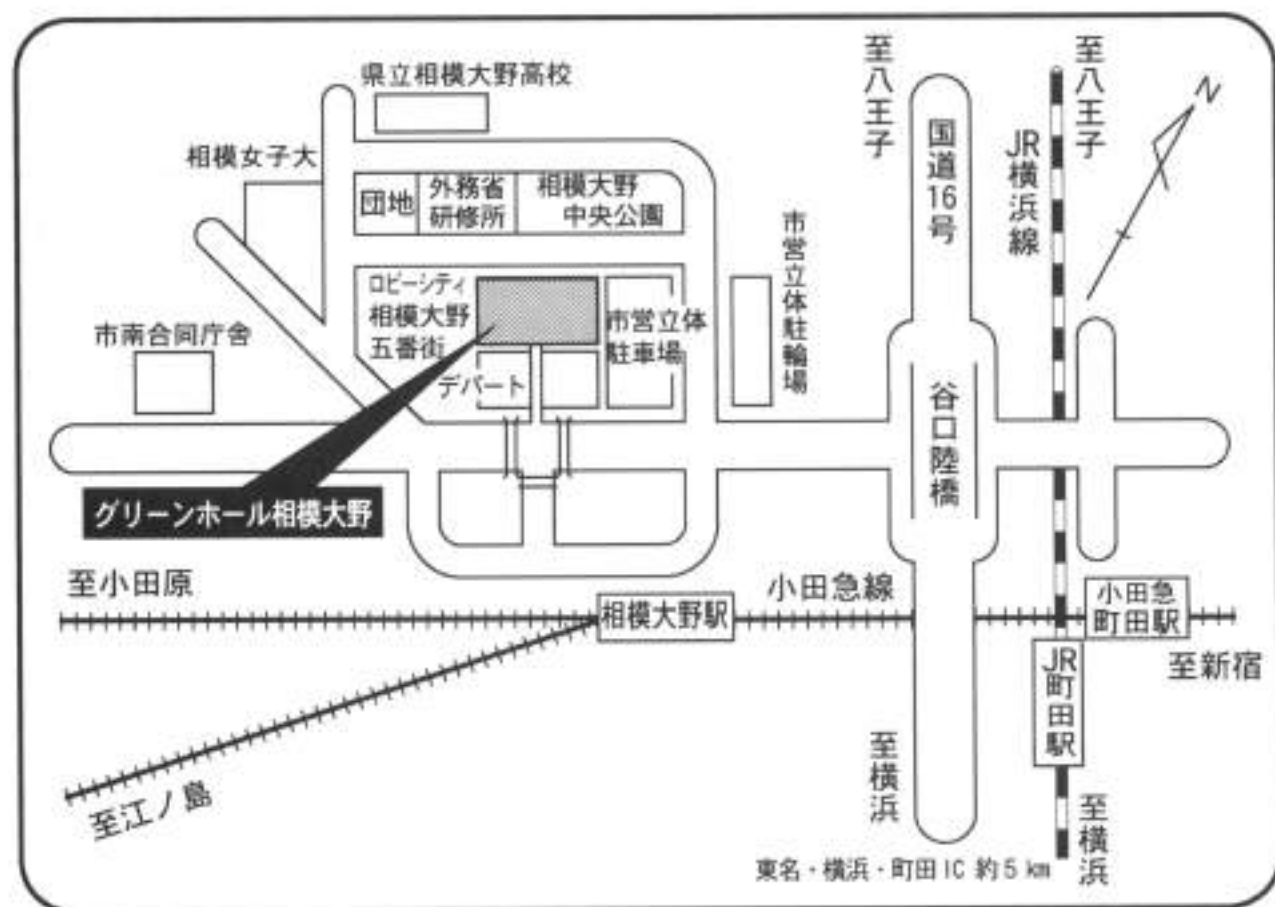
Concurrently, in the realm of toxicology, studies dealing with new perspectives such as proteome analysis and toxicogenomics, as well as studies in the science of life security have been progressing. The results of these studies, enabling us to avoid administering drugs to those who develop side effects or toxicity in their bodies from them, will be welcome news to the many that require new drugs. Toxicology and the science of life security constitute one of the most important fields in 21st-century medicine in advancing the medical science of individual specificity, and developments in toxicology-related fields are expected to contribute a great deal to our society. In view of this, we feel the convening of the annual meeting of the Japanese Society of Toxicology to be a very significant occasion.

Identifying this year's annual meeting as a memorable one in the 30-year history of the Japanese Society of Toxicology, we have planned a keynote speech by our president for the first time. Through the president's speech, it is our intention to recognize anew the contribution to society that the Society and its members should be striving to achieve. The planning committee has raised 'toxicogenomics / proteome analysis and the science of life security' and 'science of food safety' as themes for this meeting. While such themes may seem to lack tight focus, we nevertheless have planned symposiums and special lectures on these issues, in the belief that the Society should be involved with a wider range of subjects (the theme of the annual meeting: 'Medicine for the 21st century and the science of life security / science of food safety').

We hope that with the attendance of many researchers, members and non-members alike, this meeting will provide a dynamic stage for information exchange.

会場へのアクセスのご案内

グリーンホール相模大野
(相模原市文化会館)



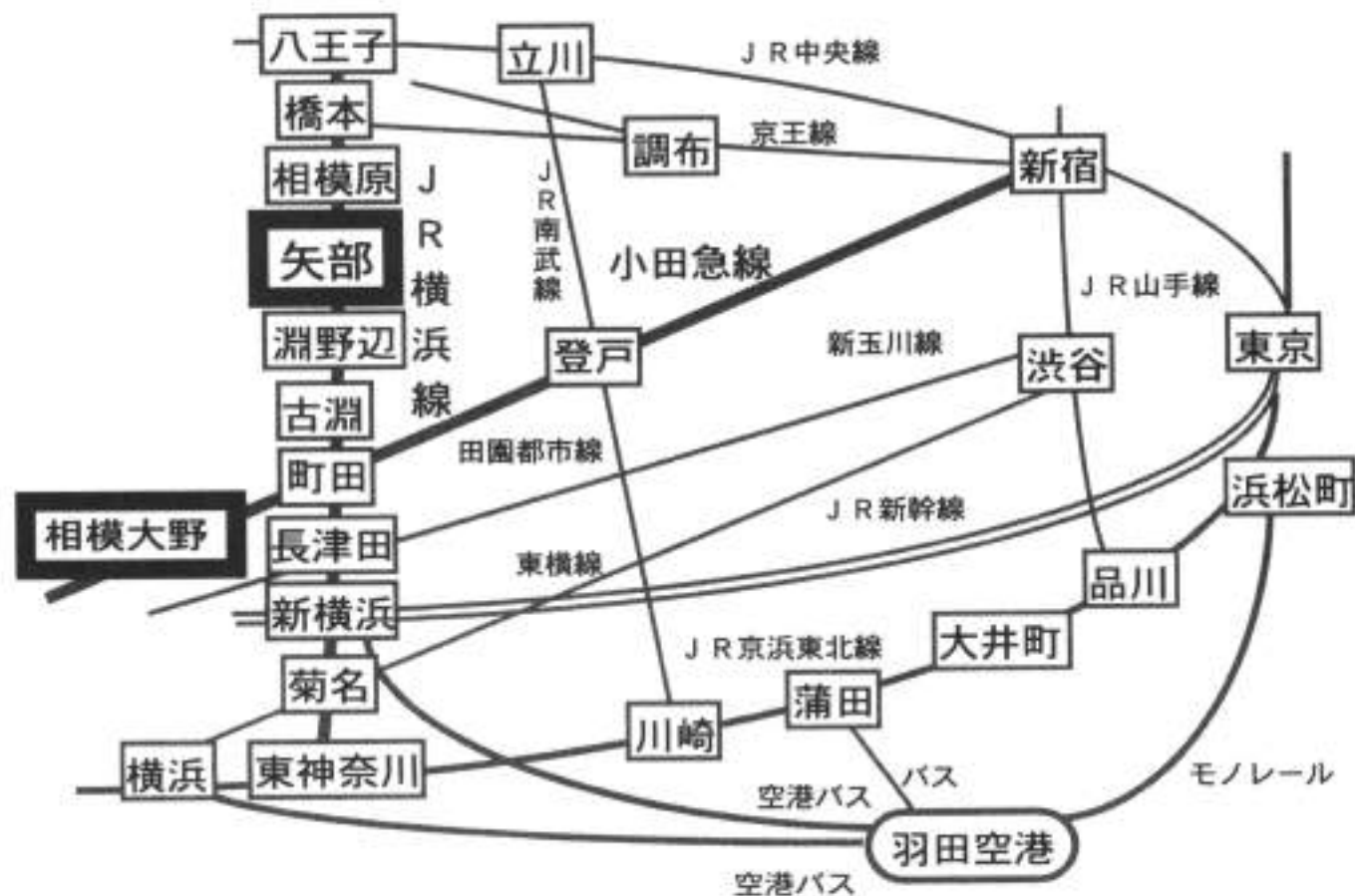
●小田急線相模大野駅下車北出口 徒歩4分

麻布大学会場へは

小田急線 相模大野駅より町田駅（新宿方面1駅目）
で乗り換え（JR横浜線 町田駅）

JR横浜線（八王子方面）矢部駅（3駅目）下車
徒歩4分

会場へのアクセスのご案内

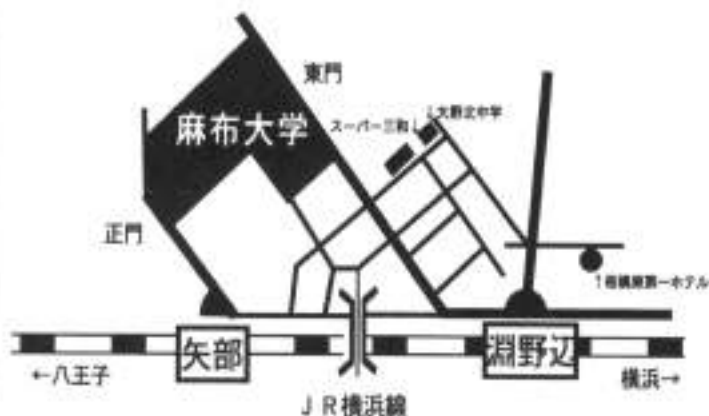


◎麻布大学

J R 横浜線：矢部 駅（快速は通過）下車 北口徒歩 4 分

淵野辺駅（快速は通過）下車 北口徒歩 10 分

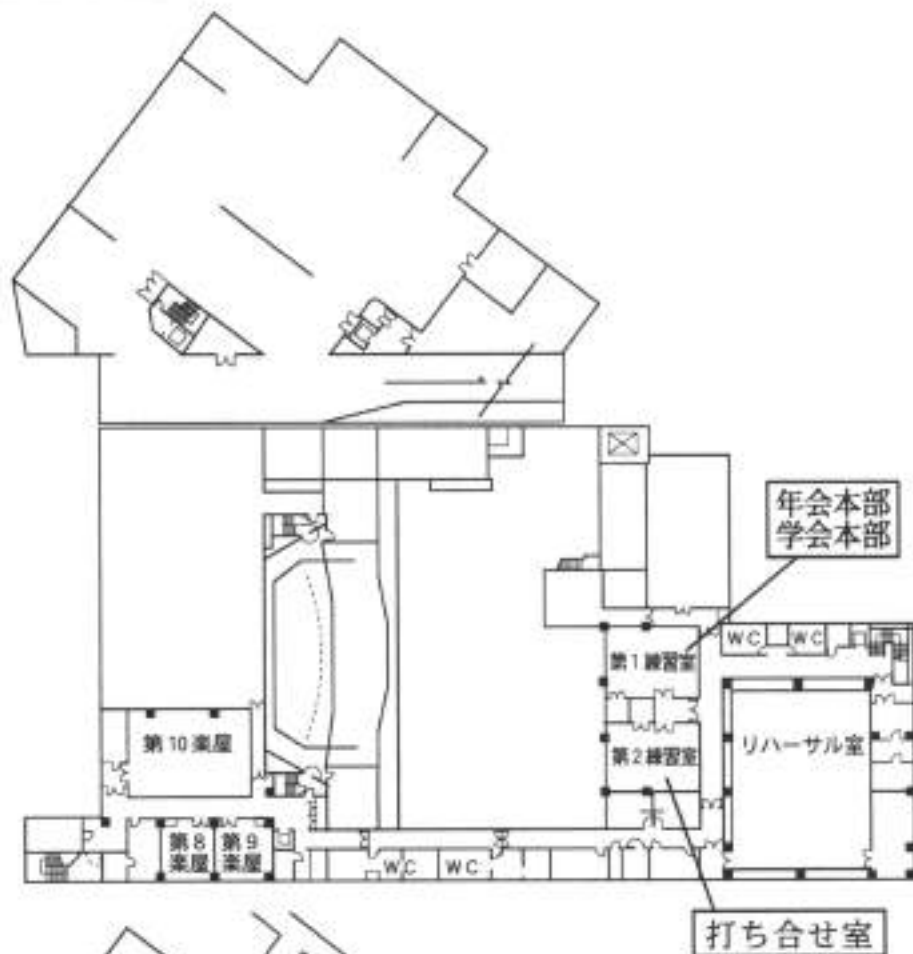
JR 横浜線に乗換え				
JR 中央線	八王子	20分	JR 横浜線	
京王線	新宿	45分 (急行)	橋本	10分
小田急線	新宿	40分 (急行)	町田	7分
東急田園都市線	渋谷	30分 (急行)	長津田	15分
東急田東横線	渋谷	30分 (急行)	菊名	30分
JR 新幹線	新横浜	35分		徒歩
JR 京浜東北線	東神奈川	40分		4分



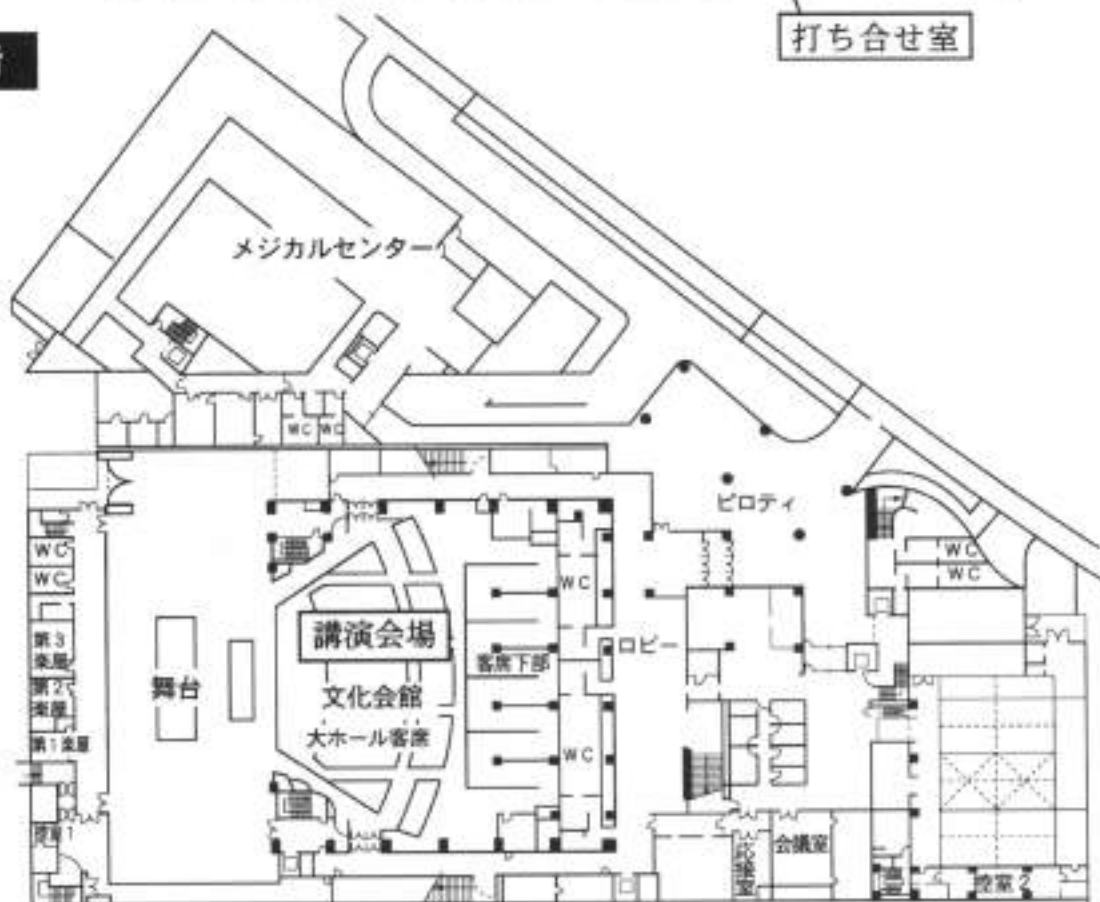
会場案内図

グリーンホール相模大野

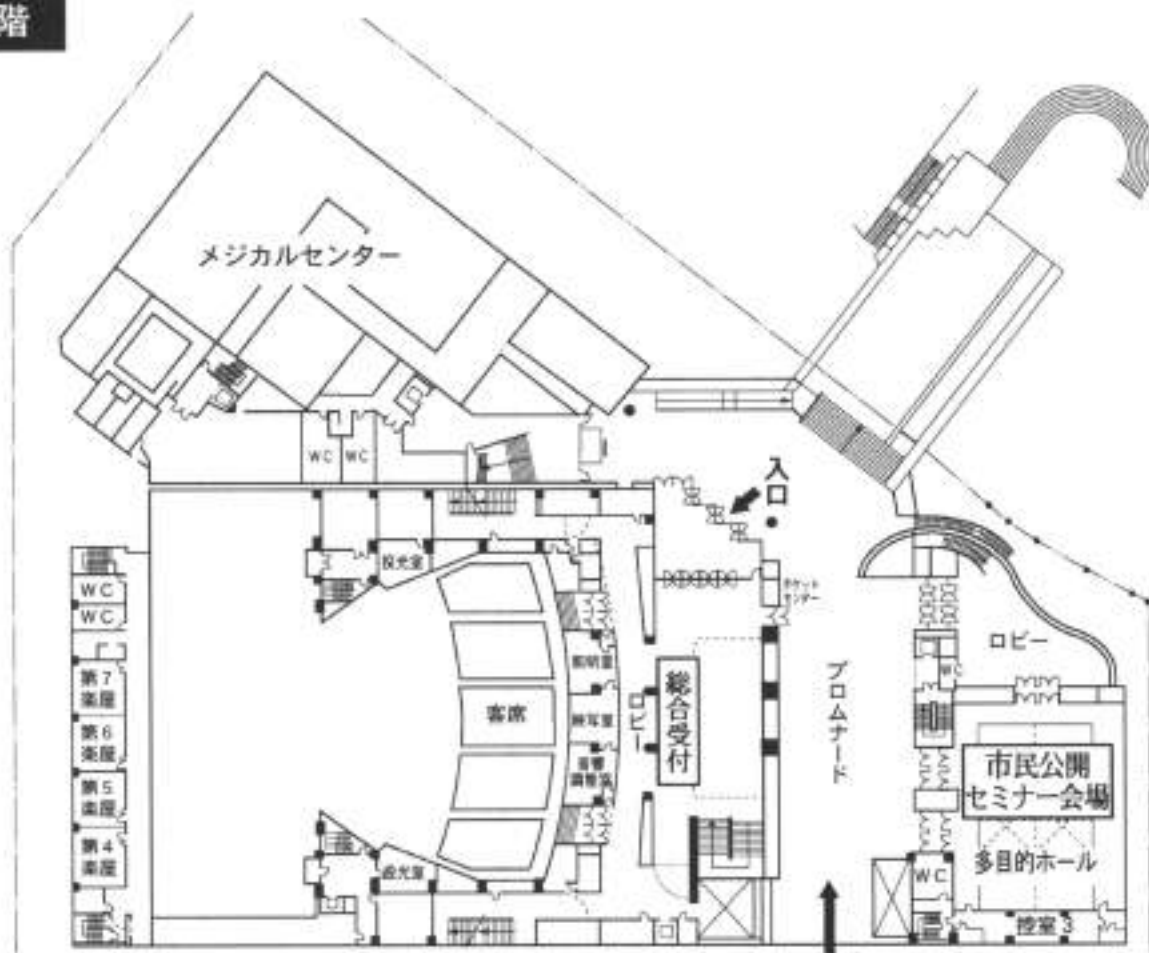
B1階



1階

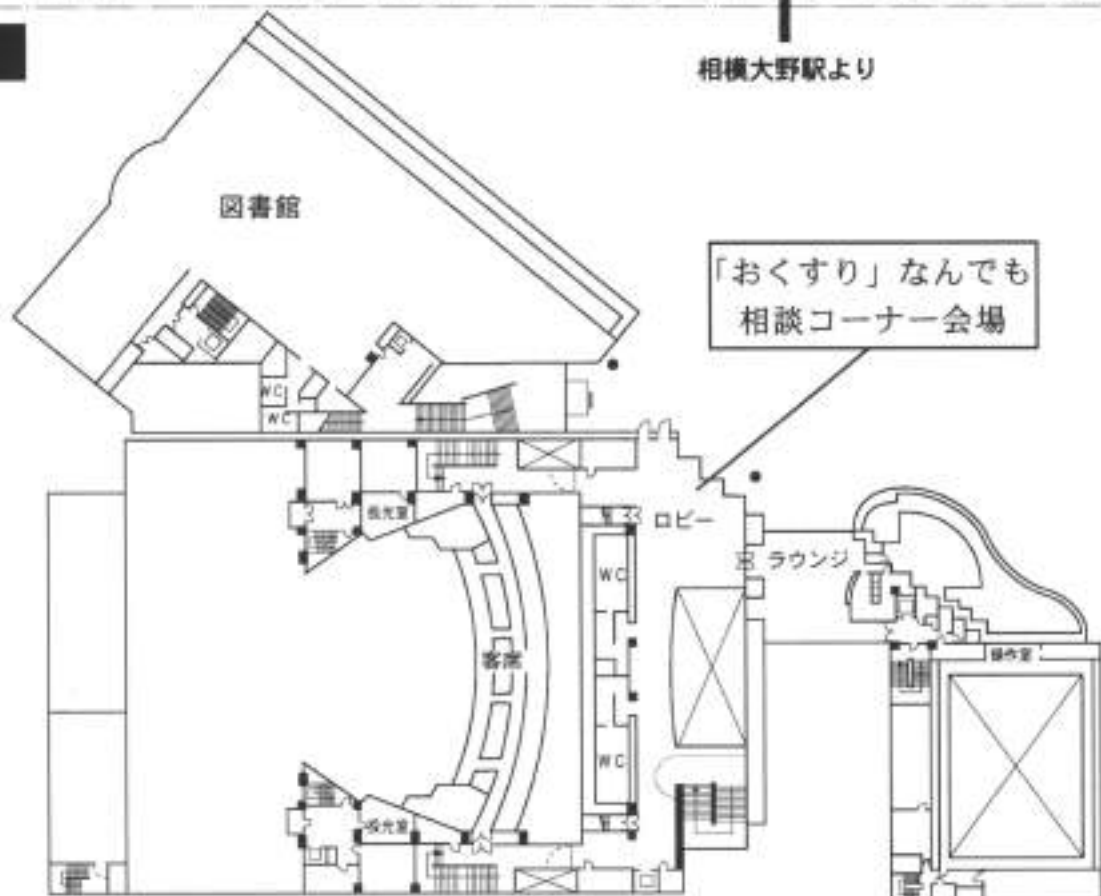


2階



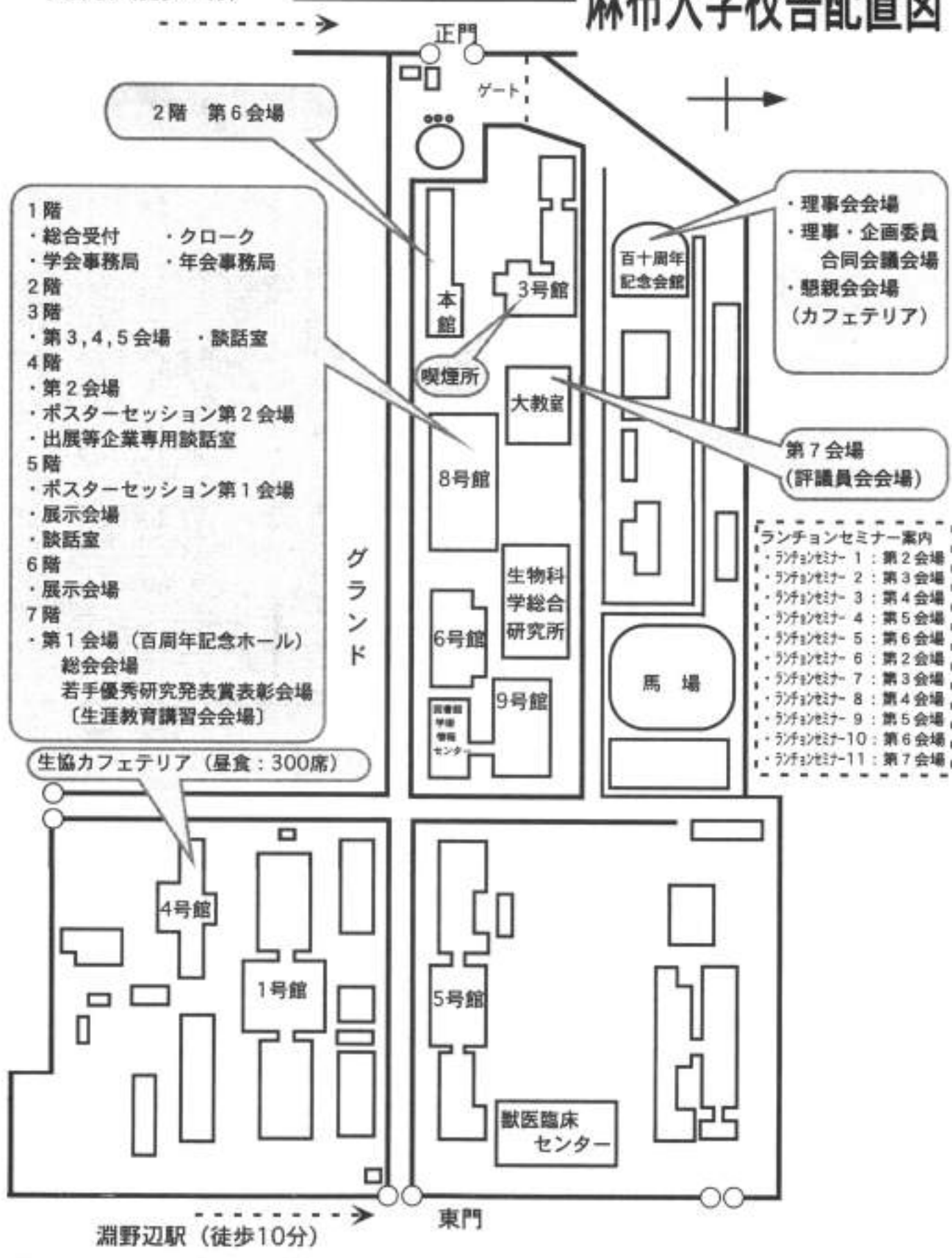
相模大野駅より

3階



矢部駅 (徒歩4分)

麻布大学校舎配置図



本館 2 階

7月19日(土) 11:00~12:00
ランチョンセミナー5打ち合せ
7月20日(日) 11:00~12:00
ランチョンセミナー10打ち合せ
7月20日(日) 12:00~13:00
若手優秀研究発表賞選考委員会

7月19日(土) 11:00~12:00
ランチョンセミナー2打ち合せ
7月20日(日) 11:00~12:00
ランチョンセミナー7打ち合せ

7月17日(木) 11:30~12:30
認定試験小委員会



7月17日(木) 11:30~12:30
生涯教育講師打ち合せ
7月19日(土) 11:00~12:00
ランチョンセミナー1打ち合せ
7月20日(日) 11:00~12:00
ランチョンセミナー6打ち合せ
7月20日(日) 12:00~13:00
編集委員会

7月19日(土) 11:00~12:00
ランチョンセミナー4打ち合せ
7月20日(日) 11:00~12:00
ランチョンセミナー9打ち合せ
7月20日(日) 12:00~13:00
トキシ研連委員会

7月19日(土) 11:00~12:00
ランチョンセミナー3打ち合せ
7月20日(日) 11:00~12:00
ランチョンセミナー8打ち合せ

本館 1 階

7月20日(日) 11:00~12:00
ランチョンセミナー11打ち合せ
7月20日(日) 12:00~13:00
生涯教育小委員会



8号館 7階



8号館 6階



8号館 5階



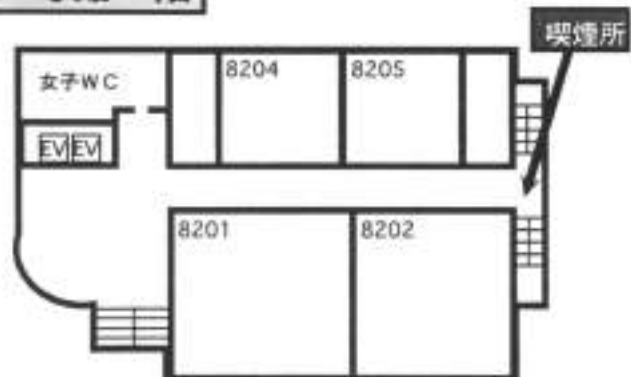
8号館 4階



8号館 3階



8号館 2階



8号館 1階



参加者へのご案内とお願い

1. 総合受付・参加登録

当日参加登録：7月18日（金）

グリーンホール相模大野 2階 大ホールロビー 8:45～17:00

7月19日（土）

麻布大学8号館1階 8:30～17:00

7月20日（日）

麻布大学8号館1階 8:30～15:00

2. 当日受付の参加登録費（プログラム・要旨集代を含む）

会員 10,000円 非会員 12,000円 学生会員 3,000円（学生証をご提示下さい）

参加費支払い後、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となっております。紛失しない様ご注意願います。また、プログラム・要旨集をお受け取り下さい。非会員は参加登録時に氏名、住所等の記帳をお願いします。非会員学生は学生証の提示及び指導教授（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。

3. 懇親会費：一律 7,000円

参加費・懇親会費の支払い：銀行キャッシュカードによるデビットカード (J-Debit)での支払いをお願いします。現金での支払いは極力ご遠慮下さい。

4. 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ください。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。

5. 服装：会期中会場内での服装はスマートカジュアル（軽装・普段着）とします。館内は弱冷房に設定して貰いますので、各自服装で調節願います。

6. クローク：総合受付の脇に設置いたしますので係の者にお申しつけ下さい。貴重品はお預かり出来ません。お預けの荷物には持ち主の氏名・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。

*7月18日（金）グリーンホール相模大野ではクロークは設けません。備えつけのロッカーをご利用下さい（102個あります）。

7月19日（土） 8:30～17:00 （麻布大学8号館1階）

7月20日（日） 8:30～16:30 （麻布大学8号館1階）

7. 談話室：下記のとおり設置いたしますのでご自由にご利用下さい。

7月18日（金） グリーンホール相模大野大ホールロビー

7月19日（土）・20日（日） 麻布大学8号館3、4、5階

-
8. お食事処：グリーンホール相模大野では、相模大野駅前通りのお店をご利用下さい。また、軽食等は3階ラウンジをご利用下さい。麻布大学では、大学付近は食堂、レストランが少ないため、ランチョンセミナーに参加するか、学食（生協）、カフェテリア（百十周年記念会館）をご利用下さい。
ランチョンセミナー：スポンサーの招待によるもので弁当が配布されます。参加ご希望の方は、直接、当該ランチョンセミナーの会場にお越し下さい。
 9. 出展等企業専用、スポンサー専用の休憩コーナーは8号館4階(8405室)に設けますのでご利用下さい。(7月19日(土)・20日(日)の麻布大学内会場のみ)
 10. 年会事務局及び学会事務局：
7月18日(金)グリーンホール相模大野 地下1階 第1練習室
7月19日(土)・20日(日)麻布大学8号館1階8102室
 11. 宿泊・交通案内については総合受付にパンフレットがございますのでご利用下さい。
 12. 掲示板と緊急連絡先：会場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。
 13. 会場案内は：会場の総合受付前に表示します。
 14. 年会の運営や進行あるいは参加者の安全を考慮して、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。
 15. 動物、病原体、危険物、毒劇物、爆発物、麻薬、酒類、銃刀類の持込み、使用、展示及び販売行為は禁止します。
 16. 携帯電話を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ください。
 17. 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。
 18. 指定された報道・専門カメラマン以外の方のビデオ・カメラ等による撮影はお断りいたします。年会事務局のボランティアカメラマンによって要所は撮影されます。
 19. 会場内は全て禁煙です。会場外の所定の場所で喫煙願います。
「グリーンホール相模大野」には喫煙場所はございません。

Information / Request to Participants

1. Main Reception / Registration of Attendance

On-site registration: July 18th (Fri) 08:45-17:00

Main Hall lobby on the 2nd floor of Green Hall Sagami-Ohno

July 19th (Sat) 08:30-17:00: 1st Floor, No. 8 Bldg, Azabu University

July 20th (Sun) 08:30-15:00: 1st Floor, No. 8 Bldg, Azabu University

2. On-site Registration Fee (includes a program and review)

Member: 10,000 yen / Non-member: 12,000 yen / Student member: 3,000 yen

(Please present your student ID)

After paying the fee, please collect your name tag. The reverse side of the name tag is a receipt, so please ensure that you do not lose it. Please also collect a program and review. Non-members are requested to write down their name and address. Non-member student participants are required to show their student ID cards and a letter of introduction from their academic supervisor (who must be a member of the Society). The registration fee for non-member student participants is the same as for student members.

3. Party Fee: 7,000 yen (flat fee)

Attendance fee / Party fee payment:

Payment of the above fees by bank transfer is highly appreciated. Please try to avoid paying by cash.

4. Name Plate: All participants and exhibitors are required to wear name tags with their names and the names of their organizations displayed. Persons not wearing a proper tag will not be allowed to enter.

5. Dress Code: Smart Casual (during the meeting at the meeting venue).

The venues will be kept mildly air-conditioned, so please attire accordingly.

6. Cloakroom: A cloakroom will be set up next to the Main Reception. Please ask assistants nearby regarding its location. Valuables will not be accepted. Please attach your name and the name of your organization to your belongings to assist. Operating hours are as follows:

July 18th (Fri): There is no cloakroom in Green Hall Sagami-Ohno - please use the coin lockers provided (102 coin lockers are available).

July 19th (Sat): 08:30-17:00 (1st Floor, No. 8 Bldg, Azabu University)

July 20th (Sun): 08:30-16:30 (1st Floor, No. 8 Bldg, Azabu University)

7. Conversation Rooms: Please feel free to use the conversation rooms. Locations can be found below.

July 18th (Fri): Main Hall lobby, 2nd Floor, Green Hall Sagami-Ohno

July 19th (Sat), 20th (Sun): 3rd, 4th and 5th Floor, No. 8 Bldg, Azabu University

8. Eating Facilities: There are restaurants in the vicinity of Green Hall Sagami-Ohno, along the road in front of Sagami-Ohno station. There is also a lounge on the 3rd Floor of the Green Hall in which snacks are available. As there are few restaurants around Azabu University, so please attend a luncheon seminar, or use the gakushoku (a restaurant run by the university co-op) or the cafeteria (in the Hyaku-ju shunen kinenbi-kan (110th Anniversary Memorial Building)).

Luncheon Seminars: Free Japanese-style lunchboxes will be offered by the sponsors. If you are interested in attending one of these seminars, please come to the seminar venue directly.

9. A Rest Area for exhibitors and sponsor companies will be placed on the 4th Floor, No. 8 Building (Room No.8405). (This will be available only on July 19th (Sat) and 20th (Sun), and only at the Azabu University venue.)

10. Secretariat Office:

July 18th (Fri): No. 1 Rehearsal Room, Basement Level 1, Green Hall Sagami-Ohno

July 19th (Sat), 20th (Sun): Room No.8102, 1st Floor, No. 8 Building, Azabu University

11. For information on accommodation and transportation, pamphlets are provided at the Main Reception.
12. Bulletin Board and Urgent Message Board: In front of the Main Reception you will find a bulletin board for posting messages. You may use it for communication with other participants in the conference.
13. On-site Information: Information regarding venues etc. will be available in front of the Main Reception.
14. For the sake of the smooth operation of the conference and security of participants, persons younger than 18 years of age and those who intend to disrupt or pose a danger to proceedings are prohibited from entering.
15. It is prohibited to bring, use, exhibit or sell animals, disease agents, dangerous materials, toxic substances, explosives, drugs, alcohol, or weapons.

-
16. Mobile phones should be switched off or set to silent mode inside the venues.
 17. Resulting from the increasing prevalence of mobile phones, no dedicated phone lines have been provided in the venues. Please utilize pay phones if you do not have a mobile phone.
 18. Only authorized professional cameramen will be allowed to film at the event. Main events will be filmed by volunteer secretariat staff.
 19. Smoking is prohibited in all venues. Please smoke in the smoking area outside. Smoking areas are not provided at Green Hall Sagami-Ohno.

発表者・座長・オーガナイザーの方へ

特別企画ご講演の方へ

- 1) 発表者は、ご自分の講演の 60 分前までに当該会場にお入りください。
- 2) 発表機材にパソコンを使用します。パソコンは年会事務局で用意 (OS は Windows Me, アプリケーションは Powerpoint ver. 10.0, 使用できるメディアはフロッピーと CD-ROM のみ) いたしますが、ご自分でご持参されたパソコンをお使いいただいてもかまいません。(パソコンと液晶プロジェクターとの接続コネクターの形式は D-sub15 ピン形式です。接続アダプターは用意いたしません。)
- 3) 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。
- 4) パソコン操作に補助者が必要な場合は、前もって事務局あてにご連絡ください。
- 5) 事前に持込のパソコンの動作確認を希望される方は早朝 (午前 8 時頃) に各会場入口にある演者受付にお越しください。
- 6) 発表時間の管理は、時計回線 (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ください。時間を過ぎると司会者からも警告があります。
- 7) 原稿の作成は、書体を MS 明朝あるいは MS ゴシックとしてください。また、特殊文字・ファイルの重いもの・ロゴマーク等不具合が生じやすい方法や投影時間が長くなるおそれのあるものはご遠慮願います。海外からの出席者も多いため図表はできる限り英文で作成願います。年会事務局では OHP プロジェクター及び 35mm フィルムスライドプロジェクターは用意いたしません。Macintosh のパソコンも用意できません。



若手優秀研究発表賞ポスターディスカッション セッション発表者の方へ

- 1) 一般演題ポスター発表に加え口頭発表を行います。
日時は 7 月 19 日 (土) 及び 7 月 20 日 (日) の両日とも午前 9 時 30 分より開演いたしますので、当日の発表該当者は 9 時 00 分までに第 2 会場 (8401 番教室) へお入りください。

-
- 2) 発表機材にパソコンを使用します。時間の関係上、学会事務局の用意した備え付けのパソコンをお使いください。(OS は Windows Me, アプリケーションは Powerpoint ver. 10.0)
データは 3.5 インチフロッピーディスクあるいは CD-ROM を使用し、所定のドライブ装置にセットして投影してください。
 - 3) 原稿の作成は、書体を MS 明朝あるいは MS ゴシックとしてください。また、特殊文字・ファイルの重いもの・ロゴマーク等不具合が生じやすい方法や投影時間が長くなるおそれのあるものはご遠慮願います。海外からの出席者も多いため図表はできる限り英文で作成願います。
年会事務局では OHP プロジェクター及び 35mm フィルムスライドプロジェクターは用意いたしません。Macintosh のパソコンも用意できません。
 - 4) 指定した時間内に講演をお願いいたします。発表時間は 3 分、質疑応答時間は 2 分となります。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) 発表時間の管理は、時計回線(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。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ください。
 - 6) 受賞者の発表は最終日の 7 月 20 日(日)午後 2 時頃、麻布大学会場総合受付のあるロビー(1 階)に掲示します。
 - 7) 受賞者の表彰は 7 月 20 日(日)の第 1 会場にて、午後 4 時 10 分より行います。
 - 8) 受賞者には賞金と賞状がでます。

ポスター発表：一般演題

- 1) 演題番号は年会事務局で用意します。演題名・所属・氏名は発表者が作成してください。海外からの発表者も多いため図表はできる限り英文で作成願います。
- 2) 会場入口の受付でポスター掲示用の画鋏と発表者用のリボンを受け取ってください。
- 3) 原稿は印刷物としてください。材質は自由です。パネル板に書込みすることはご遠慮ください。1～2 m 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ください。
- 4) ポスター展示用のパネルは幅 90cm、高さ 210cm といたします。
- 5) 発表者は、縦 20cm×横 70cm のスペースに演題名、所属、発表者(発表者名に○印)を明示してください。ポスター本文は縦 120cm、横 90cm といたします。
- 6) 掲示は午前 8:30～9:00、撤去は 16:30～17:15 の間に行ってください。7 月 19 日(土)と 20 日(日)とで、貼り替えをいたします。

-
- 7) 立ち会い討論の時間は、7月19日(土)、7月20日(日)の両日ともに11:00～12:00、15:00～16:00の2回です。ディスカッション時には必ずリボンを胸に付け、ご自身のポスターの前で待機をしてください。

座長・オーガナイザーの方へ

- 1) 担当セッション開始の15分前までに当該会場の次座長席にお座り下さい。
- 2) 進行係による座長、オーガナイザーの方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いたします。

Information for Presenters, Chairpersons and Organizers

Special Program Presenters

- 1) Presenters are requested to come to their presentation venues 60 minutes prior to the scheduled beginning of their presentation.
- 2) A computer will be used with a projector. The computer will be prepared by the secretariat (OS: Windows Me, Application: PowerPoint version 10.0, Available media: FD and CD-ROM only). Presenters may bring and use their own computer (the connector connecting computers with the projection equipment is a D-sub 15 pin connector. A connection adapter will not be available at the venue.)
- 3) Presenters are requested to change slides or images by him or herself.
- 4) If you need an assistant to help you with the computer, please contact the secretariat in advance.
- 5) If you wish to confirm methods of computer operation before your presentation, please come to the reception for presenters, located near the entrances of each meeting venue, at approximately 08:00.
- 6) Presentation time is managed by coordinators, who signal to speakers and chairpersons. Five minutes before the end of the allocated time period, a blue lamp will light. When the end of the allocated time period has been reached, a red lamp will light and a buzzer will sound. When the allocated time period has ended, please finish your presentation immediately. If speakers exceed their allocated time period, they will receive a warning from the chairperson.
- 7) The fonts used for your presentation should be either MS Mincho or MS Gothic. To avoid technical problems and delays with loading times, please do not use special characters, large data files, or logo marks. Many participants are from overseas, so please prepare visual aids used in your presentation in English, if possible. The secretariat will not prepare OHPs or 35mm film slide projectors. Macintosh computers will also not be available.

Information for Presenters at the Outstanding Young Researcher Award Poster Discussion Sessions

- 1) In addition to the general poster presentation, oral presentations will be given. The sessions will start at 09:30 on both July 19th (Sat) and 20th (Sun). Those who give presentations on either of the days, please come to the 2nd meeting venue (classroom no. 8401) by 09:00 on the day of the presentation.
- 2) A computer will be used with a projector. In order to save time, presenters are requested to use the computer the secretariat provides. (OS: Windows Me,

Application: PowerPoint version 10.0.) The available media are 3.5-inch FD and CD-ROM. Please use the appropriate drive for your materials and present them using the equipment available.

- 3) The fonts used for your presentation should be either MS Mincho or MS Gothic. To avoid technical problems and delays with loading times, please do not use special characters, large data files, or logo marks. Many participants are from overseas, so please prepare visual aids used in your presentation in English, if possible.

The secretariat will not prepare OHPs or 35mm film slide projectors. Macintosh computers will also not be available.

- 4) Please give your presentation within the allocated time period. The allocated time period for oral presentations is 3 minutes, and for Q&A sessions the time period allowed is 2 minutes. Please change slides or images for the presentation by yourself.

- 5) Presentation time is managed by coordinators, who signal to speakers and chairpersons. When the allocated time period is finished, a buzzer will sound. Please finish your speech immediately when you hear this buzzer.

- 6) The name of the winner will be displayed at around 14:00 on the final day, July 20th, at the 1st Floor lobby of the Azabu University venue, where the Main Reception is located.

- 7) The awards ceremony will be held at 16:00 on July 20th (Sun) at the 1st meeting venue.

- 8) Award-winners will receive prize money and a certificate.



Presenters for the Poster Presentation: General Presentations

- 1) Presentation numbers will be arranged by the secretariat. The title of the presentation, name of institute and the presenter's name are to be prepared by each presenter. Many participants are from overseas, so please prepare visual aids used in your presentation in English, if possible.
- 2) Please obtain drawing pins (for posters) and the ribbon each presenter is required to wear at the venue entrance.

-
- 3) Scripts should be printed. Any kind of paper is acceptable. Please do not draw directly on the panel. Please print in an appropriate size so that people standing 1–2 meters away are able to read what is written.
 - 4) The dimensions of the poster display panel are: width 90 cm, height 210 cm.
 - 5) Presenters are requested, in a space 20 cm high by 70 cm wide, to indicate clearly the title of the presentation, the name of the institute and the name of the presenter (please circle the name of the presenter). The size of the poster itself should be height 120 cm, width 90 cm.
 - 6) Please put up posters between 08:30 and 09:00, and remove them between 16:30 and 17:15. Posters will be changed between July 19th (Sat) and July 20th (Sat).
 - 7) Discussion sessions will be held twice on both July 19th (Sat) and July 20th (Sat) from 11:00 to 12:00 and from 15:00 to 16:00. During the discussion sessions, presenters are requested to wear the presenter's ribbon and stand in front of their presentation poster.

Chairpersons and Organizers

- 1) Please sit in your allocated seat 15 minutes prior to the sessions you are involved with.
- 2) Coordinators will not introduce either chairpersons or organizers. Please introduce yourself briefly as time permits.

会場と催し物のご案内

7月17日(木) 前日

	11	30	12	30	13	30	14	30	15
会 場									
麻布大学 8号館7階 百周年記念ホール						生涯教育講習会 「心臓毒性」			
麻布大学 百十周年記念会館									

30	16	30	17	30	18	30	19	30	20	30
	<p style="text-align: center;">理 事 会</p>					<p style="text-align: center;">理事・企画委員合同会議</p>				

7月18日(金) 第1日 グリーンホール相模大野

			9	30	10	30	11	30	12	30	13
会場	部屋	階数									
グリーンホール相模大野	大ホール	2階			10	50	50				
	多目的ホール	2階									

理事長 基調講演 (KS) 遠藤 仁 座長 赤堀文昭	教育講演 1 (EL-1) 河野陽一 座長 井上 達	特別講演 1 (PL-1) Urs A. Boelsterli 座長 黒川雄二
---	---	--

	30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30	
					40		20		20			
田邊賞受賞講演 1. 加藤干明 他 2. 鈴木雅実 他 3. 永見和之 他 4. 須田朗子 他 司会 選考委員会委員長 小林晴男	特別講演 2 (PL-2) Frederick W. Oehme 座長 津田修治	教育講演 2 (EL-2) 十川和博 座長 鎌滝哲也	教育講演 3 (EL-3) Michael P. Holsapple 座長 飯家公夫	特別講演 3 (PL-3) Timothy D. Anderson 座長 堀井郁夫	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>「おくすり」なんでも相談 オルガナイザー 堀美智子 渡辺睦子 19:30まで</p> </div>							<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>市民公開セミナー 中塚俊郎 青山博昭 村田共治 三瀬勝利 福本真理子 堀美智子 オルガナイザー 飯家公夫 眞板敏三 20:00まで</p> </div>

7月19日(土) 第2日 麻布大学

			9	30	10	30	11	30	12	30	13		
会場	部屋	階数											
第1会場	百周年 記念 ホール	8号館 7階	シンポジウム1(S1) 西田輝夫 Robert L. Peiffer, Jr. 久野博司 今井良悦 オーガナイザー 佐藤秀蔵・高橋道人										
第2会場	8401 講義室	8号館 4階	若手優秀研究発表賞 ポスターディスカッション・ セッション(15題) 座長 玄番宗一						ランチョン セミナー 1				
ポ ス タ ー シ ン ポ ジ ウ ム 会 場	第1	8502講義室 (8号館5階)	立会い(P)										
	第2	8402講義室 (8号館4階)											
第3会場	8301 講義室	8号館 3階	セミナー(Sel) 松澤利明 中村裕行 早川裕宏 Nancy Centanni 中野健一 オーガナイザー 松澤利明・向山英孝						ランチョン セミナー 2				
第4会場	8302 講義室	8号館 3階										ランチョン セミナー 3	
第5会場	8303 講義室	8号館 3階										ランチョン セミナー 4	
第6会場	第1・2 会議室	本館 2階										ランチョン セミナー 5	
第7会場	大教室											評議員会	

(機関等展示会場 8503講義室 8504講義室 8505講義室 8603講義室 8604講義室 8605講義室)
 (談話室 8304講義室 8305講義室 8405講義室(出展者用) 8501講義室)

30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30	
	10	45	25								
総会	学術年会長講演 (CL) 赤堀文昭 座長 唐木英明	教育講演4 (EL-4) John Ashby 座長 菅野 純	シンポジウム2(S2) 堀井郁夫 野村 護 山田 弘 Michael P. Holsapple オーガナイザー 野村 護・堀井郁夫								
			立会い(P)								
		50	ワークショップ2(W2) 大野泰雄 福山 哲 山添 康 大西憲明 永沼 章 オーガナイザー 今井 清・大野泰雄								20
			パネルディスカッション(PD) 菅野 純 代田真理子 John Ashby Richard Lewis オーガナイザー 佐藤哲男								45

懇親会 於：百十周年記念会館カフェテリア 18:00~20:00

7月20日(日) 第3日 麻布大学

			9	30	10	30	11	30	12	30	13	
会場	部屋	階数	20									
第1会場	百周年記念ホール	8号館7階	特別講演4 (PL-4) Kai Savolainen 座長 佐藤哲男				教育講演5 (EL-5) 片山圭一 座長 土井邦雄		教育講演6 (EL-6) 西島基弘 座長 吉田武英		教育講演7 (EL-7) 品川森一 座長 唐木英明	10
第2会場	8401講義室	8号館4階	若手優秀研究発表賞 ポスターディスカッション・ セッション(19題) 座長 玄番宗一						ランチョン セミナー 6			10
ポスターセッション会場	第1	8502講義室(8号館5階)					立会い(P)					
	第2	8402講義室(8号館4階)										
第3会場	8301講義室	8号館3階	ラウンドテーブル(RT) 野村 護 池田敏彦 藤野明治 黒川達夫 小野寺博志 北田光一 小林真一 オーガナイザー 安仁屋洋子・野口英世						50		ランチョン セミナー 7	
第4会場	8302講義室	8号館3階							ランチョン セミナー 8			
第5会場	8303講義室	8号館3階							ランチョン セミナー 9			
第6会場	第1・2会議室	本館2階							ランチョン セミナー 10			
第7会場	大教室								ランチョン セミナー 11			

(機軸等展示会場 8503講義室 8504講義室 8505講義室 8603講義室 8604講義室 8605講義室)
 (製 紙 室 8304講義室 8305講義室 (11:30 - 13:30は血液毒性研究会で使用) 8405講義室(出展者用) 8501講義室)

30	14	30	15	30	16	30	17	30	18	30
						10				
シンポジウム3(S3) 林 真 広瀬雅雄 福島昭治 中江 大 オークナイザー 前川昭彦・三森国敏						25	表彰式			
ワークショップ3(W3) 川原潤一 井ノ上透朗 菅野 純 磯辺俊明 夏目 敬 矢本 敬 高嶋 涉 真鍋 淳 オークナイザー 宮崎宏彰・松澤利明						55				
立会い(P)										
撤去										
ワークショップ4(W4) オークナイザー 海野 隆・門田利人・赤堀文昭										

座長・オーガナイザー一覧

■理事長基調講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
赤堀 文昭	KS	7月18日(金)	9:30~10:10	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)

■特別講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
黒川 雄二	PL-1	7月18日(金)	10:50~11:50	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)
津田 修治	PL-2	7月18日(金)	14:00~15:00	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)
堀井 郁夫	PL-3	7月18日(金)	16:20~17:20	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)
佐藤 哲男	PL-4	7月20日(日)	9:00~10:00	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)

■田邊賞受賞講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
小林 晴男		7月18日(金)	13:00~14:00	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)

■学術年会長講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
唐木 英明	CL	7月20日(日)	14:10~14:45	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)

■教育講演

座長	演題番号	日程	時間	会場
井上 達	EL-1	7月18日(金)	10:10~10:50	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)
鎌邊 哲也	EL-2	7月18日(金)	15:00~15:40	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)
飯家 公夫	EL-3	7月18日(金)	15:40~16:20	グリーンホール相模大野 講演会場(大ホール)
曾野 純	EL-4	7月19日(土)	14:45~15:25	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
土井 邦雄	EL-5	7月20日(日)	10:00~10:40	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
吉田 武美	EL-6	7月20日(日)	10:40~11:20	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
唐木 英明	EL-7	7月20日(日)	11:20~12:00	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)

■シンポジウム

オーガナイザー	演題番号	日程	時間	会場
佐藤 秀蔵	S1	7月19日(土)	9:00~12:00	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
高橋 道人	S1	7月19日(土)	9:00~12:00	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
野村 護	S2	7月19日(土)	15:25~17:45	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
堀井 郁夫	S2	7月19日(土)	15:25~17:45	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
前川 昭彦	S3	7月20日(日)	13:10~16:10	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)
三森 国敏	S3	7月20日(日)	13:10~16:10	麻布大学 第1会場(百周年記念ホール)

■ワークショップ

オーガナイザー	演題番号	日程	時間	会場
今井 清	W2	7月19日(土)	14:50~17:20	麻布大学 第3会場(8301講義室)
大野 泰雄	W2	7月19日(土)	14:50~17:20	麻布大学 第3会場(8301講義室)
宮崎 宏彰	W3	7月20日(日)	13:10~15:55	麻布大学 第2会場(8401講義室)
松澤 利明	W3	7月20日(日)	13:10~15:55	麻布大学 第2会場(8401講義室)
海野 隆	W4	7月20日(日)	13:30~16:00	麻布大学 第7会場(大教室)
門田 利人	W4	7月20日(日)	13:30~16:00	麻布大学 第7会場(大教室)
赤堀 文昭	W4	7月20日(日)	13:30~16:00	麻布大学 第7会場(大教室)

■ラウンドテーブル・セミナー・パネルディスカッション

オーガナイザー	演題番号	日程	時間	会場
安仁屋 洋子	RT	7月20日(日)	9:00~11:50	麻布大学 第3会場(8301講義室)
野口 英世	RT	7月20日(日)	9:00~11:50	麻布大学 第3会場(8301講義室)
松澤 利明	Se	7月19日(土)	9:00~11:45	麻布大学 第3会場(8301講義室)
向山 英孝	Se	7月19日(土)	9:00~11:45	麻布大学 第3会場(8301講義室)
佐藤 哲男	PD	7月19日(土)	15:45~17:45	麻布大学 第7会場(大教室)

■若手優秀研究発表賞応募ポスターディスカッション・セッション

座長	演題番号	日程	時間	会場
玄番 宗一		7月19日(土)	9:30~11:00	麻布大学 第2会場(8401講義室)
		7月20日(日)	9:30~11:00	麻布大学 第2会場(8401講義室)

■市民公開セミナー・「おくすり」なんでも相談

オーガナイザー	演題番号	日程	時間	会場
飯家 公夫	C	7月18日(金)	17:30~20:00	グリーンホール相模大野 多目的ホール
真板 敬三	C	7月18日(金)	17:30~20:00	グリーンホール相模大野 多目的ホール
堀 美智子		7月18日(金)	16:30~19:30	グリーンホール相模大野 特設会場
渡辺 綾子		7月18日(金)	16:30~19:30	グリーンホール相模大野 特設会場

プログラム

■ 理事長基調講演

7月18日(金) 9:30~10:10

●KS

「**Current status and future perspective on molecular toxicology**」

遠藤 仁 (杏林大学 医学部)

座長 赤堀 文昭 (第30回学術年会会長・麻布大学 獣医学部)

■ 特別講演

■ 特別講演 1

7月18日(金) 10:50~11:50

●PL-1

「**Animal models of human disease in drug safety assessment**」

Urs A. Boelsterli (University of Basel, Switzerland)

座長 黒川 雄二 (財)佐々木研究所)

■ 特別講演 2

7月18日(金) 14:00~15:00

●PL-2

「**What is toxicity in pre-clinical studies?**」

Frederick W. Oehme

(Kansas State University, College of Veterinary Medicine, USA)

座長 津田 修治 (岩手大学 農学部)

■ 特別講演 3

7月18日(金) 16:20~17:20

●PL-3

「**Role of mechanistic studies in safety assessment - Assessing relevance to human of animal toxicities**」

Timothy D. Anderson (Pfizer, Pharmaceuticals, USA)

座長 堀井 郁夫 (ファイザー製薬(株))

■ 特別講演 4

7月20日(日) 9:00~10:00

●PL-4

「**Neurotoxicity of pesticides with a special reference to organophosphates**」

Kai Savolainen (Finish Institute of Occupational Health, Finland)

座長 佐藤 哲男 (千葉大学)

■ 田邊賞授賞式/受賞講演

田邊賞授賞式/受賞講演

7月18日(金) 13:00~14:00

座長 小林 晴男(岩手大学 農学部)

■ 受賞講演 1

「Assessment of quantitative dual-parameter flow cytometric analysis for the evaluation of testicular toxicity using cyclophosphamide- and ethinylestradiol - treated rats」

Chiaki KATOH, Satoshi KITAJIMA, Yumiko SAGA, Jun KANNO, Ikuo HORII and Tohru INOUE

J. Toxcol. Sci., 27 (No. 2) p87-96

加藤 千明(日本ロシュ(株))
北嶋 聡(国立医薬品食品衛生研究所)
菅野 純(国立医薬品食品衛生研究所)
堀井 郁夫(日本ロシュ(株))
井上 達(国立医薬品食品衛生研究所)

■ 受賞講演 2

「Combination of fixation using PLP fixative and embedding in paraffin by the AMeX method is useful for histochemical studies in assessment of immunotoxicity」

Masami SUZUKI, Kiyoka KATSUYAMA, Kenji ADACHI, Yumie OGAWA, Keigo YOROZU, Etsuko FUJII, Yasuyuki MISAWA and Tetsuro SUGIMOTO

J. Toxcol. Sci., 27 (No. 3) p165-172

鈴木 雅実(中外製薬(株))
勝山 清加(中外製薬(株))
足立 健児(中外製薬(株))
三澤 保幸(中外製薬(株))
杉本 哲朗(中外製薬(株))

■ 受賞講演 3

「In vitro cytotoxicity assay to screen compounds for apoptosis-inducing potential on lymphocytes」

Kazuyuki NAGAMI, Yasunaga KAWASHIMA, Hiroshi KUNO, Masayuki KEMI and Hiroyoshi MATSUMOTO

J. Toxcol. Sci., 27 (No. 3) p191-203

永見 和之(万有製薬(株))
川島 康永(万有製薬(株))
久野 博司(万有製薬(株))
花見 正幸(万有製薬(株))
松本 浩良(万有製薬(株))

■受賞講演 4

「Local lymph node assay with non-radioisotope alternative endpoints」

Akiko SUDA, Masahiro YAMASHITA, Mitsuyuki Tabei, Kazuhiko TAGUCHI,
Hans-Werner VOHR, Naohisa TSUTSUI, Ritsuyoshi SUZUKI, Katsuaki KIKUCHI,
Keisuke SAKAGUCHI, Kouki MOCHIZUKI and Kazuichi NAKAMURA

J. Toxicol. Sci., 27 (No. 3) p205-218

須田 朗子 (大正製薬(株))
田口 和彦 (バイエル薬品(株))
坂口 圭介 (テルモ(株))
中村 和市 (塩野義製薬(株))

■ 学術年会長講演

7月19日(土) 14:10~14:45

●CL

「コプラナーPCBsの生体影響」

赤堀 文昭 (第30回学術年会会長・麻布大学 獣医学部)
座長 唐木 英明 (東京大学 農学生命科学研究科)

■ 教育講演

■ 教育講演 1

7月18日(金) 10:10~10:50

●EL-1

「バイオ食品とアレルギー：アレルギー性の評価について」

河野 陽一 (千葉大学大学院 医学研究院)
座長 井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

■ 教育講演 2

7月18日(金) 15:00~15:40

●EL-2

「CYP1A1誘導機構と医薬品」

十川 和博 (東北大学大学院 生命科学研究科)
座長 鎌滝 哲也 (北海道大学大学院 薬学研究科)

■ 教育講演 3

7月18日(金) 15:40~16:20

●EL-3

「The application of genomics to mechanism-based risk assessment」

Michael P. Holsapple (ILSI-Health and Environmental Sciences
Institute, USA)
座長 仮家 公夫 (神戸学院大学 薬学部)

■ 教育講演 4

7月19日(土) 14:45~15:25

●EL-4

「What are the factors that influence the timing of puberty, and what roles could phytoestrogens play?」

John Ashby (Syngenta Central Toxicology Laboratory, UK)
座長 菅野 純 (国立医薬品食品衛生研究所)

■教育講演 5

7月20日(日) 10:00~10:40

●EL-5

「化学物質による胎児中枢神経毒性の発現メカニズム」

片山 圭一 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)

座長 土井 邦雄 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)

■教育講演 6

7月20日(日) 10:40~11:20

●EL-6

「食品の安全性はどのように確保されるか」

西島 基弘 (実践女子大学 生活科学部)

座長 吉田 武美 (昭和大学 薬学部)

■教育講演 7

7月20日(日) 11:20~12:00

●EL-7

「BSE と食の安全性」

品川 森一 (独行) 動物衛生研究所 プリオン病研究センター)

座長 唐木 英明 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)

■シンポジウム

■シンポジウム1 7月19日(土) 9:00~12:00

「薬剤の視覚(器)に及ぼす影響とその評価法」

オーガナイザー 佐藤 秀蔵(武田薬品工業(株))
高橋 道人(病理ピアレビューセンター)

●S1-1

「薬害としての視覚器障害」

西田 輝夫(山口大学 医学部)

●S1-2

「Ocular toxicology」

Robert L. Peiffer, Jr. (Merck, USA)

●S1-3

「安全性試験における眼科的検査法の現状と将来」

久野 博司(万有製薬(株))

●S1-4

「探求的視覚(器)毒性評価法」

今井 良悦(武田薬品工業(株))

■シンポジウム2 7月19日(土) 15:25~17:45

「毒性評価における新しいバイオマーカー(1)ー現状と将来への挑戦ー」

オーガナイザー 野村 護(第一製薬(株))
堀井 郁夫(ファイザー製薬(株))

●S2-1

「はじめに：毒性評価におけるバイオマーカーの現状と将来展望」

堀井 郁夫(ファイザー製薬(株))

●S2-2

「製薬企業の毒性評価に使用されているバイオマーカーの現状」

野村 護(第一製薬(株))

●S2-3

「新しいバイオマーカーの開発と有用性」

山田 弘(ファイザー製薬(株))

●S2-4

「毒性バイオマーカーの開発と応用」

「The development and application of biomarkers of toxicity」

Michael P. Holsapple (ILSI-Health and Environmental Sciences Institute, USA)

●S2-5

「終わりに：現状の限界と将来への挑戦」

■シンポジウム3 7月20日(日) 13:10~16:10
「発がん性化学物質のリスク評価上の問題点」
オーガナイザー 前川 昭彦 (財)佐々木研究所)
 三森 国敏 (東京農工大学 農学部)

- S3-1
「遺伝毒性試験法の立場から」
林 真 (国立医薬品食品衛生研究所)
- S3-2
「長期発がん性試験の立場から」
広瀬 雅雄 (国立医薬品食品衛生研究所)
- S3-3
「環境発がん物質の閾値」
福島 昭治 他 (大阪市立大学大学院 医学研究科)
- S3-4
「高リスク群における発がんリスク」
中江 大 他 (財)佐々木研究所)

■ワークショップ

■ワークショップ1

中止

■ワークショップ2 7月19日(土) 14:50~17:20

「食品と医薬品等の相互作用」

オーガナイザー 今井 清 (財)食品農医薬品安全性評価センター)
大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

●W2-1

「はじめに」

大野 泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

●W2-2

「健康食品と食品の安全性、事故事例」

福山 哲 (国民生活センター)

●W2-3

「食品や嗜好品との薬物相互作用」

山添 康 他 (東北大学大学院 薬学研究科)

●W2-4

「健康食品と医薬品との相互作用」

大西 憲明 (京都薬科大学)

●W2-5

「食品中微量元素の相互作用」

永沼 章 (東北大学大学院 薬学研究科)

■ワークショップ3 7月20日(日) 13:10~15:55

「プロテオミクスとトキシコゲノミクスの現状と問題点」

オーガナイザー 宮崎 宏彰 ((株)新日本科学)
松澤 利明 (山之内製薬(株))

●W3-1

「ファルマコ・トキシコゲノミクスにおける日本の製薬企業の現状」

川原 潤一 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

●W3-2

「ゲノム医学とトキシコゲノミクスの接点」

井ノ上 逸朗 (東京大学 医科学研究所)

●W3-3

「Toxicogenomics の現状」

菅野 純 (国立医薬品食品衛生研究所)

●W3-4

「プロテオミクスの現状と動向」

磯辺 俊明 (東京都立大学大学院 理学研究科)

●W3-5

「タンパク質相互作用の大規模解析－ヒト完全長 cDNA からの展開」

夏目 徹 (独行) 産業技術総合研究所)

●W3-6

「プロテオミクスとトキシゲノミクスの接点－薬物代謝酵素を例として－」

矢本 敬・高崎 渉・真鍋 淳 (三共(株))

■ワークショップ 4 7月20日(日) 13:30～16:00

「毒性質問箱 2003：毒性試験法はどこまでハーモナイズされたか？」

オーガナイザー 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))

赤堀 文昭 (第30回学術年会会長・麻布大学 獣医学部)

■ラウンドテーブル

■7月20日(日) 9:00~11:50

「医薬品の毒性とは何か」

オーガナイザー 安仁屋 洋子 (琉球大学 医学部)
野口 英世 (オフィス野口)

●RT-1

「毒性データの国際的共有化への順応－ICH から Part11」

野村 護 (第一製薬(株))

●RT-2

「トログリタソンの肝毒性発現機序に関する考察」

池田 敏彦 (三共(株))

●RT-3

「医薬品の毒性試験の受託について」

藤野 明治 (株)富士バイオメディックス)

●RT-4

「医薬品の安全対策と非臨床安全性研究に期待される役割」

黒川 達夫 (厚生労働省 安全性対策課)

●RT-5

「医薬品審査での毒性とは」

小野寺 博志 (国立医薬品食品衛生研究所)

●RT-6

「医薬品適正使用と毒性データ」

北田 光一 (千葉大学 医学部附属病院)

●RT-7

「実際の臨床現場における医薬品の安全性に対する考え方」

小林 真一 (聖マリアンナ医科大学)

■ セミナー

■ 7月19日(土) 9:00~11:45

「医薬品開発におけるコンピュータ化システムバリデーション(FDA Part 11)への対応」

オーガナイザー 松澤 利明 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

向山 英孝 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

● Se-1

「はじめに」

松澤 利明 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

● Se-2

「FDA Part 11 とその対応」

中村 裕行 (武田薬品工業(株))

● Se-3

「分析システムにおけるコンピュータバリデーションについて」

早川 禎宏 ((株)島津製作所)

● Se-4

「FDA 21 CFR Part 11 : What does it mean today?」

Nancy Centanni (Covance, USA)

● Se-5

「コンピュータ・システム・バリデーションに関する最新情報」

中野 健一 ((株)山武)

● Se-6

「おわりに」

向山 英孝 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

■若手優秀研究発表賞応募演題

■ポスターディスカッション・セッション

座長 玄番 宗一（大阪薬科大学）

7月19日（土）9:30～11:00

●P-006

Changes of blood parameters after escalating dose with DA-3021 in cynomolgus monkey

金 忠龍（大韓民国 安全性評価研究所）

●P-017

量子化学計算を用いた重金属化学種のシステインとの相互作用に関する研究

森 聖治（茨城大学 理学部）

●P-018

Croton oil 暴露時の *in vivo* と *in vitro* の刺激性差に関する遺伝子発現の検討
—*in vivo*(ラット皮膚)と *in vitro*(TESTSKIN)の比較—

川端 留美（大鵬薬品工業(株)）

●P-024

コカインによる肝臓毒性における炎症性サイトカインの役割

杉内 仁子（昭和大学 薬学部）

●P-025

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の臓器分布を決めるトランスポーターの役割

平野 雅（興和(株)）

●P-035

血清胸腺因子 FTS はセファロリジンによる腎障害を軽減する

幸田 祐佳（大阪薬科大学）

●P-036

ラットを用いたアリストロキア酸の腎障害に関する検討

武木田 薫（大阪市立大学大学院 医学研究科）

●P-040

心筋障害を伴う EGFP-hGHTg マウスにおける心バイオマーカーH-FABP の評価

奈良岡 準（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

●P-041

ラットの組織中及び血中心臓ホルモンの変動と心毒性の解析

大野 理絵（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

●P-052

白色 LED 光源一体型電極を利用したビーグル犬における Full-Field ERG の検討

佐々木 正治（大正製薬(株)）

- P-059
Quantitation of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and homovanillic acid in MPTP-treated marmosets using a validated HPLC method
 モート トーマス (SNBL USA, Ltd.)
- P-067
2, 2', 4', 5, 5'-pentachlorobiphenyl (PentaCB)及び 2, 2', 3', 4', 5, 6-hexachlorobiphenyl (HexaCB)の血中甲状腺ホルモン濃度低下作用における動物種差
 加藤 善久 (静岡県立大学 薬学部)
- P-071
イヌとラットにおける PT と APTT 短縮機序の検討 (in vitro) : PT 及び APTT 短縮に関するフィブリノゲンの影響
 笹山 由紀子 (ファイザー製薬(株))
- P-074
ヒト用ラテックス凝集試薬キットを用いたラットとイヌの血漿 D-dimer 測定について
 山崎 尚子 (ファイザー製薬(株))
- P-075
ラットの血液・骨髄検査値に及ぼす摂餌量減少の影響とその週齢差
 浅沼 富美子 (大正製薬(株))

7月20日(日) 9:30~11:00

- P-079
カニクイザルの末梢血中リンパ球サブセットの評価方法
 今井 統隆 ((株)新日本科学)
- P-089
生殖発生毒性を有する methyl methanesulfonate による酸化ストレス応答タンパク質の誘導
 芦野 隆 (昭和大学 薬学部)
- P-099
ヒト CYP1B1 の細胞特異的な発現制御機構
 柴原 憲仁 (北海道大学大学院 薬学研究科)
- P-100
トランスポーターを介した肝取り込み過程で生じる薬物間相互作用
 設楽 悦久 (昭和大学 薬学部)
- P-101
ビスフェノール A と多環芳香族炭化水素によるヒト CYP1A1 遺伝子の発現誘導
 斎藤 鉄也 (北海道大学 薬学部)

- P-119
N-ethyl-N-nitrosourea で誘発した ICR 及び *rasH2* マウスにおける **ethinylestradiol** の相反した子宮発癌修飾作用
 渡邊 隆夫 (東京農工大学 農学部)
- P-123
p53 ノックアウト (KO) マウスの化学物質誘発癌に対する臓器依存的感受性
 白井 紀充 (ファイザー製薬 (株))
- P-124
Phenobarbital の低用量域ラット肝発がん性：ホルミシスの存在
 木下 アンナ (大阪市立大学大学院 医学研究科)
- P-125
F344 ラットと **p53(+/-)**ノックアウトマウスにおける **dimethylarsinic acid** の発癌性、遺伝子変化と DNA 損傷の関係
 サリム エリサイド (大阪市立大学大学院 医学研究科)
- P-129
DNA マイクロアレイによるバラコート誘発ラット肺線維症の遺伝子発現解析
 里見 嘉英 (帝人 (株))
- P-130
Sulfasalazine 投与によるラット精巣及び精巣上体における遺伝子発現への影響
 福島 民雄 (ファイザー製薬 (株))
- P-132
Phenobarbital あるいは **clofibrate** 投与により惹起されるラット肝臓遺伝子発現変動に週齢差が及ぼす影響
 清沢 直樹 (三共 (株))
- P-134
ANIT (α -naphthylisothiocyanate)誘発肝障害及び **PAN** (**puromycin aminonucleoside**) 誘発腎障害発症ラットの尿のメタボノミクス解析
 榎富 直哉 (三菱ウェルファーマ (株))
- P-135
Puromycin aminonucleoside (PAN) 投与ラット腎糸球体における酸化ストレス関連遺伝子の発現上昇
 清水 俊敦 (三菱ウェルファーマ (株))
- P-136
 ミトコンドリア障害時にラット初代培養肝細胞に誘発される遺伝子発現変動の解析
 島田 奈央子 (三菱ウェルファーマ (株))
- P-138
 多環芳香族炭化水素による脂質代謝異常の発現機構の分子レベルでの解明
 糠谷 学 (北海道大学大学院 薬学研究科)

●P-140

アセトアミノフェンによるラットの遺伝子発現変動の検討

南 圭一（金沢大学 薬学部）

●P-141

ストレプトゾトシン投与マウス肝における遺伝子発現プロファイル：DNA マイクロ
アレイ解析

久米 英介（田辺製薬（株））

●P-145

低カルシウム血症白内障モデルラットのレンズにおける包括的遺伝子解析

鈴木 睦（キリンビール（株））

■若手優秀研究発表賞表彰式

7月20日（日）16:10～16:25

■一般演題(ポスター) 応:若手優秀研究発表賞応募演題

7月19日(土)
ポスターセッション 第1会場(麻布大学8号館5階8502講義室)

■一般毒性

●P-001

マウスを用いた絶食時間の血液生化学値及び胃の病理所見への影響の検討

○向井 大輔, 山川 誠己, 各務 進, 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-002

中国産カニクイザルの血液学及び血清生化学的性状

○小松原 博文, 田中 繁太郎, 永井 真一, 柿沼 章子, 金光春, 鈴木 正一,
清水 利行, 鈴木 照雄
(ハムリー(株))

●P-003

カニクイザルの年齢及び体重と精巣成熟度に関する検討

○和泉 博之, 椎田 修治, 河野 一樹, 小嶋 聖, 高原 利夫, 前田 博,
鮫島 秀暢, 永田 良一
(株)新日本科学)

●P-004

低カルシウム培地による器官培養法を用いたラット水晶体白内障発症の検討

○池田 宗弘, 大竹 直美, 菊池 泰子, 鈴木 睦, 山口 格, 川原 潤一
(麒麟ビール(株))

●P-005

マウスにおける *in vivo* 毒性スクリーニング試験の確立

○梶原 力, 花田 智彦, 西村 郁美, 篠田 保彦, 渡海 寛, 田村 英之,
石橋成太良
(日本新薬(株))

応

●P-006

Changes of blood parameters after escalating dose with DA-3021 in cynomolgus monkey

○金 忠龍¹, Han Su-Cheol¹, Jo Yeong-Woo², 樽本 保男¹, Chung Moon-Koo¹,
Han Sang-Seop¹
(¹大韓民国 安全性評価研究所, ²Research Lab., Korea)

●P-007

3-エチル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, 池谷 政道¹, 石田 茂¹, 小泉 瞳子², 鎌田 栄一², 江馬 真²,
長谷川 隆一²
(¹(株)ボソリサーチセンター, ²国立医薬品食品衛生研究所)

●P-008

消化管障害モデルラットを用いた Bt 蛋白の経口投与毒性試験

- 小野瀬 淳一, 今井 俊夫, 蓮村 麻衣, 上田 誠, 瀧澤 保, 広瀬 雅雄
(国立医薬品食品衛生研究所)

●P-009

フェニルヒドロキノンの黒色モルモット皮膚における脱色素作用について

- 田山 邦昭
(都立衛生研究所)

●P-010

ガルシニア抽出物の安全性に関する研究 I: ガルシニア抽出物のラットによる 52 週間投与毒性試験

- 小川 幸男, 関田 清司, 北嶋 聡, 斎藤 実, 内田 雄幸, 松島 裕子,
川崎 靖, 井上 達, 菅野 純
(国立医薬品食品衛生研究所)

●P-011

ガルシニア抽出物の安全性に関する研究 II: 主成分ヒドロキシクエン酸のラットにおける精巢毒性の検討

- 関田 清司¹, 小川 幸男¹, 北嶋 聡¹, 斎藤 義明², 永田 伴子²,
井上 達¹, 菅野 純¹
(¹国立医薬品食品衛生研究所, ²(財)食品薬品安全センター)

●P-012

食用天然色素であるアナトー色素のラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験

- 吉野 裕子¹, 萩原 昭裕¹, 今井 則夫¹, 堤 友子¹, 佐野 真士¹,
玉野 静光¹, 青木 宏光², 安原 加壽雄³, 香田 隆俊³, 中村 幹雄³,
白井 智之²
(¹(株)大雄会医科学研究所, ²名古屋市立大学大学院 医学研究科,
³三栄源エフ・エフ・アイ(株))

●P-013

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

- 大石 巧, 榎並 倫宣, 岡崎 和志, 池谷 政道, 山口 剛, 板谷 越重人,
岡崎 修三
((株)ボソリサーチセンター)

●P-014

高脂血症治療剤のラット血清中 CK 濃度への影響

- 篠田 保彦, 西村 郁美, 黒坂 妙子, 渡海 寛, 梶原 力, 田村 英之,
上田 誠, 石橋 成太良
(日本新薬(株))

●P-015

フッ素の骨形成に対する影響

- 松尾 三郎, 桑原 知江, 清宮 健一, 中川 博史
(大阪府立大学大学院 農学生命科学研究科)

●P-016

妊娠哺乳期の骨代謝に及ぼす低濃度カドミウム摂取の影響

- 太田 久吉
(北里大学 医療衛生学部)

応

●P-017

量子化学計算を用いた重金属化学種のシステインとの相互作用に関する研究

- 森 聖治, 岸 高義, 遠藤 崇浩
(茨城大学 理学部)

■局所刺激性

応

●P-018

Croton oil 暴露時の *in vivo* と *in vitro* の刺激性差に関する遺伝子発現の検討
—*in vivo* (ラット皮膚) と *in vitro* (TESTSKIN) の比較—

- 川端 留美, 岡田 浩史, 吉村 宏美, 田中 剛太郎
(大鵬薬品工業(株))

●P-019

ミニプタを用いた各種外用剤の皮膚刺激性試験—ウサギ、モルモットとの比較—

- 山田 恭史, 岩崎 栄, 田中 勝幸, 浅野 育子, 久木 浩平
(株)日本バイオリサーチセンター)

■肝・消化器系

●P-020

ラットにおける固形物及び液状物の胃排出に及ぼす各種薬物の影響

- 玉川 恵, 長谷川 和美, 山本 由徳
(株)三菱化学安全科学研究所)

●P-021

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自動運動性の変化

- 堀 正敏, 尾崎 博, 木下 一哉, 唐木 英明
(東京大学大学院 農学生命科学研究科)

●P-022

A testing battery for assessment of potential adverse effects on the gastrointestinal system

- メイソン スティーブ, アダモウ アナ, ベントン ヘレン, バンクス クリス
(Toxicology Division, CTBR Bio-Research Inc., Canada)

●P-023

炎症性サイトカイン IL-1 β に対する生体防御としての肝ギャップ結合の発現調節

- 山本 敏誠¹, 小島 隆², 澤田 典均²
(¹)三菱ウェルファーマ(株), (²)札幌医科大学)

応

●P-024

コカインによる肝臓毒性における炎症性サイトカインの役割

- 杉内 仁子¹, 剣持 幸代¹, 芦野 隆¹, 塩田 清二², 宝来 玲子³,
浅野 雅秀³, 岩倉 洋一郎³, 沼澤 聡¹, 吉田 武美¹
(¹昭和大学 薬学部, ²昭和大学 医学部, ³東京大学 医科学研究所)

応

●P-025

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の臓器分布を決めるトランスポーターの役割

- 平野 雅¹, 前田 和哉², 設楽 悦久³, 杉山 雄一²
(¹興和(株), ²東京大学大学院 薬学系研究科, ³昭和大学 薬学部)

●P-026

プロモベンゼン誘発肝障害に対する耐性獲得における薬物排泄トランスポーターの関与

- 田中 宏治, 清沢 直樹, 本多 久美, 佐久間 恭子, 真鍋 淳
(三共(株))

●P-027

胆汁酸誘発肝障害と核内受容体 FXR

- 宮田 昌明¹, 戸澤 亜紀¹, 中村 俊文¹, 大塚 聖¹, 北田 泰崇¹,
ゴンザレス フランク², 山添 康¹
(¹東北大学大学院 薬学研究科, ²米国国立衛生研究所 国立ガン研究所)

●P-028

PCB126 暴露ラット肝臓由来の異常 EPR シグナルを有するチトクロム P450 に対する乳酸菌投与の効果

- 森田 英利, 吉川 宏, 滝沢 達也, 白井 明志, 政岡 俊夫, 赤堀 文昭
(麻布大学 獣医学部)

●P-029

Han Wistar (GALAS)雄ラットの肝細胞増殖に対する週齢の影響

- 古川 賢¹, 小川 いづみ¹, 臼田 浩二¹, 御領 政信², 岡田 幸助²
(¹日産化学工業(株), ²岩手大学 農学部)

■腎・泌尿器系

●P-030

ペルフルオロオクタン酸の尿中排泄における性差の機構解析

- 片倉 賢紀, 工藤 なをみ, 川嶋 洋一
(城西大学 薬学部)

●P-031

磁気共鳴画像法による腎臓内酸素分圧変化の非侵襲的評価

- 森下 克美, 福永 満里, 古賀 けい子, 石川 誠
(大塚製薬(株))

●P-032

安全性試験における尿中 NAG 指数の有用性について

- 渡海 寛, 藤岡 真弓, 永瀬 文未江, 篠田 保彦, 梶原 力, 田村 英之,
石橋 成太良
(日本新薬(株))

●P-033

FK506 慢性腎毒性ラットモデルでの腎線維化における NF- κ B 活性化の意義

- 三浦 克之, 玉田 聡, 浅井 利大, 田代 孝一郎, 桑原 伸介, 古宮 俊幸,
岩尾 洋, 仲谷 達也
(大阪市立大学大学院 医学研究科)

●P-034

小豆種皮投与のシスプラチン誘発腎障害ラットに対する影響

- 佐藤 伸¹, 堀 友花², 山手 文至³, 斎藤 健⁴, 蔵崎 正明⁵, 嵯峨井 勝¹,
畑井 朝子²
(¹青森県立保健大学大学院 健康科学研究科, ²函館短期大学 食物栄養学科,
³大阪府立大学大学院 農学生命科学研究科, ⁴北海道大学大学院 医学研究科,
⁵北海道大学大学院 地球環境科学研究科)

応

●P-035

血清胸腺因子 FTS はセファロリジンによる腎障害を軽減する

- 幸田 祐佳¹, 松永 佳子¹, 余野木 克哉¹, 栗屋 昭², 玄番 宗一¹
(¹大阪薬科大学, ²科学技術振興事業財団)

応

●P-036

ラットを用いたアリストロキア酸の腎障害に関する検討

- 武木田 薫¹, 古宮 俊幸¹, 玉田 聡¹, 田代 孝一郎¹, 桑原 伸介¹,
藤居 亙²
(¹大阪市立大学大学院 医学研究科 ²サントリー(株))

ポスターセッション 第2会場 (麻布大学 8号館 4階 8402 講義室)

■循環器系

●P-037

薬物性血管炎の *in vitro* 評価法の検討

○周 玉¹, 白井 真紀¹, 山田 弘¹, 堀井 郁夫¹, 鈴木 宏治²

(¹ファイザー製薬(株), ²三重大学 医学部)

●P-038

薬物の hERG 電流抑制作用の評価に与える細胞外灌流液温度の影響

○米沢 恵子, 雨海 麻里子, 森田 義明, 根岸 保則, 鶴淵 裕治

(株)薬物安全性試験センター)

●P-039

摘出心筋におけるミトキサントロンの抗ムスカリン様作用

○天間 恭介¹, 中郡 昭人², 打出 毅¹, 藤森 祐紀¹, 木崎 景一郎¹,

佐々木 卓士¹, 原 幸男¹

(¹北里大学 獣医畜産学部, ²順天堂大学 医学部)

応

●P-040

心筋障害を伴う EGFP-hGHTg マウスにおける心バイオマーカー H-FABP の評価

○奈良岡 準¹, 伊藤 今日子², 齋田 美恵子², 鈴木 道江², 田畑 肇²,

内藤 邦彦¹, 東條 英昭¹

(¹東京大学大学院 農学生命科学研究科, ²山之内製薬(株))

応

●P-041

ラットの組織中及び血中心臓ホルモンの変動と心毒性の解析

○大野 理絵, 宮田 裕人, 中村 勇, 岩城 理進, 木村 正明

(大正製薬(株))

●P-042

安全性薬理の QT 評価 (*in vivo*) 試験における心電図誘導法の検討

○清水 憲次¹, 今別府 進^{2,3}, 本坊 敏保^{2,4}

(¹(株)富士バイオメディックス, ²QT PRODUCE, ³協和発酵工業(株),

⁴藤沢薬品工業(株))

●P-043

Telemetry system による覚醒モルモットの心電図 QT 間隔の評価

○阿部 純子, 塩谷 元宏, 原田 拓真, 白井 真紀, 堀井 郁夫

(ファイザー製薬(株))

●P-044

キノロン系抗菌剤の不整脈誘発性に関する麻酔下ウサギモデルを用いた検討

○秋田 恵, 柴崎 義明, 泉 政明, 平塚 一幸, 酒井 東日, 神藤 康弘

(明治製薬(株))

- P-045
麻酔モルモットにおけるQT延長薬の単相性活動電位持続時間に対する作用
 ○田保 充康, 秦 己貴子, 木村 和哉, 五十嵐 浩子, 高田 昌太郎, 岩井 毅
 (中外製薬(株))
- P-046
麻酔モルモット及び麻酔イヌの心電図に対する抗不整脈薬の比較検討
 ○板野 泰弘, 中原 千穂, 太田 幹雄, 岸本 直, 宇野 洋
 (帝人(株))
- P-047
麻酔イヌのペーシング刺激下におけるQT延長薬の作用
 ○秦 己貴子, 田保 充康, 岩井 毅, 五十嵐 浩子, 高田 昌太郎, 木村 和哉
 (中外製薬(株))
- P-048
ゼブラフィッシュ胚中脳背側部におけるダイオキシン誘発性アポトーシスにおけるチトクローム P450 1A の関与
 ○董 武¹, 辻本 和義¹, 岩佐 浩行¹, ジョン スティグマン²,
 リチャード ピーターソン³, 寺岡 宏樹¹, 平賀 武夫¹
 (¹酪農学園大学 獣医学部, ²ウッズホール海洋研究所, ³ウイスコンシン大学)
- P-049
ダイオキシンによる循環障害におけるチトクローム P450 1A の役割
 ○寺岡 宏樹¹, 董 武¹, 岩佐 浩行¹, 辻本 和義¹, ジョン スティグマン²,
 リチャード ピーターソン³, 平賀 武夫¹
 (¹酪農学園大学 獣医学部, ²ウッズホール海洋研究所, ³ウイスコンシン大学)

■神経系

- P-050
フロン代替溶剤 1-ブロモプロパンの中樞神経作用
 ○本間 健資, 須田 恵, 川井 さゆり, 倉持 光利, 神保 雅, 辻村 祐佑
 ((独行)産業医学総合研究所)
- P-051
ラット胎生期 5-bromo-2'-deoxyuridine 暴露による行動異常
 ○森島 昭彦¹, 折戸 謙介¹, 小川 哲郎², 宗岡 克政², 桑形 麻樹子³,
 白井 明志¹, 赤堀 文昭¹
 (¹麻布大学 獣医学部, ²昭和大学 医学部, ³(財)食品薬品安全センター)

応

- P-052
白色LED光源一体型電極を利用したビーグル犬におけるFull-Field ERGの検討
 ○佐々木 正治, 山下 晴洋, 八木 久美子, 中村 勇, 岩城 理進, 木村 正明
 (大正製薬(株))

●P-053

モルヒネ身体依存における N-メチル-D-アスパラギン酸受容体の役割

- 鍋島 俊隆¹, Hamdy Moustafa M.², 永井 拓¹, 宮崎 雅之¹, 野田 幸裕¹
(¹名古屋大学大学院 医学系研究科, ²Assiut University, Graduate School of Medicine)

●P-054

Ultrastructure in crushed the unmyelinated nerve fiber of streptozotocin-induced diabetic rats

- 谷口 雄三, 菊森 幹人, 古川 茂典, 守永 太賀彦, 六角 香, 藤井 登志之, 西森 司雄
(株)環境バイリス研究所)

●P-055

マウスにおける N-methyl-N-nitrosourea の小頭症誘発作用の用量-作用関係

- 小林 晴男, 野田 大史, ホサイン ムバラク, 鈴木 忠彦, 佐藤 至, 鈴木 幸一
(岩手大学 農学部)

●P-056

農薬の神経毒性試験における陽性対照物質-トリメチル錫及びDDTの毒性評価

- 石嶺 さやか, 首藤 康文, 藤江 秀彰, 松本 力, 林 宏一, 高橋 尚史, 桑原 真紀, 小坂 忠司, 原田 孝則
(財)残留農薬研究所)

●P-057

農薬の神経毒性試験における陽性対照物質-カルバリル及びアクリルアミドの毒性評価

- 首藤 康文, 石嶺 さやか, 藤江 秀彰, 松本 力, 亀坂 泰正, 高橋 尚史, 桑原 真紀, 原田 孝則
(財)残留農薬研究所)

●P-058

ラットの Schedule-Controlled Operant Behavior (SCOB)を用いた PCB153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl) 出生前曝露の認知・行動影響評価

- 宮川 宗之, 王 瑞生, 小林 健一, 須田 恵, 関口 総一郎, 本間 健資
(独行)産業医学総合研究所)



●P-059

Quantitation of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and homovanillic acid in MPTP-treated marmosets using a validated HPLC method

- モート トーマス, コールター グレグ, 亀之園 剛, メイヤー スチーブン, 福崎 好一郎, 永田 良一
(SNBL USA, Ltd.)

■内分泌系

●P-060

カニクイザルにおける各種ホルモン・サイトカイン等内因性物質のバックグラウンドデータ

- 高原 利夫, 矢崎 光好, 泉 知博, 帖佐 敏, 森川 陽子, 諸正 晋郎,
野村 達希, 大関 絃美
(株)新日本科学)

●P-061

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

- 浅野 和信¹, 立木 里奈¹, 小野 敦², 橋本せつ子¹, 井上 達², 菅野 純²
(¹ピアコア(株), ²国立医薬品食品衛生研究所)

●P-062

エストロゲンによる Ras ファミリーの遺伝子発現調節

- 加藤 英男¹, 太田 康彦^{2,4}, 勝 義直^{3,4}, 渡邊 肇^{3,4}, 井口 泰泉^{3,4}
(¹(株)日本バイオリサーチセンター, ²鳥取大学 農学部, ³岡崎国立共同研究機構,
⁴科学技術振興事業団 CREST)

●P-063

幼若雌性ラットの子宮におけるエストロゲン応答遺伝子の発現に及ぼすエチニルエストラジオールの影響

- 片山 誠一^{1,2}, 芦沢 幸二², 永井 賢司³
(¹(株)三菱化学安全科学研究所, ²鹿児島大学大学院 連合農学研究科,
³宮崎大学 農学部)

●P-064

レポーター遺伝子アッセイ法を用いた human estrogen receptor α 、 β の反応性の比較

- 武吉 正博¹, 久我 直子¹, 高月 峰夫¹, 山崎 寛治¹, 伊東 信行²
(¹(財)化学物質評価研究機構, ²名古屋市立大学 医学部)

●P-065

オクチルフェノールのラット新生子期曝露が卵巣に与える影響

- 吉田 緑, 片嶋 紗弓, 前川 昭彦, 中江 大
(財)佐々木研究所)

●P-066

Kanechlor-500 (KC500)の血清中甲状腺ホルモン濃度低下作用における動物種差と血中甲状腺ホルモン濃度低下作用機序

- 加藤 善久¹, 伊藤由里子¹, 山崎 友朗¹, 藤井 亜紀¹, 生城 真一²,
原口 浩一³, 井柳 堯², 出川 雅邦¹, 木村 良平¹
(¹静岡県立大学 薬学部, ²姫路工業大学 理学部, ³第一薬科大学 健康化学教室)

応

●P-067

2, 2', 4', 5, 5'-pentachlorobiphenyl (PentaCB)及び 2, 2', 3', 4', 5, 6-hexachlorobiphenyl (HexaCB)の血中甲状腺ホルモン濃度低下作用における動物種差

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

(¹静岡県立大学 薬学部, ²第一薬科大学 健康化学教室, ³姫路工業大学 理学部)

●P-068

ラットにおけるノンブラナー型 PCB の出生前曝露が産子の体成長及び甲状腺に及ぼす影響

○小林 健一¹, 宮川 宗之¹, 王 瑞生¹, 須田 恵¹, 関口 総一郎¹,
渡部 すみ子^{1,2}, 本間 健資¹

(¹[独]産業医学総合研究所, ²杏林大学 医学部)

■血液系

●P-069

発がんの分子抑制：酸化ストレス緩和モデルマウスによるベンゼン誘発白血病の抑制

○平林 容子¹, 川崎 靖¹, 淀井 淳司², 李 光勲¹, 尹 秉一¹, 金子 豊蔵³,
黒川 雄二⁴, 長尾 拓¹, 菅野 純¹, 井上 達¹

(¹国立医薬品食品衛生研究所, ²京都大学 ウイルス研究所,

³台湾国家薬物安全評価監視中心, ⁴(財)佐々木研究所)

●P-070

Platelet aggregation in cynomolgus monkeys-Part 3

○岡崎 啓幸, 森 康男, メイヤー スチーブン, 福崎 好一郎, 永田 良一
(SNBL USA, Ltd.)

応

●P-071

イヌとラットにおける PT と APTT 短縮機序の検討 (*in vitro*) : PT 及び APTT 短縮に関するフィブリノゲンの影響

○笹山 由紀子, 山崎 尚子, 北澤 郁恵, 倉田 昌明, 濱田 悦昌, 堀井 郁夫
(ファイザー製薬(株))

●P-072

ラットにおける肝薬物代謝酵素誘導時の血液凝固系への影響

○黒岩 有一, 望月 雅裕, 山本 諭, 岡村 俊也, 池谷 政道, 島山 和久,
寺田 あゆみ, 岡崎 修三

([株]ボソリサーチセンター)

●P-073

カニクイザルにおける血液中組織因子 (TF) 活性測定法の検討

○野口 規子, 難波 美保, 渡辺 亮介, 桜井 貴之, 長谷川 妙子, 小田部 耕二,
小泉 妙子, 渡部 一人

(中外製薬(株))

応

●P-074

ヒト用ラテックス凝集試薬キットを用いたラットとイヌの血漿 D-dimer 測定について

○山崎 尚子, 笹山 由紀子, 北澤 郁恵, 倉田 昌明, 濱田 悦昌, 堀井 郁夫
(ファイザー製薬(株))

応

●P-075

ラットの血液・骨髄検査値に及ぼす摂餌量減少の影響とその週齢差

○浅沼 富美子¹, 宮田 裕人¹, 吉野 佳子¹, 多田 美佳¹, 中村 勇¹,
岩城 理進¹, 木村 正明¹, 松本 清可²
(¹大正製薬(株), ²信州大学)

●P-076

実験動物の ALP 測定の標準化

○島山 和久¹, 川鍋 剛², 木村 敬³, 山本 光雄⁴, 久保野勝男⁵,
小田部 耕二⁶, 野村 護⁷, 菰田 二一⁸
(¹(株)ボゾリサーチセンター, ²(株)ヘレナ研究所, ³トーアエイヨー(株),
⁴協和発酵工業(株), ⁵(株)エスアールエル, ⁶中外製薬(株), ⁷第一製薬(株),
⁸埼玉医科大学)

■免疫・アレルギー系

●P-085

薬物によるアレルギー発現機序の研究 第 27 報 - T7Select Phage Display System を用いた Carrier Protein のスクリーニング法の確立 -

○齋藤 博, 亀井 好美, 戸田 晶久, 繪柳 玲子, 重松 秀成
(第一薬科大学 薬学部)

7月20日(日)

ポスターセッション 第1会場(麻布大学8号館5階8502講義室)

■免疫・アレルギー系

●P-077

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：
一次刺激性物質、免疫賦活物質による細胞表面マーカー発現の違い

○井上 智彰、小林 和子
(中外製薬(株))

●P-078

Immune system assessment on fetus, neonate and juvenile of cynomolgus monkeys

○岡崎 啓幸、コンドン ウィリアム、コールター グレック、
ジャバー ジェイコブ、クライン リチャード、メルトン ロバート、
メイヤー スチープン、福崎 好一郎、永田 良一
(SNBL USA, Ltd.)

応

●P-079

カニクイザルの末梢血中リンパ球サブセットの評価方法

○今井 統隆、福田 剛司、中村 隆広、和泉 博之、鮫島 秀暢、永田 良一
(株)新日本科学)

●P-080

ラット末梢血リンパ球タイピングによる免疫抑制作用の検討：DMBA、ベンゼン、EGME 投与ラット末梢血を用いた基礎検討

○垣内 智子、三浦 大志郎、飯島 剛、尾形 昭子、城之内 公子、楠 知恵、
小原 さち子、笠原 義典、宇野 洋
(帝人(株))

●P-081

Vincristine(VCR)、cyclophosphamide(CP)及び 5-fluorouracil(5-FU)によるラット造血免疫系の障害及び回復性の比較

○森本 秀樹、柴田 誠司、谷藤 久人、長崎 修治、見上 崇、久田 茂
(帝国臓器製薬(株))

●P-082

Vincristine(VCR)、cyclophosphamide(CP)及び 5-fluorouracil(5-FU)の単回投与後における脾臓及び末梢血のリンパ球サブセット数の変化

○柴田 誠司、森本 秀樹、谷藤 久人、長崎 修治、福井 規雄、大坪 朱徳、
見上 崇、久田 茂
(帝国臓器製薬(株))

●P-083

Assessment of the primary antibody response to hemocyanin from keyhole limpet in Sprague-Dawley rat and cynomolgus monkey.

○ルソトー リン、ルロウ ナタリー、デジレ ジネット、
ジョン・バプティスト ジョアン、リフォン レネ
(CTBR Bio-Research Inc., Canada)

●P-084

Comparison of the allergenic potency of HCA and MBT in six strains mice in murine local lymph node assay (LLNA)

○Ullmann Ludwig

(RCC Ltd Toxicology Division, Switzerland)

■発生・性殖

●P-086

**合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究7:
合成卵胞ホルモン剤の男性化発現における構造活性**

○大田 泰史, 石井 三和子, 吉長 和幸, 和泉 宏幸, 木村 栄介, 吉田 龍二,
北里 光江, 島津 伸也, 花田 真矢, 米原 裕子, 樋口 剛史, 古川 浩美,
平塚 秀明, 川島 邦夫

(株)パナファーム・ラボラトリーズ)

●P-087

**合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究8:
testosterone propionate の雌胎児直接投与による男性化に及ぼす胎児断頭の影響**

○和泉 宏幸, 吉田 龍二, 島津 伸也, 花田 真矢, 米原 裕子, 吉長 和幸,
木村 栄介, 大田 泰史, 北里 光江, 樋口 剛史, 古川 浩美, 平塚 秀明,
川島 邦夫

(株)パナファーム・ラボラトリーズ)

●P-088

**Evaluation of developmental toxicity and placental transfer of the new
fluoroquinolone DW-116 in rats**

○キム 鍾春¹, 尹 孝仁², キム 亨津³, 鄭 文九⁴, 申 東虎¹

(¹大韓民国 全南大学校 獣醫科大學, ²大韓民国 忠南大学校 獣醫科大學,

³大韓民国 生命工學 Research Institute, ⁴大韓民国 安全性評價 Research Institute)

応

●P-089

**生殖発生毒性を有する methyl methanesulfonate による酸化的ストレス応答
タンパク質の誘導**

○芦野 隆¹, 大石 昌子¹, 安富祖文香¹, 小沢 重成², 沼澤 聡¹,
吉田 武美¹

(¹昭和大学 薬学部, ²キッセイ薬品工業(株))

●P-090

ジブチルスズによるラットにおける着床阻害に対するプロゲステロンの効果

○江馬 眞, 原園 景, 広瀬 明彦, 鎌田 栄一

(国立医薬品食品衛生研究所)

●P-091

ラット妊娠初期に投与した塩化トリブチルスズの着床阻害作用

○原園 景, 江馬 眞

(国立医薬品食品衛生研究所)

●P-092

ラット培養胎児における難燃剤テトラブロモビスフェノールAの影響(第2報):
組織学的検討

- 秋田 正治¹, 清水 茂一², 野崎 義弘², 横山 篤^{3,4}
(¹鎌倉女子大学 家政学部, ²(株)富士バイオメディックス,
³神奈川生命記念財団 付属研究所, ⁴IETC)

●P-093

ビスフェノールA投与が初期鶏胚の発生に及ぼす影響

- 鈴木 勝士, 斉藤 賢一, 小山 絵理子, 竹中 基郎, 八木 美央, 鈴木 浩悦
(日本獣医畜産大学 獣医学部)

●P-094

ビスフェノールAによる内分泌かく乱作用のリスクアセスメント

- 広瀬 明彦, 江馬 眞, 鎌田 栄一, 小泉 睦子, 長谷川 隆一
(国立医薬品食品衛生研究所)

●P-095

2,4-ジニトロフェノールのラットにおける雄性生殖毒性

- 高橋 研, 北條 仁, 青山 博昭, 寺本 昭二
(財)残留農薬研究所)

●P-096

2, 2', 4, 4', 5, 5' -Hexachlorobiphenyl (PCB153) 出生前曝露がラットの性ホルモン
代謝に及ぼす影響

- 王 瑞生¹, 渡部 すみ子^{1,2}, 宮川 宗之¹, 小林 健一¹, 須田 恵¹,
関口 総一郎¹, 本間 健資¹
(¹(独)産業医学総合研究所, ²杏林大学 医学部)

●P-097

Fenitrothion のラットにおける一世代繁殖毒性試験

- 岡橋 典子¹, 宮田 かおり¹, 佐野 真士², 今井 則夫², 堤 友子²,
戸田 庸介², 樋口 敏浩¹, 紙田 祐介¹, 関 高樹¹
(¹住友化学工業(株), ²(株)大雄会医科学研究所)

●P-098

直流磁場照射がマウス胎子に及ぼす奇形作用

- 斉藤 賢一, 鈴木 浩悦, 鈴木 勝士
(日本獣医畜産大学 獣医学部)

■薬物代謝

応

●P-099

ヒト CYP1B1 の細胞特異的な発現制御機構

- 柴原 憲仁
(北海道大学大学院 薬学研究科)

応

- P-100
トランスポーターを介した肝取り込み過程で生じる薬物間相互作用
○設楽 悦久¹, 平野 雅², 佐藤 均¹, 杉山 雄一²
(¹昭和大学 薬学部, ²東京大学大学院 薬学系研究科)

応

- P-101
ビスフェノール A と多環芳香族炭化水素によるヒト CYP1A1 遺伝子の発現誘導
○斎藤 鉄也¹, 日景 盛², 本郷 敏雄³, 坂口 邦彦²
(¹北海道大学 薬学部, ²北海道医療大学 歯学部, ³東京医科歯科大学 分子情報)

- P-102
マウス肝における CYP1A2 誘導に伴うウロポルフィリン生成の制御機構：鉄による効果
○中野 賢司, 石塚 真由美, 数坂 昭夫, 藤田 正一
(北海道大学 獣医学部)

- P-103
アネトールの代謝・毒性とエストロゲン様活性
○中川 好男, 鈴木 俊也
(都立衛生研究所)

- P-104
抗菌剤フラゾリドンとその代謝物が肝薬物代謝酵素系に与える影響
○佐々木 信夫, 松本 智之, 石塚 真由美, 数坂 昭夫, 藤田 正一
(北海道大学大学院 獣医学研究科)

- P-105
活性窒素種によるミクロソームグルタチオン S-トランスフェラーゼの活性化
○今泉 直樹, 安仁屋 洋子
(琉球大学大学院 保健学研究科)

■トキシコキネティクス

- P-106
トキシコキネティクスのデータを用いた非線形動態の解析
北條 隆男
((財)日本生物科学研究所)

■活性酸素

●P-107

Dual distinct effects of HEMF, a flavor component of soy sauce on benzo [a] pyrene-induced back-mutation in *Salmonella typhimurium*

○Suzuki Tadahiko¹, Kumagai Miyuki¹, Tssusumi Ken-ichi², Sugawara Etsuko³, Sato Itaru¹, Saigo Kazuhiko⁴, Nagata Ryoichi⁴, Kobayashi Haruo¹

(¹ Facul. Agricul. Iwate University, ² Cryobiosys. Res. Center, Facul. Agricul., Iwate Univ., ³ Facul. Educ., Iwate Univ., ⁴ SNB Lab., Ltd.)

●P-108

臭素酸カリウムのラット腎発がん過程に対する酸化ストレスの関与

○梅村 隆志, 神吉 けい太, 北村 泰樹, 今沢 孝喜, 長谷川 隆一, 西村 哲治, 西川 秋佳, 広瀬 雅雄

(国立医薬品食品衛生研究所)

■細胞毒性

●P-109

新規な3次元培養ラット肝細胞の開発

○山口 達哉¹, 石橋 卓也¹, 中澤 浩二², 船津 和守³

(¹ (株)TM セルリサーチ, ² 北九州市立大学 国際環境工学部, ³ 九州大学 工学研究院)

●P-110

Comparison of comet assay *in vivo* in different organs of the rat and the UDS test *in vivo* in rat hepatocytes

Poth Albrecht

(RCC Cytotest Cell Research GmbH, Germany)

■変異原性

●P-111

Ames miniscreen assay 及び *in vitro* micronucleus test を用いる遺伝毒性初期評価法の有用性の検討

○谷藤 久人, 長崎 修治, 久田 茂

(帝国臓器製薬(株))

●P-112

Bioluminescence Ames assay による変異原性評価

○林 利彰, 永井 良和, 山田 弘, 堀井 郁夫

(ファイザー製薬(株))

●P-113

5-Fluorouracil の遺伝毒性に対するマウスリンフォーマ, TK6 及び WTK-1 細胞における感受性の差について

○岡 宏昭¹, 池田 和正¹, 吉村 宏美¹, 大内田 昭信¹, 本間 正充²

(¹ 大鵬薬品工業(株), ² 国立衛生研究所)

- P-114
染色体数的異常誘発物質 vincristine 及び K252a の CHL 細胞における染色体数
及び DNA 量に対する比較検討
○高瀬 淳, 谷口 薫, 古賀 万理, 遠乗 弘美, 中井 康晴, 山中 義弘,
笠原 義典, 宇野 洋
(帝人(株))
- P-115
超生体染色による簡便な *in vitro* 小核試験
○中川 宗洋¹, 齋藤 宏美¹, 堀 一成¹, 佐々木 有²
(¹(株)三菱化学安全科学研究所, ²八戸工業高等専門学校)
- P-116
間接変異原による DNA 損傷と小核の誘発の比較検討
○奥谷 冴子, 佐々木 有
(八戸工業高等専門学校)
- P-117
タール系合成食用色素によるマウス消化管における DNA 損傷と小核の誘発の比較
検討
○横濱 奈津江¹, 佐々木 有¹, 津田 修治²
(¹八戸工業高等専門学校, ²岩手大学 農学部)
- P-118
マウス及びラットの腺胃で誘発される細胞死がコメットアッセイによる遺伝毒性
検出に及ぼす影響
○和田 栄子¹, 佐々木 有¹, 長岡 有紀², 葛西 靖広², 船生 志乃²,
川口 雅子²
(¹八戸工業高等専門学校, ²日研化学安全性研究所)

ポスターセッション 第2会場 (麻布大学 8号館 4階 8402 講義室)

■発癌性

応

●P-119

N-ethyl-N-nitrosourea で誘発した ICR 及び **rasH2** マウスにおける **ethinylestradiol** の相反した子宮発癌修飾作用

○渡邊 隆夫¹, 櫻田 陽子¹, 上田 誠², 小野寺 博志², 広瀬 雅雄², 三森 国敏¹

(¹東京農工大学 農学部, ²国立医薬品食品衛生研究所)

●P-120

Amitrole によるラット甲状腺発がん促進作用に対する臓器障害の影響

○瀧澤 保, 今井 俊夫, 上田 誠, 小野瀬 淳一, 蓮村 麻衣, 広瀬 雅雄

(国立医薬品食品衛生研究所)

●P-121

カロテノイド系食用天然色素であるアナトー色素のラット中期肝発がん性試験での非発がん促進作用

○今井 則夫¹, 萩原 昭裕¹, 土井 悠子¹, 難波江 恭子¹, 廣田 毅¹, 河部 真弓¹, 津嶋 容子², 小川 洋一², 青木 宏光², 安原 加壽雄², 香田 隆俊², 中村 幹雄^{2,3}, 白井 智之³

(¹(株)大雄会医科学研究所, ²三栄源エフ・エフ・アイ(株),

³名古屋市立大学大学院 医学研究科)

●P-122

非遺伝子傷害性肝発がん物質を長期間投与したラット肝臓での発現変動遺伝子のプロファイリング

○渋谷 淳, 井上 弘子, 高木 広憲, 加藤 奈津美, 幸 京烈, 有村 卓朗, 畠山 智香子, 瀧上 周, 広瀬 雅雄

(国立医薬品食品衛生研究所)

応

●P-123

p53 ノックアウト(KO)マウスの化学物質誘発癌に対する臓器依存的感受性

○白井 紀充¹, 飯高 健¹, 塚本 徹哉², 堀井 郁夫¹, 立松 正衛²

(¹ファイザー製薬(株), ²愛知県がんセンター研究所)

応

●P-124

Phenobarbital の低用量域ラット肝発がん性: ホルミシスの存在

○木下 アンナ, 森村 圭一朗, 鵜淵 英機, プアタナチョックチャイ ラウィワン, 福島 昭治

(大阪市立大学大学院 医学研究科)

応

●P-125

F344 ラットと **p53(+/-)** ノックアウトマウスにおける **dimethylarsinic acid** の発癌性, 遺伝子変化と DNA 損傷の関係

○サリム エリサイド, 鵜淵 英機, 魏 民, 森村 圭一朗, 福島 昭治

(大阪市立大学大学院 医学研究科)

●P-126

がん原性試験に用いる遺伝子改変マウスの生物学的特性に関する研究

- 鈴木 修三¹、浦野 浩司¹、日置 恭司¹、菊地 宏治^{1,2}、福嶋 章義^{1,2}、
服部 祐二¹、吉村マスミ¹、澤 延子¹、田辺 亜希子^{1,2}、江口 奈津子¹、
野村 達次¹、臼居 敏仁¹

(¹) (財) 実験動物中央研究所, (²) (株) ジェー・エー・シー)

●P-127

ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 (CB6F1-TgrasH2) マウスの背景データ

- 浦野 浩司¹、福嶋 章義^{1,2}、菊地 宏治^{1,2}、吉村 マスミ¹、澤 延子¹、
江口 奈津子¹、田辺 亜希子^{1,2}、服部 祐二¹、鈴木 修三¹、臼居 敏仁¹

(¹) (財) 実験動物中央研究所, (²) (株) ジェー・エー・シー)

●P-128

CB6F1-TgrasH2 マウスに対する投与経路及び溶媒の影響

- 江口 奈津子¹、浦野 浩司¹、福嶋 章義^{1,2}、菊地 宏治^{1,2}、田辺 亜希子^{1,2}、
吉村 マスミ¹、澤 延子¹、西中 栄子^{1,2}、伊東 学^{1,2}、服部 祐二¹、
鈴木 修三¹、臼居 敏仁¹

(¹) (財) 実験動物中央研究所, (²) (株) ジェー・エー・シー)

■トキシコゲノミクス・トキシコプロテオミクス

応

●P-129

DNA マイクロアレイによるパラコート誘発ラット肺線維症の遺伝子発現解析

- 里見 嘉英¹、土屋 若奈¹、山中 義弘¹、宇野 洋¹、赤堀 文昭²

(¹) 帝人 (株), (²) 麻布大学 獣医学部)

応

●P-130

Sulfasalazine 投与によるラット精巣及び精巣上体における遺伝子発現への影響

- 福島 民雄¹、加藤 真之¹、堀本 政夫¹、浜田 悦昌¹、足達 哲也²、
小宮山 政敏²、森 千里²、堀井 郁夫¹

(¹) ファイザー製薬 (株), (²) 千葉大学大学院 環境生命医科学研究室, (³) 大阪府立大学
先端科学研究所)

●P-131

DNA マイクロアレイを用いたラットへの phenobarbital 及び 3-methylcholanthrene
投与後の遺伝子発現解析

- 稲垣 成憲、島田 寿久、川口 友和、村田 共治

((財) 食品農医薬品安全性評価センター)

応

●P-132

Phenobarbital あるいは clofibrate 投与により惹起されるラット肝臓遺伝子発現
変動に週齢差が及ぼす影響

- 清沢 直樹、伊藤 和美、佐久間 恭子、上堀 美幸、新野 訓代、矢本 敬、
真鍋 淳

(三共 (株))

- P-133
フェノバルビタールによる遺伝子発現の用量相関性：3次元構造基盤マイクロアレイシステムを用いた解析

○廣田 毅¹，市原 敏夫¹，今井 則夫¹，玉野 静光¹，朝元 誠人²，
外岩戸 尚美²，白井 智之²
(¹(株)大雄会医科学研究所，²名古屋市立大学大学院 医学研究科)

応

- P-134
ANIT (α -naphthylisothiocyanate)誘発肝障害及び PAN (puromycin aminonucleoside) 誘発腎障害発症ラットの尿のメタボノミクス解析

○樹富 直哉¹，森 美恵²，大堀 祐司²，清水 俊敦¹，井上 芳巳¹，
坂入 鉄也¹，杉本 次郎¹，務台 衛¹
(¹三菱ウェルファーマ(株)，²(株)三菱化学安全科学研究所)

応

- P-135
Puromycin aminonucleoside (PAN) 投与ラット腎糸球体における酸化ストレス関連遺伝子の発現上昇

○清水 俊敦，樹富 直哉，坂入 鉄也，井上 芳巳，島田 奈央子，浜野 宝子，
杉本 次郎，務台 衛
(三菱ウェルファーマ(株))

応

- P-136
ミトコンドリア障害時にラット初代培養肝細胞に誘発される遺伝子発現変動の解析

○島田 奈央子，樹富 直哉，清水 俊敦，浜野 宝子，務台 衛
(三菱ウェルファーマ(株))

- P-137
Adaptor-tagged competitive PCR (ATAC-PCR)法を用いたラット初代肝細胞培養系での遺伝子発現変動の評価

○富澤 香織，山田 弘，堀井 郁夫
(ファイザー製薬(株))

応

- P-138
多環芳香族炭化水素による脂質代謝異常の発現機構の分子レベルでの解明

○糠谷 学¹，高橋 芳樹¹，斎藤 鉄也¹，Frank J Gonzalez²，鎌滝 哲也¹
(¹北海道大学大学院 薬学研究科，²NCI)

- P-139
アセトアミノフェン及びサイクロヘキサミドを投与した F344 ラットの肝臓における遺伝子発現の変動

○伊藤 和美，清沢 直樹，佐藤 隆之，佐久間 恭子，上堀 美幸，新野 訓代，
矢本 敬，真鍋 淳
(三共(株))

応

- P-140
アセトアミノフェンによるラットの遺伝子発現変動の検討

○南 圭一¹，小林 朋¹，齋藤 俊郎²，奈良原 正俊²，富田 裕之²，
加藤 宏一²，杉山 寿²，横井 毅¹
(¹金沢大学 薬学部，²(株)日立製作所)

応

●P-141

ストレプトゾトシン投与マウス肝における遺伝子発現プロファイル：
DNA マイクロアレイ解析

- 久米 英介¹，高橋 芳¹，有賀 千浪¹，三輪 恵子¹，鳥海 亘¹，
北村 和之¹，土井 邦雄²
(¹田辺製薬(株)，²東京大学大学院 農学生命科学研究科)

●P-142

T-2 toxin 投与の妊娠ラット肝臓、胎盤及び胎子肝臓における遺伝子発現

- 瀬畑 信哉¹，清沢 直樹²，佐久間恭子²，伊藤 和美²，矢本 敬²，
寺西 宗広²，上塚 浩司¹，中山 裕之¹，土井 邦雄¹
(¹東京大学大学院 農学生命科学研究科，²三共(株))

●P-143

プロテオーム解析による肝毒性マーカータンパク質の探索

- 山本 利憲，木羽 明恵，山田 弘，堀井 郁夫
(ファイザー製薬(株))

●P-144

Applying predictive toxicogenomic markers to screen compounds for liver toxicity

- Makoto Yoshioka, Rininger Joseph, Oswald Crasta, Marc Decristofaro,
Darius Dziuda, Robert Gerwien, Kenneth Hershman, Craig Hyde, Traci Mansfield,
Michael McKenna
(Pharmacogenomics Cura Gen Corporation, USA)

応

●P-145

低カルシウム血症白内障モデルラットのレンズにおける包括的遺伝子解析

- 鈴木 睦，宮原 真紀，佐藤 泰子，山口 格，川原 潤一
(キリンビール(株))

●P-146

実験肉芽組織内血管新生に関するマイクロアレイ解析法を用いた予備的検討

- 武藤 朋子¹，金井 好克¹，和久井 信²，遠藤 仁¹
(¹杏林大学 医学部，²麻布大学 獣医学部)

●P-147

ラットにおける尿蛋白 profiling 解析の基礎検討：加齢性変化について

- 古塚 正幸，田畑 肇，齊田 美恵子，三枝 由紀恵，梶川 悟
(山之内製薬(株))

■試験法

●P-148

強化効果検索のためのサル短期薬物自己投与実験法の検討

- 藤原 淳，若狭 芳男，佐々木 幹夫，飯野 雅彦，星野 満，大塚 貴弘，
柳田 知司
(株)イナ リサーチ)

- P-149
ビーグルにおける脊椎くも膜下腔内投与
 ○春山 恵美子, 樺山 浩二, 橋元 正吾, 佐竹 茂, 角埜 英志, 鮫島 秀暢
 (株)新日本科学)
- P-150
Microdosing a new approach to reduce drug development time and costs
 ○テン ベルグ ロナルド¹, フリーリング ウィルバート¹, 細川 説子²
 (¹NOTOX B.V. Netherlands, ²NOTOX JRO, Japan)
- P-151
ラット経口投与におけるテフロンソンの有用性
 ○吉川 理恵, 塩谷 元宏, 浜田 悦昌, 堀井 郁夫
 (ファイザー製薬(株))
- P-152
2-クロロフェノールの新生児及び若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討
 ○本田 久美子¹, 緒方 英博¹, 古川 浩美¹, 和泉 宏幸¹, 小泉 綾子²,
 鎌田 栄一², 江馬 真², 長谷川 隆一²
 (¹(株)パナファーム・ラボラトリーズ, ²国立医薬品食品衛生研究所)
- P-153
Ethinyl estradiol の子宮内・経乳汁暴露によるラット系統間の比較
 ○野田 修志¹, 室井 貴子¹, 佐脇 正邦¹, 三苫 秀雄¹, 高倉 サオリ¹,
 高月 峰夫¹, 山崎 寛治¹, 伊東 信行²
 (¹(財)化学物質評価研究機構, ²名古屋市立大学 医学部)
- P-154
Validation and application of enzyme linked immuno-sorbent assays (ELISAs) for quantification of toxicology parameters in cynomolgus monkey
 ○リー ビョンリユル, ステファン ネイチェフ, 尾根田 暁, 亀之園 剛, 千早 豊,
 スチーブン メイヤー, 福崎 好一朗, 永田 良一
 (SNBL USA, Ltd.)
- P-155
Validation of the hersherberger assay in peripubertal orchidopididymectomized rats
 ○ナップ ジョン, スタンプ ドナルド, パーショ ベネット,
 ネメック マーク, フォルソン ジョセフ, チェンゲリス クリストファー
 (米国 ウィル リサーチ ラボラトリー インク)
- P-156
ダイオキシン簡易測定法によるオメプラゾールのCYP1A1誘導能ならびにAh受容体結合能に関する評価
 ○小林 充¹, 里見 嘉英^{1,2}, 土屋 若奈¹, 西沢 紫乃¹, 山中 義弘¹,
 宇野 洋¹, 赤堀 文昭²
 (¹帝人(株), ²麻布大学 獣医学部)

●P-157

免疫比濁法を用いた実験動物の尿中アルブミン測定法の評価

○豊田 直人¹、井上 芳巳²、木村 敬³、池田 宗弘⁴、中間 和浩⁵、

平田 真理子⁶、柴田 雅美⁷、小田部 耕二⁸、野村 護⁹

(¹ (株)三菱化学安全科学研究所, ²三菱ウェルファーマ(株), ³トーアエイヨー(株),

⁴キリンビール(株), ⁵(株)新日本科学, ⁶(株)化合物安全性研究所, ⁷日研化学(株),

⁸中外製薬(株), ⁹第一製薬(株))

●P-158

無麻酔無拘束モルモットによるカプサイシン誘発呼吸機能パラメータ変化に対する
リン酸コデインの抑制作用

○馬 成俊、林田 晴美、今泉 真和、直 弘、飯塚 宏美

((株)バナファーム・ラボラトリーズ)

●P-159

安全性薬理試験における呼吸機能評価法に関するアンケート調査報告

○豊島 茂樹、越智 誠支、島田 千明、林 直之、前田 一葉、森 智博、

矢野 浩二、安東 賢太郎、門田 利人、松澤 利明

(日本製薬工業協会 医薬品評価部会)

■統計解析・その他

●P-160

The marmoset (*Callithrix jacchus*) as a primate model in toxicology:

The Covance experience

○Gerhard Weinbauer (Covance Laboratories GmbH USA)

●P-161

相対臓器重量による判定と共分散分析を用いた絶対臓器重量による判定の比較
シミュレーション

○大村 実

(九州大学大学院 医学研究院)

●P-162

STA 安全性薬理試験ガイドライン運用法に関するアンケート調査報告(1):

実験項目について

○久保田 訓世、市坪 達也、浦野 陽介、岡谷内 博、小川 ちさと、奥村 誠、

笠原 憲一、桑 悦子、今田 智之、齋藤 守、清水 賢治、田中 祥貴、

中村 正平、平野 文也、福田 均、本坊 敏保、安東 賢太郎、門田 利人、

松澤 利明

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

●P-163

S7A 安全性薬理試験ガイドライン運用法に関するアンケート調査報告（2）：

GLP 対応について

- 福田 均，市坪 達也，浦野 陽介，岡谷内 博，小川 ちさと，奥村 誠，
笠原 憲一，久保田 訓世，桑 悦子，今田 智之，斎藤 守，清水 賢治，
田中 祥貴，中村 正平，平野 文也，本坊 敏保，安東 賢太郎，門田 利人，
松澤 利明

（日本製薬工業協会 医薬品評価委員会）

■ 市民公開セミナー

■ 第2回市民公開セミナー 7月18日(金) 17:30~20:00

「健康はみんなの願い、食の安全を考えよう！」

主催：日本トキシコロジー学会

後援：相模原市教育委員会

オーガナイザー 仮家 公夫（神戸学院大学 薬学部）

真板 敬三（(財)残留農薬研究所）

●C-1

「はじめに」

真板 敬三（(財)残留農薬研究所）

●C-2

「食品衛生法と食の安全」

中垣 俊郎（厚生労働省 医薬局）

●C-3

「農薬ってなに、危ないの？」

青山 博昭（(財)残留農薬研究所）

●C-4

「食品添加物の安全性は？」

村田 共治（(財)食品農医薬品安全性評価センター）

●C-5

「遺伝子組み替え食品は安全だろうか？」

三瀬 勝利（医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構）

●C-6

「食材の中毒あれこれ」

福本 真理子（北里大学 薬学部）

●C-7

「健康・機能性食品の安全性は？」

堀 美智子（医薬情報研究所/(株)エス・アイ・シー）

●C-8

「質疑」

仮家 公夫（神戸学院大学 薬学部）

■ 「おくすり」なんでも相談 7月18日(金) 16:30~19:30

オーガナイザー 堀 美智子（医薬情報研究所/(株)エス・アイ・シー）

渡辺 睦子（神奈川県女性薬剤師会）

■ パネルディスカッション

■ 7月19日（土）15:45～17:45

「Assays, methodologies and risk assessment of endocrine disruptors in relation to product development」

オーガナイザー 佐藤 哲男（千葉大学）

● PD-1

「内分泌かく乱化学物質の試験法スキーム」

菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所）

● PD-2

「Assessment of ovarian toxicity of chemicals in infantile rats」

代田 眞理子（（財）食品薬品安全センター）

● PD-3

「Endocrine toxicity testing and product development」

John Ashby（Syngenta CTL, UK）

● PD-4

「Validation of potential tests for detecting endocrine toxicity in product development」

Richard Lewis（Syngenta CTL, UK）

■ランチョンセミナー（7月19日・20日 麻布大学会場）

7月19日（土）第2日目 12:00～13:00

第2会場（8号館4階8401講義室）

1. 米国のAAALACの状況について
Steven Meyer (SNBL USA, Ltd.)
(新日本科学)

第3会場（8号館3階8301講義室）

2. 免疫毒性試験
永井 賢司 (株)三菱化学安全科学研究所)
M.J.Waxdal (MPI Research, Inc.)
(三菱化学安全科学研究所・MPI Research, Inc.)

第4会場（8号館3階8302講義室）

3. **Current issues in genetic toxicology testing**
Steve Dean (Huntingdon Life Sciences Ltd. UK)
(ハンティンドンライフサイエンス)

第5会場（8号館3階8303講義室）

4. **Pathology and quality - working together to improve time to market**
Colin Brown (Inveresk Research Head of Quality)
John Finch (Inveresk Research Head of Pathology)
(インバレスクリサーチ)

第6会場（本館2階第1・第2会議室）

5. 安全性薬理試験における、実験動物テレメトリーシステム
データ取得解析システムの機能とバリデーションについて
荻原 亮介 (プライムテック(株)代表取締役社長)
(プライムテック)

7月20日（日）第3日目 12:00～13:00

第2会場（8号館4階8401講義室）

6. **ILSI HESI workshop "Utility of transgenic assays for risk assessment"**について
臼居 敏仁 (財)実験動物中央研究所)
Wistar Hannover GALAS ラットの背景データ (眼科学的所見) について
臼居 敏仁 (財)実験動物中央研究所)
(日本クレア)

第3会場 (8号館3階 8301 講義室)

7. **Ames test chromosomal aberration assay using V79 chinese hamster lung cells, mouse lymphoma test: Historical data and experiences with study design**
Albrecht Poth (RCC Ltd, Cytocell Reseach Laboratories)

General principles of inhalation toxicology
Ludwig Ullmann (RCC Ltd, Buisness Development)
(日本シイベルヘグナー)

第4会場 (8号館3階 8302 講義室)

8. **次世代スクリーニングシステム Biacore®S51 を用いた
初期候補化合物の迅速な脂質二重膜吸収性試験の試み**
大橋 武 (ピアコア(株) 営業部フィールドサイエンティストグループ)
(ピアコア)

第5会場 (8号館3階 8303 講義室)

9. **Evaluation of human hepatotoxicity with the
human hepatocyte toxicogenomics assay**
Albert P. Li (Phase-1 Molecular Toxicology, Inc)
(第一化学薬品)

第6会場 (本館2階第1・第2会議室)

10. **プロテインシステムの原理と応用**
田中 博 (サイファージェンバイオシステムズ(株) 横浜研究所)
(サイファージェンバイオシステムズ)

第7会場 (大教室)

11. **Bringing medical miracles to the market sooner!**
(コーヴァン スイック)

■各種集会・会合

7月17日（木）前日

第4回 生涯教育講習会

麻布大学百周年記念ホール（8号館7階）
13：00～17：00

主催：JST教育委員会
申込：本部事務局
受講費：別途必要

認定試験小委員会

麻布大学本館2階第1会議室
11：30～12：30

理事・監事会

麻布大学百十周年記念会館
16：00～19：00

理事・企画委員合同会議

麻布大学百十周年記念会館
19：00～20：30

7月19日（土）第2日

評議員会

麻布大学第7会場（大教室）
12：00～13：00

総会

麻布大学第1会場（8号館7階 百周年記念ホール）
13：10～14：10

7月20日(日)第3日

編集委員会

麻布大学本館2階第3会議室
12:00~13:00

生涯教育小委員会

麻布大学本館1階学生課コミュニケーションルーム
12:00~13:00

日本学術会議トキシコロジー研連委員会

麻布大学本館2階第1応接室
12:00~13:00

■懇親会

7月19日(土)

麻布大学百十周年記念会館1階カフェテリア
18:00~20:00

講演要旨

理事長基調講演

遠藤 仁

杏林大学 医学部 薬理学教室

1. 理事長基調講演の意味

本学会での理事長による基調講演は過去30年の本学術年会の歴史では最初と思う。その求められている意味は定かではない。しかし、トキシコロジーと言う学問が極めて学際性に富み、自然科学から社会科学に至る広範囲に及ぶので、当面の学会活動における見解を理事長に求められたものと解釈した。言わば、テストされるような気持ちにもなるが、私見を述べさせて頂く。演題名を英文にしたので、英語で発表するのか、と事務局の方に質問されたが、「分子毒性学の現状と将来」とでもすべきではあったが、学会名をトキシコロジー学会と変えてから、又「毒」と言う字を使いたくないが故の苦しまぎれの演題名となってしまった。現在の学会員の多くの方が自然科学を主体に置いておられるので、Molecular Toxicology に絞ってお話したい。

2. Molecular Toxicology の現状

ポストゲノムに突入した現在、化学物質の生体作用の理解にとって、分子の登場は避けられない。生体への有害作用に関与する分子の同定とその機序がトキシコロジーの主流になっている。換言すれば、生体に投与された化学物質による特異的、高感度のバイオマーカーの特定とその関連遺伝子の探索が主役となっている。所謂、Toxicogenomics の時代が到来した。実験動物を用いた *in vivo* モデル実験の分子機序は培養細胞を用いて単純化した *in vitro* の実験で解明されていく。一見、矛盾なく流れていける錯覚に陥る。生体を構成するユニットを細分化し、限り無く小さな分子レベルの解析に進み得たとしても、所詮当初の命題である「化学物質の生体作用の解明」には至らないのが現状である。

最大の課題は、解析された膨大な数の遺伝子配列の意味付け（機能）の解明である。即ち、各遺伝子の機能解析と生体機能維持における役割の解明が急務である。しかし、この問題解決が不十分とは言え、現状におけるベストの解釈は常に求められている。

3. Molecular Toxicology の将来展望

1) "-omics"の継続

上述の遺伝子機能の同定に加えて、proteomics, genomics 等に代表される"-omics"はナノテクノロジーと informatics の充実と相俟って、確実に発展が期待される。この種の functional genomics は、過去に得られた機能未知遺伝子やタンパクの関与する情報に即刻新しい解釈を与えるので、貴重な資料となる。

2) Metabonomics (Metabolomics とも言う) への期待

尿や血液等の生体液体試料に含まれる低分子物質の high resolution magic-angle spinning (HRMAS) NMR spectroscopic technology による網羅的解析は生体における化学物質による代謝変化を鋭敏で特異的に解析する事が期待される。この際、各個別の物質にとらわれず、変化のパターンとしての処理が可能である。この際、膨大な背景データが必要であり、系統的な大規模プロジェクトの開始が強く望まれる。

3) Genetic toxicology と化学物質の生体作用予測

化学物質の生体作用における動物の種差、系統差、個体差等は上の1)や2)の検討を系統的に実施する事により極めて明解に解釈できる。更に、ヒトに代表される *in vivo* 実験による検証が困難な生体での化学物質の作用予測も可能となる。

特別講演

PL-1 Animal models of human disease in drug safety assessment

Urs A. Boelsterli

Institute of Clinical Pharmacy, University of Basel, and HepaTox Consulting, Pöfingen, Switzerland

Animal models of human disease are widely used to study the pathogenesis of a disease or to test the efficacy of therapeutic treatment. In contrast, such models are rarely used to investigate drug toxicity and the underlying molecular mechanisms. The reasons why toxicologists have been reluctant to utilize non-classical animal models in drug safety assessment are manifold. For example, the use of non-conventional animal models is neither standardized nor required by regulatory authorities. Furthermore, inclusion of novel animal models might create new and unexpected findings which are difficult to interpret. Finally, animal models ideally should closely mimic the human disease in both its etiology, clinical-pathological manifestations, and mechanisms, and this is not always the case. This presentation explores whether such animal models, nevertheless, would offer new insights into molecular mechanisms of toxicity and also provide a predictive tool for safety assessment, in particular for drugs that cause rare and unexpected adverse effects in patients.

Rare but severe adverse drug reactions (ADRs) often become apparent late in drug development or typically in the postmarketing phase. They have in some cases led to the discontinuation of further development or even withdrawal of a newly approved drug from the market. These ADRs are a major problem in drug development because they have remained unpredictable from preclinical studies and because their underlying mechanisms cannot be studied in normal healthy animals. Such idiosyncratic drug reactions are dependent on three major determinants; first, the potential toxicity of the drug molecule (or a reactive metabolite), second, host (patient) susceptibility factors, which are both genetically determined and environmentally regulated, and, third, factors pertaining to the underlying disease (therapeutic indication) [1]. These latter include altered toxicokinetics, but also alterations in gene expression and specific toxic responses to drugs [2]. Two widely known examples of disease-related determinants are the greatly increased susceptibility to sulfa drugs in patients infected with HIV versus non virally-infected patients and the increased incidence of drug-induced acute liver failure in diabetes patients versus non-diabetes patients.

For this presentation, the focus will be on idiosyncratic drug reactions occurring in the liver. It is often striking that individuals, or subsets of patient populations, will develop liver injury following drug treatment, while healthy populations (and healthy animals) do not exhibit apparent hepatic adverse reactions. One of the reasons to explain this is that these patients exhibit a frequently occurring molecular abnormality, on which a toxic response to a drug is superimposed, often affecting the same molecular target. For example, the rare cases of severe hepatotoxicity associated with drugs used in neurodegenerative diseases (e.g., tacrine, tolcapone) have been associated with possible mitochondrial injury. Indeed, mitochondria from Parkinson or Alzheimer patients often exhibit biochemical defects and decreased activities in complex I or IV, respectively, of the electron transport chain [3]. Although the genetic abnormalities have not yet been identified at the molecular level, these mitochondria are compromised and sensitized to additional cellular stress. Animal models which mimic such mitochondrial abnormalities include gene knockout mice for specific mitochondrial key proteins, mice with specific mtDNA deletions, and rats with acquired mitochondrial abnormalities (e.g., carnitine-deficient rats).

The second paradigm encompasses animal models featuring pro-inflammatory conditions. It has been known that mild inflammation can predispose for mitochondrial toxicity. Indeed, it has been demonstrated in animal models of rheumatoid arthritis that mitochondrial toxicity induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is enhanced. Furthermore, the release of bacterial lipopolysaccharide, which dramatically alters the

proinflammatory cytokine network, can sensitize animals to liver injury induced by a number of drugs [4].

Finally, animal models of type 2 diabetes have been used for assessing the efficacy of antidiabetic drugs, but rarely for toxicity assessment of these drugs. For example, troglitazone has been associated with hepatotoxicity, possibly via mitochondrial damage. It is known that the liver of obese and diabetic animals is more sensitive to developing mitochondrial injury and increased prooxidant stress than healthy animals [5]. Also, animal models of type 2 diabetes have revealed that certain genes related to lipid and glucose metabolism are differentially expressed in the liver of these rats/mice compared to that of normal animals. For example, peroxisome proliferator-activated receptor- γ is highly upregulated in the liver of diabetic mice [6]. Treatment with thiazolidinediones induces severe hepatic steatosis in diabetic mice, but not in lean controls, and this could set the stage for downstream toxic responses. Again, there are a number of available animal models of type 2 diabetes, including *ob/ob* mice (deficiency in leptin), *db/db* mice (deficiency in leptin receptor), KKAY mice (abnormal expression of agouti gene), and high fat diet-induced diabetes in rats.

Taken together, although it is obvious that animal models of human disease respond in a different manner to drugs (with respect to hepatic liability) than normal animals, such models are rarely used in preclinical safety assessment. Despite their limitations (costs, inappropriate model, production of "false positive" data, lack of historical patho data) it is suggested that such models be increasingly used in exploratory and predictive toxicology. They could serve as a powerful tool to help selecting candidates and explaining possible molecular mechanisms of toxicity.

References:

1. Boelsterli UA. Idiosyncratic drug hepatotoxicity revisited: New insights from mechanistic toxicology. *Toxicol Mech Methods* 2003; 13: 3-20.
2. Boelsterli UA. Disease-related determinants of susceptibility in drug-induced hepatotoxicity. *Curr Opin Drug Disc Develop* 2003; 6: 81-91.
3. Cassarino DS, Bennett JP. An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: Mitochondrial mutations and oxidative pathology, protective nuclear responses, and cell death in neurodegeneration. *Brain Res Rev* 1999; 29: 1-25.
4. Buchweitz JP, Ganey PE, Bursian SJ, Roth RA. Underlying endotoxemia augments toxic responses to chlorpromazine: Is there a relationship to drug idiosyncrasy? *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300: 460-7.
5. Suzuki S, Hinokio Y, Komatu K, Ohtomo M, Onoda M, Hirai S, Hirai M, Hirai A, Chiba M, Kasuga S, Akai H, Toyota T. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 45: 161-8.
6. Bedoucha M, Atzpodien E, Boelsterli UA. Diabetic KKAY mice exhibit increased hepatic PPAR γ 1 gene expression and develop hepatic steatosis upon chronic treatment with antidiabetic thiazolidinediones *J Hepatol* 2001; 35: 17-23.

PL-2 What is toxicity in pre-clinical studies ?

Frederick W Oehme DVM, PhD
Comparative Toxicology Laboratories, College of Veterinary Medicine
Kansas State University, Manhattan, Kansas 66502-5705 USA

Preclinical assessment of the safety of new pharmaceuticals is a special part of the discipline of toxicology. It has its own special needs for economics and the early identification of those compounds that are not safe.

What is "Pre-Clinical"?

Pharmaceuticals, unlike industrial, agricultural or environmental chemicals, are intended for human exposure and effective therapeutic activity. The pre-clinical process evaluates efficacy, bioavailability, and toxicity prior to further development, testing, and registration. Several years may be required to complete this "pre-clinical phase" prior to entering the major portion of the usual 16 years required to bring the new pharmaceutical to market. Early identification of poor or noncompetitive compounds, allowing sparing of non-rewarding expense, is the goal of these pre-clinical studies.

What is "Toxicity"?

The safety of the developing pharmaceuticals, medical devices and food additives are the toxicology issues of concern. Any risk associated with the lack of safety or the presence of toxicity is a concern, and it is the purpose of these pre-clinical toxicity studies to identify such risks. Any adverse effect that the new product has on the normal functioning of the individual receiving that chemical is a concern, and the purpose of these studies is to evaluate the available biological systems and their response when exposed to the product under development. A likely margin of safety in the use of that product is expected to be identified. Although rodents are commonly used as the model animal, other species may be inserted to address specific issues, and a wide variety of tests exploring the numerous potential chemical-biological dose responses are employed.

Screening tests are often used to identify specific toxic effects that are considered sufficient hazard that they exclude the compound being studied from further development as a therapeutic agent. In general, most toxicity tests in pre-clinical studies may be considered forms of screening, although specific protocols and interpretations for the various procedures are employed. As is true of most toxicology investigations, 3 or more dose levels are employed to seek "range finding" for various levels of potential effects.

Acute Studies

These are employed in a variety of schemes to determine effects of single doses or short-term exposures. These studies may be used in conjunction with range finding or in the more classical LD₅₀ methodology in which lethality is the end point.

Acute systemic toxicity studies more completely define the drug's toxicity. These studies include control groups and groups receiving 1, 3, 5 and possibly 10 times the expected human dose for 5, 7, 10 or 14 daily exposures. Clinical observations, blood cell and chemistry evaluations, and post-mortem studies provide information on lethality, the onset and scope of clinical signs, appetite and body weight changes, alterations in physiological functioning and behavior, target organ identification through gross and microscopic tissue evaluations, early diagnostic parameters (hematology and clinical chemistry changes), and overall identification of subtle and severe effects associated with expected exposures and over dosages. Special function tests may be incorporated for immunocompetency, neurological and neuromuscular parameters, behavioral modifications, and even selected toxicokinetic considerations.

Trained observers offer passive observations while dosed animals are under the chemical's effects. Such clinical observations in acute toxicity studies include abnormal behavior, excessive reactivity to stimuli, changes in muscle tone and reflexes, pupil size modifications, alterations in character and rate of respirations,

cardiac function modifications, appetite, consistency, color and character of the feces, outward changes in mammary glands, vulva, penis or perineal region, changes in the skin color or characteristics, mucous membrane effects, changes in eyelids or in corneal transparency, body temperature elevations, and modification of general body condition. If the drug is given by injection, swellings or irritation at injection sites are evaluated. Animals are observed continuously for several hours following single daily dosings and records maintained throughout.

A complete acute toxicity protocol typically involves 10 to 14 days of acclimation, dosing for the selected number of days with feed consumption and body weight recorded, possible interim sacrifice on days 3 or 5, body weight determined at 1 and 2 weeks, with final sacrifice, post-mortem examinations and organ/body fluid collection on day 15. Organs collected include brain, liver, stomach, thymus, heart, kidney, spleen, and testes or ovaries.

Body weight modifications are important evaluations and review of gross and microscopic pathology observations often provide subtle insights into adverse effects likely to be more prominent on longer term studies or on specialized evaluations.

Acute toxicity studies may also be performed on **non-rodent animal species**. Many regulatory bodies require acute testing in at least 1 non-rodent animal (dogs, pigs or monkeys). Veterinary products will always be tested in the target species for which the drug is being developed. The profound differences between rodents and other species with regard to handling, husbandry and dosing must be carefully considered. Because of greater costs of larger species, smaller numbers of animals per group are employed. They also require longer pre-study quarantine periods; 6-8 weeks are common for dogs and pigs, while 18-24 weeks are common for monkeys. The use of fewer but larger size animals permits more extensive individual observations. Complete physical examinations and repeated blood sampling are common. Thus while fewer animals are used, more useful information is often collected per animal, but the small number of animals per group makes standard statistical comparisons more difficult.

Such variations impact the number, size and sex of dosage groups as well as the selection of the range of dosages utilized. Current emphasis on limiting the number animals for acute testing and decreasing group size to 2 or 3 animals generally has little impact on overall study results. Number and size of dosage groups will depend in large extent on the method used for statistical analysis. Although gender seldom produces substantial differences in LD_{50} , in some instances females tend to be more sensitive than males. The option of using 2 to 3 animals per sex per dosage is a feasible alternative. Dosages selected should consider the chemical and physical properties of the active ingredient, the margin of safety from screening studies, and the greater range of adverse effects likely to be detected by utilizing widely spaced dosages. It is best if all animals for a specific dosing trial be dosed on the same day and at the same time of day to limit age-related and diurnal effects.

Subchronic and Chronic Toxicity Studies

Subchronic and chronic studies for pending pharmaceutical products can incorporate any of the routes used to administer a drug, use any of a number of animal models, and follow a broad range of experimental protocols. They can be 2-weeks long or last up to a year or more. There is great flexibility and variability in the scope and design of such studies, depending upon their objectives.

The studies may be used to broadly define the toxicity of repeated doses of the potential drug in an animal model. Both qualitative (target organs and effects) and quantitative (plasma and tissue levels at which effects are seen) goals may be achieved. In other instances, the subchronic study may provide information to allow the initiation of clinical trials in humans by offering guidance on therapeutic margin and any special measure or precautions to be taken in the clinical trials. The subchronic study may also provide sufficient information to establish doses for later longer studies, such as carcinogenicity, or provide guidance for specific parameters to measure, number of animals to use, or how long to conduct the more chronic study. Regulatory considerations assuring adherence to good laboratory practices, animal welfare regulations, and specific regulatory

requirements for study design and conduct become especially important in these phases. Expanded evaluations of additional endpoints include hematological changes, ophthalmological examinations, consideration of cardiovascular function, neurotoxicological parameter evaluations, studies of immunotoxicology and toxicokinetics, in addition to more selective histopathologic tissue examinations.

Special Pre-Clinical Studies

Depending upon the clinical indications for the new drug and the results gained from the earlier acute and subchronic/chronic studies, a variety of unique additional tests may be performed to define the pharmaceutical agent's effects on specific systems or biochemical receptors. Special populations of animals may be utilized if the potential drug will target specific age or ethnic groups, and the earlier identification of subtle molecular effects suspected from earlier studies may require unique testing protocols. Some pharmaceutical agents may give indications of interacting with other drugs administered simultaneously -- interactions which must be anticipated and the health risk identified.

Developmental and reproductive toxicity concerns result in evaluating effects on fertility and impacts from early embryonic development to implantation. Additional hazards for embryonic and fetal development, as well as pre- and post-natal development including maternal function, must be considered and investigated. Minimal reproductive studies should be performed even if it is unlikely that any risk is expected.

Carcinogenicity studies address concerns about long-term exposure and subtle potentials for carcinogenic DNA damage, cell molecular toxicity, effects on cell repair and proliferation, and oncogene activation. Such tests are long term, require specific animal species and strain considerations, involve 3- and sometimes 4-dose levels and because of test duration mandate at least 50 animals of each sex per dose group. Survival of sufficient numbers of animals to evaluate life-long tumor development is critical with histopathologic examination and clear criteria for appropriate statistical analysis required.

Medicinal agents administered by inhalation require **pulmonary toxicity** evaluation. The aerosolization of the drug and its appropriate delivery to the respiratory system require that unique inhalation chambers or delivery systems be available.

Topical administration requires **dermal toxicity** to be evaluated. Dermal irritation studies, irritant possibilities for mucous membrane exposure, effects upon the eye, and local injection site irritation must be examined. The possibility for sunlight to transform a drug to a photodynamic product requires evaluation of **phototoxicity** and **photosensitization**. Specific animal species, such as the guinea pig and rabbit, may be specific for such unique testing.

Immunotoxicology is a rapidly developing and critically important area of clinical impact throughout the world. With the immune system's highly complex cascade of cells involved in antigen presentation and recognition, amplification, and cell proliferation with subsequent differentiation and secretion of lymphokines and antibodies, not only clinically acute responses occur, but modifications of infection and malignancy may develop. Direct external impacts on immune mechanisms occur, but autoimmune disease may be precipitated by the breakdown of tolerance and failure to effectively discriminate between "non-self" and "self" entities. New potent pharmaceuticals offer unique immune challenges to be understood and their health risks evaluated.

Biotechnology products present special concerns for preclinical evaluation, and the challenges for such studies will grow. Recombinant DNA technology, monoclonal antibody technology, and bioprocess technology are commercialized to produce large quantities of highly purified product cost-effectively. While the purpose of pre-clinical safety evaluation of these products remains to detect potential harmful effects, exclude other hazards, determine the product's relationship to dose and duration of exposure, and gain insights into mechanisms and pathogenesis, the toxicologist has additional obligations to warn clinicians about unacceptable risks, to identify what hazards must be carefully monitored for, and to always be alert for toxic effects in humans that will not be detected because the test systems being utilized are not capable of displaying them.

Biotechnology products are capable of potent effects at the gene level so that unforeseen cellular modifications may occur. Additionally, the protein component of such products has the potential to activate immune system

responses with sensitizations, allergies, and immunogenicity risks.

Additional decisions impacting the pre-clinical protocol involve the use of non-rodent animals (are they a better animal model for humans?), whether to apply various *in vitro* techniques in drug safety assessment (will isolated organs, tissues, or cell culture provide additional understanding of potential toxicity?), and the inclusion of toxicokinetic information in the preclinical process (to what extent should kinetic data be sought and applied, and how should it appropriately be evaluated?). Global dispersion of new pharmaceuticals further raises the potential for population diversity and ethnic genetics modifying and possibly increasing the risk of new product use. To what extent should each genetic population be tested during the preclinical process? Additionally, does the increased application of new pharmaceutical agents to "compromised" individuals with preexisting health limitations (cardiovascular, kidney, liver) require additional pre-clinical screening for health hazards?

What Should Toxicologists Do?

The challenge for toxicologists in pre-clinical screening is expanding as molecular mechanisms are better understood and more sophisticated and potent drugs are presented for pre-clinical evaluation and potential marketing. Should future studies become more specific and focused to address unique cellular mechanisms? Should the investigating scientist become more questioning, more curious, and indulge in more speculation about potential danger areas? Should the toxicologist – and will the company management allow – deeper and more probing inquiries for specific pre-clinical investigations? Will computer modeling allow virtual testing of drug-induced risk without the involvement of animal models?

These and other challenges make the future for toxicology and pre-clinical testing exciting. Clearly such testing must continue to be accountable and responsible by strict adherence to good laboratory practices, detailed documentation, and continued scientific questioning and curiosity for understanding "What could happen if.....?"

Future Role of the Toxicologist in Pre-Clinical Studies

The future will certainly change and promises to be exciting! Toxicology technology will change more rapidly over the next several years than our discipline is prepared for! Products of the future will include results of biotechnology to a greater extent than in the past. Test systems are likely to be more mechanistically based than those we have previously used. We will become increasingly dependent on non-biological test systems, such as computational chemistry and computational biological models to gain valuable insights based on previous knowledge rather than by traditional pre-clinical laboratory and animal studies.

The tools of risk assessment will be different as pathogens found in food, agents of terrorism, and contaminants in biological and pharmacological products will raise questions. We will likely move away from synthetic chemicals as a basis for structure activity into biologic products and pathogens. Genetically modified products from genetically modified animals and plants will raise continuing questions about safety. Tissue engineering will introduce new paradigms. Such developments will call for the use of more nonhuman primate animal models, and will be particularly true in the development of new vaccines. Genetically modified test models will challenge us to take advantage of our knowledge of the human genome. We will move toward new diagnostic evaluation tools, particularly in the area of imaging.

We already are feeling the impact of personnel shortages and need to emphasize training and retraining of current and future experts, particularly those in toxicology and pathology where shortages already exist. Technology will change more rapidly than toxicology and toxicologic pathology are currently prepared for. We need to anticipate the future and enhance our own growth and the training of those who will follow us.

The science and testing of future pharmaceutical agents are essential for good decisions to protect the health of patients and the public. Exciting opportunities are here now...and we are all partners in this cooperative and challenging movement!

Suggested Resources

Gad SC: Drug Safety Evaluation. Wiley and Sons, New York. 1007 pp, 2002

Schwetz BA: Toxicologic Pathology: Looking Ahead. Toxicol Path 31: 2-5, 2003

Weinberg S: Good Laboratory Practice Regulations, 3rd Ed. Marcel Dekker, New York. 244 pp, 2003

www.fda.gov/cder/guidance/4945fnl.pdf

www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/104299en.pdf

www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/214500en.pdf

www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/039801en.pdf

Timothy D. Anderson,
Vice-President, Worldwide Safety Sciences, Pfizer Pharmaceuticals

Animal studies with potential new medicines are necessary to predict safety issues which may occur when these new chemical entities are studied in humans. Results from animal studies are used to predict the type of target organ toxicities which may occur in humans, the dose-response nature of these toxicities, and their reversibility. This data is used by nonclinical and clinical scientists to make business and scientific decisions. Business-related decisions involve a determination as to if it is worthwhile investing further in this new chemical entity based on prediction of safety index in humans, the types of target organ toxicity it causes, and the probability of it becoming a useful medication for human disease. The scientific decision involves consideration of the same parameters but from the perspective of ensuring that unreasonable harm does not occur to volunteers or patients in which the new chemical entity is studied.

In some cases this decision is easy. If the results of the animal studies are at one extreme of the spectrum, that is, a reasonable safety index exists, the target organ toxicities are identified, they are reversible, and the physician can monitor for premonitory signs of toxicity with a relevant biomarker, it is reasonable to conclude that studies can be conducted safely in humans. If the results of the animal studies are at the other end of the spectrum, that is, no or minimal safety margin exists, or the target organ toxicities are not predictable and/or not reversible, then the potential drug candidate is usually dropped from development.

The harder decisions occur when a safety margin is non-existent or marginal but the toxicities are felt to be species specific and not relevant to humans. This is when targeted mechanistic studies are invaluable to determine if the new chemical entity can be studied in humans and if it could be a useful medicine for human disease. In these conditions, a valuable new medicine may be lost to humanity without mechanistic studies to determine relevance of animal toxicities to human clinical use.

This presentation will include discussion of risk management philosophy and its application to specific examples of new pharmaceuticals in development. In particular, two case studies will be discussed. One involves a new oncology drug which causes tissue mineralization in rats and the mechanistic studies designed to determine mechanism, relevance, and predictive biomarkers in humans. The second involves a CNS compound which causes endothelial tumors in mice (hemangiosarcoma) and the mechanistic studies designed to determine mode of action of tumor formation and relevance to humans. In both cases, the potential new drugs required mechanistic studies in order to make informed decisions regarding human relevance of animal findings. The results of such mechanistic studies have profound impact on the ability to proceed with human studies and regulatory reviews.

Kai Savolainen

Finnish Institute of Occupational Health, Topeliuksenkatu 41 aA, 00250 Helsinki, Finland

Background

Organophosphates are widely used as insecticides and thus exposure to these compounds still represents a genuine health risk. The overall mechanisms of action of organophosphate- (OP)-induced neurotoxic effects are well known, but the underlying molecular mechanisms of toxic actions are surprisingly poorly known. However, the introduction of a number of OP-pesticides and highly toxic OP-nerve agents has emphasized the importance of understanding in detail the mechanisms of toxicity of these OP-compounds. It is fundamental to appreciate that their toxicity stems largely from excess acetylcholine (ACh) due to the inhibition of acetylcholinesterase (AChE) and subsequent accumulation of ACh in the target tissues, especially those cells in the vicinity of cholinergic receptors, which are responsible for mediating the effects of ACh. The dramatic effects seen in OP intoxication include brain activation, epileptiform convulsions, muscular tremors which lead ultimately to flaccid paralysis, increased sweating and salivation and profound bronchial secretion, bronchoconstriction, increased activity of the intestine and diarrhea, miosis, hypertension, lowered body temperature, and hyperglycemia.

Differences between different organophosphates

When the effects of OP compounds are compared, marked differences are evident between them. This is most likely due to the marked differences in their capability to bind with their prime target, AChE, and the differences in the rapidity of ACh accumulation in and close to the targets of ACh. The consequences of excess ACh are primarily mediated via cholinergic muscarinic and nicotinic receptor activation. Muscarinic receptors are found in the central nervous system (CNS), blood vessel walls and endocrine and exocrine glands. Nicotinic receptors are located in autonomic nervous ganglia, in the CNS, in the adrenals, and in the neuromuscular junction; the area specialized for transmission of neuronal impulses to striated muscles.

Muscarinic and nicotinic receptors

Muscarinic receptors are G-protein-coupled, slow reacting transmembrane proteins. After activation, their effects are mediated into the cells via formation of calcium-mobilizing phosphoinositide-derived second messengers or inhibition of adenylate cyclase leading to increased formation of cyclic adenosine monophosphate (cAMP).

Nicotinic receptors are ion channels. Their activation leads to increased influx of sodium into the cell. There are several subtypes of both receptors, and the mode of action of different muscarinic receptors and different nicotinic receptors may markedly differ from each other.

In the CNS, there are more muscarinic than nicotine receptors, and muscarinic receptor activation in the brain, as in peripheral tissue, has profound effects on neuronal signaling, and can alter the numbers of many different receptors, as well as modifying gene expression and the expression of proteins encoded by these genes.

Effects and modulation of cholinergic muscarinic and nicotinic receptors

Cholinergic muscarinic activation also dramatically facilitates brain metabolism and induces major electrophysiological effects, often associated with overt convulsions. The CNS effects of OPs can be modified by drugs, typically cholinergic antagonists such as atropine, but also with GABAergic agonists such as benzodiazepines, and antagonists of glutamatergic receptors. In fact, anticholinergics, like atropine, and diazepam, belonging to the benzodiazepine group of drugs, are the most effective antidotes against OP poisoning. In addition, interaction of cholinergic stimulation with lithium markedly amplifies cholinergic-induced neuronal signaling and convulsions, most likely due to an interaction at the G-protein level. Nicotinic receptors have their most dramatic effects in autonomic ganglia and the neuromuscular endplates. A decrease in membrane potential, membrane resistance, and a decrease in afterhyperpolarization characterize these alterations. Many of these effects can, surprisingly, be inhibited by atropine, most likely due to an interaction of muscarinic and nicotinic receptors in autonomic ganglia. The most effective blockers of nicotinic receptors are d-tubocurarine and its more modern analogues. At the neuromuscular endplate, OPs induce 1) repetitive activity in response to single nerve stimulus; and 2) decremental responses to repetitive nerve stimulation. OPs typically also induce accelerated spontaneous release ACh leading to increased in the miniature endplate potentials (MEPP) frequency, but at high OP concentrations the end result is depolarization of the neuromuscular endplate and endplate regions. The effects of OPs on neuromuscular endplates can be prevented with AChE reactivators such as 2-PAM that can restore, in part, neuromuscular transmission.

Conclusions

The cardiovascular and respiratory systems are particularly sensitive to the effects of OPs because both are under strict cholinergic control. A more detailed understanding of the effects of these toxic agents seems to be warranted because of their dramatic effects on the CNS. In particular muscarinic receptor-mediated effects have been overlooked in the past. Recent observations also suggest that cholinergic stimulation of cholinergic muscarinic receptors might, in fact, be a trigger that activates many other neurotransmitter systems, especially glutamatergic. It is now also becoming clear that cholinergic brain stimulation is the trigger, which sets off the propagation of convulsive waves.

Muscarinic receptor activation can be modulated by a number of antagonists including muscarinic antagonists that may be especially effective when combined with oximes, so-called AChE reactivators. Since brain cholinergic systems seem to be at least under partial GABAergic control, benzodiazepines can also be used as antidotes of OP-induced convulsions. Antagonists of both NMDA and non-NMDA glutamate receptor antagonists have been proven to be effective antagonists of muscarinic receptor-mediated intoxication including OP-induced intoxication. Nicotinic antagonists can block nicotinic receptor activation in autonomic ganglia and neuromuscular endplates though this is more difficult to achieve than blockade of muscarinic receptors.

References

K Savolainen. Understanding the toxic actions of organophosphates. In: Handbook of Pesticide Toxicology, R Krieger, J Doull, D Ecobichon, D Gammon, E Hodgson, L Reiter, J Ross (Eds.), Academic Press, New York, 2001, 1013-1041.

學術年會長講演

CL コブラナーPCBsの生体影響

赤堀 文昭

麻布大学 獣医学部 (第30回日本トキシコロジー学会 学術年会長)

学術年会の会長講演は年会長の挨拶の場としての講演ということで、気持ちを軽くして時間をいただき、文部科学省のハイテクリサーチセンター整備事業(1997~2001年)の助成を受けて進められた「コブラナーPCBsの生体影響」について述べさせていただくことにした。

1. コブラナーPCBs (Co-PCBs) の次世代への影響

1. PCBs 反復暴露の新生子への影響

親ラットの交配前2週間、交配期間ならびに妊娠期間の最長4週間及び分娩後離乳までの20日間(交尾して出産した親動物への総投与回数57-68回)にわたり、PCB126(3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl)を1 μ g/kg/day または3 μ g/kg/day 経口暴露して、経胎盤ならびに経乳汁暴露を受けた次世代ラットでの生体影響を追究した。

- 1) PCB126 3 μ g/kg/day 及び1 μ g/kg/day 量(総投与回数57-68回、暴露量171-186 μ g/kg 及び57-62 μ g/kg)の暴露では母動物に肝CYP1A1の顕著な誘導がみられた。しかし、全身状態及び繁殖性(胚の着床及び生存、離乳後の発情回帰及び排卵)など、母動物への影響は小さいと考えられた。一方、経胎盤及び経乳汁暴露された出生子では、成長抑制、卵巣重量の減少、胞状卵胞の退行、性成熟開始の遅延(膈開口・初回排卵)、雌の外陰部の奇形(尿道下裂:発生率・重症度ともに暴露量依存性。妊娠15日の暴露>妊娠8日の暴露)などが認められ、PCB126は親動物に対するよりも、胎子・出生子に対し強い影響を与えることが確認された。

新生子肝CYP1A1の発現は親動物と同様に認められ、CYP1A1陽性肝細胞の分布は発育に伴いびまん性分布から中心性分布へと変化した。この分布の変化は、3 μ g/kg/day 暴露群において遅延し、4~5週齢(膈開口時)になって大部分が中心性分布となった。PCB126暴露後の腎CYP1A1発現は、成熟した動物では近位尿細管直部に発現することを確認したが、ラット生後1日齢の腎臓(分化の途上)では完成したネフロン近位尿細管直部でのみCYP1A1の発現を認めた。離乳後の4~5週齢(膈開口時)ではCYP1A1の誘導は局所的(近位尿細管直部)に減弱して認められたが、3 μ g/kg/day 暴露群では1 μ g/kg/day 暴露群よりも強く発現しており、暴露量依存性の変化として認められた。また、腎糸球体メサンギウム細胞にCYP1A1誘導の発現が認められたことから、メサンギウム細胞もCo-PCBsの標的細胞のひとつであることが明らかとなった。

- 2) 急性期タンパク質、抗体及びサイトカイン産生能への影響:

PCB126(1 μ g/kg/day)に胎生期暴露された新生子での有意な変化としては、 α_2 -マクログロブリン(α_2 M)の産生能の低下が確認された。この新生子ラットの α_2 Mの低下は別の試験でPCB126を親ラットに妊娠期間中(妊娠8日または15日)に1回暴露するよりも、授乳期(分娩1日後)に1回暴露する方が、より著明であった。

- 3) 抗Thy-1抗体誘発系球体腎炎(Thy-1腎炎)モデルラットにおけるPCB126の影響:

Thy-1腎炎(抗Thy-1抗体:抗Thy-1血清4mL/kg、単回、i.v.による誘発)の特徴としてみられる寛解期ではPCB暴露(1 μ g/kg/day 及び3 μ g/kg/day)ラットに、治療経過の遅延が認められた。

2. PCB126 3 μ g/kg またはPCB169(3, 3', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl) 30 μ g/kg を妊娠7日から21日までの15日間、1日1回母ラットに経口暴露し、胎齢20日の胎子、生後1週齢、3週齢、6週

齢、15週齢の出生子ラットへの影響を検討した。

1) Co-PCBs の暴露は出生子の肝 CYP1A1-mRNA 及び CYP1A2-mRNA の発現量を増加させ、同時にそれぞれのタンパクとしての CYP1A1 及び CYP1B1 も発現させた。両 Co-PCBs による発現量のピークは 1. の場合と同様いずれも 3 週齢であった。このことは出生後にも乳汁を介する母親から子への PCBs 移行を示すものであり、また、両 Co-PCBs の移行は経胎盤暴露より経乳汁暴露の方がより大きいことを示唆するものである。

2) 下垂体-甲状腺系

PCB126 または PCB169 の胎生期暴露は新生児の血漿中 T_4 レベルを有意に低下させた (1 週齢及び 3 週齢で著明) が、血漿中 TSH には影響を与えなかった。一方、肝 T_4 -UDP-GT 活性は有意に増加していたことから、PCB126 及び PCB169 による T_4 濃度の減少には T_4 -UDP-GT が大きく関与していることが示唆された。また、この T_4 濃度の減少に対して、下垂体は反応せず、TSH 放出の促進はおこらないことが明らかとなった。

3) 副腎及び雄生殖腺

PCB126 及び PCB169 はともに、血漿中コルチコステロン濃度を低下させたが、副腎皮質ホルモン合成関連酵素(P450 side chain cleavage, 21β -hydroxylase 及び 11β -hydroxylase)には変化がみられなかった。そこで、エーテル麻酔の影響を検討した結果、胎生期に Co-PCBs を暴露された新生子においてのみエーテルによりコルチコステロン濃度が低下したことから、PCB 暴露はストレス (エーテル麻酔) に対する反応性を減弱させることが示唆された。

4) 免疫系

PCB126 は新生子ラットの白血球数、CD4 陽性細胞数、CD8 陽性細胞数を減少させる傾向がみられたが有意差は検出されなかった。しかし、CD4+/CD8+比では 6 週齢で低下及び 15 週齢で同比の上昇が有意に認められたことから、PCB126 はリンパ球サブセットに反映される免疫能を低下させることが示唆された。

3. PCB126 単回暴露の雌新生子への影響

1) 妊娠 15 日の母親ラットへの単回暴露 ($10\mu\text{g}/\text{kg}$ 及び $100\mu\text{g}/\text{kg}$) は、新生子雌ラットに卵巣重量の減少及び胞状卵胞の退行を誘発しなかった。しかし、単回暴露でも反復暴露でみられたような膈開口遅延、初回排卵数減少、初回排卵時の子宮重量の減少が確認され、PCB126 は新生子の卵胞の発育を阻害することが明らかとなった。

2) $1\mu\text{g}/\text{kg}$ または $10\mu\text{g}/\text{kg}$ を妊娠 8 日または 15 日の母親ラットに単回暴露した新生子では暴露を受けた妊娠日にかかわらず、初回排卵数が減少した ($10\mu\text{g}/\text{kg}$)。しかし、性成熟後の性周期、排卵、交配などには影響は認められず、また、交配により得られた出生子(F_2 雌)の春機発動にも異常は認められなかった。一方、PCB126 暴露は雌発情加齢変化 (連続発情) の進行を促進することが示唆された。

II. DMBA(7, 12-dimethyl benz[*a*]anthracene)誘発ラット乳腺腫瘍に対する PCB126 胎生期暴露の影響

① 妊娠 13 日から 19 日の 7 日間、PCB126 $25\text{pg}/\text{kg}/\text{day}$ 、 $2.5\text{ng}/\text{kg}/\text{day}$ 、 $250\text{ng}/\text{kg}/\text{day}$ または $7.5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を投与し、得られた出生子(生後 50 日)に DMBA を単回投与した結果、 $7.5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 群(高暴露群)においてのみ、乳腺腫瘍の発生頻度が減少し(35/45; 77.8%)、腫瘍発生日も遅延した。他の PCB126 暴露量では DMBA 誘発乳腺腫瘍の発生頻度(対照群: 42/45; 93.3%、 $25\text{pg}/\text{kg}$ 群: 44/45; 97.8%、 $2.5\text{ng}/\text{kg}$ 群 42/45; 93.3%、 $250\text{ng}/\text{kg}$ 群: 43/45; 95.6%)及び腫瘍発生日に有意な差は認められなかった。

一方、累積腫瘍発生個体数変動解析から、PCB126 高暴露群の個体では乳腺発癌は低下し、中間暴

露(2.5ng/kg 及び 250ng/kg)群では乳腺発癌が亢進した。低暴露(25pg/kg)群では、対照群と同様の乳腺発癌であった。

また、高暴露群では乳腺腫瘍の41%(33/81)は腺腫であったが、250ng/kg(219/219)、2.5ng/kg(167/167)及び25pg/kg(122/122)群ではいずれもすべて乳腺癌であった。

- ② 生後50日例の肝及び脂肪組織中のPCB126濃度は暴露量に比例して検出された(肝:対照群 $0.12\text{ng/g} \pm 0.02$ 、25pg/kg群 $0.14 \pm 0.02\text{ng/g}$ 、2.5ng/kg群 $0.29 \pm 0.08\text{ng/g}$ 、250ng/kg群 $2.47 \pm 0.79\text{ng/g}$ 、7.5 $\mu\text{g/kg}$ 群 $64.08 \pm 7.98\text{ng/g}$ 、脂肪組織:対照群 $0.9 \pm 0.96\text{ng/g}$ 、25pg/kg群 $1.07 \pm 1.03\text{ng/g}$ 、2.5ng/kg群 $130.68 \pm 11.43\text{ng/g}$ 、250ng/kg群 $209.91 \pm 52.77\text{ng/g}$ 、7.5 $\mu\text{g/kg}$ 群 $4,285.94 \pm 535.90\text{ng/g}$)。
- ③ 生後30日齢の肝CYP1A1発現(免疫組織化学的)は、対照群では認められなかったが、暴露群では肝小葉中心性に暴露量に依存して認められた。
- ④ CYP1A1-mRNA及びCYP1B1-mRNAはCYP1A1の発現と同様に暴露量依存性に認められたが、50日齢の時点ではその発現量は大きく減少していた。これらの変化は他の試験でも確認された再現性のある変化であった。

III. PCB126の植物代謝及び遺伝形質への影響

- ① アブラナ科のシロイヌナズナをPCB126添加水溶液で生育させ、葉や根にGUS(β -グルクロニダーゼ)遺伝子の発現する系統を作出した。一方、生育させたシロイヌナズナの地上部(茎や葉)からPCB126が検出されたことから、PCB126は根より吸収されることを立証した。
- ② ディファレンシャルディスプレイ法を用いて、PCB126を生育用水溶液中に暴露すると、新たに出現あるいは発現の促進がみられるmRNAと反対に消失あるいは減少するmRNAの二つの異なった発現パターンを示すmRNAを発見した。

IV. PCB126暴露の生体指標

PCB126暴露の生体指標として、電子常磁性共鳴吸収(EPR)解析の有用性を検討した。

PCBは暴露ラット肝チトクロームP450のヘム構造が変化した異常なシグナルを持つチトクロームP450(2.49種)を形成することを明らかにした。このg値2.49シグナルと正常ラットにおいて検出されるg値2.40シグナルを数値化することで、PCB126の暴露量(蓄積量)の推定が可能となった。肝臓中のPCBの減少(GC/MSによる定量性)とg値2.40シグナル強度との間に相関のみられたことから、この指標を用いることはPCB各異性体の検出や蓄積量を測定することができ、野生生物への汚染状態を把握するのに貢献できるものと考えた。

V. 野生動物におけるCo-PCBs汚染状況

- 1) 北海道沿岸でのゴマフアザラシ及びクラカケアザラシには有機塩素系化合物のうちPCBsの蓄積(650~2,600ng/g wet wt)が最も多かった。次いでDDT(60~200ng/g wet wt)、クロルダン類(~250ng/g wet wt)、ヘキサクロロシクロヘキサン、ヘキサクロロベンゼンの順であった。PCBsのなかでは、mono-ortho PCBs(Co-PCBs)がnon-ortho PCBsに比べ高濃度に蓄積していた。オオワシ及びオオジロワシの調査でも同様の成績であった。
- 2) 北海道由来のモクズガニはDDTやHCHなど農薬由来の有機塩素系化合物が多く蓄積していたが、利根川由来のモクズガニではダイオキシン類(異性体パターンから焼却施設由来と考えられた)が高濃度に蓄積されていた。

- 3) 種々の生物種(イノシシ、アカギツネ、テン、ハクビシン、ニホンザル、ツキノワグマ、タヌキ、イヌ、ドバト、ハシボソガラス、カワウ、ゴイサギ、コサギ、トビ、ハヤブサ、ツミ、オオタカ、イヌワシ)を岐阜、滋賀、三重、静岡、石川県より採集し、Co-PCBs の暴露状況を調べた結果、Co-PCBs の生体への蓄積量を決定する要因は、食物連鎖の上位に立つこと以外に、対象生物が肉食性であるかどうかにあることが明らかとなった。
- 4) 北海道沿岸のアザラシの血漿中甲状腺ホルモンレベルは PCB170 や PCB180 との間に負の相関がみられることを明らかにし、PCBs による野生生物の汚染が内分泌系を攪乱している可能性が考えられた。

コプラナーPCBs の生体影響については多くのデータが蓄積され、その解明が進められている。しかし、暴露量と生体反応関係、異性体存在比と生体反応の多様性、他の化学物質との相互作用による生体反応の違い、次世代、次々世代への影響など、極論すれば、知り得たい生体影響はまだ何も明らかにされていないといっても過言ではない。この種の研究は研究を進めれば進める程、わからなくなる。そういう状況に現在は位置づけられているとの実感が強い。一方、TDI を求めることは重要であるが算定の基礎となるデータの特性から考え、「おおざっぱにみて」との観点から、暫定的に定められているものと理解したい。示されている値にあまりこだわり過ぎると真実を見失う結果になりかねない。今は、どのような生体影響があるのかさらに究明することが重要と考えている。

Effect of exposure to coplanar PCBs on the health of rats

Fumiaki Akahori

Department of Veterinary Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Azabu University

教育講演

EL-1 バイオ食品とアレルギー：アレルギー性の評価について

河野 陽一

千葉大学大学院 医学研究院 小児病態学

近年遺伝子組換え(GM)技術により新たな特性が付与された食品が開発され、日本においてもすでにGM食品44品種、GM添加物10品目が認可され、市場に流通している。これらGM食品・食品添加物の安全性の評価は、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」(以下「安全性審査基準」)により行われ、この安全性審査は法的に義務化されていることから、規格基準に適合しない食品は製造・販売できない。

GM食品の安全性の評価項目については、最近その患者数が増加している食物アレルギーとの関わりから、GM食品のアレルギー誘発性が重要視されているが、特定のタンパク質がアレルゲンとして働くメカニズムについては、分子レベルでの明確な解答は得られていない。そこで、「安全性審査基準」においては、既知のアレルゲンと新規導入タンパク質との分子相同性を基に、食物アレルギー患者が知らずに原因アレルゲンと構造の極めて類似した新規導入タンパク質を摂取することがないことを、安全性評価の1つの基本としている。また、重篤なアレルギーであるアナフィラキシーショックはIgE抗体が主要な役割を担っていることから、IgE抗体との結合能を新規導入タンパク質のアレルゲン性評価の機能的な指標とした。すなわち、抗体は主にタンパク分子の高次構造よりなる抗原決定基を認識することから、物理化学的処理に感受性の高いタンパク分子は、変性によりIgE抗体の抗原決定基が失われ易く、アレルゲンとして働く可能性が低いと考えられる。以上より、新規導入タンパク質の物理化学的処理に対する感受性、および既知のアレルゲンとの構造相同性をアレルギー誘発性に関する主要な評価項目とし、この他に新規導入タンパク質の摂取量および形態などを含めて新規導入タンパク質のアレルゲン性を判断している。しかし、現在のところ特定のタンパク質のアレルゲン性を明確に予測することは困難であり、また生体への摂取状況によってはGM食品に限らず全てのタンパク質がアレルゲンとして働く潜在的可能性を含むと考えた方がよい。今後、食物アレルギーの発症状況などを把握する、速やかな情報収集システムの整備も必要であろう。

Genetically modified foods and allergy: assessment of allergenicity

Yoichi KOHNO

Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Chiba University

EL-2 CYP1A1 誘導機構と医薬品

十川 和博
東北大学大学院 生命科学研究所

CYP1A1 は環境汚染物質であるベンツピレンやメチルコランスレン(MC)などの多環芳香族化合物や、ダイオキシンや PCB などのハロゲン化芳香族化合物によって強く誘導され、それらの発がん物質への活性化に強く関与している。この誘導は遺伝子の転写レベルでおもに行われる。この遺伝子の転写の活性化に中心的役割を果たしているのが、受容体型転写因子 Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR)である。AhR は bHLH/PAS ドメインをもつ転写因子で、PAS ドメインの後半部分で MC などのリガンドと結合する。リガンド結合によって、活性化された AhR は細胞質から核に移行し、核内でおなじく bHLH/PAS ドメインをもつ転写因子 Arnt とヘテロダイマーを形成する。このヘテロダイマーは XRE と名づけられた遺伝子の調節領域に存在する DNA エlement に特異的に結合し、遺伝子の転写を活性化することが知られている。

我々はこの誘導メカニズムを詳細に解析してきた。その結果さらに、この転写誘導システムには AhR リプレッサーによる、負のフィードバック機構が存在すること、XRE を介さない AhR による新たな転写活性化システムが存在することなどを明らかにすることができた。これらの成果をもとに、CYP1A1 の誘導について最近の進歩をのべる。

Induction Mechanism of CYP1A1 and Drugs
Kazuhiro SOGAWA
Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

EL-3

The application of genomics to mechanism-based risk assessment

Michael P. Holsapple, Ph.D.

ILSI Health and Environmental Sciences Institute

Recent advances in genomic and proteomic research, coupled with the availability of novel tools and methods with which to analyze the products of altered gene expression, have provided new insights into mechanisms of toxicity evoked by xenobiotics. While these advances promise to improve our ability to characterize hazard, the challenge in the near future is to establish a body of available knowledge to serve as a foundation for applying the data generated by these new methods to risk assessment. The membership of the ILSI Health and Environmental Sciences Institute (HESI) formed the Committee on the Application of Genomics to Mechanism-based Risk Assessment to develop a program of activities to address some of these issues. The Committee is composed of approximately 30 corporate participants as well as scientists from governmental laboratories in the U.S., Europe, and Japan, and members of the academic research community. The Committee's work is carried out by four Working Groups that represent the following areas of interest: genotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, and database development. Each of the toxicity Working Groups was charged with the task of creating a simple experimental design to produce RNA for analysis by members of the consortium. The generation and analysis of this extensive data set is providing valuable information on the use genomic data with respect to issues of reproducibility, biological and technical sources of variation, and statistical interpretation. The Committee's database development collaboration with the European Bioinformatics Institute also serves as an important platform for addressing the challenges associated with the storage and broad distribution and analysis of genomic data. Once completed in 2003, the database's ability to hold both genetic microarray and toxicology data will make it a leader in publicly available scientific resources of this kind.

EL-4

成熟時期に影響する因子は何か？ 植物エストロジェンはどのような役割を果たすか？

John Ashby

Syngenta CTL, Alderley Edge, Cheshire, UK

膣開口および包皮分離の平均日数等のげっ歯類の性成熟の指標は、化学物質がげっ歯類の内分泌系に作用する可能性を調べるためにますます広く用いられている。被験物質あるいは飼料成分としての植物エストロジェンが、前述のパラメーターに影響を与える可能性について現在大きな関心が持たれている。現在、飼料中に含まれる濃度では、植物エストロジェンが実験研究を複雑化させることはなさそうである。しかし、これらの研究を通して我々は、げっ歯類のエネルギー総摂取量が性成熟時期の重要な決定因子であることを確認した。飼料摂取量の変化が、性成熟時期を調節する可能性があるため、この研究結果は、通常の内分毒性試験の実施に対して深い意味を持つ。これらの研究成果がヒトの性成熟に対して持つ意味についても検討する。

What are the factors that influence the timing of puberty, and what roles could phytoestrogens play?

John Ashby

Syngenta Central Toxicology Laboratory, Alderley Edge, Cheshire, UK

Landmarks of rodent sexual maturation, such as the mean day of vaginal opening and prepuce separation, are increasingly used to monitor the potential of chemicals to interact with the rodent endocrine system. The potential of phytoestrogens, either as test agents or as dietary constituents, to influence these parameters is therefore of great current interest. Data will be described that indicate that dietary phytoestrogens, at the levels currently encountered, are unlikely to complicate experimental studies. However, during the course of these studies we confirmed that the total energy intake of rodents is the critical determinant of the time of sexual maturation. This finding has implications for the conduct of routine endocrine toxicity assessments as changes in food intake may modulate the timing sexual maturation. The implications of these findings to human sexual development will also be explored.

EL-5 化学物質による胎児中枢神経毒性の発現メカニズム

片山 圭一

東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医病理学教室

母体に暴露された化学物質は胎児への毒性を介して次世代に重大な影響を及ぼす可能性を秘めている。なかでも胎児の中枢神経系は化学物質に対して感受性を示す期間が長く、また、胎児の中枢神経組織に存在する神経上皮細胞（自己複製能および多分化能を有する神経幹細胞）は遺伝子障害性を有する化学物質にはとりわけ高い感受性を示し、遺伝子障害性の刺激に対して容易にアポトーシスの過剰発現が誘発される。

当研究室ではそのような遺伝子障害性を有する化学物質のなかで、アルキル化剤である ethylnitrosourea (ENU) および DNA メチル化阻害剤である 5-azacytidine (5AzC) を用いて、胎児の中枢神経組織に障害を与えた場合に起こるアポトーシスの過剰発現について、主に細胞周期の変動との関連に着目して検索を行ってきた。これらの化学物質を含むおよそ全ての遺伝子障害性を有する化学物質は、p53 依存性に神経上皮細胞にアポトーシスを誘発する。しかしながら、当研究室で用いた上記の二つの化学物質は細胞周期の変動に関して全く異なった反応を示した。すなわち、ENU は DNA 複製を開始した神経上皮細胞に作用し、DNA 複製を重度に抑制または停止させた後、G2 期に入る前にアポトーシスを誘発することを示唆する結果を得ており、また、5AzC は DNA 複製中の神経上皮細胞の DNA に取り込まれ、取り込まれた神経上皮細胞を M 期で停滞させた後、分裂後の G1 期の細胞にアポトーシスを誘発することを示唆する結果を得ている。

胎児の中枢神経の発生に影響を及ぼすことが指摘されている化学物質は年々増加の一途を辿っているが、その毒性発現の機序に関してはまだほとんど解っていないというのが現状であろうと思われる。従って、胎児中枢神経毒性の発現メカニズムを解明することは、毒性学領域にける最重要課題であると考えられる。

Mechanism of chemically induced fetal central nervous system toxicity

Kei-ichi KATAYAMA

Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

EL-6 食品の安全性はどのように確保されるか

西島 基弘
実践女子大学 生活科学部

1. 消費者と安全性

食品の安全性はいつの時代でも大きな課題のひとつであった。

しかし、昨今食品の安全性に関して消費者は従来にも増して関心を示している。大学や企業の研究者はそれに対してどのように向き合っていけばいいのだろうか。

消費者の不安を考えると食品の安全性に不安を持っている人が多いことは間違いないが、冷静に見ると安全性そのものよりも何となく食品が不安だと考えている人が多い。一方で、高額な健康食品やサプリメントに頼る食生活をしている人も多い。

そのような背景で研究者や行政はどのように消費者に向き合えばいいのだろうか。

従来、食品添加物や残留農薬は毒性試験や有効性などを確認し、評価を行ってきた。それにもかかわらず消費者が不安を持っているのはリスクコミュニケーションをよりいっそう進める必要がある。

2. 食品の安全性と食品衛生法

食品の安全性は食品衛生法が根幹となっている。この食品衛生法は本年より改正され、新たな観点で安全が守られるようになった。

食品衛生法の一部、目的などが改正された。

*食品衛生法の目的

旧 この法律は、飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止し、公衆衛生の向上及び増進に寄与することを目的とする。

↓

新 この法律は、食品の安全性の確保のために公衆衛生の見地から必要な規制その他の措置を講ずることにより、飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止し、もって国民の健康の保護を図ることを目的とする。（食品の安全性に対する国民の不安や不信が高まっている中で、食品の確保のための施策の充実を通じ、国民の健康の保護を図る）ことを目的としている。

概要

食品衛生法の改定内容

1) 法の目的及び国等の責務

- (1) 法の目的規定の見直し（国民の健康の保護を図る旨を規定）
- (2) 国民及び地方公共団体の責務の明確化
- (3) 国民等からの意見聴取（リスクコミュニケーション）の明確化
- (4) 食品等の事業者の責務の明確化

2) 規格・基準

- (1) 農薬等の残留規制の強化（ポジティブリスト制の導入）
- (2) 安全性に問題のある既存添加物の使用禁止

- (3) 特殊な方法により摂取する食品等の暫定的な流通禁止措置
- 3) 監視・検査体制
- (1) 監視・検査体制の整備
- (2) 営業者による食品の安全性確保への取り組みの推進
- 4) 食中毒等飲食に起因する事故への対応の強化
- (1) 大規模・広域な食中毒の発生時等の構成労働大臣による調査の要請等
- (2) 保健所長による調査及び報告
- 5) 罰則の強化
等が骨子である。

3. 食品添加物 食品添加物や残留農薬が消費者の不安の対象となっていることがいくつかのアンケート調査からも示されている。食品添加物の安全性はどのように確保されているのだろうか。

食品添加物

- 指定添加物・・・約 340 品目（厚生労働大臣が指定した添加物で、天然添加物も含む）
 既存添加物・・・約 490 品目
 天然香料・・・（基原物質として約 610 品目）
 一般飲食物添加物・・・約 70 品目

毒性試験

- ・一般毒性試験（28 日反復投与、90 日反復投与、1 年間反復投与）
- ・特殊毒性試験 繁殖試験
 - 催奇形性試験
 - 発がん試験
 - 抗原性試験
 - 変異原性 など

2. 食品添加物を例に

- ・毒性試験
- ・食品添加物一日摂取量調査結果

表 日本人の食品添加物摂取量調査（抜粋）

食品添加物	摂取量(mg/日)	ADI(mg/kg 体重)	対 ADI(%)
ソルビン酸	19.6	25	1.57
安息香酸	1.53	5	0.64
デヒドロ酢酸	ND	-	-
パラオキシ安息香酸エステル	0.25	10	0.05
プロピレングリコール	31.7	25	2.54
サッカリンナトリウム	2.88	5	1.55
アスパルテーム	2.64	-	-
亜硝酸	0.89	0.06	8.9
硝酸	189.0	3.6	102
食用黄色 4 号	0.549	7.5	0.15
チアベンダゾール	0.0000075	0.1	0.01 以下
オルトフェニルフェノール	ND	0.2	-

・基準設定の根拠

＊加工食品の食品衛生法違反の現状

国内加工食品

輸入食品

4. おわりに 安全性の確保のために食品に関連する行政機関、農作物の生産、加工、流通に係る多くの人たちが真剣に取り組んでいる。

しかし、消費者が食品に対し安心していているかを考えると、不安に思っている人が少なからずいるのが現状である。食品は意識するか否かにかかわらず安全で、安心できるものでなくてはならない。

国民が安心して食生活を楽しむようにするためには学者、研究者が科学的に判断して社会に対し、責任のある発言をすることも重要と考える。

EL-7 BSEと食の安全性

品川 森一

(独行) 動物衛生研究所 プリオン病研究センター

BSE(Bovine Spongiform Encephalopathy)は1986年に英国で発見された牛のプリオン病である。羊スクレイビーが肉骨粉を介して牛に感染したと推定された。羊スクレイビーは人への感染が知られていなかったため、当初 BSE も人への影響は少ないと考えられていたが、1989年に中枢神経組織、脾臓、胸腺など細網リンパ系組織の食用が禁止された。その後、1990年に種が遠く離れた猫にペットフードを介した感染が発見されたため、人への感染がより現実的なものとなり、クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)のサーベイランスが始まった。その結果1996年に至って新変異型CJD(vCJD)が報告された。vCJDとBSEおよびBSE感染異種動物との共通点から食肉を介したBSEの人への伝達が示唆され、BSEは人獣共通感染症として認識された。

プリオンは、機能が十分理解されていない宿主の細胞膜蛋白、PrP^c(正常プリオン蛋白)の構造異性体PrP^{Sc}(スクレイビー型プリオン蛋白あるいは異常プリオン蛋白)が規則正しく凝集したものである。PrP^cはPrP^{Sc}を鋳型として構造を変えると考えられている。このため、遺伝子が無くても、その性質はPrP^{Sc}の構造によって伝えられる。プリオンが種を超えて伝達する際、同種のとくに比べ潜伏期が長く伝達率が低いなど、種の壁と呼ばれる現象が見られる。BSEに関しては、種の壁が低く容易に多くの種に伝達できる。種の壁にはプリオン蛋白のアミノ酸配列の違いが関係している。構造がどの程度種の壁に関係しているのか分かっていない。

BSEは牛を原料とする畜産食品を介して人に侵入する。感染牛の摘発・排除によって侵入阻止がはかられている。食肉は健康な動物から生産されるため、一見健康な感染牛の摘発が必要である。プリオンは宿主蛋白に由来するため、抗体が産生されない。このため、BSEプリオンを構成するPrP^{Sc}を検出して感染を知る方法がとられている。現在わが国で実施されているスクリーニング検査に用いられるELISA法の感度は、およそ500 LD₅₀(牛)、確認検査のウエスタンブロットはその10倍程度の感度である。ちなみに種の壁のあるマウスの1 LD₅₀は牛の場合の500倍程度で、ELISA法と同程度である。BSEプリオンに対する人の感受性(種の壁の程度)はわからない。このため、食肉の安全性確保のために必要な検出感度は決められず、現時点で実用的な高感度検出系が用いられ、検査陰性個体の特定危険部位が除去されて食肉とされる。より高いレベルの安全性を保障するためには、より高感度にPrP^{Sc}を検出する必要がある。実用段階に達した更なる高感度検出法として、構造依存性免疫検査(Conformation Dependent Immunoassay, CDI)が報告されていて、1 LD₅₀(牛)以上の感度という。早期生前診断が理想であるが、羊と違って牛の場合、プリオンは中枢神経系組織と、一部回腸遠位端に限局して検出されるため、生前にこれら組織採取してPrP^{Sc}を検出することは困難である。早期生前診断のために、PrP^{Sc}以外のマーカーの探索も始まったが、現在のところまだ有効なものは見つかっていない。

BSE and Food Safety

Morikazu SHINAGAWA

Prion Disease Research Center

National Institute of Animal Health

シンポジウム

S1-1 薬害としての視覚器障害

西田 輝夫

山口大学 医学部 分子感知医科学 (眼科学)

疾患治療の原則は、生体に何らの傷跡、欠損や機能障害などを残すことなく、正常な形態や機能に回復させることである。生薬に始まり、化学合成による薬物や最近では生物学的薬剤が開発されてきた。また薬物開発の標的も、より分子レベルで明確に理解されるようになってきた。

薬物治療により体全体の機能が回復したとしても、感覚器特に視覚器に万一にも障害が生じることは患者にとって極めて大きな不利益である。ただ生命を永らえることを医療の目標とする時代から、世界の最長寿国である我が国では、人間としての尊厳を維持し、十分に社会と関わりを持ってより長い人生を享受せしめる医療が目標となってきている。我々人間は五感の中でも特に視覚機能に依存して生活を送っており、このように医学が進歩すればするほど自らの意志で十分に個人の生活を行うだけの視覚を保持することが極めて重要である。従って、医薬品の開発にあたっては、薬物の効能という面への考察とともに、肝臓や腎臓をはじめとする薬物代謝排泄臓器への副反応のみならず、視覚器に対する影響に十分異常の配慮を払う必要がある。

歴史的には、マラリア治療薬であるクロロキンや塩酸キニーネによる網膜障害、結核治療薬であるエタンプトールによる視神経障害などが知られているが、現在でも抗生物質や消炎鎮痛剤による Stevens-Johnson 症候群、ステロイドによる白内障や緑内障など、視覚機能を著しく障害する薬物が知られている。さらに生物学的製剤の発達は、肝炎治療に用いるインターフェロンによる網膜炎など、あらたな副反応を引き起こしている。一方、このような全身疾患治療薬による眼障害のみならず、局所的に用いられる眼科用剤（点眼剤）などでも、主薬による直接的な角結膜障害に加え、防腐剤や賦型剤による障害などがある。“全ての物質は毒であり、毒でないものはあり得ないのであって、まさに用量が毒と薬を区別する”というパラケルスス（1493-1541）の言葉の通り用量が大切であるが、同時に組織に特異的な細胞や構造への過剰な沈着などの問題、主薬のみならず添加物などによる製薬設計上の問題などが存在する。

本講演では、視覚が我々人間が生活する上でいかに大切であるかについて概観した後、全身用薬や眼科局所薬による副反応の一つとして視覚障害を引き起こす例について問題点を考察し、新しく創薬する時に配慮すべき点などについて述べる。

Visual Disturbance as adverse effects of drugs

Teruo Nishida

Department of Biomolecular Recognition and Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine

S1-2 **Ocular toxicology**

Robert L. Peiffer, Jr DVM, PhD, Dip ACVO

Senior Investigator, Merck Research Laboratories, West Point, PA

Adjunct Professor, Scheie Eye Institute, University of Pennsylvania, Philadelphia PA

Ocular toxicology is an important and essential component in the safety assessment of drugs intended for systemic or ophthalmic application, not only because of the importance of vision as a cognitive sense but because the eye provides a window to the workings of the entire body, especially the central nervous system and the peripheral vasculature. Clinical ophthalmic examination is the foundation, providing an efficient, non-invasive methodology to evaluate the ocular tissues. While indirect ophthalmoscopy and biomicroscopy are the cornerstones of the clinical examination, emerging technologies allow for sophisticated *in vivo* morphologic and functional evaluation of the ocular tissues and include tonometry, pachymetry, Scheimpflug photography, fluorescein angiography, electroretinography and measurement of visual-evoked potentials. Integration of clinical observations with histopathology will optimize the capabilities of the toxicologist.

Application of these techniques in a spectrum of model systems (rodent, rabbit, dog, monkey) will be reviewed from the perspective of normalcy, common spontaneous lesions, and their role in the mechanistic elucidation of examples of corneal toxicity, cataract, and retinopathy. Clinical changes will be correlated with histologic findings in representative examples.

S1-3 安全性試験における眼科学的検査法の現状と将来

久野 博司

比較眼科学会会長

萬有製薬(株)安全性研究所 上級主任研究員

非臨床安全性試験を実施するにあたり、各国とも眼科学的検査が必須項目として取上げられており、我が国の医薬品非臨床試験ガイドライン解説では、反復投与試験において肉眼および検眼鏡を用いた可視範囲の検査が求められている。比較眼科学会では製薬企業・CRO・公的研究機関・大学が参加し、眼科学的検査の質の向上を目指した学术交流を行っている。その活動の一つとして実験動物を対象とした眼科検査機器の使用法および眼病変の観察法を学ぶ講習会を開催するとともに、異常な所見についてはスライドを用いて勉強会を実施している。

眼を検査するにあたり、倒像検眼鏡で眼瞼、角膜、結膜、虹彩、水晶体、硝子体、網膜を観察することは不可欠である。しかしながら観察部位によっては倒像検眼鏡での検査に止まらず、光学的な切片を作り、より詳細に観察できるスリットランプ(X10)の検査が推奨される。シンポジウムでは倒像検眼鏡とスリットランプを用いた場合の観察像の違いを示し、眼の検査における観察のコンセプトを紹介する。また、眼には正常変動としてどのような変化がみられるか、ラットを中心に角膜、虹彩、水晶体、硝子体、網膜、視神経乳頭の代表的病変を紹介し、Crj: CD (SD) IGS ラットの眼科学的検査においてみられる変化の頻度を提示する。

非臨床安全性試験における眼科学的検査は高度な眼科学的知識ならびに観察技術を要する重要な検査であるにもかかわらず、現在のところ国内では定型的な検査法は定められていないばかりか、毒性眼科教育の場を学校に見いだせず、卒後教育に頼らざるを得ない環境にある。そのためか各試験施設での検査法あるいは検査担当者の眼科学教育に大きな質的量的な違いがみられている。また、「病変がない」のではなく「見つけることが出来ない」が故に、「異常なし」と報告されていることもあるのではなかろうか。眼科検査は病理検査などと異なり、動物の死後は再検査することが出来ない。つまり、検査担当者のみが病変の有無を判断できるわけであり、検査担当者の力量がより一層求められる検査とも云える。

これらの現状を踏まえて、比較眼科学会では専門職制度を1990年に発足させ、さらに昨年には専門性をより特化させるために獣医専門医と基礎眼科専門職に改組した。基礎眼科専門職は主に実験動物の眼科学に関する研究の促進、成果の普及を図り比較眼科学の発展に寄与することを目的に活動している。このような職務能力を有する研究者が非臨床安全性試験の眼科学的検査を行うことにより、試験成績の信頼性の向上に寄与するものと考えられる。シンポジウムではこのような比較眼科学会における毒性眼科学への取り組み方と、欧米諸国との情報交換をも視野に入れた今後の展望を紹介する。

Present State and Future of Ophthalmologic Examination in Preclinical Safety Assessment Study in Japan

Hiroshi KUNO, ph.D

Banyu Pharmaceutical Co., Ltd., Development Research Laboratories, Safety Assessment, Senior Research Director
11 Japanese Society of Comparative and Veterinary Ophthalmology, President

S1-4 探究的視覚（器）毒性評価法

今井 良悦

武田薬品工業(株)・薬物機能第二研究所

定型的な毒性試験において眼科学的検査および病理組織学的検査により、視覚（器）に毒性が認められた場合、通常、それだけは終わらず、毒性の再現性の確認、無毒性量の評価、発現した毒性の詳細な確認、毒性発現機序の解明など、引き続き視覚（器）の毒性に焦点を当てた様々な探究的な試験が実施され、最終的に視覚（器）に対する安全性が評価される。

我々の研究所においてもこれら視覚（器）毒性に焦点を当てた探究的な評価を経験してきたが、いくつかの事例について紹介する。

1. 動物の行動を利用した視覚（器）毒性の検出

視覚器に毒性が認められた場合、動物がどの程度見えているか（明暗を弁別しているか）について検討することも重要である。オペラントなどの動物の行動を利用した方法を紹介する。

2. 電気生理学的手法を利用した視覚（器）毒性の検出

動物の視覚を客観的に評価する方法として、電気生理学的手法がしばしば用いられる。網膜電図（ERG）を用いた事例について、視覚誘発電位（VEP）の同時記録、c 波の利用などについて紹介する。

3. Scheimpflug camera を利用した水晶体混濁の評価

水晶体混濁の評価は観察者の主観によることがほとんどであるが、客観的評価として実験動物への利用が可能と考えられる Scheimpflug camera を用いた実験的事例について紹介する。

Investigative Procedures for Visual Toxicity Assessments

Ryoetsu IMAI

Takeda Chemical Industries, Ltd., Drug Safety Research Laboratories

S2-1 毒性評価におけるバイオマーカーの現状と将来展望

堀井 郁夫

ファイザー製薬(株) 中央研究所 安全性研究統括部

毒性評価におけるバイオマーカーの現状：これまで毒性評価に用いられてきたバイオマーカーはヒトの臨床検査(血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、機能検査など)を中心とした手法・対象適応を実験動物に応用する事による対応がとられてきた。その他、行動検査、病理組織学的検査などの一部も新しい科学的手法を取り込みそれらをバイオマーカー的に捉えようとする動きもある。しかし、我々はこれら伝統的科学手法・評価適応に限界があることを十分認識しているもののそれを打破するトリガーが明確に掴めないままに今日に至っている。ここ数年、新しいテクノロジーとして遺伝子科学を中心としたゲノミクス、プロテオミクスおよびメタボノミクスに関わる革新的進歩は、医薬品の安全性評価戦略に大きなインパクトを与え、新しいバイオマーカーの探索とその応用が今まさに求められてきている。

今、何が毒性評価対象としてのバイオマーカーに求められているのか?：一般的に医薬品開発研究上のバイオマーカーに求められる究極の対象は、臨床の場での対応医薬品でのバイオマーカーであり、疾患バイオマーカー、薬効薬理的バイオマーカーおよび毒性指標バイオマーカー等が挙げられる。毒作用に関するバイオマーカーの探策の目的は、(1)創薬の早期に適切なバイオマーカーの指標により毒作用を予測・警告し、より安全で効果のある医薬品候補を選出する(2)ヒトでの臨床試験の際の副作用発生を特異的にしかも高感度で検知することができる(3)市販後も指定バイオマーカーの変化により安全性面でモニターし得る、等にある。毒作用に関するバイオマーカーは、化合物が薬理的標的あるいは薬効の延長上にない標的外器官・組織において特異的・非特異的に産出される毒作用の生体反応であり、防御、修復あるいは障害に関連する反応の結果示される指標である。

今後の展望：遺伝子科学を導入したトキシコゲノミクス、トキシコプロテオミクスおよびメタボノミクスでは、それぞれ遺伝子発現、蛋白質発現、中間・最終代謝産物の産生が解析の対象となる。これら開発された新しいバイオマーカーをエンドポイントとして用いることが臨床の場でも応用されることは患者の個々の個人差による副作用の現れ方にも結びつき真の意味でのテーラメイドな処方につながるであろう。このような新しいテクノロジー・科学を導入する場合は *in vivo* および *in vitro* の両面にあり、更には行動薬理学、病理組織学領域でのバイオマーカーに対する新しい展開が要求されてきている。

最終的には創薬研究の初期から臨床開発研究を経た市場での副作用に関わる一律的な毒作用関連バイオマーカーの探索とその実用化が望まれている。

Current status and future aspects of toxicologically responsible biomarker

Ikuo HORII

Drug Safety Evaluation, Pfizer Global Research & Development

野村 護
第一製薬(株)・研究企画部

医薬品の非臨床毒性試験は、各国の規制当局が発効している GLP 規制に適合した試験施設で実施することが義務付けられている。一方、毒性試験を評価するための各種毒性試験の方法は必ずしも同じ指針(ガイドラインあるいはガイダンス)で実施されていない。また、毒性試験の初期フェーズでは一般的にスクリーニング的要素が多く、科学的に広く普及された外観症状、機能検査、臨床検査、病理学的検査を質的、量的に総合評価して毒性の標的臓器とヒトに対する安全量を予測することが主たる目的となっている。一般的には、これらの毒性試験を評価するツールのなかで被験物質を投与した動物から得られた血液、血清、尿などの試料について臨床化学的検査を実施し、その測定値から生体に及ぼす影響を評価する手法が生理学的あるいは生化学的なバイオマーカーとして一般的に認識されている。さらに、実験室レベルでのバイオマーカーには非侵襲性の心電図や ERG などの電気生理学的検査法や内視鏡、眼底検査以外にも、超音波、X 線、MRI などの画像診断、排泄試験や食食能試験あるいはバイオプシーを含めた細胞解析なども生前に診断が可能な検査法と認知されている。また、毒性試験では同時に屠殺後の病理学的な確定診断も含まれていることは言うまでもない。しかし、これらの非臨床試験段階で繁用されているエンドポイント・バイオマーカーは臨床の場合において、全ての手法が活用できるものではないし、また逆に実験動物領域で確立されていないサロゲート・バイオマーカーなどは現実的に実験動物での毒性評価には実務的でない。

製薬企業の毒性評価に使用されているバイオマーカーは、毒性試験のみならず薬物動態試験や安全性薬理試験および薬効試験などからの情報も共有されて評価されるべきであるが、投与マーカーとしての用量ギャップは過剰投薬のリスクとしての評価はできても本質的な予測性は困難と考えられる。逆に、薬効マーカーとしての用量ギャップは薬理学的作用の延長として、安易に帰結され兼ねない。例えば、糖尿病治療薬は毒性試験において実験動物の血糖低下が見られた場合エンドポイント・バイオマーカーとして捉えずに、モデル動物として高血糖を低下させたのと同様に薬効試験としてのサロゲートエンドポイントとして評価されている事象であろう。本来は毒性試験としての評価では低血糖に基づく中枢神経系の異常や、筋緊張度が低下するなど関連事象の異常出現に注目して評価するべきである。このような薬理学的作用の延長上にあるものを毒性として認識する考えは乏しく、近代化を標榜する毒性評価改革者とのギャップは存続していると言っても過言ではないであろう。三環系抗うつ剤に見られる心電図異常も、スクリーニング的な評価項目からは検出できず心電図を投与後経時的に検査しなければ発見できないものである。すなわち、通常の毒性試験で重視されているエンドポイント・バイオマーカーのみでは不十分な評価であろう。特に投与初期に見られる変化は、往々にして毒性試験の最終段階で見落とされる危険性がある。このような変化は臨床試験の際に好ましくない作用として発現する可能性があり得る。したがって用量設定のような予備的試験においても主要臓器に由来するバイオマーカーの検出に努めることが重要であり、探索的毒性評価の進め方としての確である。こうして見出されたバイオマーカーは一連の毒性学的選抜試験に有用かつ強力な手段となり得ると考えられる。

しかしながら、多くの製薬企業は動物のくすりを創生する訳でなくヒトの医薬品開発を行っているのであり、過大な評価を毒性試験に望むものではない。動物での反応がヒトで必ず発現するものでもなく逆にヒトで見られる副作用を動物で予知することは困難である。ヒトで薬効と安全性を確認するために必要な情報が得られさえすれば次の段階に進めるのが妥当な開発手法である。このギャップが埋められない限り、現状の毒性試験に適応できるバイオマーカーは旧態依然とした手法が継続するであろう。

Current Biomarkers for Using Toxicological Evaluation in the Pharmaceuticals

Mamoru Nomura

Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd. Research Planning and Development Dept.

S2-3 新しいバイオマーカーの開発と有用性

山田 弘

ファイザー製薬(株) 中央研究所 安全性研究統括部

近年、ゲノミクス、プロテオミクスおよびメタボノミクスに関わる基盤科学が革新的に進歩したことに伴い、医薬品の安全性評価戦略に大きな変革がもたらされると共に、安全性評価能力の向上が進んでいる。本シンポジウムでは、これらの新しいテクノロジーを用いた毒性バイオマーカーの開発とその有用性について紹介する。

バイオマーカーは、ある生理学的状態に対して先行・後行して、又は同時に示される生物学的指標（反応）を意味するといえる。医薬品開発において対象となるバイオマーカーは、薬理バイオマーカー（efficacy biomarker）、疾患バイオマーカー（disease biomarker）および毒性バイオマーカー（safety biomarker）に大別することができる。薬理バイオマーカーは、化合物が標的器官・組織において特定分子と反応することによって示される薬理学的な生体反応であり、比較的シンプルなメカニズムで説明ができる反応といえる。疾患バイオマーカーは、各疾患においてみられる特徴的な生体反応であり、通常は種々の発症メカニズムが複合的に関連することから、多くのバイオマーカーが存在する。毒性バイオマーカーは、化合物が標的あるいは標的外器官・組織において特定あるいは非特定分子と反応することによって示される毒性関連の生体反応であり、防御、修復あるいは障害に関連する反応など、通常は多くのバイオマーカーが存在し、その中には種々の毒性の間で共通するバイオマーカーも存在する。従って、ある毒性の同定や評価に用いる毒性バイオマーカーを選定するためには、先ず生体内反応の包括的な解析を行い、その結果から特定の毒性を特徴づけるバイオマーカーを絞り込む手法が有効となる。この際、通常、複数のバイオマーカーが選定されることが多い。この点において、同じテクノロジーを用いたとしても、薬理バイオマーカーと毒性バイオマーカーの開発では、アプローチの方法が異なってくるものと考えられる。

トキシコゲノミクス、トキシコプロテオミクスおよびメタボノミクスでは、それぞれ遺伝子発現、蛋白質発現、中間・最終代謝産物の産生が解析の対象となり、これらバイオマーカーの変化を網羅的且つ高感度に検出することができる。従って、これらのテクノロジーを駆使して得た莫大な量のデータを統合し、データマイニングすることにより、特定の毒性を同定するための新しい毒性バイオマーカー群の設定が可能になってくる。開発された新しいバイオマーカーをエンドポイントとして用いることにより、医薬品の毒性・安全性の評価およびモニタリングの質的向上、新しい毒性予測スクリーニング系の開発ができるものと期待される。また、医薬品の効率的な開発が可能になることから、開発費の軽減にもつながると考えられる。

Development and Significance of New Defined Biomarkers

Hiroshi Yamada

Drug Safety Evaluation, Pfizer Global Research & Development

S2-4

The development and application of biomarkers of toxicity.

Michael Holsapple

ILSI Health and Environmental Sciences Institute, Washington, D.C.

Improved biomarkers of toxicity offer great benefits in both product development and post-marketing safety surveillance. The time and cost required for drug safety evaluation studies represent heavy burdens on the development cycle for new pharmaceutical compounds. After development, monitoring for adverse effects is often inhibited by a lack of appropriate noninvasive biomarkers. One of the most important goals of the pharmaceutical industry is to reduce the time and cost of developing new pharmaceuticals that meet medical needs. This goal can be met by developing effective and accessible biomarkers for screening, preclinical, clinical, and post-market surveillance applications. The development of new biomarkers has been constrained by an unclear definition of the process by which candidate biomarkers can be validated and accepted in a scientific and regulatory context. An accurate process map for the validation of these biomarkers will accelerate their scientific and regulatory acceptance. The ILSI HESI Biomarkers Subcommittee proposes to draft such a process map for the development of analytical methods and evaluation and validation protocols using a subset of nominated bridging biomarkers. The results of these evaluations will be submitted to the U.S. Interagency Coordinating Committee for the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) for regulatory acceptance. The impact of these new biomarkers will be measured on the basis of the new drug product development cycle and the accuracy in reporting or predicting the number and severity of adverse events associated with new drug products, resulting in improved patient management.

S3-1 遺伝毒性試験法の立場から

林 真

国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部

化学物質の発がん性評価において、遺伝毒性に関する情報は重要な意味を持つ。すなわち、発がんの過程が遺伝毒性的メカニズムによるか否かで一日摂取許容量(ADI)を決めることができるか否かの分かれ道となっている。発がんが遺伝毒性的メカニズムによる場合には、閾値は存在せず、暴露量を如何に低く抑えても確率的な危険性が存在すると考えられている。一方、非遺伝毒性的メカニズムによる発がんの場合は、閾値の存在を仮定することができ、暴露が一定値以下の場合には安全であると考えられている。この考えは、そもそも突然変異は確率論的な現象であり、閾値を仮定できないとする考えに基づいている。遺伝毒性に閾値を仮定するか否かの問題の前に明確にしておかねばならない問題がある。それは、「遺伝毒性」、「遺伝毒性発がん物質(genotoxic carcinogen)」等の定義である。遺伝毒性発がん物質の定義として、発がん性があり、かつ Ames 試験で陽性になったもの、として用いられる場面が多かったように思うが、その定義は今なお曖昧である。2000年の暮れに英国 Department of Health の諮問機関である COMMITTEE ON MUTAGENICITY OF CHEMICALS IN FOOD, CONSUMER PRODUCTS AND THE ENVIRONMENT (COM)が化学物質の遺伝毒性試験のための戦略に関するガイダンスを発表し、その中で言葉の定義をしている。要約すると、変異原(mutagenicity)は遺伝子突然変異(gene mutation)、染色体の構造異常異常(clastogenicity)、および染色体の数的異常(aneugenicity)を意味する言葉として用いられている。一方、遺伝毒性(genotoxicity)は、化学物質自体あるいはその代謝物により、DNA やゲノムの fidelity を制御する紡錘体のような細胞装置、トポイソメラーゼなどの酵素等と相互作用する化学物質と定義しており、DNA 傷害性や DNA 付加体形成を含む幅広い言葉であり、不定期 DNA 合成(UDS)、姉妹染色分体交換(SCE)および体細胞分裂組換えをも含む用語としている。また、これらの作用の検出自体は、経代的な変異の直接的な証拠となるものではない、と警告している。さらに、「遺伝毒性発がん性物質」(genotoxic carcinogen)を、発がん性を示し、かつ、変異原性試験あるいは *in vivo* での遺伝毒性試験で陽性結果となる化学物質を意味する言葉として定義し、ガイダンスの中で用いている。これらの定義が国際的に全て受け入れられているとは言えないが、化学物質の安全性を評価する上では重要な意味を持つものと考えられる。

評価を適切に行うための条件として、試験自身が理論的にも確立していること、手技手法が確立していること、用量が適切であること、判定基準が明確なこと、結果の評価法が確立していること、結果の解釈、限界が明確なこと、総合的な判断に必要な試験(バッテリー)結果がそろっていること、そして最も重要な点は、評価のための戦略(strategy)が明確になっていること、ではないかと考える。常にケースバイケースの判断が要求されるが、一貫した strategy を持つことの重要性が痛感される。現在、日本環境変異原学会の中にこの strategy を考える Ad hoc な委員会が設置され、閾値の問題も含めて検討を開始した。平成 15 年度中には学会としての見解を示せるものと考えている。

Some topics on risk assessment of carcinogenic chemicals—Mutagenicity testing—

Makoto Hayashi

Division of Genetics and Mutagenesis National Institute of Health Sciences

S3-2 長期発がん性試験の立場から

広瀬 雅雄

国立医薬品食品衛生研究所 病理部

食品添加物や農薬の安全性、特に発がん性を評価する場合、非遺伝毒性発がん物質では、用量反応が直線的ではなく発がんに関値が存在するため、そのメカニズムを考慮した上で使用が許されてきた。一方、遺伝毒性発がん物質の場合は、用量反応が直線的であり、発がんには関値が存在しないため、その使用が全面的に禁止されてきた。しかし最近、動物を用いた多くの研究結果から、遺伝毒性発がん物質であっても、発がんには関値が存在することが一般的に認識されるようになってきた。変異原性試験においても、遺伝毒性物質には関値は存在する。遺伝毒性発がん物質による標的臓器における DNA 付加体形成は、用量反応が直線的であるといわれているが、発がん性との相関は必ずしも認められないことが多い。

一方、非遺伝毒性といわれていた発がん物質であっても、遺伝毒性の関与が示唆される場合もある。例えば、酸化性ストレスの関与する発がんは、必ずしも遺伝毒性メカニズムとは捉えられてこなかったが、酸化的 DNA 損傷を引き起こすことがあるため、非遺伝毒性メカニズムであるとは断言できない。このような発がん物質がすべて遺伝毒性であると判断されると大きな混乱を招くことになる。従って、これらの事実から、発がん物質を単に遺伝毒性の有無により使用を制御するという根拠には無理が生じるようになってきた。

発がんには遺伝毒性に基づくイニシエーション作用と、主に細胞増殖に基づくプロモーション作用が必要であり、これらの作用の強弱により発がんの強度は決定されると考えられる。イニシエーション作用が弱い場合でも、プロモーション作用が強ければ発がん性は強くなるし、プロモーション作用が弱ければ発がん性も弱い。強いイニシエーション作用を有する発がん物質の場合、1回の動物への投与でも悪性腫瘍は発生するし、また、短期間に非可逆性の増殖性病変が発生するため、非可逆性病変の発生は遺伝毒性の指標になり得る。

最近、食品添加物かつ医薬部外品でもあるコウジ酸の肝発がん性に、弱いイニシエーション作用の関与が否定出来ないという理由から、製造が禁止されることになったが、今後発がん性を評価する場合、遺伝毒性、非可逆性病変の発生を指標とした動物におけるイニシエーション作用、細胞増殖作用などを総合的に考慮した新たな評価方法も取り入れて行く時期にさしかかっているのではなかろうか。

Problems in the risk assessment of carcinogenic chemicals – from the viewpoint of long-term carcinogenicity studies

Masao Hirose

Division of Pathology, National Institute of Health Sciences

S3-3 環境発がん物質の閾値

○福島 昭治, 鶴淵 英機, 森村 圭一郎
大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学

ラット発がん中期検索法を用いて種々の環境発がん物質の低用量発がんリスクを解析し、発がん閾値は存在しないとされてきた遺伝毒性発がん物質にも実質上、閾値が存在することを明らかにした。例えば、21日齢の雄性ラットを用いて2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)の低用量を最大32週間経口投与した。肝前がん病変の指標である glutathione S-transferase placental form (GST-P)陽性細胞巢の発生は0.001~1ppmでは全く増加せず、10ppm以上で増加傾向を、100ppmで増加を示した。(平坦—立ち上がり曲線)。また、H-ras 遺伝子の変異率は10ppm以上のMeIQx投与で増加した。さらにMeIQx-DNA付加体は極めて低用量の曝露で形成され、8-OHdGの形成レベルは0.1ppm以上で増加した。またlacI遺伝子導入トランスジェニックラット、すなわちBig BlueラットにMeIQxを投与すると、10ppm以上でlacI遺伝子変異頻度の増加を、100ppmでGST-P陽性細胞巢の増加を認めた。

非遺伝毒性発がん物質においては、確実に閾値があることを実証し、低用量では逆に発がんを抑制するという発がんホルミシス現象を初めて証明した。例えば、ラット肝中期発がん性検索法(伊東法)にてphenobarbital (PB)の低用量発がん性を検討すると、PBの60~500ppmではGST-P陽性細胞巢の発生を用量に相関して増加させたが、1~7.5ppmの低用量域ではGST-P陽性細胞巢の発生は対照群のそれより減少した(J字型曲線、ホルミシス現象)。

このように発がん物質には閾値が存在すると結論される。

Threshold of Environmental Carcinogens.

Shoji Fukushima, Hideki Wanibuchi, Keiichirou Morimura

Department of Pathology, Osaka City University Medical School

S3-4 高リスク群における発がんリスク

○中江 大, 高橋 正一, 吉田 緑, 植松 史行, 前川 昭彦
(財)佐々木研究所 病理部

ヒトのがんの多くは、それらの発生と進展の過程において、環境中に存在する化学物質の関与を受けている。そのため、環境化学物質の発がんリスクの検出と評価およびそれらによる発がん機構の解明は、ヒトの健康増進のために不可欠な研究課題であり、ヒトを対象として疫学的に検索されると共に、動物を用いて基礎的にも検索されている。しかしながら、後者の研究は、ほとんどが被検化学物質を最大耐量に近い高用量で用いて得られた結果を数学モデルで処理してヒトに外挿する方針で行われている。したがって、化学物質がヒト曝露量に相当する低用量において生体に及ぼす変化の実相については、未知の部分が多く残されている。実際に、近年の研究は、ある種の化学物質が高用量と低用量で異なる挙動を取ることや、これまで閾値がないとされてきた「genotoxic」な発がん物質による変化にさえ、少なくとも表現型の発現を指標とする限り、閾値ないし最大無作用用量の存在することを明らかとしつつある。一方、ヒトのがんの多くは、たとえば肝がんにおけるBまたはC型肝炎ウイルス慢性肝炎・胃がんにおける*Helicobacter pylori* 慢性胃炎・肺がんにおける感染性および非感染性の慢性気管支炎や慢性肺炎・胆道がんにおける胆石症と慢性胆道炎・膀胱がんにおける膀胱結石症・内分泌系および生殖器系のがんにおける慢性ホルモンバランス異常などのように、固有の高リスク群の存在することが知られている。これらの高リスク群における病態の共通点は、慢性的に持続する低強度の刺激が、当該部位における発がん促進状態を誘導するところにある。多くの化学物質は発がん促進状態下において従来と異なる挙動を取る可能性が高く、高リスク群に属するヒトにとっての化学物質に対するリスクはそうでないヒトと同列に述べることができない。我々は、以上の背景に基き、Fischer344系雄性ラットにおけるコリン欠乏アミノ酸食による慢性肝障害に基づく肝発癌系や、Donryu系雌性ラットにおける*N*-ethyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine による慢性ホルモンバランス異常に基づく子宮体部発癌系など、ヒトの発がん高リスク群における発がん促進状態となんらかの類似性を有する動物実験系を用い、そうした発がん促進状態の誘導下に高用量（動物実験での発がん量）と低用量（ヒト曝露レベル）で投与した化学物質の発がんリスクおよび発がん機構について、発がん促進状態の非誘導下と比較した検索を行うと共に、上記以外の新たな実験系の確立を進めている。これらの研究がいずれも進行中のため十分な情報が集積されるに至っていないが、本シンポジウムにおいては、それらの preliminary な成果の一部を紹介しつつ、高リスク群における発がんリスク研究の重要性について問題提起を行い、そうした研究の必要性和今後の展開について諸兄姉の御批判を仰ぎたい。

Carcinogenic risks in the high-risk groups

Dai Nakae, Masakazu Takahashi, Midori Yoshida, Fumiyuki Uematsu and Akihiko Maekawa*

Department of Pathology and *Director, Sasaki Institute, Sasaki Foundation

ワークショップ

W1

中止

理事長基調講演

特別講演

学術年会長講演

教育講演

シンポジウム

ワークショップ

W2-1 はじめに

大野 泰雄
国立医薬品食品衛生研究所

W2-2 健康食品と食品の安全性、事故事例

福山 哲
国民生活センター 商品テスト部

1. はじめに

国民生活センターに寄せられる食品に関する相談のうち、いわゆる「健康食品」に対するものは断然多く、ここ数年は年間 10,000 件を超えており（下表参照）、「健康食品」に対する消費者の関心は非常に高まっているといえる。なお、そのうちの危害件数はここ数年 400 件を超えており、危害発生件数では、当センターで調べている全商品のトップ3に常に入るほどである。

「健康食品」に関するニュースとしては、最近では、瘦身効果をうたった中国茶を飲んで深刻な健康被害が起こった事例などが記憶に新しいところであるが、当センターでは、1998 年に個人輸入の漢方薬から未承認糖尿病薬が検出された事例を厚労省に報告している。その他にも「センナ茎等を利用したダイエット茶類」に含まれていた医薬品成分（センノシド）の問題や一時期流行した「ザクロを使った健康志向食品」に女性ホルモン様の効果が期待できない等の問題を提起してきており、従前よりこうした「健康食品」に関連した事例の調査や注意喚起などを行っている。

また、例えば、「野菜ジュースは野菜そのものを食べる代わりにはならない」など、深刻な被害にいたらずとも、日常生活における、健康を前面にうたった商品の意外な落とし穴について、商品テストを通じて、消費者に広く認識してもらうように努めている。

今回は、「健康食品」に関する相談事例や商品テストを通じて分かった事例などを紹介し、これらの商品を利用する際に注意したい点などを解説する。

表 「健康食品」の年度別相談件数

年度	相談件数	うち、危害件数
1992	3,177	157
1993	4,057	234
1994	3,907	233
1995	6,163	466
1996	6,675	470
1997	8,247	393
1998	8,716	439
1999	10,740	437
2000	10,929	428
2001	14,962	448

2. 最近の食品に関する話題

- ・虚偽・不当表示
JAS 規格の改正や食品衛生法の見直しも。
- ・BSE 関連
今年に入ってさらに 2 例が追加された。
- ・牛乳・O157 などの食品による事故
たびたび繰り返される事件、事故。

3. 国民生活センターによせられた食品に関する相談事例

1997 年度 8247 件だったが 2001 年度 14959 件と相談件数は 5 年で約 1.7 倍に。いわゆる健康食品に対する相談が最も多く、年間 3000 件以上。

4. 国民生活センターのテストより

①苦情品のテスト結果より

- ・糖尿病薬の出た漢方薬（平成10年9月）
中国より個人輸入した糖尿病薬からグリベンクラミド（血糖降下剤）が検出された。
- ・ダイエット健康食品（平成12年）
ダイエットに効果があるとする健康食品からクロムが検出された。1日の摂取所要量は超えているものの、許容上限摂取量は下回っていた。
- ・輸入果実飲料（平成12年）
果実飲料を飲用したところ、眠気と倦怠感を感じた。メラトニンの有無を調べたところ、確認されなかった。

②商品テスト結果より

- ・ざくろを使った健康志向食品（平成12年4月公表）
効能・効果を期待させる表示が多く見られる。エストロゲンの含有量についてはテスト結果では検出されず、自社製品のエストロゲン含有量の把握が十分にされていない。
- ・イチヨウ葉食品の安全性（平成14年11月公表）
アレルギーの原因となりうるギンコール酸を含む銘柄があったが、ギンコール酸に関する具体的な注意表示が見られない。イチヨウ葉食品に関する規格がない。特有成分に関する表示の明示を含めた統一規格を作成・普及させる必要がある。
- ・野菜系飲料等（平成12年11月公表）
野菜系飲料は、野菜のまるごとの成分が摂取できるようにイメージさせるが、普段家庭で摂取している緑黄色野菜とは、栄養成分のバランスが異なる。日常の食生活の補助的なものとして利用するのがよい。
- ・ポリフェノール含有食品（平成12年5月公表）
ポリフェノールと健康が関連付けられている表示も多く見られるため、その量の大小に注目してしまうが、ポリフェノールは種類が非常に多く、栄養成分として一まとめにして表示するには無理があり、商品選択の目安としてはあまり期待できない。

The safety and hazard cases of health foods and foods
National Consumer Affairs Center of Japan (NCAC)

W2-3 食品や嗜好品との薬物相互作用

山添 康, 永田 清, 宮田 昌明
東北大学大学院 薬学研究科 薬物動態学分野

我々は毎日、様々な食品あるいは嗜好品を摂取している。これらは医薬品の作用に様々なかたちで影響している。例えばアルコール飲用は幾つかの機序で薬の服用に影響する。アルコールには中枢神経抑制作用があるので、ベンゾジアゼピン系抗不安剤や鎮静剤を飲酒時に服用すると中枢神経抑制が増強される。飲酒時に抗圧剤を服用して、起立性低血圧を誘発することも知られている。これらの作用は一般に薬理的な相互作用とされているが、飲酒群と対照群でベンゾジアゼピン系薬剤の血中濃度を調べると有為に飲酒群で薬物濃度が高い。これは脂溶性で、水に難溶なベンゾジアゼピン系薬物が消化管内でアルコールによって速やかに溶解され、吸収率が増加したものとされている。一方アセトアミノフェンとアルコールの併用は CYP2E1 の安定化によってアセトアミノフェンの代謝的活性化を亢進し、毒性発現リスクを増加させるとされている。

健康食品に含まれる成分のセントジョーンズワートは薬物代謝酵素とトランスポーターの酵素誘導によって、併用薬物の体内動態を変動させ、薬効の低下を招くとされている。従来から薬物同士の併用が薬物相互作用を招くことは良く知られているが、食品や嗜好品との薬物相互作用は臨床において問題とされるようになってきている。この背景には投与量が少なく、初回通過効果の大きい薬物が増えてきたことがある。しかも多くの脂溶性薬物の代謝に関わるチトクローム P450 分子種、CYP3A4 がヒトで、肝臓だけでなく小腸にも発現し、代謝の第 1 関門として機能していることが寄与している。

Drug interaction with foodstuffs and beverages
Yasushi YAMAZOE, Kiyoshi NAGATA and Masaaki MIYATA
Department of Drug Metabolism and Molecular Toxicology
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Tohoku University, Aramaki-Aoba Aoba-ku, Sendai 980-8578

W2-4 健康食品と医薬品との相互作用

大西 憲明
京都薬科大学 病院薬学教室

近年、ハーブ含有健康食品をはじめとするいわゆる健康食品の需要は、セルフメディケーション、コンプリメンタリーメディスン及びオルターナティブメディスンの普及とともに、世界的に急増しており、わが国においても例外ではない。また、このような状況下において、健康食品が医薬品と併用される割合も必然的に高くなってきている。しかしながら、現在のところ、健康食品と医薬品を併用した際の相互作用に関する情報は皆無に等しいと言っても過言ではない。したがって、健康食品の適正使用を実現する上で、医薬品との相互作用に関する科学的根拠に基づく情報の蓄積は急務である。

そこで、私たちの研究室では、数年前より各種健康食品と医薬品との薬物動態学的相互作用に関する研究を始めるに至っている。本講演では、その中から、日本においては痴呆の防止等の目的で健康食品として汎用されているイチョウ葉エキス (GBE) と CYP3A の代表的基質であるジルチアゼム (DTZ) 又はニフェジピン (NFP) との薬物動態学的相互作用に関する基礎的研究結果を中心に紹介する。

まず、ヒト又は Wistar 系雄性ラット (9 週齢) 由来の小腸及び肝臓のミクロソームを用いて、DTZ N-脱メチル化酵素又は NFP 酸化酵素活性 (CYP3A 活性) に及ぼす GBE (ギンコロン-24 ; (株) 常磐植物化学研究所製) の影響を検討した。その結果、GBE は CYP3A 活性を濃度依存的に阻害した (50% 阻害濃度 : 約 30-180 $\mu\text{g/mL}$)。さらに、この阻害機構は、少なくとも一部 mechanism-based inhibition であると推察された。また、ラットへ GBE (20 mg/kg) を単回経口投与後の小腸・肝ミクロソーム中 CYP3A 活性は一過性に低下し、この低下は総 CYP 含量の減少と対応していた。

次に、ラットへの DTZ 静脈内投与後の体内動態に及ぼす GBE 併用の影響を検討したところ、併用により DTZ の消失は遅延し、血漿中代謝物濃度は低下した。さらに、GBE の併用が DTZ 経口投与後の体内動態に影響を及ぼすか否かについても検討した。その結果、併用により DTZ のバイオアベイラビリティは増大することが明らかになった。これらのことから、ラットにおいて DTZ と GBE を同時投与した場合、GBE は少なくとも一部小腸及び肝臓中 CYP3A を不活化することにより、DTZ の代謝を阻害し、血中 DTZ 濃度を上昇させることが示された。

以上の成績は、今後ヒトにおいて、GBE と、DTZ、NFP 等に代表される CYP3A の基質となる肝血流量依存型薬物との動態学的相互作用を検討していく上で、有益な基礎的知見になるものと考えられる。

Interactions between functional foods and drugs

Noriaki OHNISHI

Department of Hospital Pharmacy, Kyoto Pharmaceutical University

W2-5 食品中微量元素の相互作用

永沼 章

東北大学大学院 薬学研究科 生体防御薬学分野

水銀鉱山労働者の組織中には無機水銀 (Hg^{2+}) と共にセレン (Se) が異常といえるほど高濃度に蓄積している¹⁾。セレン濃度は水銀蓄積量の高い労働者ほど高く、しかもセレンと水銀のモル比は1:1に近い。セレンはグルタチオンペルオキシダーゼをはじめ数種の酵素の構成因子として必須の元素であり、我々人間は食品を介してこの元素を栄養素の一つとして日常的に摂取している。しかし適量のセレンを摂取している一般的な人間の場合、体内のセレン濃度は恒常性によって比較的低濃度に維持されており、この水銀鉱山労働者のように組織中のセレン濃度が上昇することはほとんどない。これら労働者のセレン摂取量は一般人と同様であることから、この現象は無機水銀の蓄積が原因となって、何らかの理由でセレンが体内に高濃度に蓄積するようになったものと考えられる。なお、同様の現象は比較的高濃度の無機水銀を体内に蓄積するイルカやアザラシにも一般的に認められている²⁾。

では、なぜ無機水銀の蓄積に伴ってセレンも高濃度に蓄積するようになるのか？ それは無機水銀とセレンの生体内相互作用による。マウスに毒性量の無機水銀とセレン（亜セレン酸）を単独で投与すれば当然それぞれの毒性が発現するが、両者を同時に投与すると毒性は共にほとんど認められなくなる。すなわち「毒をもって毒を制する」という現象がここに認められる。また、無機水銀とセレンを同時にラットに長期間投与すると、水銀の組織中蓄積量は無機水銀を単独で投与した場合に比べて100倍近くも高くなるが、組織障害は無機水銀単独投与群にのみ認められ、セレンとの同時投与群ではほとんど認められない。これは生体内で水銀とセレンが反応して最終的にセレン化水銀 (HgSe) を生じるためである。このセレン化水銀は不溶性であり毒性を示さないが、細胞内に凝集塊として蓄積する。したがって、水銀鉱山労働者やイルカなどに認められる上述の現象は、体内に取り込まれた無機水銀がセレンと反応してセレン化水銀として蓄積したものと考えられ、無機水銀毒性の軽減に役立っていると思われる。生物は、食品中のセレンを利用して同様に食品を介して体内に取り込まれる無機水銀の毒性から自らを防御していると考えても良いだろう。なお、セレンはメチル水銀の毒性も軽減することが知られているが³⁾、この場合の毒性軽減機構は無機水銀の場合とは明らかに異なっており、詳細は明らかにされていない。

1. Kosta, L., et al.: Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. *Nature*, **254**, 238-239 (1975).
2. Koeman, L.H., et al.: Mercury-selenium correlations in marine mammals. *Nature* **245**, 385-386 (1973).
3. Ganther, H.E., et al.: Selenium: Relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets contain tuna. *Science*, **175**, 1122-1124(1972).

W3-1 ファルマコ・トキシコゲノミクスにおける日本の製薬企業の現状

川原 潤一

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

ファルマコ・トキシコゲノミクス検討チーム (キリンビール 医薬開発研究所)

医薬品候補化合物の探索や開発段階の安全性および薬物動態研究では、研究開発のスピードアップのため既に新技術が取り入れられつつあり、その概括は昨年発表した。今回は、探索や開発段階の安全性および薬物動態研究にゲノム関連技術がどのように活かされているか、その実態を調査した。ゲノム技術に関する考え方や活用実態を把握し、技術およびその周辺環境の課題をまとめ、さらに、関連技術の最新動向を各社に提供することを目的とし、本協会加盟各社を対象にして2つのアンケート調査を実施した。

1つは、「ファルマコゲノミクスアンケート調査」で、ゲノムを含めた探索動態スクリーニング技術について、技術導入の現状把握と技術およびその周辺環境の課題の抽出を目的に実施した。もう一つは、「トキシコゲノミクスアンケート調査」で、トキシコゲノミクスについての製薬協加盟各社の現状把握と意識調査を目的に実施した。これら2つのアンケート調査結果から見た、ゲノミクスにおける日本製薬企業の現状について報告する。いずれのアンケート調査も、日本製薬工業協会加盟 82 社を対象に 2002 年 6 月 25 日～8 月 21 日に実施され、約 60 社より回答が得られた。

ファルマコゲノミクスアンケート調査の結果、約 60%以上の企業で探索動態スクリーニングが実施されており、ファルマコゲノミクスを探索動態に取り入れている企業は約 10%であった。

ファルマコゲノミクスを導入している企業では、導入のメリットとして「効率性」、問題点として「外挿性、評価基準の問題」および「コスト」と回答した企業が多く、ファルマコゲノミクスを導入予定企業では、問題点として「外挿性、評価基準の問題」と回答した企業が多かった。

トキシコゲノミクスアンケート調査の結果、トキシコゲノミクスは 2000 年以降に急速に普及し、医薬品開発の広範囲の部分で利用が検討されていた。一方、この技術の導入に際しての障害については、「結果の意義付け」と回答する企業が約 6 割を占め、この技術が内包する課題と考えられた。各企業は単独でこの技術を導入することに困難さを感じており、その理由としてデータベースを含むトキシコゲノミクス関連の情報不足が挙げられる。発現解析のターゲットとしては、肝臓及び腎臓が多いが、発癌性・遺伝毒性もターゲットとして増加する可能性がある。インフォマティクスあるいはデータベースの構築は、トキシコゲノミクス導入企業の約半数で未構築であった。

これらのアンケート調査と並行して国内外で公表されている文献情報を調査した結果、ゲノム関連の文献は近年急激に増加し、2001 年に発表された文献数は 1000 報を超える数となっていた。

そのうち医薬品のトキシコゲノミクスの研究論文は 12 報と少なかった。

これらのアンケートおよび文献調査からファルマコ・トキシコゲノミクスに対する日本の製薬企業の現状として、(1)国内の多くの製薬企業はファルマコゲノミクスおよびトキシコゲノミクスを導入あるいは導入を検討している、(2)各企業はこの技術を医薬品開発の幅広い段階で利用していきたいと考えている、(3)文献情報は急激に増加している。一方、この技術を導入するためには、手法の標準化、有用性の事例やデータベースなど評価に必要な情報が、現状では不足していると各企業は感じている、と考えられる。また、今後、臨床試験の成績とどのように関連しているのか明らかにしていく必要があると思われる。

Current status of pharmaceutical industries in Japan on pharmacogenomics and toxicogenomics.

Jun-ichi KAWAHARA

Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

Kirin Brewery Co.,Ltd.

W3-2 ゲノム医学とトキシコゲノミクスの接点

井ノ上 逸朗

東京大学 医科学研究所 ゲノム情報応用診断部門

ヒトゲノム計画の成果は30億塩基対におよぶヒト全ゲノム塩基配列決定のみでなく、遺伝子数が有限であることを提示してくれました。全体像がみえてくると目標が定まり、研究が凄まじい勢いで進みます。ゲノム医学はヒトゲノム計画の成果を医学・医療へ利用するものです。疾患、薬剤感受性への遺伝子の関与はよく認識されているものの、関連遺伝子の同定についてなど研究が端緒についたばかりともいえます。同時に、ヒトゲノムという普遍性をもつ情報をオーダーメイド医療という個人を対象とした医学・医療へ利用する橋渡し研究（トランスレーショナル・リサーチ）が必要とされています。そのための重要なツールがSNP（1塩基多型）です。SNPデータベースが構築されているのでインフラは整備されています。人それぞれが異なるのはSNPの違いによるところが大きいといえます。疾患への感受性がSNPにより異なるであろうこと、また薬剤の反応性、副作用の有無、がSNPを原因とすることが考えられます。そこで、SNPを利用した疾患感受性遺伝子研究が盛んにおこなわれている次第です。同時に、薬剤感受性に関わる遺伝子研究が注目を浴びるようになりました。

私どもの研究室で得ているゲノム情報をどのようにトキシコゲノミクスに応用するか、Common Diseaseの疾患遺伝子研究から期待されること、またスタチン系薬剤による横紋筋融解症をきたした症例を通じての感受性遺伝子研究成果を示しながら、ゲノム医学とトキシコゲノミクスの接点を論じてみたいと考えています。

Coalescence of genomic medicine and toxicogenomics

Ituro INOUE

Genetic Diagnosis, Institute of Medical Science, University of Tokyo

W3-3 Toxicogenomics の現状

菅野 純
国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

ヒトやマウスなどの全ゲノム解読が進み、そして、それら遺伝子の発現状況が一挙に把握できるようなマイクロアレイなどの技術が利用できる時代に突入した。こうした状況から「全遺伝子発現プロファイリング」が、我々や実験動物の体内で起こっている分子レベルの出来事を解明する手段として利用可能となった。この際のプロファイリングの特徴は、従来型の形質発現に必ずしも捕らわれる必要がないことにある。

毒性学は、外来性の因子により生体に引き起こされる種々の形質に基づいた学問体系ということができ、まず毒性症状を分類し、それに対して原因物質を分類する作業がなされてきた。これらの手法は形質発現に依存しており、もしも処置や遺伝子型に関連した形質発現が認められない場合には、責任遺伝子の探索等、そのメカニズム解析が困難となる。しかし、生物学における「リバース手法(reverse approach)」では、たとえ機能が不明であっても遺伝子側から発現形質を求めて行く。これを、毒性学に当てはめ、全遺伝子プロファイリングを解析の拠点におくアプローチを考えることが出来る。

DNA マイクロアレイ技術自体は、毒性学において、フォワード手法としてもリバース手法としても使うことができる。フォワード手法としては特徴的な形質と関連して発現が有意に変動する遺伝子群をスクリーニングすることが行われる。このような選択されたデータを基に構成されたデータベースは現在すでに幾つか存在している。しかし、リバース手法では遺伝子発現情報は測定したすべての遺伝子について平等に重要であり、それらすべてを基にしたデータベースの構築が必要とされる。このようなデータベースの品質を保証するためには、遺伝子発現レベルの厳密な標準化が必須となり、発現が増加した遺伝子、減少した遺伝子、そして、不変であった遺伝子が正確にモニターされなければならない。さらに、データの蓄積を保証するための連続性と互換性の確保が必要である。そのための標準化対策を行っている。また、リバース手法は膨大な生データを生み出すことが予想される。トキシコゲノミクス・データベースの立ち上げには、特定の形質との連関が既知である遺伝子発現データの蓄積がある程度必要であり、しかる後、機能未知の遺伝子クラスターなどについてフォワード手法による解析を加え、未知の遺伝子クラスターとの関連性を明らかにしていく。さらに、未だ機能の解明されていない遺伝子クラスターの機能解析のためには探索的研究にて個別に対応する必要があるが、その際の実験は、遺伝子ノックアウト動物の活用を含め、分子生物学者、化学者、毒性学者、病理学者、等からなる学際的チームの英知を結集したデザインが必要である。

Current Status of Toxicogenomics

Jun KANNO, Cellular & Molecular Toxicology Division, Center for Biological Safety Research, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

W3-4 プロテオミクスの現状と動向

磯辺 俊明

東京都立大学大学院 理学研究科・東京大学 医科学研究所 プロテオーム解析部門

ゲノム科学の領域の中で、生体の機能分子であるタンパク質に注目し、その大規模解析によってゲノムと生命の関係を解き明かすことを目標とした研究をプロテオミクスと呼んでいる。プロテオミクスは、複雑な細胞の社会を運営するタンパク質全体（プロテオーム）の動態と相互作用を俯瞰的に観察することで、タンパク質相互の機能ネットワークを明らかにし、社会全体の成り立ちや仕組みを解明するタンパク質社会学である。その戦略は、すでに基礎生物学の分野で新しい概念や発見をもたらしている。例えば、細胞という生命の舞台では、タンパク質は単独ではなく、複数のタンパク質から成る複合体が機能単位となって集落を作り、異なる機能を受け持つ集落がさらに有機的に繋がることで社会全体が運営されていることが明らかにされている。また、細胞がもつ典型的な機能単位であるオルガネラのまるごと解析や、多数のタンパク質と RNA が複雑に絡み合う生合成過程のリボソーム複合体、グルタミン酸受容体を含む神経伝達複合体、転写活性化補助因子複合体などの転写装置の解析も進んでいる。

一方、産業技術としてのプロテオミクスについて現在最も注目されるのは創薬研究への応用である。生命活動のプログラムやその異常を、酵素活性などを指標とせず、タンパク質の動態と相互作用を基礎に解析するプロテオミクスの新しい戦略は、複数の遺伝子と環境要因が絡み合うヒトの疾病のメカニズムの解明や創薬ターゲットの探索、医薬品の作用や副作用を評価するための分子マーカーの探索など、いわゆる「メカニズムに基づく合理的な創薬」を加速するテクノロジーとして期待されている。このような状況を反映して、プロテオミクスの最近の技術開発も、創薬研究に代表されるゲノムスケールでのプロテオミクス研究、すなわちファクトリーアプローチを加速する技術の開発に集中しており、演者らも開発を進めている液体クロマトグラフィーと質量分析法、ゲノム情報を検索するための情報処理システムを統合したプラットフォームはその中核として期待されている。また、臨床研究やベッドサイドでの医療のためのツールとして、プロテオームの動態や相互作用を迅速に解析できるプロテインチップ法の開発も注目されている。

既に欧州には、ジュネーブやハイデルベルグ、オデンセなどにプロテオミクス研究を支援する中核的な研究拠点が設置され、米国では多くのベンチャーが設立されている。我が国でも、生命情報解析研究センター（産総研）などのプロテオミクス研究拠点が整備されつつある。ゲノム科学を基礎とした今後の生命科学と先端医療開発の現場では、大規模なプロテオミクス研究からもたらされる情報に DNA アレイ法などからの膨大な発現情報を加え、さらにこれらの結果を個人のゲノム情報を加味して解釈することが求められる。こうした研究を推進するためには、大量に生み出されるデータを集積して統合する情報処理技術とともに、新しい事実を細胞情報ネットワークなどについての既知データと照合し、新たな発見を生み出すための知識データベースの整備と発見のための情報科学の発展が重要である。

Proteomics; current status and future

Toshiaki ISOBE, Ph.D., Graduate School of Science, Tokyo Metropolitan University/Division of Proteome Research, Institute of Medical Science, University of Tokyo

W3-5 タンパク質相互作用の大規模解析－ヒト完全長 cDNA からの展開

夏目 徹

産業技術総合研究所 生物情報解析研究センター 機能ゲノムグループ
タンパク質ネットワーク解析チーム

ポスト・シーケンス時代を迎え、大規模なタンパク質機能解析が急務とされている。我々は細胞内の相互作用の結果生じた、タンパク質複合体を抽出し、その構成タンパク質を網羅的に同定する解析を行っている。タンデム質量分析に独自の技術で開発した超ナノ LC を組み合わせることにより、フェムトモルレベルの感度で、150以上のコンポーネントからなるタンパク質複合体を約1時間ほどで決定することが可能である。この解析プラットフォームと、ヒト完全長 cDNA を用いたタンパク質相互作用解析の結果について報告する。また大規模タンパク質解析に必要とされる我々が構築しつつあるインフォマティクスを紹介し（ネットワークの可視化、大規模タンパク質名電子辞典）、ポストゲノムシーケンス時代のタンパク質科学の真の問題点とその解決法について論じる。

Systemic analysis of protein interactions using human full length cDNA

Tohru NATSUME

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Biological Information Research Center (JBIRC), 2-41-6 Ohmi, Kohtoh-ku, Tokyo 135-0064, Japan. E-mail: natsume@jbirc.aist.go.jp

W3-6 プロテオミクスとトキシコゲノミクスの接点 —薬物代謝酵素を例として—

○矢本 敬, 高崎 渉, 真鍋 淳
三共(株) 安全性研究所

遺伝子発現量の変動を網羅的に検索する新しい技術として、DNA マイクロアレイシステムが 1990 年代に紹介され、生体の反応がよりダイナミックに捕らえられるようになった。今日では cDNA マイクロアレイや GeneChip™ が市販され、DNA マイクロアレイはほぼ確立した手法となり、数千～数万種の遺伝子について発現解析が可能となっている。一方、タンパク質レベルでの網羅的解析手法についても精力的な開発が行われ、タンパク質の分離および同定手法が種々提唱・実践されてきた。これらの手法をいくつか組み合わせて利用することにより、再現性、網羅性、処理能力、あるいは定量性について完成度を高める工夫がなされ、タンパク質発現量の変動を正確に評価することが学問的に体系づけられつつある。

遺伝子やタンパク質の発現量は化学物質の曝露により変動し、生体の恒常性に変化を与えるが、これら遺伝子/タンパク質発現量の変動の関係については十分な情報が集積されていない。特に、化学物質の毒性評価の観点からはごく限られた情報が得られているのみである。遺伝子およびタンパク質の発現量の評価をそれぞれトキシコゲノミクスおよびトキシコプロテオミクスとして体系づけ、かつ、両者を統合的に結びつけることが期待されている。

こうした観点から、今回、化学物質の例として薬物代謝酵素誘導剤である phenobarbital および clofibrate をとりあげ、反復投与後のラット肝臓の GeneChip による遺伝子解析および二次元電気泳動によるタンパク質プロファイリングの結果を紹介する。二次元電気泳動によるタンパク質プロファイリングにおいては、膜タンパク質や発現量の極めて少ない受容体等の定量あるいは検出に問題は残るものの、両剤投与後の泳動パターンを明確に区別することができた。タンパク質にはリン酸化等の翻訳後修飾により機能を発現するものも多く、生体の恒常性維持にも重要な役割を果たしている。このようなタンパク質の場合には遺伝子発現レベルでその変動を評価することは困難であり、タンパク質プロファイリングが有用な情報を与えてくれる。トキシコプロテオミクスの手法としては 2D-LC/MS/MS や ProteinChip 等もあり、タンパク質プロファイリングにどの手法を用いるかについては今後のさらなる検討が必要であるが、今回用いた二次元電気泳動法もその汎用性が期待される。

Toxicogenomics coupled with proteomics for investigation of drug metabolizing enzymes.
Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.
Takashi YAMOTO, Wataru TAKASAKI, Sunao MANABE

W4

毒性試験法はどこまでハーモナイズされたか？
毒性質問箱 2003海野 隆^{1, 3, 4}, 門田 利人^{2, 3, 4}, 赤堀 文昭⁵¹日本オルガノン, ²日本ベーリンガーインゲルハイム, ³安全性評価研究会,⁴日本製薬工業協会, ⁵麻布大学

「優れた新医薬品をより早く患者の手元に届けること」を目的に 1991 年にスタートした日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) は、12 年目を迎え、本年は大阪で第 6 回目の全体会議が開催される。

非臨床試験に関してはこれまでに 7 つのトピック、15 項目が検討され、ほとんどの項目が日本においても行政通知されている。科学的根拠の下に各国が必要とする試験を明確にし、それぞれの試験を合理的にハーモナイズした ICH の果たした役割は極めて大きい。しかしながら現場では依然として、非臨床試験をいかにして進めればいいのか判断に悩む局面も少なくない。

安全性評価研究会では研究集会のほか、E-mail やホームページを利用し、非臨床試験現場担当者の質問およびその回答を「毒性質問箱」という形で展開してきたが、これらの問題の中には行政の見解を要する問題も多く存在する。これまで種々の行政主催による説明会が開催されてきたが、必ずしも現場担当者の疑問を完全に払拭できる状況になっていなかった。しかしながら、最近では行政も一方的にその方針を示すだけでなく、企業との対話を通じ、その考え方の浸透を図ろうとする動きにあることは誠に歓迎すべきところである。

本ワークショップでは、これまでに「毒性質問箱」で取り上げられた毒性試験の中でハーモナイズされていない下記の点に的を絞り、企業、行政、大学のそれぞれの立場から建設的な意見を得て、既存の問題点の原因を明確にし、解決策を見出し、ICH の成果を現場に根付かせる一助としたい。

単回投与毒性試験

- ヨーロッパや米国では単回投与毒性試験の動物種としては、げっ歯類 2 種が採用され、一般に非げっ歯類の試験は求められていない。一方、本邦ではげっ歯類および非げっ歯類各 1 種の試験が求められている。既に欧米で開発が先行し、場合によっては既に承認されているような品目でも、日本の申請のために非げっ歯類の単回投与試験が追加実施されている場合がある。単回投与試験の意義を考えると、このような試験を新たに実施する必要はないのではないか？
- 劇薬・毒薬指定の基準の一つとして単回投与試験の結果が採用されているが、その判定指定基準は現状でも妥当であろうか。例えば、バイオ医薬品などでは感受性のない動物種での単回投与試験を劇薬・毒薬の指定資料作成を目的に実施されているケースもある。

長期反復投与試験の期間

- ICH ガイドラインでは長期反復投与試験の投与期間はげっ歯類で 6 ヶ月、非げっ歯類で 9 ヶ月と合意されている。しかし、この合意のあとでも 12 ヶ月試験が実施されているケースがあり、長期反復投与試験の試験期間はどのように決定されるべきか討議したい。

生殖発生毒性試験の試験項目

- 妊娠可能な女性を対象とする臨床試験に必要な生殖試験の種類は、欧米と日本で異なっている。即ち、日本では避妊をしている場合であっても受胎能および胚胎児への影響の確認を完了しているこ

とが求められているが、海外ではこれらの確認は求められていない。臨床試験の被験者に避妊の必要性を説明する環境は日米欧間にの差はないと考えるが、現在でも日本における受胎能および胚胎児への影響の確認を必要とするこの考え方に変更はないのか？必要とする根拠は何か？

- Cytotoxic な抗悪性腫瘍剤の場合、生殖試験は欧米では必須とされていない（ただし、FDA では胚・胎児発生に関する試験は申請時に必要）。一方、日本では臨床試験段階では不要と容認されつつはあるが、申請までには必要とされている。作用機作からみて生殖発生毒性のあることが明確な品目について、敢えて試験を実施する意義はないと考えるが、この点について論議したい。

抗原性試験

抗原性試験は 1988 年にガイドライン案が示されたが、ICH では検討対象とはならず、日本でも最終的告知には至っていない。医薬発第 481 号「医薬品の承認申請について」によれば、「抗原性」の名称は医薬品開発における申請添付資料項目から「依存性」と共に削除された。しかしながら、同日に通知された医薬審第 666 号では「抗原性」ならびに「依存性」は“ニ-7 その他の毒性”に含まれることが明記されている。欧米では、原則として抗原性試験は求められていないが、日本では抗原性の評価は従来通り求められていると考えられる。

- 既に欧米でヒトへの十分な使用経験のある品目では、ヒトでのアレルギー性副作用の有無は明らかになっていると考えられ、日本の申請のために抗原性試験を実施する意義は少ないと考える。このような場合における抗原性試験の必要性について論議したい。
- モルモット ASA、PCA およびマウス・ラット PCA 試験が一般に実施されているが、これらの試験の低分子医薬品に対する薬物アレルギーの予知性は低く、試験の信頼性そのものに疑問が投げかけられている。近年、低分子医薬品の薬物アレルギーの予知に膝窩リンパ節試験（PLNA）が有効であるという報告が数多くなされており、PLNA の有用性は学界でも認知されて来ている。このような状況下、低分子医薬品については PLNA を抗原性試験法選択肢の一つに入れても良いのではないかと考える。

がん原性試験の最高用量

がん原性試験の高用量選択において、MTD 以外にも他の指標（薬物動態学的指標など）を用いることが ICH で合意されたが、FDA は未だに MTD に固執している。例えば、吸収が飽和する量を基に最高用量を設定し、CAC (Carcinogenicity Assessment Committee) に提出しても受け入れられることは稀であり、MTD が要求されるケースが多い。しかも、FDA が要求する MTD は、死亡が発現するような高い用量である。実際に、FDA の recommendation に従って用量を設定し、がん原性試験を実施した結果、試験途中で多くの動物が死亡し、最終的に評価に耐えうる動物数を確保することが困難となる可能性がある。がん原性試験の高用量の選択基準および MTD の解釈における各機関の差について議論したい。

GLP 関係

GLP については医薬品機構の指導が欧米に比べ厳しく、日本における医薬品開発の空洞化の遠因にもなっているといわれている。何故 GLP の運用を厳しくせざるを得ないのか？

- 臨床検査などで再測定を行った場合、SOP に基づき再測定の理由を生データに記載しても、最終報告書にもその旨を記述せよとの指導が最近なされている。最終報告書は試験結果を分析し、評価した結果を総括したものであり、その記載は試験責任者の判断に委ねられるべきものとする。日本でのみ最終報告書に再測定の理由を記述すると、海外からは日本で実施された試験の信頼性が低いとの印象を与えかねない。この点に関し意見の交換をしたい。

- デジタルカメラで撮影した画像は生データにはなりえないという指導がなされているが、最近のデジタルカメラの普及は従来の銀塩フィルムを用いるカメラを凌駕するものがある。撮り直しのきかない場面では、デジタルカメラの有用性はきわめて高いと判断される。デジタルカメラで撮影した画像を生データとして採用する方策に関し議論したい。

コモンテクニカルドキュメント (CTD) への記載

CTD としての申請は本年 7 月 1 日より義務付けられている。ガイドラインには CTD の記載例が示されているが、これらは単なる例示であり、実際の記載に関しては申請者の判断に任されていると解釈している。しかしながら、今後これらが審査される中で、企業側と行政側との間において、記載方法や考え方にギャップが生じてくることが予測される。今回は想定されるギャップを例示し、討議したい。

The Question and Answer on Toxicity 2003

How far were methods for toxicity assessment harmonized?

Fumiaki AKAHORI¹⁾, Takashi UNNO^{2), 4), 5)}, Toshihito KADOTA^{3), 4), 5)}

- 1) Azabu University,
- 2) Nippon Organon
- 3) Nippon Boehringer Ingelheim
- 4) Safety Evaluation Forum
- 5) Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

ラウンドテーブル

RT-1 毒性データの国際的共有化への順応—ICH から Part 11

野村 護
第一製薬(株) 研究企画部

サリドマイドによる胎児奇形の発生は、薬剤の副作用として世界を震撼させ、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実を知らされることになった。一方、この事が契機となり新医薬品製造承認・販売許可に際し急性、慢性毒性はもとより催奇形性、発がん作用の検討、蓄積性や薬物代謝などを加え非臨床動物試験の厳格な評価が必要となった。国内のサリドマイド薬禍は、製造国であるドイツでの胎児奇形が増加した原因として見出された訳でなく臨床疫学的調査結果から判明した。独自の審査によって承認申請を却下した FDA もまた、催奇形性を発見したのではなく末梢神経炎に注目してのことであった。その後 FDA では企業から提出された新薬承認申請データの信頼性に疑義を見出し、GLP 規制を発効し非臨床安全性試験施設の査察を実施した。日本では 1982 年に「GLP 基準」を、1997 年厚生省令第 21 号として医薬品の安全性を確かめる GLP 試験が法制化され、実施施設の厳格な調査指導が行われてきた。

その一方で医薬品開発に関する情報の共有化や世界的な調和が提唱され、ICH に代表されるように世界のいずれの国で実施されたデータも Mutual Acceptance として各国の規制当局が受け入れを表明している。さらに、昨年発効した日・E C 相互承認協定は GMP、GLP 実施施設の相互査察を簡略化し各国の規制に適合していればデータを生成した施設に国境はなくなっている。

今や世界の製薬企業は国境を超えグローバルな開発と販売に生き残りを託している。その現状は日本においても同様な状況にあるにも拘わらず、世界で最も厳しい GLP 規制を求め、国内での試験と同等の試験内容を問うような体制にあるように思う。毒性試験の最初に問題として発生する被験物質の分析試験は、日本を除き全て GMP の成績を GLP 試験に用いることを問題としていない。さらに、問題を掘り下げるならば、海外で承認された医薬品を日本国内で製造・販売承認申請する場合、国内での試験を要求されることがある。例えば単回投与毒性は欧州でげっ歯類のみの試験が完了して承認取得されている場合でも、日本では非げっ歯類での試験を追加要求することになる。体内診断薬や造影剤なども同様に単回の投与にも拘らず 1 ヶ月間の動物試験が厳然と要求されているのが実状である。代替試験法もその一つであり、実験動物を使用しなくとも十分に評価が可能と国際会議で議決されても、国内では従来からの試験法が義務付けられている。このような法的規制やガイドラインでの国際協調が進展している一方で、臨床試験への導入には高いハードルをそのまま残していることは、敢えて日本での開発を遅延させる処方箋に他ならないと勘ぐりたくなる。現状の規制が継続されれば、近未来的に日本の医薬品開発の停滞と沈下、さらには合併、淘汰が進展することは疑いのない結果となるだろう。

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るが、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する事が重要である。実験動物はヒトと同じ反応を示すとは限らず、如何にして動物実験の成績からヒトの副作用を予測できるかが命題となる。過剰な動物の実験成績でなく、臨床試験の結果を評価した上で再度動物にフィードバックして最新の科学的評価を追加してリスクを回避することが真に必要な医薬品開発の手法と思われる。

数年前から承認申請審査の迅速化が要求され、その手段として電子媒体での申請が可能となったが FDA が要求する 21 CFR Part 11 への対応は電子記録および電子署名に関する日本国内でのコンピュータバリデーションの内容と大きなギャップがあるためグローバルな国際開発での問題を更に複雑化している。一概にデータの共有化といっても、ICH での国際合意と、日・E C 相互承認協定さらに FDA の求める Part 11 への対応と次元の異なる内容に対する日本国内での規制を速やかに整理することが先決であろう。

RT-2 トログリタゾンの肝毒性発現機序に関する考察

池田 敏彦
三共(株)薬剤動態研究所

トログリタゾンは世界初のインシュリン抵抗性糖尿病治療薬として1997年3月に市場導入された。しかし同年12月には稀ではあるが死亡例を含む重篤な肝障害発生のために緊急安全性情報が配布され、2000年3月には販売が中止された。この肝障害の特徴は、1.性別、年齢、投与量、併用薬剤の有無とは無関係に発症する、2.内服後数ヶ月以内に起きやすい、3.血清トランスアミナーゼの上昇が先行し、遅れて総ビリルビンが上昇する、4.ALP、 γ -GTPの上昇は小さい、5.動物実験で再現できない、等から特異体質性の肝細胞障害型の肝毒性であると判断された。許可申請までに行われた膨大な動物実験では、臨床における重篤な肝障害を示唆する結果は得られていない。このように特異体質性の毒性を示す化合物では動物実験と臨床との間で結果の乖離がある事が問題である。多くの毒性物質は、化学的に反応性の高い代謝物が生成する事がその毒性発現機序の第一段階であると考えられている。こうして生じた反応性代謝物が生体高分子に共有結合し、機能を停止させる事が毒性の原因となっていると考えられている。通常の肝毒性物質では動物種や個体差を問わず、例外なく反応性代謝物が生じて肝毒性を示すのに対して、トログリタゾンでは個人に特有な代謝反応により特異的に反応性代謝物ができるか、あるいはその反応性代謝物を分解する活性が低下しているのであろうと推論された。トログリタゾンの主代謝経路はヒトと実験動物でほとんど同じであったので、毒性は微量代謝物に起因するものと考えられた。In vitro系での広範な検索が行われ、Baillieらはヒト肝ミクロソームを用いて α ケトイソシアン酸やスルフェン酸が反応性代謝物として生成する事を報告している¹⁾。また、我々との共同研究により横井らは、ヒト薬物代謝酵素発現系を用いてエポキシド型代謝物が生成する事を報告している²⁾。これらの代謝反応にはヒト肝臓に多く発現しているCYP3A4が主に関与していた。また、トログリタゾンはCYP3A4を誘導することも臨床的に確認され、上記反応が亢進する可能性が示された。更に、肝障害を示した患者の遺伝子解析結果ではグルタチオン抱合酵素GSTT1およびGSTM1の欠損により肝障害発生率が上昇する事から³⁾、上記の考え方は妥当であろうと考えられた。しかし、未解明の問題が無くなった訳ではなく、肝毒性発現までに時間がかかる事は説明が難しい。また、遺伝子解析の結果に基づいて肝障害を引き起こす患者の確率を約半分まで減少させる事ができるものの残り約半分の患者のリスクは予測できない。

特異体質性の毒性には何らかの免疫学的反応が関与している事が否定できず、過去の例では種々の抗体が産生している事が報告されている。生体が異物に曝露された時、同時に一種の危険信号が発せられた時に初めて免疫反応が惹起されるとされている(The Danger Hypothesis)。機序は不明であるが、トログリタゾンは高濃度で細胞毒性を示す。この事はヒトと動物の細胞で同様に観察されるので特異体質性を説明するものではないが、一種の危険信号として働き、生体高分子に共有結合した反応性代謝物と共にHelper T cell 1を介する免疫反応を惹起するのかもしれない。また、トログリタゾン肝障害患者の血清には肝アルドラーゼBに対する抗体が産生している事から、Helper T cell 2を介する免疫反応も惹起されている模様である。一般的手法として、特異体質性肝障害を予測する方法は現在までのところ確立されていない。グルタチオンおよびNADPH存在下で薬物をミクロソームと反応させ、グルタチオン抱合体が生成するか否かを見極める方法も提唱されているが、その妥当性については今後の更なる検討が必要である。

引用文献

- 1) K. Kassahun and T. Baillie et al. Chem. Res. Toxicol. 14, 62-70 (2001).
- 2) Y. Yamamoto and T. Yokoi et al. Drug. Metab. Dispos. 30, 155-160 (2002).
- 3) I. Watanabe and T. Koga et al. Toxicogenomics International Forum 2002, Okazaki

RT-3 医薬品の毒性試験の受託について

藤野 明治
(株)富士バイオメディックス

従来の医薬品の毒性試験の受託は、製薬企業の業務過多、面倒な仕事の肩代わりとして、開発段階での承認申請業務のお手伝い、即ち、下請け的な色彩の強いものであった。

しかし、最近では、グローバル化のもとに、日本の企業も積極的に世界の医薬品市場へ乗り出した。そして、海外の大手企業と同様に、開発試験に係わる、ヒト・金・設備等を減らし、創薬・探索試験へ資源を集中するようになった。

さらに、コンビナントケミストリ、ハイスループット・スクリーニングなどにより数多くの候補化合物が合成される体制が確立された。そして、如何に開発初期の段階で篩いに掛け、候補化合物を絞り込むかが、次の課題となった。これらの解決策を含め、製薬企業は積極的に受託試験施設を、各医薬品開発ステップでの安全性評価試験のアウトソーシング先として位置付けるようになった。

試験の内容は、探索・萌芽段階、Phase-1 試験に入るに必要な試験、承認申請に必要な試験である。各試験の目的とその内容は異なるが、何れの試験も質とスピードが強く求められている。特に探索・萌芽段階での試験では、委・受託者間での十分な信頼関係と綿密な情報交換が無ければ成り立たない。その上、受託者側は最新の機器、施設の整備、優秀な研究者と技術者等の質と量を確保するに必要な経営的な基盤と手腕が求められている。

しかし、海外と異なり日本では労働市場の流動性は少なく、しかも受託試験業務に対する社会的認知度が低いため、最も重要な要因である人材の確保が難しい。特に、大学からの優秀な学生の採用は極めて難しい。

これからは、ますます最先端の技術を取り入れた試験系で毒性（安全性）を評価するだけに、優秀な人材確保と育成は必須の条件である。

問題点は、製薬企業側が毒性試験施設を縮小したため、これからは動物実験を充分経験し、毒性試験の全体が理解できる担当者が少なくなる。一方、受託者側は、数多くの毒性試験を経験させる事は出来るが、最先端の技術の習得、医薬品の開発・申請業務の勉強などの人材育成に掛ける時間はあまり無い。

以上のことから、毒性試験のアウトソーシングを成功させるためには、委託者側からの情報の提供、製薬企業からの人材の流入（OB クラス）、人材確保、即ち、社会的地位向上のための受託者側としての取組みについて述べてみたい。

RT-4 医薬品の安全対策と非臨床安全性研究に期待される役割

黒川 達夫
厚生労働省 安全性対策課

生活の安全は社会の基本であり、医薬品や医療の分野では副作用問題や医療過誤などが、国民の大きな関心の一つとなっている。実際の医薬品、とくに新薬などでは、深刻な副作用問題が市場に提供され患者に使用されてはじめて明らかになることがある。おそらく、ヒトで指摘される前に何とか基礎研究段階で仮説なりともしっかりした情報が得られないものか、というのが現場の要望であろう。

最近では分子生物学的研究成果を反映して、細胞内のシグナル伝達に作用する医薬品など、従来にない作用メカニズムを持つ医薬品が次々に実用化されている。これらの医薬品では、コンベンショナルな研究では、まず疾病と化合物ありきでスクリーニングされていたものが、疾病にレセプターや関連カスケードありきでスクリーニングされており、基本戦略に大きな変化が見られる。従来にない薬効もさることながら、シグナル伝達の上流でストップすることによる従来では想定されがたい副作用発現など、安全性対策においても従来型の戦略ではなかなか対応しきれない問題が出つつあるように思われる。

そのような時代にあって、基礎研究段階における試験研究（効力薬理や一般薬理）も今まで以上に重要であり、また臨床で観察された問題の基礎へ照らし合わせた解明など基礎薬理研究に期待される役割はますます重いものがある。これらの問題の整理と薬理研究への期待を論じたい。

RT-5 医薬品審査での毒性とは

小野寺 博志

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

「毒」ってそもそもなんなんでしょう？ 広辞苑によれば「生命または健康を害するもの」とあり、「毒性」とは「毒のある性質あるいはその成分」とあります。我々は長い時間をかけ失敗を繰り返しながら、経験的に「毒」と「薬」を使い分けてきました。有効性の優れた画期的な「薬」は誰もが望んでいるものです。しかし、初めてヒトに投与する場合は生体への影響は不明なことが多いと思います。薬理作用がおおきい程「切れが良く」有効なことは確かです。しかし過剰な薬理作用は生体に有害な作用として現れます。そうなるのであれば「薬」ではなく「毒」という名前が変わります。まさに同じ一つの物質が「薬にも毒にもなるもの」なのです。必要なヒトに適量投与して目的とする効果を得てはじめて「薬」と呼ばれます。つまり絶対安全な「薬」というものは存在せず、あるとすれば「毒にも薬にもならない」ものです。「毒性」とはまさに個々の物質の誤った用法用量により発現する薬理作用です。

医薬品の審査の過程では、薬の特性から対象疾病、投与期間、投与量、代謝や ADME など臨床での状況を総合的に考慮した上で毒性を評価しています。そのため同じ所見でも毒性としてとらえる場合と薬理作用の許容範囲として位置づける場合が状況により異なります。試験法については毒性試験のガイドラインは参考にはしますが、標準的な手法の手引きであり、絶対的なものではありません。動物愛護の観点からも意味のない動物試験を実施すべきではありません。また、動物試験の代替法など新たな手法は必要であり有意義と考えます。従って、医薬品審査の過程では省略した試験についてはもちろん、実施した全ての試験についてその意義や妥当性について十分な説明が求められています。

試験ごとに無毒性量を算定していますが、臨床用量の何倍だから安全である、臨床試験でヒトに同様な所見は認められず種特異的な反応である、類薬でも同様な変化が認められ新たな毒性ではない、あるいは軽微で回復性があるので問題ないという結論をよく見かけます。しかし、これらは科学的根拠に基づいた説明とは思えないものがほとんどです。誰もが納得できる根拠に基づき説明を加えて結論づけられるべきであると思います。無毒性量はその試験結果の一つであり絶対的なものでもありません。

また、毒性試験で認められた所見について「毒性学的意義は低い」と結論づけている場合が多々ありますが、承認申請時には臨床試験での安全性に関する情報も参考にし毒性試験結果を評価することが必要です。さらに臨床以外にも規格、薬理、ADME 等の情報も毒性を評価する上で不可欠であり、毒性試験だけの結果で結論づけることは木を見て森を見ずということと同じことになります。開発会社における毒性担当者は、その物質の起源から臨床試験に至る全ての情報を把握しておく必要がありますし、また、企業としてもそういう体制を構築すべきです。

可能な限り鋭敏な方法で毒性を把握し、その機序を解明してヒトで安全に使用できるような情報を提供するのが毒性試験を行う本来の目的です。動物で毒性を認めない結果より、毒性を証明した試験が有用と考えて日々審査を行っています。

RT-6 医薬品適正使用と毒性データ

北田 光一

千葉大学 医学部 附属病院 薬剤部

医療現場において必要な医薬品情報は、医薬品を適正に使用して安全性を確保するために必要なあらゆる情報を含んでいる。それには効能・効果、用法・用量といった情報から薬効や副作用の機序や症例報告といったものまで広範囲に及ぶ。薬物治療の適正化のために必要な情報は、十分な薬効を得るために必要な情報と副作用を回避・防止するために必要な情報に大別されるが、前者は、新薬についても多くの情報が提供されているのに対して、後者については、特に新薬において十分とは言えない現状である。これにはいくつかの原因が指摘されている。効果が立証されて初めて医薬品として承認されることから、非臨床試験における多くの検討は医薬品としての有効性を確認・評価することに主眼を置いて行われ、毒性・副作用の明らかなものは開発の初期段階で除外されるため副作用あるいはその発現機序に関する検討が十分に行われているとはいえない状況が理由としてあげられている。また、臨床試験は、安全性および有効性の確認と評価を行い、用量を設定することを主目的として行われるが、有効性を評価する規模では、まれな副作用の検出、安全性の確認には症例数が十分でない場合があること、また、臨床試験は制限された条件下で行われるために、併用薬の存在下や多様な病態下で使用される臨床での使用状況を考えて場合の情報量不足も指摘されている。さらに、副作用の予測と回避に関する情報は医薬品を安全に使用する際に必須であるが、有効性を評価する場合と異なり、ヒトを対象として行うことは倫理的観点から不可能に近いことなども情報量の少ない原因の一つである。このような背景から、多くの場合が市販後に臨床使用される過程で予想外の重大な副作用症例が経験されてからの後追いの対応であることは否めないのが現状である。ヒトにおける副作用予測のために、種々の動物における副作用の検討からヒトへの外挿を行うアニマルスケールアップを用いた方法やヒトの培養細胞や組織などを用いた *in vitro* の検討からヒト *in vivo* における副作用を予測・評価する方法が試みられている。しかし、ヒトにおける医薬品による副作用の発現を予測するための情報は、適正かつ安全な医薬品の使用に必要なにもかかわらず情報量が少ないのが現状であり、新薬開発段階においては発見されず、市販後に新たに添付文書上に追加される重大な副作用も少なくない。まれな頻度でヒトに発現する重篤な副作用をよりの確に予測できる方法の開発が今後の検討課題である。

RT-7

臨床の立場から：実際の臨床現場における医薬品の安全性に対する考え方

小林 真一

聖マリアンナ医科大学 薬理学

最近の新聞に「夢の抗がん剤、落とし穴」という大きな見出しで、肺癌治療薬の副作用による死亡例が多数出ていることが報道された。その後もこの抗がん剤についての報道がつづいている。また、過去において催奇形性による有害作用で大きな社会問題にまで発展し、一般には使用出来なくなったサリドマイドが近年、多発性骨髄腫等の治療のために臨床で使用されていることを問題とする報道もある。

本来、医薬品とは対象となる疾患に対し治療効果を有している一方で、必ず何らかの有害作用、副作用をもっている。このように「有効性」と「毒性」を合わせ持っているものが医薬品であり、だからこそ、薬物治療においては有効性を最大限に発揮させ、毒性を最小限にする努力がなされるのである。しかし、疾患によっては生活習慣病のように、普通の日常生活を送りながら薬物治療を受けるような患者の場合は医薬品の毒性（又は副作用）によって日常生活に支障をきたしては困る。一方、抗癌薬のように未だ決定的な薬物治療法が見つからない疾患で、尚かつ生命の危険があるような疾患では多少の毒性（副作用）が出ても有効性が期待されれば臨床的には使用されている。

つまり、医薬品の臨床における「有用性」は「治療対象となる疾患」における「有効性」と「毒性（安全性）」のバランスであり、治療しようとする「患者」における「有用性」である。このことは、医薬品開発における非臨床試験、臨床試験で検討される毒性試験、有害事象（副作用）データそれ自身の有る無しではなく、そこで示された科学的な毒性（安全性）データと有効性データが目の中の患者の治療においてどの程度のプラス、マイナスとなるかの判断である。

このような臨床的判断に立脚すると医薬品の真の有用性を検討するための臨床研究が我が国でも実施されるべきである。つまり、例えば高脂血症治療薬であれば治験において血中総コレステロールを低下させる作用を明らかにするのみではなく、長期の大規模臨床試験を実施し、この医薬品の真の有用性、つまり心・脳血栓疾患の減少による延命、QOLの改善がなされるかを検討すべきであり、その時に同時に検討される毒性（安全性）データの情報開示が重要であると思われる。

セミナー

Se-1 はじめに

松澤 利明, 向山 英孝
日本製薬工業協会 医薬品評価委員会

医薬品開発の非臨床試験におけるコンピュータ化システムバリデーションの係わりを検討する一環として、今回は米国 FDA の 21CFR Part 11 ガイダンスへの対応状況をとりあげた。

1997 年米国 FDA は 21CFR Part 11 ガイダンスで電子記録に関する規則を定めた。これは電子記録・電子署名が信頼でき、FDA の実際の業務と相容れるための最小限必要な紙による記録や署名と同等であることを認めるための基準と位置づけられている。Part 11 は、FDA が長年取り組んできたコンピュータバリデーションの集大成であり、米国に医薬品やその原材料を輸出するすべてのメーカーが対象となっている。Part 11 が適合されれば、医薬品や食品・化粧品・医療機器、さらには受託研究機関など、FDA が管轄するすべての分野で Part 11 が適用される。

米国 FDA は電子記録・電子署名の信頼性を確保するために、このコンピュータ化システムバリデーションに関する管理手順の構築と厳格な遵守を強く要求している。産業界の Part 11 対応支援と FDA 査察官の活動支援を目的に 2001 年 9 月に告示された「Part 11 ドラフトガイダンス」には FDA の現在の考え方が示されている。

日本国内でも 2 年前から製薬企業およびその周辺の技術・機械メーカー・システムサプライヤー（ベンダー）等の間で Part 11 の波及が広がっている。今後の動向に予断が許せない状況になった。コンピュータの利用によるメリットは、1) ペーパーレス研究所への可能性、2) 操作履歴の管理、3) 大量データの高速度検索、4) 査察の迅速化・効率化及び 5) 各種試験のレポート・ドキュメント等の保管場所スペース削減である。しかし、電子記録は紙に比べて改ざん・追加変更が容易等の問題がある。FDA Part 11 は電子化を認めるにあたって、電子記録の弱点を解決するための条件を提示した。この条件の解釈や技術的な問題を克服しなければならない。

今回のセミナーでは、先行している GMP 対応を参考にして非臨床試験の分野におけるコンピュータ化システムバリデーションに関する課題を討議する。すなわち、電子記録・電子署名・オーディット トレイル・セキュリティ・インテグリティ・グローバルタイム管理など、GLP の要求に対応した最新の技術・機能・情報を討議する。

Topic: Computerized Systems Validation (FDA 21CFR Part 11) on Drug Development

Organizers: Toshiaki MATSUZAWA and Fumio SAGAMI

Drug Evaluation Committee, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

Se-2 FDA Part 11 とその対応

中村 裕行
武田薬品工業(株)

コンピュータ技術の著しい進歩に伴い、安全性試験の実施においてもコンピュータシステムが多くの施設で採用されている。FDA は、紙の記録・手書きの署名のみを調査するのではなく、電子記録・電子署名を調査することにより、実際的かつ効率的な調査を行うことを目指してきた。そのためには調査の対象となる電子記録・電子署名の信頼性確保が重要であるが、電子記録・電子署名は従来の紙の記録・手書きの署名に比べ一般的に信頼性が低いことから、電子記録・電子署名の信頼性を確保する基準が Part 11 として制定された。

Part 11 では、信頼性確保のために、アクセス制限や資格チェック、送信元チェック、操作手順チェック、監査証跡などの機能をコンピュータシステムに取り入れることが必要とされている。しかし、このような機能のみでは、電子記録・電子署名の信頼性確保は困難であることから、電子署名を行った者に署名下の行動に責任をもたせ電子記録・電子署名の捏造や改竄をしてはならないとする規定を定めること、FDA に従来の手書きの署名と電子署名が同等であることを保証する保証書を提出すること、および教育・訓練を行うことが Part 11 条文に盛り込まれている。

FDA の Part 11 が制定されて、はや6年が経過する。しかし、施行当初より Part 11 を完全に遵守することは当局および民間ともに困難であったことは事実であり、またその解釈においても不明確な部分が依然存在しており、混乱が生じてきた。これに対し、FDA は本年2月にこれまで発行した全てのドラフトガイダンス及び Compliance Policy Guide; Guidance for FDA Personnel (CPG 7153.17)を取り下げ、Part 11 条文の変更も視野に入れた再検討を行うことにした (Draft Guidance for Industry, Part 11, Electronic Records; Electronic Signatures – Scope and Application (February 14, 2003))。

Part 11 再検討期間中においては、バリデーションに関する条文の遵守には行政的措置が講じられないことになっている。しかしながら、安全性試験システムにより収集され保存される記録については、その正確性及び信頼性を確保するために、依然、バリデーションが重要であることには変わりはない。

Part 11 対応にあたっては、GLP 条文における記録および署名に関する要件を基本におき、本年2月以降に作成された Part 11 のドラフトガイダンスに着目しながら進めていかなければならない。

Se-3 分析システムにおけるコンピュータバリデーションについて

早川 禎宏

(株)島津製作所 分析計測事業部 LC ビジネスユニット

医薬品の開発から製造販売に至るプロセスで得られるデータは人の健康に深く関与しており、その信頼性の確保は医薬品の品質と完全性を保証するうえで重要である。そのために、各種試験に用いられる分析法や分析機器の適格性を科学的に検証することが必要となるが、今日の分析システムはコンピュータ化されたものが多く、データ収集からデータ解析まで市販のコンピュータシステムに依存している状況にあっては、そのバリデーションもデータの信頼性を左右する要因の一つといえる。ここでは、コンピュータバリデーションにおける重要なポイントを以下に述べる。

1. 要求仕様の確立

バリデーションとは「特定のプロセスが、定常的にあらかじめ定められた仕様と製品特性を満たす製品を生み出すことの高度な保証を提供する文書化された根拠を確立すること (FDA Guidelines on General Principles of Process Validation (1987)より)」である。本定義をコンピュータ化システムに適用すれば、「システムがユーザーのニーズに合致し、すべての要求仕様が首尾一貫して満たされていることを客観的な証拠をもって検証すること」となる。この定義の重要なポイントは要求仕様が基準となることである。コンピュータシステムが社内で開発されたか、委託業者により開発されたか、あるいは市販品を購入したかに関わらず、要求仕様の確立はコンピュータバリデーションのために極めて重要である。このユーザー要求仕様書には各種規制に対応するうえでの必要な要件と共に、使用環境などを考慮し、電子記録の信頼性を確保するためのシステム固有の要求事項を明文化する必要がある。更に、確立したユーザー要求仕様がシステムに反映されていることを検証し記録を残すことが必要である。

2. バリデーション作業の文書化

バリデーション文書は基本的に次の3つの文書から構成され、すべての文書について適切な管理、レビュー、承認が重要である。ひとつ目はバリデーションの「目的」、「組織」、「適用範囲」、「実行計画」、「作業概要」「実施責任者」等を規定したバリデーション計画書である。次に実際のテスト方法や許容基準を記述したバリデーション手順書が必要となり、最後に、結果を記録したバリデーション報告書となる。バリデーション報告書は、バリデーション活動の結果をまとめた文書であり、「合格/不合格」だけの記録では不適切であり、数年後の説明を可能とするためには、作業内容の記述や根拠となる資料(画面の印刷等)を残すことが重要である。

3. バリデーション作業の内容

バリデーション作業はインプットに対して期待されるアウトプットが得られること(例えば、テストデータによる機能テスト)を検証する、ブラックボックステストが行われることが多い。しかし、ブラックボックステストには限界があり、ソースコードの記述など内部ロジックを検証する、ホワイトボックステストも重要である。この考えは市販ソフトウェアでも例外では無いが、市販ソフトウェアではソースコードの入手やその解析は困難なケースが多く、ベンダー監査等によりベンダーの開発ライフサイクルを評価することも必要なケースがある。

4. 最後に

分析システムでは市販品を使用される場合が多いが、市販されていること自体はプログラムの性能の適格性を証明するには十分でない。ベンダーでのテストはベンダーの仕様に基づきベンダーの動作環境で行われるが、重要なことはユーザーの求める要求仕様が実際の動作環境で実現されていることである。また、バリデーションが実施された後は、そのバリデーションが行われた状態を維持することも重要なポイントである。

Key elements of validation for computerized system in analytical laboratory

Yoshihiro HAYAKAWA

Shimadzu Corporation, Analytical & Measuring Instruments Division LC Business Unit

Nancy Centanni

Associate Director

Quality Assurance Business Process Improvement and Compliance Covance, USA

The Part 11 regulations were finalized in the US Code of Federal Regulations on March 20, 1997 and became effective in August 1997. During the time period between August 1997 and early 2000, the Food and Drug Administration (FDA) was lenient regarding the enforcement of the regulations. Since that time, the US industry has seen an increase in citations in the form of 483s and Warning Letters regarding the use of computer systems. Between 1999 and 2001, the number of computer-related warning letters has increased over 100 percent from 11 to 25. Through early 2003, the use of enforcement tactics by the FDA had been escalating as interpretations of Part 11 became more stringent. All US pharmaceutical firms have struggled with the financial and resource burden to identify, remediate and replace non-compliant systems with the average spend at \$80,000 per system and an expectation that remediation and replacement activities for current systems could be on-going through at least 2007. The industry continued to heighten pressure on the agency to reconsider some aspects of Part 11 as it was felt that the requirements unnecessarily restricted the use of electronic technology and it significantly increased the costs of compliance especially in the areas of validation, audit trails, record retention, record copying and legacy systems.

On 4 February 2003, the FDA announced the withdrawal of the draft guidance on "electronic signatures and copies" and released another guidance on "scope and application" of Part 11. The guidance indicates that the FDA may revise the provisions of Part 11 and will narrowly interpret the regulations while the revision is underway. The guidance recommends an approach based on justified and documented risk assessment. In this guide, the FDA also recommends that your decision on whether to apply audit trails, be based on the need to comply with predicate rule requirements, a justified and documented risk assessment, and a determination of the potential impact on product quality and safety and record integrity. It is also suggested suggest that the decision on how to maintain records be based on predicate rule requirements and that the decision should be based on a justified and documented risk assessment and the value of the records over time

Industry now is searching for what to do. What does this mean for Part 11? Will it go away? Will it be on hold? How do we develop or remediate systems without creating the need for rework once Part 11 is redefined?

Part 11 is not expected to go away. Its scope is narrowed and it is expected to be enforced under the umbrella of FDA's 21st century CGMP initiative. Several times the new guidance recommends to apply a risk based approach for the implementation. Risk criteria potential of the computer system to affect product quality and safety and record integrity. All indications are that Part 11 will not go away, but the FDA will focus on high risk systems and continue to stay away from low risk systems like Word Processing systems for SOPs, Environmental monitoring systems, and data bases for training records etc.

This presentation will focus on the more difficult and expensive aspects of Part 11 as it was previously enforced, a review of current interpretations and areas of uncertainty regarding the Part 11 today, as well as recommendations on how to manage related processes and systems to meet the current Part 11 compliance environment.

Se-5 コンピュータ・システム・バリデーションに関する最新情報

中野 健一

(株)山武 アドバンスオートメーションカンパニー ナレッジウェア事業部

本講演では「コンピュータ・システム・バリデーションに関する最新情報」と題し、以下の3点を中心に述べることにする。コンピュータ・システム・バリデーションとは何か？コンピュータ・システム・バリデーションとは「当該コンピュータ・システムが意図された通りに動作することを保証するために文書で証拠を残すこと」である。コンピュータ・システム・バリデーションの実施に当たっては、コンピュータ・システムのライフ・サイクルを通じた活動が要求される。すなわち、仕様作成、設計、製作、受入テスト、適格性検証及び運用・維持の各段階において、予め用意された手順書に従い、その過程でさまざまな記録が残していかなくてはならない。コンピュータ・システム・バリデーションに関連する規制・ガイダンス 1980年代後半に従来のプロセス・バリデーションの考え方に沿ったコンピュータ・システム・バリデーションの必要性が認識され、米国、欧州および日本においてそれぞれ規制、ガイダンスに発布された。1997年8月には、米国食品医薬品局(FDA)は、従来の紙の記録、手書き署名の代わりに電子記録、電子署名を認めることとし、そのための規制として21 CFR Part 11を発効した。これに倣い、米国の他省庁も文書等を電子的に受け付け始めており、さらに欧州、日本でも同様の状況が現れつつある。このため、コンピュータ・システムは、紙の記録を作成・出力するための補助的な役割にとどまらず、正式な電子記録を作成・管理し、また電子記録に対して電子署名する、という中核的な役割を担うことが可能となった。このことは、取りも直さずコンピュータ・システムの信用性および信頼性の確保が従来以上に求められるということであり、そのための最も重要な方策のひとつがコンピュータ・システム・バリデーションであると言える。実際に、各国でも、コンピュータ・システム・バリデーションに関するガイダンスが改訂・新規発行されている。なぜコンピュータ・システム・バリデーションが必要か？コンピュータ・システム・バリデーションを実施していないシステムを使用することは規制違反であり、例えばFDAから企業に対して発行される警告文書にて、コンピュータ・システム・バリデーション未実施に対する警告が何件も出されている。また、コンピュータ・システム・バリデーションで示される要件・指針はソフトウェア開発におけるGood practiceに他ならない。従って、コンピュータ・システム・バリデーションを正しく実際の業務に取り入れていくことで、ソフトウェア開発・運用における生産性向上、業務改善が期待できる。

Updates on Computer System Validation

Kenichi NAKANO

Yamatake Corporation Advanced Automation Company Knowledgeware Division

一般演題(ポスター)

P-001

マウスを用いた絶食時間の血液生化学値および胃の病理所見への影響の検討

○向井大輔, 山川誠己, 各務 進, 村田共治, 井上博之

(財)食品農薬薬品安全性評価センター

【目的】毒性試験では、血液生化学的検査に対する摂食の影響を出来る限り少なくするために、一晩絶食後に解剖することが多いが、マウスは絶食ストレスに対する感受性が高く、時に胃に糜爛や出血などの所見が認められることもある。今回、我々は絶食時間と血液生化学検査値および胃の病理所見との関係を調べたので報告する。

【方法】動物は、日本チャールスリバー株式会社より購入した B6C3F1 系 9 週齢マウスの雌雄を使用した。7:00 点灯 19:00 消灯の照明環境下で飼育し、採血、解剖は 9:00 に行い血液生化学検査、消化管の肉眼観察および胃の病理組織学検査を行った。絶食条件は 21, 16, 13, 12, 8, 3 および 0 時間とした。また、摂食パターンの把握のため、摂食量の測定も行った。

【結果】摂食量は 17:00-19:00 以後増加し始め、消灯後は高値で推移、点灯後減少した。血液生化学検査では、16 時間絶食群と比較して 8 時間または 3 時間以内の絶食群で血糖および中性脂肪が高値、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼおよび総蛋白が低値を示した。病理学検査では 12 時間以上の絶食群で胃の褐色斑点や糜爛などが数例に認められた。

【結論】8 時間以内の絶食と 16 時間絶食では明らかに異なる血液生化学検査データが得られた。一方、12 時間以上の絶食では胃の褐色斑や糜爛などの絶食ストレスによる影響が示唆された。

Study about the effect of fasting time in mice on the blood-chemistry and histopathological change in stomach

○Daisuke MUKAI, Seiki YAMAKAWA, Susumu KAKAMU, Kyoji MURATA, Hiroyuki INOUE, Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides, Shizuoka, Japan

P-002

中国産カニクイザルの血液学及び血清生化学的性状

○小松原博文, 田中繁太郎, 永井真一, 柿沼章子, 金 光春, 鈴木正一,
清水利行, 鈴木照雄

ハムリー(株)

【目的】毒性試験に頻繁に用いられるカニクイザルの生理状態を把握する為、血液学的及び血清生化学的項目の平均、標準偏差の測定を行った。また、経時的に測定を行い、数値が変動するか否かを確認した。【材料及び方法】今回用いたカニクイザルは、弊社が中国実験動物雲南雲長類センターから輸入したカニクイザルを用いた。雄は 1~2 歳のカニクイザルを 82 頭、3~5 歳のカニクイザルを 160 頭用いた。雌は 2~4 歳のカニクイザルを 55 頭用いた。また、約 10 頭のカニクイザルについて 4 週間毎に 3 回採血を行い、経時的に測定を行った。なお、採血は一昼夜絶食後に行った。血液学的測定項目は、WBC、及び、RBC 等 15 項目について検討を行なった。また、血清生化学的測定項目は、BUN、及び、GOT 等の 14 項目について検討を行なった。【結果及び考察】血液学的及び血清生化学的測定を行った結果、白血球数は雌の個体の方が高いことが認められた。また、尿素窒素は雄の個体の方が高いことが認められた。その他の項目について測定した結果、顕著な差は認められなかった。加えて、1~2 歳の雄と 3~5 歳の雄では、全ての項目において顕著な差は認められなかった。また、経時的に血液学的及び血清生化学的測定を行った結果、顕著な変動は認められなかった。これらの結果、特に問題のある項目が確認されなかったため、弊社のカニクイザルは毒性試験に用いる際に有用なカニクイザルであると推測された。

Hematological and serum biochemical characteristics of cynomolgus monkeys imported from China

○Teruo SUZUKI, Hirofumi KOMATSUBARA, Shigetaro TANAKA, Shinichi NAGAI, Akiko KAKINUMA, Guangchun JIN, Masakazu SUZUKI, Toshiyuki SHIMIZU, HAMRI CO.,LTD, Ibaraki, Japan

P-003 カニクイザルの年齢及び体重と精巣成熟度に関する検討

○和泉博之, 椎田修治, 河野一樹, 小嶋 聖, 高原利夫, 前田 博,
鮫島秀暢, 水田良一

(株)新日本科学安全性研究所

近年、前臨床試験では、短期反復投与試験で精巣に対する影響を精査することが求められるようになってきている。前臨床試験で非げっ歯類として用いられるサル類はげっ歯類及びイヌと比較し成長に時間を要し、一般的に雄カニクイザルの性成熟は、4歳6ヶ月といわれている。しかしながら、前臨床試験で使用されるカニクイザルの多くは、3~5歳であり、この年齢層は、雄生殖器の成熟途中である個体が多く、成熟度が個体間で差異が多いため、実験開始時に成熟度を把握し、成熟した個体を選別することが重要である。

そこで今回我々は、中国由来の雄カニクイザルで外観で判断できる指標として、精巣の長径と短径、体重及び年齢と精巣の成熟度の相関性について、3才7ヶ月~7才4ヶ月の約300例を用いて検討した。その結果、精巣サイズは5才6ヶ月を境に急速に発育すること、また、体重及び年齢の間には、相関が認められるが、年齢よりも体重の方がより良好な相関があることが明らかになった。また、これらの一部について精巣の病理組織学的な成熟度についても検討を実施しており、併せて発表する予定である。

Relationship between maturity of testes and age/body weight in cynomolgus monkeys

○Hiroyuki IZUMI, Shuji SHIIDA, Kazuki KAWANO, Seiji KOJIMA, Toshio TAKAHARA, Hiroshi MAEDA, Hidenobu SAMESHIMA, Ryoichi NAGATA, Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

P-004 低カルシウム培地による器官培養法を用いたラット水晶体白内障発症の検討

○池田宗弘, 大竹直美, 菊池泰子, 鈴木 睦, 山口 格, 川原潤一

キリンビール(株)医薬カンパニー開発本部医薬開発研究所

低カルシウム血症における白内障発症メカニズムを解明するため、低カルシウム培地を用いたラット水晶体器官培養系で病理組織学的検討および遺伝子解析を実施した。【方法】7週齢の Crj:CD (SD) IGS 系ラットより眼球を摘出後、水晶体を取り出し Minimum Essential Medium (5.4mM D-(+)-glucose, 1% Penicillin-Streptomycin, 10% Fetal Bovine Serum) で24時間培養 (37℃, 5%CO₂) する。その後、低カルシウム培地で24~72時間培養し病理組織学的検査を実施した。また低カルシウム培地で4時間培養した水晶体よりRNAを抽出し、Agilent社 Rat cDNA microarrayを用いて遺伝子解析を実施し、低カルシウム刺激による白内障発症の初期の遺伝子発現を調べた。【結果及び考察】低カルシウム濃度の培地で培養した水晶体で肉眼的に白濁が認められた。病理組織学的検査では水晶体上皮細胞の変性および壊死、皮質表層部の水晶体繊維細胞の膨化、空胞変性、顆粒状変性および壊死などが認められた。これらの変化は培地中カルシウム濃度に応じて増悪した。これらの結果は低カルシウム血症における白内障発症を反映していることが示唆された。また遺伝子発現の解析結果より、低カルシウム培地で培養した水晶体における白内障発症初期段階の遺伝子発現のパターンが一部明らかとなった。

The mechanism of rat-cataractogenesis with the organ culture in low-calcium medium.

○Munehiro IKEDA, Naomi OHTAKE, Yasuko KIKUCHI, Mutumi SUZUKI, Itaru YAMAGUCHI, Jun-ichi KAWAHARA, Pharmaceutical Development Laboratories, Development Department, Pharmaceutical Division

P-005 マウスにおける *in vivo* 毒性スクリーニング試験の確立

○梶原 力, 花田智彦, 西村郁美, 篠田保彦, 渡海 寛, 田村英之, 石橋成太良

日本新薬(株)安全性研究部

【目的】新規医薬品の開発スピードアップには毒性の有無を有効性と共に早期に把握し、候補品の選択を効果的に行うことが重要である。今回、肝障害、腎障害をターゲットに Acetaminophen, Cyclosporine A を用い、マウスにおける *in vivo* 毒性スクリーニング試験の確立を試みた。【方法】試験スケジュールは、開発初期段階での化合物量を考慮しマウスの 4 日間投与を選択した。投与初日および 4 日間投与後に同一動物より採血、採尿 (24 時間蓄尿) を行い、血液化学検査、尿検査より肝あるいは腎障害の指標とされる項目を自動分析装置、HPLC を用い測定した。【結果】Acetaminophen では、初回投与後に肝および腎障害を示す変化が認められたが、4 日間投与後では血清中グルタミン酸脱水素酵素 (GLDH) 活性の上昇を除き、障害を示す変化は消失した。一方、Cyclosporine A では、初回投与後では β 、 γ 、 δ ビリルビン分画の上昇が認められた以外に障害を示す変化は認められなかったが、4 日間投与後では血清中 GLDH 活性の上昇を初めとする肝障害を示す項目に変化が認められた。肝臓に同存在し、血清中からの消失半減期も長い GLDH の血清中酵素活性や胆汁うっ滞や肝細胞障害により変化する血清中ビリルビン分画は肝毒性を検出するマーカーとして優れていることが示された。また、本試験系は同一個体から複数回のデータを得ることで動物数を抑えると共に毒性発現の時間的な違いや変化に対応する点で有用であると考えられる。他の毒性マーカーについても併せて報告する。

Establishment of a *in vivo* toxicity screening study in mice

○Tsutomu KAJIHARA, Tomchiko HANADA, Ikumi NISHIMURA, Yasuhiko SHINODA, Hiroshi TOKAI, Hideyuki TAMURA, Seitarou ISHIBASHI, Toxicology Department, Nippon Shinyaku CO.,LTD., Kyoto, Japan

P-006 Changes of Blood Parameters after Escalating dose with DA-3021 in Cynomolgus Monkey

応

○金 忠龍¹, Han Su-Cheol¹, Jo Yeong-Woo², 榎本保男¹, Chung Moon-Koo¹, Han Sang-Seop¹

¹安全性評価研究所毒性部非切歯霊長類チーム, ²Research Lab.

Toxic profiles in blood parameters were preliminarily evaluated in two male cynomolgus monkeys subcutaneously administered with DA-3021 of 300 microgram/kg, approximately 100 folds of the recommended human dose. At 7 days after the treatment, the monkeys were given at 3 day-intervals with escalating dose of 900, 2700, and 8100 microgram/kg. DA-3021 decreased white blood cells (WBC)- and red blood cells (RBC)-related parameters at the first day after the treatment. The decreased WBC-related parameters (e.g., No. of neutrophils, percentage of lymphocyte in WBC) were gradually recovered with time, although they were given with escalating doses of DA-3021. RBC-related parameters (e.g., No. of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit) were not recovered until the end of experiment. The level of antibody to DA-3021 detected in serum was increased on day 9, 12 and 16 by enzyme-immunoassay. Thus, these findings suggest that neutralizing antibody to DA-3021 may be formed and related with the reversibility of WBC in monkeys. The findings of the present study may be useful for the safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals using cynomolgus monkey.

Changes of Blood Parameters after Escalating dose with DA-3021 in Cynomolgus Monkey

○Choong-yong KIM¹, Su-Cheol Han¹, Yeong-Woo Jo², Yasuo TARUMOTO¹, Moon-Koo Chung¹, Sang-Seop Han¹, ¹Primate team, Toxicology Division, Korea Institute of Toxicology, Daejeon, Korea. ²Dong-A Pharm.Co. Ltd. Yong-In, Korea

P-007 3-エチル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, 池谷政道¹, 石田 茂¹, 小泉睦子², 鎌田榮一², 江馬 真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医薬品食品衛生研究所

【目的】乳幼児に対する化学物質の毒性影響を検討する目的で、これまでに本学会において 4-ニトロフェノール、2,4-ジニトロフェノール、4-クロロフェノール及び 3-アミノフェノールの新生児に対する毒性が若齢動物より約 2-4 倍感受性の高いことを報告した。本研究では若齢動物での毒性に関してすでに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）が実施され、その結果が公表されている 3-エチルフェノールを用い、これまでと同様に出生直後から生後 21 日までのラットに投与し、28 日試験の結果との比較検討を行った。【材料及び方法】3-エチルフェノール(CAS # 620-17-7, 純度 96.2 %)をオリーブ油に溶解し、30、100 及び 300 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、発生学的指標を含め詳細に解析した。その後半数の動物は 12 週齢まで無処置で維持し、同様の解析を行った。なお、全ての試験は化審法 GLP 下で行った。【結果及び考察】300 mg/kg 投与群では、体重増加抑制及び肝臓重量の増加がみられた。100 mg/kg 投与群では、雌で肝臓重量の増加がみられたが、毒性学的意義に乏しいものであった。30 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 100 mg/kg/day と判断した。28 日試験での無毒性量は 1000 mg/kg での腹臥/横臥、体重、肝及び腎への影響から 300 mg/kg/day であったことから、3-エチルフェノールの場合も新生児で感受性が高いと考えられた。

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

○Nobuo NISHIMURA¹, Masamichi IKEYA¹, Shigeru ISHIDA¹, Mutsuko KOIZUMI¹, Eiichi KAMATA², Makoto EMA², 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

P-008 消化管障害モデルラットを用いた Bt 蛋白の経口投与毒性試験

○小野瀬淳一, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 上田 誠, 瀧澤 保, 広瀬雅雄

国立医薬品食品衛生研究所病理部

【目的】*Bacillus thuringiensis* の cry 遺伝子から生成される Bt 蛋白は、人工胃液中ではほぼ完全に分解されるため、遺伝子組換え食品を健康人が摂取しても腸へ移行せず、安全性上の問題はないと考えられている。しかし、消化管障害により胃酸分泌能が低下したヒトの場合、Bt 蛋白が十分に消化されないことが予想される。また、小腸が傷害されて Bt 蛋白が血中へ移行することを想定し、胃酸分泌低下-小腸障害モデルラットを用いて Bt 蛋白質の短期間経口投与毒性試験を行った。【方法】F344 雄性ラットに小腸障害物質としてインドメタシンを 0.008% 濃度で間歇経口投与(1 週間投与+1 週間休薬, 2 サイクル)し、休薬期間中に毎日、朝夕 2 回胃酸分泌抑制薬であるファモチジン 30 mg/kg を腹腔内投与した。ファモチジン投与期間中、精製 Bt 蛋白を 0.001% 濃度で 1 週間×2 サイクル経口投与した。Bt 蛋白の濃度は、餌が全て組換えトウモロコシ子実とした際に含有される Bt 蛋白量をもとに算出した。実験期間中、体重、摂餌量を測定し、実験終了時にはエーテル麻酔下で腹部大動脈より採血し、血液学的及び血清生化学的検査を行った。採血終了後放血屠殺し、臓器を肉眼的に観察し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、腎臓、副腎、精巣は重量測定後に、他臓器は摘出後常法に従って組織標本作製し、病理組織学的検索を行った。【結果】いずれの検索項目においても Bt 蛋白による著明な変化は認められず、今回用いた消化管障害モデルラットにおいて Bt 蛋白の経口摂取による影響は無いと考えられた。

Oral Toxicity study of Bt protein in gastro-intestinal impairment model rats

○Jun-ichi ONOSE, Toshio IMAI, Mai HASUMURA, Makoto UEDA, Tamotsu TAKIZAWA, Masao HIROSE, Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-009 フェニルヒドロキノンの黒色モルモット皮膚における脱色素作用について

○田山邦昭

東京都立衛生研究所毒性部

【目的】 オルトフェニルフェノール(OPP; 防カビ剤)およびその代謝物のフェニルヒドロキノン(PHQ)を黒色モルモットへ塗布し、皮膚を白色化する作用(脱色素作用)を検討した。【方法】 10-13週齢の雄性近交系モルモット JY-4 を5匹用いた。背部皮膚を剪毛し、1匹当たり6区画(1区画 4x4cm)設け、1区画を無処置とし、他の区画に1%、5%のOPP、PHQ溶液および溶媒(EtOH)を5週間塗布した。塗布後、ネンプター麻酔下、分光測色計による皮膚白色化の強度(L*値)測定を行い、屠殺後トレパンにより皮膚を採取し、表皮剥離標本(DOPA反応)、凍結標本(DOPA反応)、バラフィン標本(Fontana-Masson染色、S-100免疫染色)の作製を行い、顕微鏡による画像解析装置での表皮メラノサイト数の計測や皮膚縦断面の組織学的観察、また電顕によるメラノサイトの超微形態学的観察を行った。【結果】 PHQに強い脱色素作用を認め、1%、5%群共にL*値は有意に増加した。その塗布部のメラノサイト、メラニン顆粒は減少し、5%群ではほとんどみられなくなった(メラノサイト数は溶媒群に比べ1%群で49%、5%群で99%の減少)。1%群の電顕像はメラノソームの著減と共に、メラノサイトの変性、崩壊を示した。一方、OPPでは脱色素作用はほとんどみられず、OPP塗布部の組織・電顕像では溶媒対照群とあまり違いはみられなかった。【結論】 黒色モルモットへの塗布により、OPP代謝物のPHQに強い脱色素作用が認められ、選択的メラノサイト傷害であることが示された。一方、脱色素作用の報告のあるOPPにはその作用はほとんどみられなかった。

Depigmenting Effect of Phenylhydroquinone on the Skin of JY-4 Black Guinea-Pigs

○Kuniaki TAYAMA, Department of Toxicology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan

P-010 ガルシニア抽出物の安全性に関する研究 I ーガルシニア抽出物のラットによる52週間投与毒性試験ー

○小川幸男¹、関田清司¹、北嶋 聡¹、斎藤 実¹、内田雄幸¹、松島裕子¹、
川崎 靖¹、井上 達²、菅野 純¹

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

【目的】 ダイエットを謳い文句に市場に出回っているガルシニアの長期摂取による毒性を検討する目的で、ラットを用いた長期投与試験を実施した。【方法】 ガルシニアの乾燥果皮から水で抽出しカルシウムを加えて乾燥粉末化したガルシニア抽出粉末(GEP、主成分としてヒドロキシクエン酸を66.2%含有)を、0、0.2、1.0及び5.0%の割合で飼料に混入し、52週間連続的に雌雄のF344ラットに摂取させた。【結果】 一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液化学的検査において変化は認められなかったが、5.0%群において、精巣に浮腫性の萎縮が観察され、また精巣の実重量及び比重量においても明らかな低下が認められた。また、精巣上体にも5.0%群で明らかな実重量及び比重量の低下が認められた。組織学的には5.0%群の精巣で間質の浮腫を伴った著しい精細管の萎縮、精子細胞の消失及びセルトリ細胞の空胞変性、精巣上体では滞留生殖細胞残屑の増加と滞留精子量の減少あるいは消失が観察された。【結論】 GEPを52週間連続的にラットに摂取させると、5.0%で著明な精巣への影響が発現した。尚、GEPの14及び28日間投与後の、セルソーター解析及び病理組織学的検査を行い、精巣細胞への影響の初期像を観察し、障害機構と長期試験結果の関係を考察した。

Toxicity study of Garcinia cambogia extract I: A 52-week-toxicity study of Garcinia cambogia extract in rats

○Yukio OGAWA¹, Kiyoshi SEKITA¹, Satoshi KITAJIMA¹, Minoru SAITOH¹, Osayuki UCHIDA¹, Yuko MATSUSIMA¹, Yasushi KAWASAKI¹, Tohru INOUE², Jun KANNO¹, ¹Cellular & Molecular Toxicology Division, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-011

ガルシニア抽出物の安全性に関する研究 II —主成分ヒドロキシクエン酸のラットにおける精巣毒性の検討—

○関田清司¹, 小川幸男¹, 北嶋 聡², 斉藤義明², 永田伴子², 井上 達²,
菅野 純¹

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(財)食品薬品安全センター秦野研究所,

³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

【目的】報告者がラットで精巣毒性を示すことを見出したガルシニア抽出粉末 (GEP) の精巣毒性発現の本体を明らかにする目的の一環として、主成分であるヒドロキシクエン酸 (HCA) 及び GEP をラットに 28 日間投与し、HCA の精巣毒性発現の有無と、毒性像を検討した。【方法】5 週齢の F344 ラット雄を 1 群 10 匹よりなる 5 群に分け、1 群には対照としてラット飼育用粉末飼料を、他の 3 群にはガルシニアより抽出精製した HCA (純度 99.5%) の 0.13, 0.66, 3.31% 添加飼料を、残りの 1 群は陽性対照として GEP (HCA 66.2% 含有) 5.0% 添加飼料を 28 日間摂取させた。各群の 7 匹は本試験群として精巣の定量的ステージ分析を含む病理学的検査に供し、3 匹はサテライト群として精巣の電子顕微鏡検査及び BrdU 免疫染色による細胞増殖活性解析に供した。【結果及び考察】HCA3.31% 添加 (GEP5.0% 相当) 飼料を投与したラットには、精巣上体重量の減少と光学顕微鏡観察で管腔内細胞残屑が認められた。ステージ分析ではプレプロトン期以降の精母細胞の減少が認められたが、ステージ特異性は認められなかった。また精祖細胞には数の減少や細胞増殖活性低下も認められなかった。電子顕微鏡観察ではセルトリ細胞に影響が認められた。これらの変化及び程度は GEP5.0% 添加投与群による変化と同質、同程度であることが明らかとなった。このことから、GEP 投与による精巣毒性は主成分である HCA により生じたものと考えられた。

Toxicity study of *Garcinia cambogia* extract II: A 28-day dietary exposure of hydroxycitric acid, a principal ingredient of *Garcinia cambogia* extract, on testicular toxicity in rats.

○Kiyoshi SEKITA¹, Yukio OGAWA¹, Satoshi KITAJIMA¹, Yoshiaki SAITO², Tomoko NAGATA², Tohru INOUE², Jun KANNO¹,
¹Cellular & Molecular Toxicology Division, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan.
²Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Kanagawa, Japan, ³Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-012

食用天然色素であるアナトー色素のラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験

○吉野裕子¹, 萩原昭裕¹, 今井則夫¹, 堤 友子¹, 佐野真士¹, 玉野静光¹,
青木宏光², 安原加壽雄³, 香田隆俊³, 中村幹雄³, 白井智之²

¹(株)大雄会医科学研究所, ²名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学,

³三栄源エフ・エフ・アイ(株)

【目的】食品の着色料として使用されているアナトー色素の安全性評価の一環として、ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験を実施した。【方法】6 週齢の CD(SD)IGS 系ラット雌雄を用い、アナトー色素 (ノルピキシン) を 0, 0.1, 0.3, および 0.9% の濃度で 90 日間混餌投与した。【結果】体重、摂餌量、摂水量、組織学的検査および血液学的検査ではアナトー色素投与の影響は認められなかった。0.9% 群の雌雄で尿の色調の黄色化、肉眼的な全身の黄色化を認め、0.9 および 0.3% 群の雌雄において、血清中の総蛋白、アルブミン、A/G 比、リン脂質および ALP の有意な高値、肝臓重量およびその体重比の有意な高値を認めた。病理組織学的検査では、0.3% 以上の投与群雌雄において肝細胞の肥大が観察された。しかしながら、0.1% 投与群の雌雄ではアナトー色素投与に起因すると考えられる毒性学的に意義のある変化は観察されなかった。また、アナトー色素を 0.9% 濃度で 2 週間混餌投与したラットの肝臓を電子顕微鏡学的検査した結果、ミトコンドリアの増加を確認した。【結論】以上の如く、本試験においてアナトー色素を 0.1% の濃度でラットの雌雄に 90 日間投与しても明らかな毒性学的影響を認めなかった事から、アナトー色素の無毒性量 (NOAEL) は雌で 76 mg/kg/day、雄で 69 mg/kg/day 以下であると結論した。

Ninety-day toxicity study of annatto extract, a natural food color, in rats

○Hiroko YOSHINO¹, Akihiro HAGIWARA¹, Norio IMAI¹, Tomoko TSUTSUMI¹, Masashi SANO¹, Seiko TAMANO¹, Hiromitsu AOKI², Kazuo YASUHARA³, Takatoshi KODA³, Mikio NAKAMURA³, Tomoyuki SHIRAI¹,
¹Daiyu-kai Institute of Medical Science, Aichi, Japan, ²Dept. of Exp. Pathol. and tumor Biol., Nagoya city univ., Aichi, Japan, ³San-Ei Gen FFI, Inc., Osaka, Japan

P-013

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

○大石 巧, 榎並倫宜, 岡崎和志, 池谷政道, 山口 剛, 板谷越重人, 岡崎修三

(株)ボゾリサーチセンター御殿場研究所

我々は一昨年の本大会において最近5年間の Fischer ラット (F344/Du Crj (Fischer)) を用いた強制経口投与による長期毒性・がん原性試験で主に投与 26 週以降突然死が多発すること、突然死の一因を金属製胃ゾンデによる咽喉頭部の物理的侵襲に起因した嚥下障害とした Germann らの報告 (Laboratory Animal Science, 1994) と死亡状況が類似していることを報告し、F344 ラットを用いた強制経口投与による長期試験では、その効果は未知ながら金属製胃ゾンデの使用を避けることを提唱した。しかし、その後当施設で実施したがん原性試験、試験 1: 投与 40 週まで金属製胃ゾンデ、これ以降テフロン製胃ゾンデを使用、固形飼料で飼育、試験 2: 投与開始時からテフロン製胃ゾンデを使用、投与 79 週まで固形飼料、これ以降粉末飼料で飼育、試験 3: 投与 18 週まで金属製胃ゾンデ、これ以降テフロン製胃ゾンデを使用、投与 43 週まで固形飼料、これ以降粉末飼料で飼育、と胃ゾンデの種類と飼料の形態の様々な組み合わせで実施した試験ではテフロン製胃ゾンデによる突然死の防止効果は認められなかった。一方、試験 2 及び 3 で飼料を固形から粉末に切り替えた後は、突然死が全く発生しなかった。以上の結果より、長期毒性試験における F344 ラットの突然死の防止には粉末飼料での飼育が有効であることが示唆された。

Sudden death observed in a longterm/carcinogenicity study in Fischer rats administered by gavage-II

○Takami OHISHI, Tomonori ENAMI, Kazushi OKAZAKI, Masamichi IKEYA, Tuiyoshi YAMAGUCHI, Shigeto ITAYAGOSHI, Shuzo OKAZAKI, Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc., Shizuoka Japan

P-014

高脂血症治療剤のラット血清中 CK 濃度への影響

○篠田保彦, 西村郁美, 黒坂妙子, 渡海 寛, 梶原 力, 田村英之, 上田 誠, 石橋成太良

日本新薬(株)研究開発本部開発研究所安全性研究部

従来から高脂血症治療剤による横紋筋融解症が問題となっているが、服用開始から発症するまでは数日から数ヶ月を要し、発症頻度も低いため、通常の動物実験で現象として捉えるのは非常に難しい。そこで、我々は松山らの方法 (Biol. Pharm. Bull. 25 (3), 346-350 (2002)) を採用した。これは動物をウレタン麻酔下におくことによって、細胞を不安定化し、細胞障害性薬剤による逸脱酵素の検出を容易にするという方法である。実際には、ラットに高脂血症治療剤を経口投与して、投与 1 時間後に頸静脈カニューレーションによりウレタン注入を開始し、さらに投与 7 時間後に採血して、横紋筋融解症の指標としての血清中 CK 濃度を測定する。現在、この方法を用いて、フィブラート剤単独、スタチン系薬剤単独、さらにフィブラート剤とスタチン系薬剤との併用による血清中 CK 濃度を測定し、各種高脂血症治療剤の横紋筋融解症に対する影響を検討している。

Rat serum CK level elevation by hypolipidemic agents

○Yasuhiko SHINODA, Ikumi NISHIMURA, Taeko KUROSAKI, Hiroshi TOKAI, Tutomu KAJIHARA, Hideyuki TAMURA, Makoto UEDA, Seitaraou ISHIBASHI, Toxicology Department, Nippon Shinyaku CO., LTD., Kyoto, Japan

P-015 フッ素の骨形成に対する影響

○松尾三郎, 桑原知江, 清宮健一, 中川博史

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻毒性学研究室

フッ素は骨芽細胞を刺激し骨質の形成を高めることから骨粗鬆症の治療に用いられるが、その有効性に相反する報告が見られる。本研究では、フッ素の骨代謝に対する毒性を調べることを目的とし、ラットへの高用量フッ素投与に伴う骨芽細胞、破骨細胞、関節軟骨細胞層での変化と、上皮小体細胞、傍濾胞細胞での微細構造と免疫組織学的変化を観察した。NaF 投与は短期間 (10 および 20mg/kg の割合で NaF を 2 回/日 4 日間皮下投与) と長期間 (6.31 および 12.62mM 濃度の NaF 水溶液の 4 週間飲水経口投与) の投与を行い、下顎骨歯槽部で破骨細胞を、下顎骨と脛骨関節頭で軟骨細胞層と骨芽細胞を観察し、カルシトニン抗体陽性傍濾胞細胞の数的変化を観察、さらに甲状腺と上皮小体を電顕観察した。NaF の短期暴露により骨芽細胞は膨化を示し、骨表面から遊離した破骨細胞が増加し骨吸収活性が抑制されていた。上皮小体細胞ではリソソームの増加やゴルジ装置の細分化が見られ分泌抑制を示した。長期暴露により骨質ではフォンコッサ陽性反応が低下すると共に骨前質が拡大し石灰化の低下を示した。カルシトニン陽性傍濾胞細胞は、長期の NaF 投与により増加した。以上の所見より、フッ素は、石灰化度の低い骨形成に加えて破骨細胞の活性を低下させ正常な骨リモデリングを阻害し脆弱な骨形成を導くと考えられる。この有害作用に対し内分泌系の細胞の関与を具体的に明らかにするには、さらに詳細な研究が必要である。

Influence of NaF on bone remodeling

○Saburo MAYSUO, Tomoe KUWAHARA, Kenichi KIYOMIYA, Hiroshi NAKAGAWA, Osaka Prefecture University, Graduate School of Agriculture and Biological Sciences, Laboratory of Toxicology

P-016 妊娠哺乳期の骨代謝に及ぼす低濃度カドミウム摂取の影響

○太田久吉

北里大学医療衛生学部産業保健学

「目的」ヒトの日常カドミウム (Cd) 摂取レベルを含む低濃度 Cd 摂取の骨代謝に及ぼす影響を妊娠出産哺乳による骨代謝との関わりについて検討した。「実験方法」Wistar 系雌ラット (6 週齢, 1 群 5~6 匹) に、Cd (CdCl₂) を 1, 2, 5 mgCd/kg/day、週 6 日、継続投与しながら雄ラットと交配させ妊娠出産と哺乳 (4 週間) の負荷をかけ、Cd 投与開始後 10 週目で屠殺した。骨代謝指標である尿中ピリジノリン (Pyr)、デオキシピリジノリン (DPyr)、血中オステオカルシン (BGP)、ビタミン D 活性、カルシウム、リン等を測定した。骨密度は大腿骨について MD 法で大腿骨中央部の平均骨密度を、骨強度は 3 点曲げ法で、頰骨は吉木法による染色後画像解析により頰骨割合、骨中 Cd 濃度を測定した。「結果と考察」大腿骨の Cd 蓄積は妊娠出産哺乳負荷の有無で差はなく、Cd 摂取量に応じ上昇した。骨密度と骨強度は妊娠出産負荷では有意な低下は認められなかったが、哺乳負荷と Cd 曝露量の増加に応じ低下した。5mg/kg 群でビタミン D 活性が低下した。骨端部頰骨割合も妊娠出産哺乳負荷で増加傾向を示した。骨密度、骨強度の低下や頰骨割合の増加に対し、尿中カルシウム、Pyr と Dpyr、血中 BGP レベルの顕著な変化は認められなかった。妊娠出産哺乳負荷の骨代謝に及ぼす影響は、比較的低濃度の Cd 曝露でより顕著な影響を受けることが考えられた。

Effects of low-level cadmium intake with lactation to bone metabolism in mother rats.

○Hisayoshi OHTA, Department of Environmental, Occupational Health and Toxicology, School of Allied Health Sciences, Kitasato University

P-017

量子化学計算を用いた重金属化学種のシステインとの相互作用に関する研究

応

○森 聖治, 岸 高義, 遠藤崇浩

茨城大学理学部地球生命環境科学科

重金属イオンは、体液中の含硫黄アミノ酸やタンパク質に結合する、あるいは同族金属酵素作用の阻害・活性化によってホメオスタシスを破壊することで毒性が発現すると考えられている。本研究は、公害問題で注目された水銀を中心に、重金属とシステインとの相互作用を解明しようとするものである。その方法として本研究では密度汎関数法を用いた。これは、大部分の電子を量子力学的に取り扱おうとする方法の一つである。Hg²⁺を Cys の硫黄原子に配位させた場合の全配座異性体、窒素原子に配位させた場合の全配座異性体を検討し、この結果をもとに Cys-Cd²⁺, Cys-Zn²⁺, Cys-Cu⁺の立体配座を検討した。システインは生体内および pH7 の水溶液中では[Cys-Hg-Cys]²⁺の状態が存在することが明らかになっている。このモデルとして Cys-Hg-SMe⁺および CH₃Hg(Cys)⁺の立体配座も理論的に検討し、Cys-Hg²⁺および報告されている X 線構造解析の結果と比較した。システインとの結合エネルギーは、Zn(II) は 1073kJ/mol, Hg(II) が 1038kJ/mol, Cd(II) が 880.8kJ/mol であることがわかった。これまでの計算は、全て気相中の反応を仮定した。現在、SCRF 法(Onsager モデル)を導入し水溶液の極性効果を検討中である。

Quantum chemical studies on interaction of heavy metal species with cysteine

○Seiji MORI, Takayoshi KISHI, Takahiro ENDOU, Department of Environmental Sciences, Ibaraki University

P-018

Croton oil 暴露時の *in vivo* と *in vitro* の刺激性差に関する遺伝子発現の検討
—*in vivo* (ラット皮膚) と *in vitro* (TESTSKIN) の比較—

応

○川端留美, 岡田浩史, 吉村宏美, 田中剛太郎

大鵬薬品工業(株)製薬センター安全性研究所

【目的】三次元培養ヒト皮膚モデル(TESTSKIN™, 東洋紡績)は、*in vivo* 試験(Draize 法)と良好な一致性を示すことから有用な *in vitro* 皮膚刺激性試験法の一つとされている。しかし TESTSKIN は代表的な皮膚刺激性物質である Croton oil に対し偽陰性を呈することも明らかとなっている。我々は、これら刺激性の差を検討するために、GeneChip(Affymetrix 社)を用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。なお、*in vivo* のサンプルはウサギの代替にラットを用いた。【方法】Croton oil の刺激性を、TESTSKIN では 4, 16 時間暴露後の細胞生存率(MTT 法)にて、ラットでは Draize 法にて評価した。網羅的遺伝子発現解析では、Croton oil 暴露後 1hr の TESTSKIN およびラットの皮膚組織片を Human Genome Focus chip 及び Rat Toxicology U34 chip を用いて解析した。【結果および考察】Croton oil の刺激性評価では、ラット皮膚で中等度の刺激性(Score 4.75)が認められたのに対し、TESTSKIN では刺激性は認められなかった(細胞生存率 93.3, 98.9%)。網羅的遺伝子発現解析では、ラット皮膚で炎症、細胞死関連等の遺伝子発現が認められたのに対し、TESTSKIN ではこれら遺伝子発現は極めて弱いか、あるいは、認められなかった。特に細胞死関連の遺伝子発現が殆ど認められなかったことは、Croton oil 暴露時の TESTSKIN にみられた高い細胞生存率を裏付ける結果であった。また、炎症関連遺伝子発現の違いから、*in vitro* においては皮膚以外での炎症反応が誘発されないことが刺激性に差が生じる一要因と考えられた。

Gene expression analysis of rat skin and TESTSKIN™ following Croton oil exposure - Comparison rat skin (*in vivo*) with TESTSKIN (*in vitro*) -

○Rumi KAWABATA, Hiroshi OKADA, Hiromi YOSHIMURA, Gotaro TANAKA, Drug Safety Research Lab., Taibo Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima, Japan

P-019 ミニブタを用いた各種外用剤の皮膚刺激性試験—ウサギ、モルモットとの比較—

○山田恭史¹、岩崎 栄²、田中勝幸¹、浅野育子¹、久木浩平¹

¹(株)日本バイオリサーチセンター羽島研究所、

²(株)日本バイオリサーチセンター修善寺試験室

【目的】皮膚刺激性試験は、通常ウサギやモルモットを用いて行われている。ウサギやモルモットの皮膚は他の動物種に比して敏感であり、敏感すぎるがゆえにヒトで発現しない物質でも刺激性を有していると判断されることが多々ある。そこで皮膚構造がヒトに似ているといわれているミニブタを用いて皮膚刺激性の強度をウサギおよびモルモットと比較検討した。

【方法】動物種としてウサギ、モルモット、ミニブタを用い、市販製剤(パップ剤2種、テープ剤2種、計4種)を、Federal Registerに従い貼付閉塞した。24、48、72時間後に Driaze et al.の基準に従って評価した。【成績】ウサギでは、パップ剤1種、テープ剤1種に軽度の皮膚反応がみられ、他の市販製剤では中等度の皮膚反応がみられた。モルモットでは、ウサギで軽度の皮膚反応がみられた市販製剤でごく軽度の皮膚反応が、中等度の皮膚反応がみられた市販製剤で軽度の皮膚反応がみられた。しかし、ミニブタでは市販製剤4種とも皮膚反応はみられなかった。以上の結果、刺激性の強度はウサギ、モルモット、ミニブタの順になり、ウサギで中等度の皮膚反応がみられたテープ剤はミニブタでは全く皮膚反応がみられなかった。これらのことから、ミニブタを皮膚刺激性試験に用いることにより薬物そのものの刺激性およびパップ剤・テープ剤の持つ物理的な刺激性は認められず、今までに非臨床試験で皮膚刺激性ありという理由で開発できなかった物質および製剤でも再評価できると考えられた。

Skin Irritation Study of Various Kinds of Medicinal Products for External Application in Miniature Pigs.-Comparison with Results in Rabbits and Guinea pigs-

○Yasushi YAMADA¹, Sakae IWASAKI², Katsuyuki TANAKA¹, Ikuko ASANO¹, Koubei KYUUKI¹, ¹Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc., Gifu, Japan, ²Syuzenji Laboratory, Nihon Bioresearch Inc., Gifu, Japan

P-020 ラットにおける固形物および液状物の胃排出に及ぼす各種薬物の影響

○玉川 恵、長谷川和美、山本由穂

三菱化学安全科学研究所鹿島研究所

【目的】ラットを用いた胃排出能で、固形物を用いた方法と液状物を用いた方法により、検出率の比較を、数種の薬物を用いて検討した。【方法】Crj:CD 1GS、雄性ラットを17~20時間絶食して用いた。固形物を用いた方法では、直径0.85mmのイオン交換樹脂を注射用水0.5 mLとともに40個投与し、30分後に胃内に残存したペレット数を数えた。液状物を用いた方法では、5%アラビアゴム液に溶解した0.05%フェノールレッド溶液を経口投与し、30分後に胃内に残留したフェノールレッド量を分光光度計を用いて測定した。【結果】Doxorubicin (10 mg/kg) は静脈内投与で、固形物の排出能を48.1%抑制したが、液状物では1.4%しか排出を抑制しなかった。硫酸銅 (30 mg/kg) の経口投与では固形物、液状物ともに約50%排出を抑制した。Atropine (0.3 mg/kg) の腹腔内投与では、固形物で70.6%、液状物で52.4%の排出抑制がみられた。【まとめ】ラット用いた胃排出能では、doxorubicinのような薬物で、液状物を用いた方法よりも、固形物を用いた方法のほうが検出率が高いことが示唆された。

The Effects of Various Drugs on Gastric Emptying of Solid and Liquid Substances in Rats

○Megumi TAMAGAWA, Kazumi HASEGAWA, Yoshinori YAMAMOTO, Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan

P-021

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自動運動性の変化

○堀 正敏, 尾崎 博, 木下一哉, 唐木英明

東京大学大学院農学生命科学研究科

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、自動運動を観察した。また、常法により各種組織学的検討を行った。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。この時、腸管のペースメーカーと考えられているカハール介在細胞の障害が観察され、また同時に筋層内常在型マクロファージの数の増加と活性化が観察された。考察: TNBS 処置したラット結腸では自動運動が抑制されており、その抑制にはマクロファージを介したカハール介在細胞の障害の関与が想定された。

Changes in smooth muscle contraction in colitis model of rat induced by trinitrobenzenesulfonic acid

○Masatoshi HORI, Hiroshi OZAKI, Kazuya KINOSHITA, Hideaki KARAKI, Department of Veterinary Pharmacology, The University of Tokyo

P-022

A testing battery for assessment of potential adverse effects on the gastro-intestinal system

○メイソン スティーブ, アダモウ アナ, ペントン ヘレン, バンクス クリス

Toxicology Division, CTBR Bio-Research Inc.

The ICH S7A guidelines for Safety Pharmacology studies require effects of new drugs on the gastrointestinal (GI) system be assessed where the core battery or repeat-dose toxicity studies do not address potential adverse effects on this specific organ system. A GLP-compliant battery of studies to assess this was validated at CTBR Bio-Research Inc. and included GI injury potential, gastric and small intestine transit time and gastric secretion measurement. Reference compounds with documented effects were selected to demonstrate effectiveness of the assays and 6 or 7 week old male Sprague-Dawley rats used as the test system. Dose levels were based on those in published literature and on experience with similar studies. GI damage, measured by gastric and intestinal ulceration, reflected a dose-related increase following single and repeat-dose administration of indomethacin. Gastric motility, measured by colorimetric changes in phenol red concentration, increased for animals administered atropine and decreased for those administered metoclopramide. Charcoal propulsion in the small intestine decreased for animals administered atropine and apomorphine and increased for those dosed with metoclopramide. Gastric secretion measurements following omeprazole or ranitidine administration reflected an increase in pH and decrease in free and total acid concentration. All responses were characteristic of those anticipated following administration of the reference compounds and all studies therefore were considered validated in the rat at CTBR Bio-Research Inc.

A TESTING BATTERY FOR ASSESSMENT OF POTENTIAL ADVERSE EFFECTS ON THE GASTRO-INTESTINAL SYSTEM

○Steve MASON, Anna ADAMO, Helen PENTON, Chris BANKS, Toxicology Division, CTBR Bio-Research Inc., Senneville (Montreal), Quebec, Canada

P-023

炎症性サイトカイン IL-1 β に対する生体防御としての肝ギャップ結合の発現調節

○山本敏誠¹, 小島 隆², 澤田典均²

¹三菱ウェルファーマ(株)安全性研究所, ²札幌医科大学医学部病理学第二講座

【目的】慢性肝炎や肝障害など、炎症刺激を受けた肝細胞ではギャップ結合 (GJ) の発現及び機能が低下することが知られているが、詳細なメカニズムについては不明である。そこで、炎症時に生産されるサイトカイン (TNF- α 、IL-6 及び IL-1 β) の肝細胞の GJ への影響を検索した。【方法】7-10 週齢の SD 系雄ラットより、collagenase 還流法を用いて肝細胞を採取し、サイトカインを処置して GJ への影響を解析した。また、様々な阻害剤を用いて、GJ の発現調節に関わるシグナル伝達経路及び転写因子の関与を検討した。【結果及び考察】IL-1 β のみが、初代培養ラット肝細胞の GJ 蛋白である Cx32 の発現及びその機能を低下させた。また MAP kinase 阻害剤、PI3 kinase 阻害剤及び NF- κ B 阻害剤前処置により、IL-1 β 処置による Cx32 の mRNA レベルからの発現低下及び細胞間 communication 能の低下を明らかに抑制した。これらの結果は、IL-1 β が MAP kinase 経路或いは PI3 kinase 経路を介して転写因子である NF- κ B により、mRNA レベルから Cx32 の発現を調節していることを示唆している。以上のことから、肝炎や肝障害など炎症刺激を受けた肝臓では、IL-1 β の様々なシグナル伝達経路及び転写因子を介して、肝細胞の GJ を複合的に調節し、生体防御を行っている可能性が高いと推察される。

Expression and regulation of hepatic gap junctions by IL-1 beta

○Toshinobu YAMAMOTO¹, Takashi KOJIMA², Masanori SAWADA², ¹Mitsubishi Pharma Corporation, Toxicology Laboratory, Chiba, Japan, ²Department of Pathology, Sapporo Medical University School of Medicine

P-024

コカインによる肝臓毒性における炎症性サイトカインの役割

応

○杉内仁子¹, 剣持幸代¹, 芦野 隆¹, 塩田清二², 宝来玲子², 浅野雅秀³, 岩倉洋一郎³, 沼澤 聡³, 吉田武美¹

¹昭和大学薬学部毒物学, ²昭和大学医学部第一解剖, ³東京大学医科学研究所

【目的】コカインによる肝臓障害は、代謝過程で産生される活性酸素種 (ROS) や炎症性サイトカインの関与が示唆されているがその詳細は明らかではない。そこでコカイン投与による肝臓障害と炎症性サイトカインの役割解明を目的として、IL-1 α/β 、IL-6、TNF α の各遺伝子欠損 (KO) マウスにおけるコカインの毒性発現を検討した。同時に ROS に対し防衛的役割を示すヘムオキシゲナーゼ (HO)-1 やメタロチオネイン (MT) の変動についても検討を行った。【方法】Balb/c 系雄性 wild type および各サイトカイン KO マウスの腹腔内にコカインを 50 mg/kg で単回投与または 25 mg/kg で 5 日間連続投与し、血清トランスアミナーゼ (ALT, AST) 活性および肝臓 HO-1 と MT 発現誘導を検討した。【結果・考察】コカイン単回投与 4 時間後に wild type および IL-1KO マウスの肝臓で HO-1 と MT mRNA とともに強い発現誘導が見られたが、IL-6KO と TNF α KO マウスにおいては逆に wild type と比較し著しく抑制された。5 日間連続投与での、血清 ALT, AST 活性は他のサイトカイン KO マウスに比べ TNF α KO マウスで著明に増加した。また、このときの HO-1 mRNA は IL-6KO マウスでのみ誘導が認められず、一方 MT mRNA は IL-1KO で誘導が抑制された。以上の結果より、肝臓毒性と個々の炎症性サイトカインによる関連は明確ではなく更なる検討が必要と考えられる。

A role of inflammatory cytokine in liver injury caused by cocaine

○Jinko SUGIUCHI¹, Sachiyo KENMOTSU¹, Takashi ASHINO¹, Seiji SHIODA², Reiko HORAI², Masahide ASANO³, Yoichiro IWAKURA³, Satoshi NUMAZAWA¹, Takemi YOSHIDA¹, ¹Department of Biochemical Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan, ²Department of Anatomy, School of Medicine, Tokyo, Japan, ³Institute Medical Science, Tokyo University, Tokyo, Japan

P-025

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の臓器分布を決めるトランスポーターの役割

○平野 雅¹, 前田和哉², 設楽悦久³, 杉山雄一²¹興和(株)東京創薬第二研究所, ²東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室,
³昭和大学薬学部

HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) は非常に安全性の高い薬剤であるが、まれに重篤な副作用である横紋筋融解症を引き起こすことが知られている。副作用発現はゲムフィブロジルとセリバスタチンの例に代表されるように薬物間相互作用により発生頻度が上昇することが知られている。また副作用は用量依存的に発現すると考えられており、血中濃度を決める要因としてトランスポーターの関与が挙げられる。一方ヒト肝に高発現する有機アニオントランスポーターOrganic Anion Transporting Polypeptide (OATP) 2により一部のスタチン類が輸送されることがすでに報告されているものの、他に肝で発現が認められる OATP8 や OATP-B を介した取り込みとの相対的な寄与は明らかではない。そこで今回、OATP2 及び OATP8 遺伝子発現細胞を用いて、特に新規スタチンであるピタバスタチンを中心に、スタチン自身の輸送特性及び代表的な基質の輸送に対するスタチンの阻害活性を評価した。その結果、ピタバスタチンは、OATP2 のみならず OATP8 によっても輸送が観察され、その K_m 値はそれぞれ 3.0 ± 0.4 , $3.3 \pm 0.4 \mu\text{M}$ と共に高親和性を示した。現在、OATP-B 遺伝子発現細胞ならびにヒト肝細胞を用いた輸送・阻害実験も併せて行っており、肝取り込み過程において各トランスポーターの定量的な寄与率の評価を最終目標に検討をすすめている。

Hepatic transport mechanism of HMG-CoA reductase inhibitors in humans

○Masaru HIRANO¹, Kazuya MAEDA², Yoshihisa SHITARA¹, Yuichi SUGIYAMA², ¹Tokyo New Drug Research Laboratory II, Kowa Company, LTD., ²Department of Molecular Pharmacokinetics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo, ³Faculty of Pharmaceutical Sciences, Showa University

P-026

プロモベンゼン誘発肝障害に対する耐性獲得における薬物排泄トランスポーターの関与

○田中宏治, 清沢直樹, 本多久美, 佐久間恭子, 真鍋 淳

三共(株)安全性研究所

【緒言】我々は、プロモベンゼン (BB) の単回投与により惹起された肝初期障害が同用量の投与を反復するうちに修復され、障害が検出されなくなる事象を耐性が獲得されたと考えた。この現象には肝薬物代謝酵素 (DME) の変化が関与していることを報告した。本実験では DME の遺伝子発現を検索するため、網羅的遺伝子発現解析を行った。【方法】耐性を獲得することが確認された投与条件 (第 17 回日本毒性病理学会) に従い、BB (225 mg/kg, 対照群には溶媒のみ) を F344 ラットに単回腹腔内投与した。投与 24 時間後に尾静脈採血により AST を測定し、肝障害の発現を確認した後、これらの動物に同投与量の BB をさらに 8 日間反復投与した。投与終了後に肝臓を採取し GeneChip 解析を行った。【結果】CYP3A および 2E (第 I 相反応) の発現量減少、および GST, UGT などの抱合系酵素 (第 II 相反応) の著明な増加がみられた。さらに multidrug resistance protein 2 (MRP2/cMOAT) および MRP3 の増加、および P-glycoprotein (P-gp), sister P-gp の減少などの薬物排泄トランスポーター (第 III 相反応) に変化がみられた。【結論】MRP2 および MRP3 の増加はそれぞれ BB の抱合体の胆汁中および血液中への排泄亢進を示唆する。したがって、BB 誘発肝障害に対する耐性には、第 I 相反応の低下、第 II 相反応の亢進に加え、第 III 相反応である薬物排泄トランスポーターの変化が関与していることが明らかになった。これらの中で耐性の獲得に最も寄与しているのは、遺伝子発現量の変化の程度から第 II 相反応の亢進と考えられた。

Involvement of Drug Transporters with Acquired Resistance to Bromobenzene-induced Hepatotoxicity

○Kohji TANAKA, Naoki KIYOSAWA, Kumi HONDA, Kyoko SAKUMA, Sunao MANABE, Medicinal Safety Research Laboratories, Shizuoka, Japan

P-027 胆汁酸誘発肝障害と核内受容体 FXR

○宮田昌明¹, 戸澤重紀¹, 中村俊文¹, 大塚 聖¹, 北田泰崇¹,
ゴンザレスフランク², 山添 康¹

¹東北大学大学院薬学研究科薬物動態学分野, ²米国国立衛生研究所国立ガン研究所

【目的】胆汁酸をリガンドとする核内受容体 FXR は生体内の胆汁酸レベルの調節に重要な役割を果たしていることが知られている。そこで FXR 欠損マウスとその野生型マウスに一次胆汁酸のコール酸 (CA)あるいは二次胆汁酸のリトコール酸 (LCA)を摂取させた時の肝内胆汁酸成分の組成と肝障害の間の関係を解析し胆汁酸誘発肝障害の防御における FXR の役割を解析した。【方法】マウスに CA 0.25%あるいは LCA 1%を含有した食餌を 5 日間与えた後、肝臓、血清、胆汁を単離した。肝障害の指標として血清中の GOT, ALP 活性を測定した。肝臓、胆汁、血清中の総胆汁酸量および HPLC を用いた解析により胆汁酸成分の組成を解析した。【結果】CA 摂取により雌雄マウス共に欠損型で野生型に比べて高い GOT, ALP 活性が認められた。一方 LCA 摂取においては雌性野生型マウスにおいて欠損型マウスより高い GOT, ALP 活性が認められた。CA 摂取では肝障害の程度と肝内 tauroCA 量の高い相関性が認められたが、デオキシコール酸量とは相関しなかった。一方 LCA 摂取では肝障害と肝内 tauroLCA 量の高い相関性が認められた。【考察】CA 摂取, LCA 摂取による肝障害の誘発には各々肝内 tauroCA, tauroLCA の蓄積が関与することが示唆された。さらに CA 誘発肝障害の防御機構として FXR の活性化の重要性が示唆されたが、LCA 誘発肝障害においては異なる機構の存在が示唆された。胆汁酸代謝酵素や輸送担体の発現量と肝障害の関係についても考察する。

Bile acid-induced liver toxicity and nuclear receptor FXR

○Masaaki MIYATA¹, Aki TOZAWA¹, Toshifumi NAKAMURA¹, Hijiri OTSUKA¹, Hirotaka KITADA¹, Frank GONZALEZ², Yasushi YAMAZOE¹, ¹Division of Drug Metabolism and Molecular Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Sendai, Japan, ²National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda USA

P-028 PCB126 暴露ラット肝臓由来の異常 EPR シグナルを有するチトクロム P450 に対する乳酸菌投与の効果

○森田英利, 吉川 宏, 滝沢達也, 白井明志, 政岡俊夫, 赤堀文昭

麻布大学獣医学部

【目的】我々は、3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126) を経口投与したラット肝臓の電子常磁性共鳴吸収 (EPR) 解析において、P450 が変性し異常なシグナルを持つチトクロム P450 (2.49 種) の形成を明らかにし、この 2.49 種が PCB126 暴露の生体指標になることを示した。本研究では、乳酸菌投与が及ぼす PCB126 投与ラットの 2.49 種由来シグナル改善への効果について検討した。【方法】PCB126 を体重あたり 100µg/kg 単回投与した 5 週齢の雄の Sprague Dawley ラットに乳酸菌を経口投与し、60 日後に肝臓の EPR シグナルを測定した。乳酸菌は *Lactobacillus reuteri* CP3012 株などを菌数と酸度をそろえた発酵乳もしくは菌体懸濁液を 1 週間に 5 日間、経口投与した。【結果と考察】PCB126 を投与した 24 時間後のラット肝臓から 2.49 種の異常シグナルが検出され、60 日後でもその異常シグナルは減少することはなかった。供試した *L. reuteri* CP3012 株を摂取させたラットでは、g 値 2.49 シグナル が有意に低下していた。乳酸菌には PCB126 などの内分泌攪乱物質によって変性を受けた P450 を回復させる効果があり、PCB126 の代謝排泄を促進している可能性が示唆された。

Effect of lactic acid bacteria on a cytochrome P450 showed abnormal EPR signal in rat liver exposed to PCB126

○Hidetoshi MORITA, Hiroshi YOSHIKAWA, Tatsuya TAKIZAWA, Mitsuyuki SHIRAI, Toshio MASAOKA, Fumiaki AKAHORI, Azabu University, School of Veterinary Medicine, Kanagawa, Japan

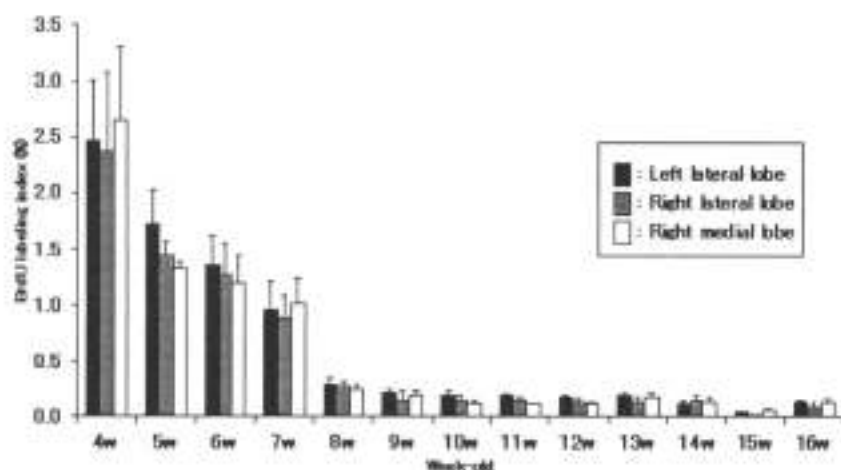
P-029

Han Wistar (GALAS) 雄ラットの肝細胞増殖に対する週齢の影響

○古川 賢¹, 小川いづみ¹, 白田浩二¹, 御領政信², 岡田幸助²¹日産化学工業(株)生物科学研究所安全性研究部安全性評価グループ,
²岩手大学農学部獣医学科家畜病理学教室

【結言】肝細胞増殖活性は種々の毒性試験において肝毒性を評価する上で重要な指標である。本研究では日本クレアより標準化され、1999年より供給が開始された Wistar Hannover GALAS 雄ラットについて、4 から 16 週齢における外側左葉、外側右葉及び内側右葉の肝細胞増殖活性について経時に検索した。【材料及び方法】BrdU-WIST@Jcl (GALAS) 雄ラット 65 匹を用い、毎週 5 匹ずつ剖検し、肝臓重量を測定し、ホルマリン固定後、上記 3 箇所について HE 染色及び抗 BrdU 免疫染色を施し、画像解析装置にて陽性細胞核をカウントした。【結果】陽性細胞は主として小葉周辺部から中間部に認められた。細胞増殖活性は 4~7 週齢において明らかな増加が認められ、肝重量増加と密接に関連していた。8~16 週齢においては概ね一定した低値を示した。一方、検索した 3 葉において葉間による細胞増殖活性の差はいずれの週齢においても認められなかった。

Effect of Juvenile Aging on Hepatocellular Proliferation in Male Han Wistar (GALAS) Rats

○Satoshi FURUKAWA¹, Idumi OGAWA¹, Koji USUDA¹, Masanobu GORYO², Kosuke OKADA², ¹Biological Research Laboratories, Nissan Chemical Industries, LTD, Saitama, Japan, ²Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka, Japan

P-030

ペルフルオロオクタン酸の尿中排泄における性差の機構解析

○片倉賢紀, 工藤なをみ, 川嶋洋一

城西大学薬学部

【目的】フッ素系界面活性剤として利用されてきたペルフルオロオクタン酸 (PFOA) は、ヒトにおける蓄積性が懸念されている。PFOA はラットでは主として尿中から排泄されるが尿中への排泄には顕著な性差がある。しかし、PFOA の尿中排泄機構はまだほとんど解明されていない。本研究では、PFOA の尿中排泄において性差の生じるメカニズムを解明する事を目的とした。【方法】Wistar 系雌雄ラットの卵巣および精巣を切除した。精巣切除ラットの一部にはテストステロン (T) を皮下投与した。ラットの大腿静脈および、膀胱にカニューレを挿入し、PFOA を単回静注後、300 分間経時的に採尿および採血を行い、腎クリアランス (CL_r) を算出した。また、腎臓から mRNA を抽出し、RT-PCR 法で種々の有機酸輸送体の mRNA を定量した。さらに、OAT3 については腎臓の粗膜画分における発現量を western blot 法により定量した。【結果と考察】PFOA CL_r は雄ラットを去勢すると著しく上昇した。去勢雄ラットおよび雌ラットの CL_r は T 投与により低下した。一方去勢した雌ラット CL_r は大きく上昇した。PFOA の CL_r は雌雄とも probenecid により顕著に低下した。有機酸輸送体のうち OAT2, 3, oatp1 および OAT-K は性ホルモンにより変動した。PFOA の CL_r と有機酸輸送体 mRNA の変動の相関性を多重比較したところ、PFOA の腎臓からの排泄には OAT2 および OAT3 が関与していることが示唆された。

Sex hormone-regulated renal transport of perfluorooctanoic acid

○Masanori KATAKURA, Naomi KUDO, Yoichi KAWASHIMA, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, Saitama, Japan

P-031

磁気共鳴画像法による腎臓内酸素分圧変化の非侵襲的評価

○森下克美¹, 福永満里², 古賀けい子², 石川 誠²

¹大塚製薬(株)徳島研究所安全性研究センター毒性研究部,
²大塚製薬(株)徳島研究所エネルギー代謝研究室

【結言】腎臓皮質部は皮質部に比べて血流量が少ないため、虚血に対する感受性が高いと考えられており、急性腎不全や腎乳頭壊死の一因として虚血性障害が示唆されている。従来、腎内酸素分圧は微小酸素電極を腎臓に埋め込むといった侵襲的方法でしか測定できなかったが、BOLD MRI 法により、ヒトや動物の腎臓皮質内の酸素分圧変化を非侵襲的に測定できるようになった。今回我々は種々の薬剤投与時のラット腎内酸素分圧変化を BOLD MRI を用いて測定した。【方法】MRI 測定は varian 社製 INOVA 300 Imaging System を用いた。チオプタバルビタール麻酔下でラットに生理食塩水、フロセミド及びインドメタシンを単回静脈内投与後、グラジエントエコー法を用いて腎臓の T2*強調画像の信号強度変化を経時的に記録し、同一画像中の腎皮質部、髓質部及び背部骨格筋の信号強度変化を比較検討した。【結果】フロセミドでは髓質部信号の増加が観察され、これは原尿の再吸収抑制による酸素消費低下を反映した変化と考えられた。一方、インドメタシンでは髓質部信号の低下が観察され、血管収縮性プロスタグランジン類の産生抑制による血流減少を反映した変化と推察された。腎皮質部及び骨格筋では、いずれの薬剤についても信号強度変化はみられなかった。【結語】フロセミド及びインドメタシン投与後に観察された腎臓皮質部信号強度変化はいずれも、示唆されている各薬剤の作用メカニズムと一致しており、本方法は腎臓内部の虚血状態の評価に有用であると考えられた。

Noninvasive Evaluation of Intrarenal Oxygenation with BOLD MRI

○Katsumi MORISHITA¹, Mari FUKUNAGA², Keiko KOGA², Makoto ISHIKAWA², ¹Toxicology Department, Drug Safety Research Center, Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., ²Room of Energy Metabolism, Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.

P-032

安全性試験における尿中 NAG 指数の有用性について

○渡海 寛, 藤岡真弓, 永瀬文未江, 篠田保彦, 梶原 力, 田村英之,
石橋成太良

日本新薬(株)安全性研究部

【目的】*N*-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) はリソゾーム中の加水分解酵素のひとつで、腎臓と前立腺に多く存在する。腎臓では特に近位尿細管上皮細胞に多く含まれており、尿中 NAG は主に尿細管からの逸脱によると考えられている。また、NAG は尿細管や糸球体の障害で尿中に出現し、特に尿細管障害では早期から顕著に上昇する優れた指標とされており、ヒト臨床検査では NAG 測定法の簡便性およびその有用性は広く認知されている。今回、尿細管障害を早期に検出することを目的として、安全性試験における尿中 NAG 指数の有用性について検討した。【材料および方法】反復投与により尿細管障害を主とする腎毒性の認められた化合物を用いて、Slc5D 系ラットに単回および 4 週間反復経口投与、Beagle 犬に単回経口投与を実施した。各検討では蓄尿を実施し、尿検査の一項目として尿中 NAG 指数 (IU/g Creatinine) を求めた。【結果】ラットにおいて、尿中 NAG がアルカリ尿 (pH8.5 以上) で失活することが明らかとなったことから、データ採用基準を尿 pH8.0 以下と設定した。ラットおよびイヌを用いた各検討において、腎臓で病理組織学的変化の認められない投与用量から尿中 NAG 指数は増加した。また、ラット単回投与により増加した尿中 NAG 指数は 1 週間の休薬により対照群と同程度まで減少した。【まとめ】適切な尿 pH 条件下での蓄尿により、尿細管障害に代表される腎毒性の早期検出および休薬による回復性の指標として、尿中 NAG 指数は実験動物においてもヒトと同様に有用であると考えられた。

The usefulness of the urine NAG index in toxicity study

○Hiroshi TOKAI, Mayumi FUJIOKA, Fumie NAGASE, Yasuhiko SHINODA, Tsutomu KAJIHARA, Hideyuki TAMURA, Seitarou ISHIBASHI, Toxicology Department, Nippon Shinyaku Co., Ltd., Kyoto, Japan

P-033

FK506 慢性腎毒性ラットモデルでの腎線維化における NF- κ B 活性化の意義

○三浦克之¹, 玉田 聡², 浅井利大², 田代孝一郎², 桑原伸介², 古宮俊幸¹, 岩尾 洋², 仲谷達也²

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泌尿器病態学, ³大阪市立大学大学院医学研究科分子病態薬理学, ⁴大阪市立大学大学院医学研究科腎臓病態内科学

【目的】NF- κ B の活性化は各種炎症性疾患に重要な役割を担っている。今回の実験では免疫抑制薬 Tacrolimus (FK506) による慢性腎毒性における NF- κ B の関与を検討した。

【方法】実験的 cyclosporine A や FK506 による慢性腎障害は減塩食下で促進することが知られている。そこで雄性 SD ラットを低 Na 食にて飼育し、FK506 を 1mg/kg/day の割合で 42 日連日皮下投与し、慢性腎障害を惹起した。一方、NF- κ B の役割を検討する目的でその阻害薬である Pyrrolidine Dithiocarbamate (PDTC) を経口投与(100 および 200mg/kg/day)し、FK506 腎障害に対する効果を検討した。NF- κ B の DNA 結合活性は EMSA で評価した。マクロファージの浸潤は抗 ED-1 抗体を用いて免疫染色し、その陽性細胞数を単位面積あたりで評価した。

【成績】FK506 投与により p50, p65 の subunit より構成された NF- κ B の DNA 結合活性は 3 倍に増加した。腎間質においてマクロファージ浸潤が著明に増加し、腎間質の病状線維化が観察された。PDTC 投与により NF- κ B, マクロファージの浸潤は濃度依存性に抑制され、特に 200mg 投与群は vehicle 投与群レベルにまで抑制された。また、腎間質の線維化は PDTC 投与により有意に抑制された。

【結論】FK506 による慢性腎毒性発症には NF- κ B が関与している可能性が示唆された。

Role of nuclear factor kappaB in rat chronic FK506 nephrotoxicity

○Katsuyuki MIURA¹, Satoshi TAMADA², Toshihiro ASAI², Koichiro TASHIRO³, Nobuyuki KUWABARA², Toshiyuki KOMIYA⁴, Hiroshi IWAO³, Tatsuya NAKATANF², ¹Department of Applied Pharmacology and Therapeutics, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ²Department of Urology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ³Department of Pharmacology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ⁴Department of Nephrology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan

P-034

小豆種皮投与のシスプラチン誘発腎障害ラットに対する影響

○佐藤 伸¹, 豊 友花², 山手丈至², 斎藤 健⁴, 蔵崎正明³, 蛭峨井勝¹, 畑井朝子²

¹青森県立保健大学大学院健康科学研究科環境保健学領域, ²函館短期大学食物栄養学科, ³大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学研究室, ⁴北海道大学大学院医学研究科環境医学分野, ⁵北海道大学大学院地球環境科学研究科環境情報医学講座

【目的】抗癌剤であるシスプラチン (CDDP) は副作用として腎障害を惹起することが知られている。一方、小豆種皮は抗酸化作用をもつプロアントシアニジン (PA) を含んでいる。PA は植物性食品に含まれているが、腎障害に対する PA の効果についてはほとんど報告がない。そこで本研究では、CDDP 誘発腎障害ラットに小豆種皮を与え、形成される間質線維化及びマクロファージ (M Φ) の浸潤に及ぼす影響を検討した。【方法】F344/DuCrj 雌性ラット (7 週齢) に 3mg/kg の CDDP を投与 (ip, 週 1 回, 5 週間) した。小豆は赤小豆 (エリモショウズ) 及び白小豆 (シロショウズ) を使い、種皮粉末を飼料に添加した。CDDP 投与ラットは通常食群、0.5%あるいは 2.0%赤小豆種皮群、2.0%白小豆種皮群に分けた。対照群を生理食塩水+通常食とした。休業後 4 週に血漿、腎を採取した。血漿中 BUN 及び Cr を測定し、腎組織切片にはアザン染色 (線維化)、免疫染色 (ラット ED1 陽性 M Φ) を施した。【成績】BUN, Cr 値は CDDP+通常食群では対照群に比べて上昇したが、小豆種皮群では減少傾向がみられた。組織学的に CDDP 投与した動物すべてに線維化が観察されたが、小豆種皮群の線維化率及び M Φ 数は通常食群に比べて有意に減少し、また赤小豆種皮と白小豆種皮の比較では赤小豆種皮群に減少傾向が見られた。【結論】以上の結果から、小豆の種皮、特に PA を多く含む赤小豆種皮は CDDP 誘発腎障害時の M Φ 浸潤及び線維化程度を減少させる可能性が示唆された。

Effect of azuki bean seed coat on renal interstitial fibrosis of rats induced by cisplatin

○Shin SATO¹, Yuuka HORI², Jyoji YAMATE³, Takeshi SAITO⁴, Masaaki KURASAKI⁵, Masaru SAGAI¹, Asako HATAI², ¹Laboratory of Environmental Health, Graduate School of Health Sciences, Aomori University of Health and Welfare, Aomori, Japan, ²Department of Food and Nutrition, Hakodate Junior College, Hakodate, Japan, ³Laboratory of Veterinary Pathology, Graduate School of Agriculture and Biological Sciences, Osaka Prefecture University, Sakai, Japan, ⁴Laboratory of Environmental Biology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan, ⁵Department of Environmental Medicine and Informatics, Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan

P-035

血清胸腺因子 FTS はセファロリジンによる腎障害を軽減する



○幸田祐佳¹, 松永佳子¹, 余野木克哉¹, 栗屋 昭², 玄番宗一¹

¹大阪薬科大学薬理学, ²科技园

【目的】胸腺ペプチドホルモンである *facteur thymique serique* (FTS) は、加齢促進系マウスにおいて SOD 活性を上昇させるとの報告がある。今回、セファロリジン (CER) によるフリーラジカル性腎障害における FTS の影響について検討した。CER は腎において ERK 活性化を引き起こすが、これに対する FTS の影響についても調べた。【方法】SD 系雌性ラットに FTS を前処置後 CER を投与し、24 時間後に腎皮質から核分画を調製し、リン酸化 ERK 量をウエスタンブロット法にて検出した。腎障害の指標として血漿尿素窒素 (BUN) と血漿クレアチニン値を測定し、電子顕微鏡による近位尿管細胞の組織学的観察を行った。【結果】CER 投与 24 時間後において、BUN および血漿クレアチニン値が増大し、近位尿管細胞に異常が観察され、さらに腎皮質の核分画におけるリン酸化 ERK 量の増大がみられた。FTS を投与することにより、CER による腎機能障害、組織障害および腎皮質におけるリン酸化 ERK 量の増大が軽減された。【考察】以上の結果と、私たちによる MEK 阻害薬が CER 腎細胞障害を軽減するとの報告を考え併せると、CER 腎障害に対する FTS の軽減効果の少なくとも一部には、CER による ERK 活性化を FTS が抑制することに関与する可能性が考えられる。

Serum thymic factor (FTS) prevents cephaloridine-induced nephrotoxicity in rats

○Yuka KOHDA¹, Yoshiko MATSUNAGA¹, Katsuya YONOGI¹, Akira AWAYA², Munekazu GEMBA¹, ¹Division of Pharmacology, Osaka University of Pharmaceutical Sciences, Osaka, Japan, ²Science and Technology Corporation, Tachikawa, Tokyo, Japan

P-036

ラットを用いたアリストロキア酸の腎障害に関する検討



○武木田薫¹, 古宮俊幸², 玉田 聡³, 田代孝一郎⁴, 桑原伸介⁵, 藤居 互⁵

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腎臓病態内科学, ³大阪市立大学大学院医学研究科泌尿器病態学, ⁴大阪市立大学大学院医学研究科分子病態薬理学, ⁵サントリー(株)微生物科学センター

【目的】アリストロキア酸は瘦身薬として用いられていた漢方薬中から明らかとなった植物成分であり、ヒトでは炎症細胞の浸潤が少ない腎間質の線維化を引き起こすことが知られている。DeBelle らは減塩食を施したラットで比較的短期に腎間質の線維化を引き起こすことを報告した (J. Am. Soc. Nephrol., 13, 431-6, 2002)。そこで本研究ではこのモデルを用い、アリストロキア酸の腎障害の特徴づけを行った。

【方法】5 週齢の雄 Wistar ラットに furosemide 投与の後、減塩食で飼育し、その 1 週間後からアリストロキア酸 10mg/kg および蒸留水を 10 日間ならびに 35 日間皮下投与し、尿・血液・腎臓を採取した。

【結果・考察】アリストロキア酸投与により、10 日目から尿量の増加、尿浸透圧の減少と共に尿 LDH、 β_2 -マイクログロブリン排泄量の増加を認め、35 日目でその変化は増強した。一方、BUN の増加、クレアチニン・クリアランスの低下等は 35 日目で有意な変化を認めた。組織学的には尿管管腔の拡大、尿管管細胞の空胞変性、一部に壊死を認めたが、線維化を伴う間質病変はごく軽微であった。一方、他の腎線維化モデルで活性化が認められる炎症関連の転写因子である NF- κ B には有意な変動を認めなかった。本モデルにおいて尿管管障害は早期より認められたが、ヒトの症例で明らかな間質の線維化病変の再現には、さらに長期の投与が必要である可能性が示唆された。

Aristolochic acid induced nephrotoxicity in rats

○Kaori TAKEKIDA¹, Toshiyuki KOMIYA², Satoshi TAMADA³, Koichiro TASHIRO⁴, Nobuyuki KUWABARA⁵, Wataru FUJII⁵, ¹Department of Applied Pharmacology and Therapeutics, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ²Department of Nephrology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ³Department of Urology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ⁴Department of Pharmacology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan, ⁵Institute for Biological Safety Assessment, Suntory Limited, Osaka, Japan

P-037

薬物性血管炎の In Vitro 評価法の検討

○周 玉¹、白井真紀¹、山田 弘¹、堀井郁夫¹、鈴木宏治²¹ファイザー製薬(株)中央研究所、安全性研究統括部、探索毒性病理研究室、²三重大学医学部分子病態学講座

【背景・目的】近年、前臨床毒性試験や臨床試験において、種々の薬物が各種臓器の血管炎を惹起し、なかには臓器の血管炎を原因として、重篤な臓器不全を来す症例が報告されている。その発症部位の多くは、肝、心、腎、肺、胃、腸、皮膚等の細小血管であることが示唆されている。こうした背景の下、最近、医薬品開発の初期段階における血管炎誘発に対する評価法の確立の重要性が指摘されている。今回、我々は薬物性血管炎の発症機構及びその臓器毒性との関連性を解明するため、培養ヒト血管内皮細胞を用いた in vitro 評価法の開発に関する基礎的検討を行った。【方法】6 well plate に播種培養した 2 細胞目のヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) に、血管内皮活性化プロテアーゼの thrombin、感染性炎症誘発物質の LPS 及び対照とする血管炎陽性薬物を添加した。所定時間作用させた後、培地を回収し、HUVECs から分泌された血液凝固線溶系物質 vWF、t-PA/PAI-1、炎症関連性粘着蛋白 VCAM-1/ICAM-1 等を ELISA 法にて測定した。また、HUVEC 細胞膜に発現する PECAM-1 及び tissue factor の動態ならびに細胞の形態変化を観察した。【結果・考察】HUVECs への血管炎誘発物質の作用により、その用量・時間依存性に生体内血管炎と密接に関連する上記の細胞分泌性マーカー及び細胞膜機能分子の発現変動、細胞の形態変化が認められた。これらの結果は、薬物性血管炎に対する本評価法の有用性を示唆するものである。

Development of in vitro Assessment for Drugs-Induced Vasculitis by Using Cultured Vascular Endothelial Cell

○Yu ZHOU¹, Maki SHIRAI¹, Hiroshi YAMADA¹, Ikuro HORII¹, Koji SUZUKI¹, ¹Investigative Toxicology & Pathology, Drug Safety Evaluation, Global Research & Development, Pfizer Pharmaceuticals Inc. Taketoyo, Aichi, Japan, ²Department of Molecular Pathobiology, Mie University School of Medicine, Tsu-city, Mie, Japan

P-038

薬物の hERG 電流抑制作用の評価に与える細胞外灌流液温度の影響

○米沢恵子、雨海麻里子、森田義明、根岸保則、鶴岡裕治

(株)薬物安全性試験センター薬理研究所

安全性薬理試験における薬物の心電図 QT 間隔延長作用の評価系のひとつとして、human ether-a-go-go-related gene (hERG) を発現させた HEK293 細胞を用いたパッチクランプ法が、前臨床試験として、近年その重要性を増している。hERG チャネルを含むイオンチャネルは細胞膜を貫通する膜タンパク質で、そのカインेटクスは温度によって顕著に変化することが知られている。生体に投与される薬物のイオンチャネルに対する作用を検討する際には、生理条件に近い温度条件下で評価することが望ましいが、パッチクランプ法においては、実験温度が上昇するとホールセル状態の安定性が低下するなどの影響が生じ易く、室温条件下での報告例も多い。本研究では、既に心電図 QT 間隔延長作用が報告されている数種の薬物について、hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いたホールセルパッチクランプ法により、hERG 電流抑制作用の評価に与える細胞外灌流液の温度の影響について検討を行った。その結果、E-4031 は 30 nmol/L の濃度で細胞外処理を行った場合、室温条件下(25℃)ではほとんど抑制作用が認められないが、37℃においては 60%程度の hERG 電流を抑制することが明らかとなった。同様な傾向は astemizole 等の薬物でも認められ、薬物による hERG 電流抑制作用を評価する際には、実験温度に関する予備検討が必要であると思われる。

Influence of the temperature of extracellular solutions on the evaluation of drugs that suppress hERG potassium currents.

○Keiko YONEZAWA, Mariko AMAGAI, Yoshiaki MORITA, Yasunori NEGISHI, Yuji TSURUBUCHI, Pharmacological Research Laboratories, Drug Safety Testing Center Co.,Ltd., Saitama, Japan

P-039

摘出心筋におけるミトキサントロンの抗ムスカリン様作用

○天間結介¹, 中郡昭人², 打出 毅¹, 藤森祐紀¹, 木崎景一郎², 佐々木卓士¹, 原 幸男²

¹北里大学獣医畜産学部毒性学, ²順天堂大学医学部薬理学教室,

³北里大学獣医畜産学部獣医薬理学

【目的】アントラサイクリン系制癌剤であるドキシソルピシンは抗ムスカリン様作用を有する。今回は、構造的にドキシソルピシンに近いミトキサントロンの抗ムスカリン様作用の有無について検討した。【方法および結果】実験にはハートレイ系雄モルモットを使用した。摘出左心筋標本において(2 Hz 反復刺激下)、カルバコールは濃度依存的な陰性変力作用を発現した。その濃度反応曲線をミトキサントロンは右方に平行移動させた。また、ミトキサントロンによる平行移動作用はミトキサントロン非存在下でのインキュベーションにより回復可能であった。この収縮力記録実験における Schild プロット解析では勾配 0.88 の直線が得られ、 pA_2 値は 5.2 であった。部分精製心筋標本を用いた [³H]キヌクリジニルベンジレート (QNB) 結合実験において、ミトキサントロンは濃度依存的に特異的 [³H]QNB 結合を減少させた。IC₅₀ 値は 2.63 μM であり、pseudo Hill プロットから、K_i 値は 0.573 μM、勾配係数は 0.98 と算出された。単離心筋細胞を用いたパッチクランプ実験において、ミトキサントロンはカルバコール誘発カリウム電流 (I_{K(Co)}) を濃度依存的に抑制させ、その IC₅₀ 値は 6.7 μM と計算された。【結論】ミトキサントロンはムスカリン受容体に対する競合的拮抗薬として働いていると推察された。

Anti-muscarinic actions of mitoxantrone in isolated heart muscles

○Kiyosuke TEMMA¹, Akihito CHUGUN², Tsuyoshi UCHIDE³, Yuki FUJIMORI¹, Kei-ichiro KIZAKI¹, Takushi SASAKI¹, Yukio HARA², ¹Department of Toxicology, School of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Kitasato University, Aomori, Japan.

²Department of Pharmacology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan. ³Department of Veterinary Pharmacology, School of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Kitasato University, Towada, Japan

P-040

心筋障害を伴う EGFP-hGHTg マウスにおける心バイオマーカー H-FABP の評価

応

○奈良岡準¹, 伊藤今日子², 斎田美恵子², 鈴木道江², 田畑 肇², 内藤邦彦¹, 東條英昭¹

¹東京大学大学院農学生命科学研究科, ²山之内製薬(株)安全性研究所

【緒言】久保ら(2002)が報告した EGFP-hGHTg マウスは、心筋障害を起こすことから、成長ホルモン分泌異常における心疾患のモデルとして注目している。心筋障害のバイオマーカーは GOT/LDH, CK あるいは CK-MB が、動物では測定されることが多い。しかしながら、心筋特異性は低く、組織障害を予測するバイオマーカーとしては感度も低い。心毒性を評価する上で、心特異的かつ高感度なバイオマーカーの探索は重要である。今回、心障害バイオマーカーとして注目されている H-FABP について検討した。【材料および方法】EGFP-hGHTg マウスの血漿を 8, 12, 16, 36 週齢に採血し、GOT/LDH, CK および H-FABP について測定した。また各週齢の心臓を採取し、HE およびマッソントリクロム染色を行い、マーカーの推移と組織変化を比較した。【結果および考察】GOT/LDH, CK については 16 週から有意に増加し、組織障害の時期と一致した。しかしながら H-FABP は 12W から有意に増加しており、また組織変化よりも早い段階から増加していることから、微小な心筋障害を予測するマーカーとしてマウスなどの実験動物にも有用であることが示唆された。

Evaluation of H-FABP as cardiac biomarker in EGFP-hGH transgenic mice with myocardial failure

○Hitoshi NARAOKA¹, Kyoko ITO², Mieko SAIDA², Michie SUZUKI², Hajime TABATA², Kunihiko NAITO¹, Hideaki TOJO¹, ¹Graduate School of Agriculture and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan. ²Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.

P-041 ラットの組織中及び血中心臓ホルモンの変動と心毒性の解析

応

○大野理絵, 宮田裕人, 中村 勇, 岩城理進, 木村正明

大正製薬(株)医薬研究所安全性研究室

【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。我々は本学会において心臓ホルモン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、ラット心臓に心筋炎を誘発させる isoproterenol (ISO) を投与し組織中及び血中心臓ホルモンの変動と、それらによる心毒性の評価について検討した。

【方法】 生後 10 週齢のラット 88 匹を使用した。ISO 2mg/kg をラット静脈内に単回投与し、0.5、2、4、8、24、48 時間、7 日及び 14 日後、経時的に採血を行った。また、組織中濃度測定は同条件下ラットにおいて各々の採血時期に心臓を摘出し、心房と心室に分離した。組織中及び血中 ANP、BNP については RIA 法により測定した。

【結果及び考察】 心房中 ANP は ISO 投与後 24 時間まで若干増加し、48 時間及び 7 日に減少した後、14 日後再び増加傾向を示した。心房中 BNP は投与 7 日に、心室中 BNP は投与 2~4 時間に有意な増加がみられた。また、血中 ANP は投与 0.5~2 時間に増加後、8 時間以降で減少を示し、BNP は投与 4 時間をピークとして 0.5~48 時間で有意な増加を示した。血中 BNP は心室中濃度と高値を示すポイントがほぼ一致していた。また、血中 ANP は有意な変化を認めなかったが、これは組織中 ANP の殆どが ISO による障害の少ない心房に含有する事に起因するためと思われる。以上のことから血中 ANP 又は BNP の変化を捉えることにより、心臓における障害部位をある程度推定できる可能性が示唆された。

Changes in plasma and heart concentration of cardiac natriuretic peptides in rat with drug-induced cardiac injury

○Rie OHNO, Hiroto MIYATA, Isamu NAKAMURA, Yoshinobu IWAKI, Masaaki KIMURA, Toxicology Laboratory, Medicinal Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama Japan

P-042 安全性薬理の QT 評価 (In vivo) 試験における心電図誘導法の検討

○清水憲次¹, 今別府進^{2,3}, 本坊敏保^{3,4}

¹(株)富士バイオメディックス, ²QT_PRODUCT, ³協和発酵工業(株), ⁴藤沢薬品工業(株)

【目的】 安全性薬理の QT 評価 (In vivo) 試験では、無麻酔のサル及びイヌを用いてテレメトリー法あるいはホルター法で心電図を記録して、QT を計測している。ガイドラインでは誘導法についての規定はなく、通常は 1 つの誘導の心電図が記録されている。誘導法、すなわち電極の位置は直接的に心電図波形に影響するため、電極位置と心電図波形の関連を比較して、無麻酔下の試験で QT 計測に適した電極位置を検討した。【方法】(1) QT_PRODUCT 参加施設へのアンケート調査により、検討対象とするサル、イヌそれぞれ 4 つの誘導法を決定した。(2) 胸部 X 線写真を撮影し、肋骨あるいは心臓に対する各誘導の電極位置を確認した。(3) 各誘導について無麻酔下心電図 (ホルター法) を記録して、心電図波形の特徴を比較した。動物はカニクイザル及びビーグル犬各 8 頭を使用した。【成績及び結論】 サルでは 0、30、60 度誘導及び Z 軸誘導、イヌでは 30、60、90 度誘導及び Z 軸誘導を対象とした。サルでは各誘導とも T 波が陽性を示し、QT 計測で問題となる誘導はなかった。イヌでは 30、60、90 度の各誘導とも T 波は 2 相性、2 峰性、陰性を示す例があり、使用する解析ソフトによっては正確に計測できないことが示唆された。また、イヌの Z 軸誘導は T 波が陽性を示して有効な誘導と考えられたが、一般的ではないので、利用にあたってはさらに検討が必要である。

Investigation of ECG leads on in vivo QT assessment in safety pharmacology

○Noritsugu SHIMIZU¹, Susumu IMABEPPU^{2,3}, Toshiyasu HONBO^{2,4}, Fuji Biomedix Co., Ltd., ²QT_PRODUCT, ³Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Yamaguchi Japan, ⁴Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka Japan

P-043

Telemetry system による覚醒モルモットの心電図 QT 間隔の評価

○阿部純子, 塩谷元宏, 原田拓真, 白井真紀, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部

【目的】モルモットはその心筋イオンチャネルが他の小動物に比べてヒトに近いことが知られており、*in vitro* の評価系で乳頭筋活動電位持続時間の測定等に汎用されている。しかしながら、覚醒下の *in vivo* QT 評価系としてのモルモットの心電図測定は未だ十分に確立されていない。そこで我々は、telemetry を埋め込んだモルモットを用い、覚醒下での QT 評価を検討した。併せて、乳頭筋活動電位測定結果との関連性も検討を加えた。【方法】Telemetry 送信器 (TA11CA-F40) を埋め込み後、一般状態が回復したモルモットに astemizole (ATZ) 30mg/kg を経口投与、または sotalol (SOT) 40mg/kg 静脈内投与した。心電図を連続測定し、RR および QT 間隔の時間的推移ならびに投与前後の QT-RR 相関性を比較した (HEM, NOTOCORD)。SOT については乳頭筋活動電位測定を微小電極法で測定した。【結果及び考察】ATZ および SOT 投与により明らかな QT 延長が認められ、SOT では徐脈を伴っていた。従って、telemetry 法による覚醒モルモットの試験系は QT 評価に有用であると考えられた。また、SOT は *in vitro* でも APD90 の延長を示し、このような同一動物種での *in vivo* および *in vitro* のデータの比較は、薬物による QT 間隔のリスクアセスメントの信頼性をより向上させるものと推察された。

Evaluation of QT interval with telemetry system in conscious guinea pigs.

○Junko ABE, Motohiro SHIOTANI, Takuma HARADA, Maki SHIRAI, Ikuo HORII, Drug Safety Evaluation, Nagoya Laboratories, Global Research & Development, Pfizer Pharmaceuticals Inc., Aichi, Japan

P-044

キノロン系抗菌剤の不整脈誘発性に関する麻酔下ウサギモデルを用いた検討

○秋田 恵, 柴崎義明, 泉 政明, 平塚一幸, 酒井東日, 神藤康弘

明治製薬(株)薬品総合研究所薬理安全性研究所

【目的】*in vivo* 麻酔下ウサギ不整脈誘発モデルを用いて quinolone 系の抗菌剤各種の QT 間隔に与える影響および不整脈誘発作用に関して比較検討を行った。

【方法】 α -chloralose 麻酔下において、耳介静脈より sparfloxacin (SPFX), gatifloxacin (GFLX), levofloxacin (LVFX) または prulifloxacin の活性本体である NM394 (UFX) とメトキサミンとの併用持続投与を行い、心電図波形の変化を観察した。溶媒対照群には 0.2 mol/L の NaOH を同様に投与した。

【結果】SPFX および GFLX の投与により、QT 間隔および QTc 間隔の顕著な延長が認められた。また、GFLX の投与時にはすべての個体で心室性期外収縮が発生し、半数では TdP の発生にまで至った。SPFX の投与では多くの個体で房室ブロックが発生し TdP の発生はみられなかったが、投与用量を減少することにより TdP の発生が認められた。これに対し、LVFX および UFX の投与時には、溶媒対照群に比べて QT 間隔および QTc 間隔の延長は認められず、不整脈の発現も認められなかった。

【結論】LVFX および UFX は本実験モデルにおいて SPFX および GFLX に比べて QT 間隔の延長や TdP などの致死性不整脈を引き起こす作用が弱いことが確認された。

Proarrhythmic Effects of Quinolone Antibiotics in the Anesthetized Rabbit Model

○Megumi AKITA, Yoshiaki SHIBAZAKI, Masaaki IZUMI, Kazuyuki HIRATSUKA, Toki SAKAI, Yasuhiro SHINDO, Pharmacology & Toxicology Research Laboratories, Pharmaceutical Research Center, Meiji Seika Kaisha, Ltd., Yokohama, Japan

P-045

麻酔モルモットにおける QT 延長薬の単相性活動電位持続時間に対する作用

○田保充康, 秦己貴子, 木村和哉, 五十嵐浩子, 高田昌太郎, 岩井 毅

中外製薬(株)安全性研究部

【目的】近年、非循環薬の QT 間隔延長作用が問題視されており、創薬早期における評価が必要とされている。一般的に *in vivo* 評価として測定される QT 間隔は T 波終点を特定しずらいため解析困難な場合があるが、麻酔イヌを用いた単相性活動電位 (MAP) は波形が単純で QT 間隔に比べ MAP 持続時間 (MAPD) の解析誤差が少ないことが知られている。今回、創薬早期に少量の検体量での *in vivo* QT 延長評価系として、麻酔モルモットを用いた QT 延長薬の MAPD に対する作用について検討した。【方法】pentobarbital 麻酔下で心外膜の MAP を測定し、迷走神経切断及び propranolol 前処置下で行った。被験物質として陽性対照薬 8 種 (cisapride, astemizole, terfenadine, haloperidol, quinidine, bepridil, d,l-sotalol, E-4031) 及び陰性対照薬 4 種 (captopril, verapamil, diltiazem, chlorpheniramine) を使用した。各試験物質は 6 分間隔で 5 回累積的に静脈内投与し、各用量投与終了後 4 分から 1 分間ベising刺激を施して MAPD₉₀ (90% 再分極時間) を解析した。【成績及び結論】陽性対照薬はいずれも用量依存性に MAPD₉₀ を延長させた。一方、陰性対照薬では、chlorpheniramine の高用量において僅かな MAPD₉₀ 延長傾向が認められたが陽性対照薬に比べてその作用は弱く、また、その他の陰性対照薬では MAPD₉₀ 延長作用は認められなかった。以上のことから、本試験系が少量の検体量で評価可能な *in vivo* QT 延長評価系として有用であることが示された。

Effects of drugs associated with QT prolongation on monophasic action potential duration in anesthetized guinea-pigs

○Mitsuyasu TABO, Mikiko SHIN, Kazuya KIMURA, Hiroko IGARASHI, Shotaro TAKADA, Takeshi IWAI, Safety Assessment Dept., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Sizuoka, Japan

P-046

麻酔モルモット及び麻酔イヌの心電図に対する抗不整脈薬の比較検討

○板野泰弘, 中原千穂, 太田幹雄, 岸本 直, 宇野 洋

帝人(株)医薬開発研究所安全性研究部

【目的】薬物の不整脈作用の評価において、モルモットは *in vitro* 評価で心筋細胞や乳頭筋が汎用されている反面、*in vivo* 評価では多用されていない。そこで、我々は不整脈作用評価におけるモルモット心電図測定の有用性を検証するために、抗不整脈薬が麻酔モルモットの心電図に及ぼす影響を麻酔イヌと比較検討した。【方法】雄性 Hartley 系モルモット及び雌性ビーグル犬を用いた。各クラス (I~IV) の代表的な抗不整脈薬 (quinidine, lidocaine, flecainide, propranolol, sotalol 及び verapamil) を静脈内に 10 分間隔で用量漸増的に bolus 投与し、第 II 誘導で心電図 (RR, PR, QRS 及び QT 間隔) を測定した。【結果】両動物種において quinidine は QRS 間隔、lidocaine は PR 間隔、flecainide は QRS 間隔及び QTc、sotalol は PR 間隔及び QTc をそれぞれ延長させた。verapamil による PR 間隔の延長も両動物種で認められたが、イヌの方が顕著であった。quinidine による QTc 延長はイヌでのみ認められ、propranolol による RR 間隔の延長はモルモットでのみ認められた。【まとめ】以上の結果に代表されるように、モルモットとイヌにおける抗不整脈薬の作用には相違があることが示唆された。現在、モルモットでの持続投与による検証を実施中である。

Comparison of Electrophysiological Effects of Antiarrhythmic Drugs in Anesthetized Guinea-Pigs and Dogs

○Yasuhiro ITANO, Chibo NAKAHARA, Mikio OTA, Tadashi KISHIMOTO, Hiroshi UNO, Safety Research Department, Pharmaceuticals Development Research Laboratories, Teijin Limited, Tokyo, Japan

P-047 麻酔イヌのペースング刺激下におけるQT延長薬の作用

○秦己貴子, 田保充康, 岩井 毅, 五十嵐浩子, 高田昌太郎, 木村和哉

中外製薬(株)安全性研究部

【目的】QT 間隔延長作用を有する薬物による致死性不整脈が問題視されているが、QT 間隔は心拍数（または RR 間隔）の変動に伴い変化することから、心拍数の影響を受けにくいQT 評価系が必要とされている。今回、麻酔犬を用いて右心房 pacing 刺激下での QT-RR 間隔の相関について検討し、さらに、適正な QT 補正式および pacing 刺激を用いた QT 評価系の確立を試みた。【方法】ハロセン麻酔下のビーグル犬に pacing 刺激を施し、RR 間隔を変化させた時の QT 間隔を測定し、Bazett、Fridericia、Van de Water の各補正式の QT 補正能を検討した。また、陽性対照薬（astemizole, d,l-sotalol）および陰性対照薬（d,l-propranolol）を30分間隔で10分間静脈内持続投与し、洞調律時における QTc および pacing 刺激時（RR 間隔 500 msec）の QT 間隔の解析を行った。【成績および結論】各補正式にて算出した QTc について回帰分析を行った結果、QT 補正能は Fridericia の補正式が最も優れていた。また、陽性対照薬において pacing 刺激下における QT 間隔および Fridericia の補正式を用いた QTc において用量依存的な延長が認められ、陰性対照薬ではいずれも延長は認められなかった。以上のことから、pacing 刺激と Fridericia の補正式を用いることにより正確な QT 評価が可能であると考えられた。

Effects of QT prolongation drugs on the QT interval under pacing condition in anesthetized dogs

○Mikiko SHIN, Mitsuyasu TABO, Takeshi IWAL, Hiroko IGARASHI, Shotarou TAKADA, Kazuya KIMURA, Safety Assessment Dept., Chugai Pharmaceutical CO., LTD., Shizuoka, Japan

P-048 ゼブラフィッシュ胚中脳脊側部におけるダイオキシン誘発性アポトーシスにおけるチトクローム P450 1A の関与

○董 武¹, 辻本和義¹, 岩佐浩行¹, ジョンスティグマン², リチャードピーターソン², 寺岡宏樹¹, 平賀武夫¹

¹酪農学園大学獣医学部毒性学教室, ²ウッズホール海洋研究所, ³ウイスコンシン大学

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) は高脂溶性かつ安定なため、環境中の他、生物濃縮する代表的環境汚染物質の一つである。我々はこれまで、TCDD がゼブラフィッシュ（ゼブラ）胚の中脳脊側部に一過性の循環障害とアポトーシスを起こし、両者が相関することを報告してきた。今回、これらの TCDD 毒性における arylhydrocarbon 受容体（AHR）とチトクローム P450 1A（CYP1A）の関与について、モルフォリノセンスアンチセンス（モルフォリノ）による遺伝子ノックダウン法を用いて検討した。ゼブラフィッシュ AHR2 に対するモルフォリノ（AHR2-MO）を 1-2 細胞期のゼブラ初期胚に注入した場合、TCDD による中脳脊側部の血流低下とアポトーシス、並びに脳血管内皮における CYP1A 誘導が顕著に抑制された。TCDD によるこれらの作用はいずれも CYP1A に対するモルフォリノ（CYP1A-MO）処置でほぼ阻止された。一方、ゼブラ胚の静脈洞に牛血清アルブミン（BSA）を注入し、固定後、抗 BSA 抗体染色を行ったところ、TCDD は脳血管のアルブミン透過性を増加させることが確認できた。この透過性増大は両モルフォリノの他、抗酸化剤でも阻止された。これらの成績より、TCDD によるゼブラ中脳脊側部の循環障害とアポトーシスの誘発に AHR2 を介した CYP1A の誘導が関与することが示唆された。

Involvement of arylhydrocarbon receptor 2 mediated cytochrome P450 1A induction in mesencephalic circulation failure and apoptosis in zebrafish embryos exposed to dioxin

○Wu DONG¹, Kazuyoshi TSUJIMOTO¹, Hiroyuki IWASA¹, Stegeman JOHN J.², Peterson RICHARD E.², Hiroki TERAOKA¹, Takeo HIRAGA¹, ¹Department of Toxicology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²Oceanographic Institution, Woods Hole, MA, USA, ³University of Wisconsin, Madison, WI, USA

P-049

ダイオキシンによる循環障害におけるチトクローム P450 1A の役割

○寺岡宏樹¹, 董 武¹, 岩佐浩行¹, 辻本和義¹, ジョンスティグマン²,
リチャードピーターソン², 平賀武夫¹

¹酪農学園大獣医学部毒性学教室, ²ウッズホール海洋研究所, ³ウイスコンシン大学

ダイオキシン類は多くの動物種に様々な毒性を示す代表的環境汚染物質である。このうちもっとも毒性の強い 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) は、循環障害を含む様々な発生毒性を魚類から高等ほ乳類まで生じさせる。ノックアウトマウスを用いた研究から、Ah 受容体 (AHR) が TCDD 毒性に関与する証拠が挙げられているが、その下流の機構についてはほとんど不明である。一方、チトクローム P450 1A (CYP1A) は TCDD 暴露により顕著に増加する代表的分子であるが、TCDD 毒性を介在するか否かは明らかでない。我々はゼブラフィッシュ (ゼブラ) を TCDD 発生毒性モデルとして使用している。本研究では、モルフォリノアンチセンス法を用いて、ゼブラの TCDD 毒性における CYP1A の関与を検討した。TCDD をゼブラ胚に暴露すると、多くの血管における血流障害と心臓周囲などの浮腫の他、血管内皮などに顕著な CYP1A の誘導を起した。ゼブラの AHR2 や CYP1A に対するモルフォリノアンチセンス (AHR2-MO, CYP1A-MO) は TCDD による CYP1A 誘導を阻害し、循環障害を回復させた。本成績は、AHR2 を介した CYP1A の誘導が TCDD によるゼブラ胚の血流遅延や浮腫などの循環障害発現に必須であることを示唆する。

Cytochrome P450 1A induction is required for TCDD-induced circulation failure and edema in zebrafish embryo

○Hiroyuki TERAOKA¹, Wu DONG¹, Hiroyuki IWASA¹, Kazuyoshi TSUJIMOTO¹, Stegeman JOHN J.², Peterson RICHARD E.³, Takeo HIRAGA¹, ¹Department of Toxicology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Japan, ²Oceanographic Institution, Woods Hole, MA, USA, ³University of Wisconsin, Madison, WI, USA

P-050

フロン代替溶剤 1-プロモプロパンの中樞神経作用

○本間健資, 須田 恵, 川井さゆり, 倉持光利, 神保 雅, 辻村祐佑

(独行)産業医学総合研究所健康障害予防研究部

[緒言] フロン代替化学物質として使用された 2-プロモプロパン (2BP) により、韓国で無ないし乏精子症や月経停止などを主症状とした集団的な職業中毒がおこった。その後 2BP に替わるフロン代替溶剤として 1-プロモプロパン (1BP) が使用されているが、動物実験で 1BP の末梢神経障害作用が報告されているものの、中樞神経作用はあまり明らかではない。本研究では 1BP の中樞神経作用を明らかにする目的でラットに 1BP を曝露し、行動と脳内物質の変化を検討した。

[方法] 実験動物としては F344 ラットの雄または雌を用い、1BP をガス化して全身曝露 (8 時間/日) した。行動変化として、自発行動量 SLA (Spontaneous locomotor activity) や受動回避などの簡単な学習行動を測定し、神経化学的指標としてモノアミンなどの脳内神経伝達物質等の脳内物質も測定した。

[結果] 曝露は、10, 50, 200, 1,000ppm で 3 週間おこなった。曝露終了後の暗期の SLA は対照群より高かった。Open-field test においても、曝露群の Ambulation & Rearing Score は対照群より高く、Defecation & Urination Score は対照群より低かった。獲得された学習記憶には影響は見られず、曝露後の学習獲得への曝露の影響もみられなかった。前肢の筋弛緩はあきらかであった。1BP はラットにおいて中樞興奮作用を有するものと思われた。(江原尚美氏の協力に感謝します。)

Effects of 1-bromopropane, an ozone-depleting substance replacement, on the central nervous system of rats

○Takeshi HONMA, Megumi SUDA, Sayuri KAWAI, Mitsutoshi KURAMOCHI, Masashi JINBO, Yusuke TSUJIMURA, National Institute of Industrial Health, Kawasaki, Japan

P-051

ラット胎生期 5-bromo-2'-deoxyuridine 暴露による行動異常

○森島昭彦¹, 折戸謙介¹, 小川哲郎², 宗岡克政², 桑形麻樹子², 白井明志¹, 赤堀文昭³

¹麻布大学獣医学部薬理学研究室, ²昭和大学医学部第一解剖学教室,

³(財)食品薬品安全センター秦野研究所

本研究では胎生期に 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を暴露したラット出生児に発現する運動量増加について検討した。SD 系ラットの妊娠 9-15 日に BrdU を 50 mg/kg 腹腔内投与し、生後 4-5 週齢の雌雄子ラットを実験に供した。飼育用ケージにおける 16 時間の運動量測定の結果、胎生期に BrdU を暴露したラット (B 群) の夜間の運動量は、対照群 (CMC 腹腔内投与, C 群) に比べ増加したが、昼間は群間に差は認められなかった。60 分間実施したオープンフィールドテスト (OF) では、C 群では運動量の一過性の増加とそれに続く経時的な減少が観察されたが B 群では常に有意な上昇が見られた。高架式十字迷路試験では、open arm entry 回数および open arm 1 entry あたりの滞在時間が B 群で有意に増加した。さらに、OF および高架式十字迷路試験における B 群の挙動は、methylphenylate 0.01, 0.1, 1 mg/kg, ip により影響を受けなかった。以上の結果から胎生期に BrdU を暴露されたラットは、雌雄ともに持続性の運動量増加を呈し、低不安であることが示唆された。

Behavioral abnormalities in rat offspring treated prenatally with 5-bromo-2'-deoxyuridine.

○Akihiko MORISHIMA¹, Kensuke ORITO¹, Tetsuo OGAWA², Katsumasa MUNEOKA², Makiko KUWAGATA³, Mitsuyuki SHIRAI¹, Fumiaki AKAHORI¹, ¹Department of Veterinary Pharmacology, Azabu University, School of Veterinary Medicine, Sagamihara, Kanagawa 229-8501, Japan, ²Department of Anatomy, Showa University, Tokyo, Japan, ³Laboratory of Reproductive and Developmental Toxicology, Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

P-052

白色 LED 光源一体型電極を利用したビーグル犬における Full-Field ERG の検討

応

○佐々木正治, 山下晴洋, 八木久美子, 中村 勇, 岩城理進, 木村正明

大正製薬(株)医薬研究所安全性研究室

国際臨床視覚機能学会 (ISCEV) の ERG プロトコールでは、シングルフラッシュ反応、律動様反応、桿体反応、錐体反応、30Hz-Flicker 反応を測定することを推奨している (Full-Field ERG)。今回われわれは、白色 LED 光源一体型電極を用いて、イヌの Full-Field ERG を検討した。

(実験 1) 6 例の雄ビーグル犬 (約 10~15 ヶ月齢, 体重 9~12kg) を鎮静及び散瞳薬処置後 30 分間暗順応させ、ERG を測定した。桿体、シングルフラッシュ及び律動様反応は、背景光 off, 発光強度 -5.52~1.18 log cds/m², 錐体及び 30Hz-flicker 反応は、背景光 0, 10, 25, 40 及び 80cd/m², 発光強度は -1.30~1.18 log cds/m² で測定した。その結果、桿体反応は -3.5 log cds/m², シングルフラッシュ及び律動様反応は 1.18 log cds/m², 錐体及び 30Hz-flicker 反応は背景光 25~40cd/m², 発光強度は 1.18 log cds/m² の条件下で、ISCEV のプロトコールに相当する Full-Field ERG の波形を検出した。

(実験 2) 雄ビーグル犬 1 例にヨウ素酸ナトリウム (SI) を 30mg/kg 単回静脈内投与し、投与後 1, 3, 5, 8, 24 及び 48 時間並びに 7 日及び 14 日に Full-Field ERG を測定した。その結果、投与後 1 時間で桿体反応が完全に消失したが、30Hz-flicker 反応は投与後 8 時間まで反応が認められた。投与後 24 時間以降はいずれの反応もほぼ消失した。これらのことから SI による視覚障害は、桿体、錐体の順で現れることが電気生理学的に判明した。

以上の結果から、白色 LED 光源一体型電極を利用したイヌにおける Full-Field ERG は桿体/錐体の機能を電気生理学的に分離可能であり、薬物性視覚障害の評価に有用と考えられた。

Full-Field ERG obtained using a contact lens electrode with built-in high intensity white light-emitting diodes in beagle dogs

○Shoji SASAKI, Haruhiro YAMASHITA, Kamiko YAGI, Isamu NAKAMURA, Yoshinobu IWAKI, Masaaki KIMURA, Toxicology Laboratory, Medicinal Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., LTD.

P-053

モルヒネ身体依存におけるN-メチル-D-アスパラギン酸受容体の役割

○鍋島俊隆¹, Hamdy Moustafa M.², 永井 拓¹, 宮崎雅之¹, 野田幸裕¹¹名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学附属病院薬剤部,²Department of Pharmacology, Assiut University Graduate School of Medicine

モルヒネの身体依存の形成には、グルタミン酸作動性神経系が重要な役割を果たしていることが示唆されているが、その詳細についてはまだよくわかっていない。本研究では、モルヒネ身体依存におけるN-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)受容体の役割について検討した。モルヒネ(10 mg/kg s.c.)を1日2回、連続投与した野生型マウスにナロキソン(5 mg/kg i.p.)を投与すると、投与直後より逃避跳躍行動、前肢振戦および立ち上がり行動が顕著に発現した。退薬症候を発現したマウスの皮質においてCa²⁺/calmodulin キナーゼ II α (CaMKII α)のリン酸化およびc-Fos 蛋白の発現は、コントロールマウスに比べ有意に増加していた。しかし、非競合的NMDA受容体拮抗薬のジゾシルピン(0.25 mg/kg i.p.)とモルヒネを5日間併用投与したマウスでは、ナロキソン誘発退薬症候、CaMKII αのリン酸化およびc-Fos 蛋白の発現は、有意に減少した。また、NMDA受容体遺伝子変異マウスにおいてもナロキソン誘発退薬症候の発現回数が、野生種と比較して有意に減少した。以上の結果から、モルヒネによる身体依存の発現には、NMDA受容体の機能の亢進が関与しており、NMDA受容体を介するCaMKII αのシグナル伝達系が促進され、核内におけるc-fos 遺伝子の転写を促進することによって発現しているものと推察される。

The role of N-methyl-D-aspartate receptors in development of morphine dependence in mice

○Toshitaka NABESHIMA¹, Moustafa M. Hamdy², Taku NAGAI¹, Masayuki MIYAZAKI¹, Yukihiko NODA¹, ¹Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan, ²Department of Pharmacology, Assiut University Graduate School of Medicine, Assiut, Egypt

P-054

Ultrastructure in crushed the unmyelinated nerve fiber of streptozotocin-induced diabetic rats

○谷口雄三, 菊森幹人, 古川茂典, 守永太賀彦, 六角 香, 藤井登志之, 西森司雄

(株)環境バイロス研究所生物科学研究所

[Summary] The regenerative ability of unmyelinated nerve fibers (UNFs) in diabetes and the effect of aldose reductase inhibitor (ARI) were ultrastructurally evaluated after sciatic nerve crush in control rats and untreated and tolrestatSH-treated streptozotocin-induced diabetic rats. The density and number of UNFs were significantly increased in all groups at 6 weeks after the injury. The increase returned to the baseline level in control rats, but not in diabetic rats at 26 weeks. Although the axon size showed a marked decrease at 6 weeks, an incomplete recovery at 26 weeks in all groups. The recovery was significantly worse in diabetic than in control groups. [Result] Ultrastructures of UNFs were not significantly different among groups and time intervals. Although axon-Schwann cell units appeared to be increased at 6 weeks compared with before nerve crush in all groups, their number appeared to return to the baseline level in control rats. Axon size appeared to be smaller at 6 weeks than at the baseline in all groups, whereas it appeared to become larger at 26 weeks, especially in control rats. The density and number per fascicle of UNFs were markedly increased in control and diabetic rats at 6 weeks. These parameters returned to the baseline level in control rats at 26 weeks, but were incompletely reversed and remained at a high level in diabetic rats. The mean axon area of UNFs was markedly decreased in control and diabetic rats at 6 weeks and significantly reversed in all rats at 26 weeks compared with 6 weeks. [Conclusion] The regenerative capacity of UNFs was significantly disturbed in diabetic rats. Although the density and number of UNFs per fascicle were significantly increased in control and streptozotocin-induced diabetic rats at 6 weeks after nerve crush injury.

Ultrastructure in crushed the unmyelinated nerve fiber of streptozotocin-induced diabetic rats

○Yuzo TANIGUCHI, Mikito KIKUMORI, Shigenori FURUKAWA, Tagahiko MORINAGA, Kaori MUSUMI, Toshiyuki FUJII, Tsukao NISHIMORI, The Biological Science Laboratories, The Environmental Biological Life Science Research Center, Shiga, Japan

P-055

マウスにおける N-methyl-N-nitrosourea の小頭症誘発作用の用量-作用関係

○小林晴男¹, 野田大史¹, ほさいんむばらく¹, 鈴木忠彦¹, 佐藤 至¹, 鈴木幸一²

¹岩手大学農学部獣医学科, ²岩手大学農学部農業生命科学科

アルキル化基 N-methyl-N-nitrosourea (MNU) は 5 mg/kg を妊娠動物に投与することによって、ラットと同様にマウスにおいてもその子供 (NMU 群) に小頭症を引き起こすことをすでに報告した。【目的】今回、MNU 0.63, 1.25, 2.5, 5.0 あるいは 10 mg/kg を妊娠 13 日目の ICR 系マウスに投与して用量-作用関係を検討した。【方法】8-12 週齢の子マウスについて脳部位重量、acetylcholinesterase 活性 (AChE) およびムスカリニック遮断薬 [³H]quinuclidinyl benzilate 結合 (mAChR) を測定した。

【成績】MNU 10 mg/kg の NMU 群では眼球や行動に異常がみられ、5 および 10 mg/kg の NMU 群では他のマウスに対して攻撃的になった。2.5-10 mg/kg の NMU 群では前脳、大脳、線条体、海馬および小脳の湿重量が対照群に比べて減少した。前 3 者の減少は用量依存性であった。1.25 mg/kg 以上の NMU 群の AChE 密度および総量は、線条体および海馬において対照群に比べて増加した。5 および 10 mg/kg の NMU 群では mAChR の密度および総量が、線条体および海馬において対照群に比べて減少した。【結論】神経行動、脳部位重量、AChE および mAChR に対する影響は MNU の投与量に依存して発現すると考えられる。

Dose-response relationship of N-methyl-N-nitrosourea in inducing micrencephaly in mouse offspring

○Haruo KOBAYASHI¹, Hirofumi NODA¹, Mubarak HOSSAIN¹, Tadahiko SUZUKI¹, Itaru SATO¹, Kouichi SUZUKI², ¹Department of Veterinary Medicine, Iwate University, Morioka, Japan, ²Department of Agro-bioscience, Iwate University, Morioka, Japan

P-056

農薬の神経毒性試験における陽性対照物質—トリメチル錫および DDT の毒性評価

○石嶺さやか, 首藤康文, 藤江秀彰, 松本 力, 林 宏一, 高橋尚史, 桑原真紀, 小坂忠司, 原田孝則

(財) 残留農薬研究所

農薬の安全性評価試験のひとつである神経毒性試験では、検査の信頼性を保証するために陽性対照データの呈示が求められている。今回我々は、神経毒性のバリデーション対象物質である塩化トリメチル錫および DDT を用いて、急性あるいは 28 日間の陽性対照試験を実施したので、その結果を報告する。

1. 塩化トリメチル錫の急性神経毒性試験

【供試動物】F344/DuCrj 雄ラット, 投与時 7 週齢

【投与用量と使用動物数】0, 4.0, 5.6, 7.8 mg/kg, 各群 10 匹

【検査項目】スコアリングによる詳細な症状観察 (28 項目), 感覚運動検査 (6 項目), 前肢/後肢握力, 着地時間脚幅, 体重, 体温, 自発運動量, 神経病理学的検査

【検査時期】投与前, 投与後 1 時間, 7 日および 14 日

【試験結果】瞳孔機能および聴覚反応の低下, 立ち直り反射の抑制, 運動量の増加が認められた。神経病理学的検査では、海馬神経細胞の脱落が認められた。

2. DDT の反復経口神経毒性試験

【供試動物】Jcl:SD 雌ラット, 投与開始時 6 週齢

【投与用量と使用動物数】0, 350, 500 ppm, 各群 12 匹

【投与期間】28 日間

【検査項目】スコアリングによる詳細な症状観察 (28 項目), 感覚運動検査 (6 項目), 前肢/後肢握力, 着地時間脚幅, 体重, 体温, 自発運動量

【検査時期】投与前, 投与開始後 7, 14, 21 および 28 日

【試験結果】振戦, 活動性および自発運動量の増加が認められた。

A validation study on neurotoxic effects of trimethyltin and DDT used as positive control substances for evaluation of pesticide neurotoxicity

○Sayaka ISHIMINE, Yasufumi SHUTOH, Hideaki FUJIE, Tsutomu MATSUMOTO, Koichi HAYASHI, Naofumi TAKAHASHI, Maki KUWAHARA, Tadashi KOSAKA, Takanori HARADA, The Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan

P-057

農業の神経毒性試験における陽性対照物質—カルバリルおよびアクリルアミドの毒性評価

○首藤康文、石嶺さやか、藤江秀彰、松本 力、亀坂泰正、高橋尚史、桑原真紀、原田孝則
(財)残留農業研究所

農業の安全性評価試験のひとつである神経毒性試験では、検査の信頼性を保証するために陽性対照データの呈示が求められている。今回我々は、神経毒性のバリデーション対象物質であるカルバリルおよびアクリルアミドを用いて、急性あるいは28日間の陽性対照試験を実施したので、その結果を報告する。

1. カルバリルの急性経口投与神経毒性試験

【供試動物】F344/DuCrj 雌雄ラット、投与時 13 週齢

【投与用量および使用動物数】0, 125 mg/kg, 雌雄各 4 匹/群

【検査項目】スコアリングによる詳細な症状観察 (28 項目)、感覚運動検査 (6 項目)、前肢・後肢握力、着地時間脚幅、体重、体温、自発運動量

【検査時期】投与前、投与後 1 時間、7 日および 14 日

【試験結果】振戦、流涎、流涎、縮瞳、自発運動量増加等が確認された。

2. アクリルアミドの反復経口投与神経毒性試験

【供試動物】Jcl:Wistar 雌雄ラット、投与開始時 7 週齢

【投与用量および使用動物数】0, 10, 20, 40 mg/kg, 雌雄各 5 匹/群

【投与期間】28 日間 (40 mg/kg 群のみ 14 日間)

【検査項目】スコアリングによる詳細な症状観察 (30 項目)、感覚運動検査 (6 項目)、前肢・後肢握力、着地時間脚幅、体重、体温、自発運動量、神経病理学的検査

【検査時期】投与前、投与開始後 7 日、14 日、21 日および 28 日

【試験結果】振戦、歩行異常、握力低下、体温低下、自発運動低下等が確認された。神経病理学的検査では、末梢神経の変性が確認された。

A validation study on neurotoxic effects of carbaryl and acrylamide used as positive control substances for evaluation of pesticide neurotoxicity

○Yasufumi SHUTOH, Sayaka ISHIMINE, Hidesaki FUJIE, Tsutomu MATSUMOTO, Yasumasa KAMESAKA, Naofumi TAKAHASHI, Maki KUWAHARA, Takanori HARADA, The Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan

P-058

ラットの Schedule-Controlled Operant Behavior (SCOB) を用いた PCB153 (2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl) 出生前曝露の認知・行動影響評価

○宮川宗之、王 瑞生、小林健一、須田 恵、関口総一郎、本間健資

(独)産業医学総合研究所

【目的】ノンブラナー型 PCB の次世代認知・行動影響を調べるため、汚染・曝露レベルが比較的高い PCB153 を妊娠ラットに投与し、成長した仔ラットでスケジュール制御オペラント行動 (SCOB) の習得過程を測定した。

【方法】妊娠ラット (IGS-SD・1 群 8 匹) に GD10 から GD16 までコーン油溶解 PCB153 を強制経口投与 (0, 16, 64 mg/kg/day) した。各群雄 8 匹・雌 8 匹の仔ラットを用いて、12 週齢から SCOB 条件づけを行なった。強化スケジュールを、(1) 自動反応形成、(2) 定率強化 (FR 2, 5, 10)、(3) タイムアウト付交替型混合スケジュール (alternating mix FR 10 DRO 10 s) と順次変更した。最終スケジュールでは、10 反応完了時に報酬が与えられる FR10 と、10 秒間無反応で報酬が与えられる他反応分化強化 (DRO) が、タイムアウト (TO) を挟み報酬提示毎に交替する (弁別刺激の提示はしない)。遅延時間となる TO 間隔を変化させて反応パターン切替の正確さを測ると、短期記憶の保持曲線が得られる。

【結果と考察】曝露群で FR 反応率が高くなる時期があったが、反応パターン切替の正確さや短期記憶の保持等、認知機能への影響を示唆するものは認められなかった。

[村瀬正氏に実験協力を賜った。厚生労働省労働基準局長から受託した環境省地球環境保全等試験研究費「内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の生殖系・次世代への影響評価に関する研究 (平成 14 年度)」を使用した。]

Effects of prenatal exposure to PCB153 (2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl) on Schedule-Controlled Operant Behavior in Rats.

○Muneyuki MIYAGAWA, Rui-sheng WANG, Kenichi KOBAYASHI, Megumi SUDA, Soichiro SEKIGUCHI, Takeshi HONMA, National Institute of Industrial Health, Kawasaki, Japan

P-059

Quantitation of Dopamine, 3,4-Dihydroxyphenylacetic Acid and Homovanillic Acid in MPTP-Treated Marmosets Using a Validated HPLC Method



○モート トーマス, コールター グレグ, 亀之園剛, メイヤー スチーブン,
福崎好一郎, 永田良一

SNBL USA, Ltd.

The MPTP-treated marmoset is an established model for Parkinson's disease. The primary neural disorder is degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra. Dopamine, and metabolites 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, and homovanillic acid were determined in brain tissue from common marmosets using a validated HPLC assay employing electrochemical detection. Putamen and caudate nucleus brain tissues were collected from MPTP-treated and untreated marmosets were processed with dihydroxybenzylamine added as an internal standard. Chromatography was achieved on a C18 column using a gradient method and mobile phase consisting of 0.081 M citric acid-0.01% octanesulfonic acid-Na salt and Acetonitrile. The analytes were detected electrochemically using a Ag/AgCl reference cell at a potential of +640 mV DC. Effective quantitative ranges for 40 mg tissue samples were approximately: 0.0625 μ g/g to 12.5 μ g/g. Dopamine levels in the MPTP-treated group decreased to approximately 25% of those in the untreated group in both brain tissues. Dihydroxyphenylacetic acid and homovanillic acid in the MPTP-treated group decreased to approximately 52% to 41% of the untreated group in both caudate nucleus and putamen. Administration of MPTP correlated with degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons, suggesting that induction occurred. A selective, accurate and precise method for determining trace levels of the analytes using a simple sample preparation has been demonstrated and applied to investigation of organic degradation of dopaminergic neurons in MPTP-treated marmosets.

Quantitation of Dopamine, 3,4-Dihydroxyphenylacetic Acid and Homovanillic Acid in MPTP-Treated Marmosets Using a Validated HPLC Method

○Greg COULTER, Thomas MOATE, Takeshi KAMENOSONO, Steven MEYER, Koichiro FUKUZAKI, Ryoichi NAGATA, SNBL USA, Ltd., Everett, WA, USA

P-060

カニクイザルにおける各種ホルモン・サイトカイン等内因性物質のバックグラウンドデータ

○高原利夫, 矢崎光好, 泉 知博, 帖佐 敏, 森川陽子, 諸正晋郎, 野村達希,
大関敏美

(株)新日本科学薬物代謝分析センター

株式会社新日本科学薬物代謝分析センターでは ELISA や RIA 法を用いてサル、イヌ及びラット等の実験動物における各種ホルモン、骨代謝パラメーター及びサイトカイン等の内因性物質を測定している。今回、これまでに収集した主としてカニクイザルでのバックグラウンドデータを集計したので報告する。

Cynomolgus Monkey Background Data on Endogenous Substance (e.g. hormones and cytokines)

○Toshio TAKAHARA, Mitsuyoshi YAZAKI, Tomohiro IZUMI, Satoshi CHOUA, Yoko MORIKAWA, Shinro MOROMASA, Tatsuki NOMURA, Hiromi OZEKI, Pharmacokinetics and Bioanalysis Center, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Wakayama, Japan

P-061

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

○浅野和信¹, 立木里奈¹, 小野 敦², 橋本せつ子¹, 井上 達², 菅野 純²¹ピアコア(株)開発部, ²国立医薬品食品衛生研究所毒性部

我々は、表面プラズモン共鳴センサーを用いた内分泌かく乱化学物質高速スクリーニング法として、ホルモンレセプターの作用機構に焦点をあてた2種類の無細胞系スクリーニング法を構築し、その有効性を検証した。内分泌かく乱作用のメカニズムの一つとして考えられるα型エストロゲンレセプター(ER)とセンサーチップに固定化したホルモン応答DNA配列(ERE)との相互作用を測定するアッセイ(EREアッセイ)とERの遺伝子発現調節の共役因子であるTIF2のER結合サイトのLxxLLモチーフを含むペプチドとERとの相互作用を測定するアッセイ(TIFアッセイ)を構築した。ERをさまざまな化学物質と共存させるとERの結合・解離の反応速度が変化し、化学物質のエストロゲン作用の有無を知ることができる。このアッセイの有効性を確認するため、EREアッセイとTIFアッセイの2種類のアッセイを同時に行うスクリーニングを150種類の化学物質について実施した。その結果、表面プラズモン共鳴センサーを用いた内分泌かく乱化学物質スクリーニング法は、従来の試験法と比較して迅速かつ高精度であり、化学物質の内分泌かく乱作用の判定が可能であることが確かめられた。さらにERのアゴニスト、アンタゴニストを区別できるなどより多くの情報をもたらすアッセイであることが示された。このアッセイは多数の化学物質のホルモン作用を判定するための一次スクリーニング法として有用と考える。

Rapid screening method of endocrine disrupting chemicals using surface plasmon resonance sensor

○Kazunobu ASANO¹, Rina TSUIKI¹, Atsushi ONO², Setsuko HASHIMOTO¹, Tohru INOUE², Jun KANNO², ¹Business Development, Biacore KK, Tokyo, Japan, ²Division of Toxicology, National Institute of Health Science, Tokyo, Japan

P-062

エストロゲンによるRasファミリーの遺伝子発現調節

○加藤英男¹, 太田康彦^{2,4}, 勝 義直^{3,4}, 渡邊 肇^{3,4}, 井口泰泉^{3,4}¹(株)日本バイオリサーチセンター, ²鳥取大学農学部獣医学科,³岡崎国立共同研究機構統合バイオサイエンスセンター, ⁴科学技術振興事業団CREST

【目的】Differential Display法を用いて、DESに暴露されたマウス新生児の腫で発現量の低下する遺伝子としてRASDを同定した。RASDは、シグナル伝達に関わるRasファミリーと考えられた。そこで、今回、一部のRas遺伝子の発現とエストロゲンとの関係について検討した。【方法】RASDの発現は、リアルタイムRT-PCRを用いて定量、あるいはRT-PCRにより半定量した。1.マウス主要臓器での発現量, 2.性周期における腫での発現量, 3.卵巣摘出マウスにE2を投与し、RASD、Rasd1、K-ras、R-rasに加えてc-fos、Rab7、Raf1の経時的な発現量の変化を調べた。4.ERαKOマウスにおけるE2投与後の腫での発現量の変化を調べた。【成績】1.RASDの発現は、多くの器官でみられ、大脳皮質、線状体に多く、顎下腺、子宮、精巣に比較的多かった。肝臓、精巣には発現がみられなかった。2.RASDの発現量は、発情期および発情間期に比べて発情前期で低かった。3.E2投与後の腫では、Rasd1、c-fos、K-rasは発現量が上昇し、他では低下した。4.ERαKOマウスの腫では、E2投与によりRASD発現量の低下はみられなかった。以上のように、腫におけるRasファミリーは、エストロゲンにより発現量が変化し、その一部の遺伝子は、ERαを介して調節されている可能性が示唆された。

Regulation of Ras family expression by beta-estradiol

○Hideo KATO¹, Yasuhiko OHTA^{2,4}, Yoshinao KATSU^{3,4}, Hajime WATANBE^{2,4}, Taisen IGUCHI^{3,4}, ¹Nihon Bioresearch Inc, Gifu, Japan, ²Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori, Japan, ³Center for Integrative Bioscience, Okazaki National Institutes, Aichi, Japan, ⁴CREST JST, Japan

P-063

幼若雌性ラットの子宮におけるエストロゲン応答遺伝子の発現に及ぼす
エチニルエストラジオールの影響

○片山誠一¹, 芦沢幸二², 永井賢司¹

¹三菱化学安全科学研究所鹿島研究所, ²宮崎大学農学部食料生産科学科

【目的】エストロゲン様活性物質の *in vivo* での影響を遺伝子発現レベルの変化として捉えるため、幼若雌性ラットにエチニルエストラジオール (EE) を単回経口投与し、エストロゲン応答遺伝子の発現量を経時的に定量することにより、その応答性を評価した。【方法】19日齢の雌性SD (IGS) ラットにEE (0.003 mg/kg) あるいは溶媒を単回経口投与した。投与後1, 3, 6, 12, 24および48時間にCO₂麻酔下で子宮を摘出し、重量を測定した。子宮は、ホモジナイズし、MagExtractor System MFX-2000でtotal RNAを抽出した後、DNase I処理を行った。エストロゲン応答遺伝子 (complement C3, estrogen-responsive finger protein (efp), cyclin D1) の発現量は、ABI PRISM 7700 Sequence Detection Systemを用いたreal-time RT-PCR法によって評価した。【結果】EE群では、投与後6~48時間に子宮重量で有意な増加が認められた。EE群のcomplement C3 mRNAの発現は、投与後24時間から著しく増加し、投与後48時間まで増加し続けた。efp mRNAの発現は、EEの投与後6~24時間で抑制されたが、投与後48時間には溶媒群のレベルまで回復した。cyclin D1 mRNAの発現は、EEの投与後6~48時間の間で抑制されたままであった。本実験において評価したエストロゲン応答遺伝子は、いずれも誘導遺伝子のカテゴリーに入るものである。しかし、EEを単回経口投与された幼若雌性ラットでは、子宮重量の増加のピークにあたる投与後24時間において、complement C3 mRNAの発現は著しく誘導されるが、efp mRNAおよびcyclin D1 mRNAの発現は逆に抑制されることが明らかとなった。

Effects of ethynyl estradiol on the expression of estrogen-responsive genes in immature female rat uterus

○Seiichi KATAYAMA¹, Koji ASHIZAWA¹, Kenji NAGAI¹, ¹Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd., Ibaraki, Japan, ²Science of Bioresource Production, The United Graduate School of Agricultural Sciences, Kagoshima University, Kagoshima, Japan, ³Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki, Japan

P-064

レポーター遺伝子アッセイ法を用いた Human Estrogen Receptor α , β の反応性の比較

○武吉正博¹, 久我直子¹, 高月峰夫¹, 山崎寛治¹, 伊東信行²

¹(財)化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所, ²名古屋市立大学医学部

Estrogen receptor (ER) には α , β の2種類のサブタイプが存在する。本研究では Human ER α , ER β をクローニングし、レポーター遺伝子アッセイ法を用いて両者の植物エストロゲンを含む一般化学物質に対する反応性の違いを検討した。まず、Human ER α 又は ER β 発現プラスミド (hER α , ER β /pcDNA3.1-V5-His-TOPO) 及びルシフェラーゼ遺伝子の5'上流にエストロゲン応答配列とラット α -globulin (AUG) のプロモーターを組み込んだレポータープラスミド (ERE-AUG-Luc+) を HeLa に一過性に導入した。化学物質を添加後、DCC 処理 FBS を 10% 添加した EMEM 培地を加え、37°C, 5% CO₂ 存在下で 24 時間培養後のルシフェラーゼの転写活性を測定し、Genistein, Daidzein を含む 55 種類の化学物質に対する ER α , ER β の反応性の比較を行った。本実験系においても植物エストロゲンに対しては ER β の方が高い選択性を示すことが確認された。その他、ステロイド類では 17 α -estradiol, Estrone, Ethynyl estradiol, Dihydrotestosterone, Norethindrel, Norethindrone, アルキルフェノール類では 4-n-amyphenol, p-dodecyl-phenol, 4-tert-octylphenol, 4-cyclohexylphenol, 4-(1-adamantyl)-phenol, 非縮合多環芳香族化合物では p-cumyl-phenol, methoxychlor, 4-hydroxyazobenzene にも選択性の違いが確認された。本研究により植物エストロゲン以外の化学物質においても ER α , ER β に対して異なる反応性を示すものが存在する可能性が示された。今後、ER α , ER β の生理学的意義の解明とともにリガンドのこれらに対する反応性の違いと毒性影響との関連性について検討することが必要である。

Comparison of reaction between human estrogen receptor alpha and beta using reporter gene assay system

○Naoko KUGA¹, Masahiro TAKEYOSHI¹, Mineo TAKATSUKI¹, Kanji YAMASAKI¹, Nobuyuki ITO², ¹Chemicals Assessment Center, Chemicals Inspection and Testing Institute, Japan., ²Nagoya City University Medical School, Japan

P-065

オクチルフェノールのラット新生仔期曝露が卵巣に与える影響

○吉田 緑, 片嶋紗弓, 前川昭彦, 中江 大

(財)佐々木研究所病理部

エストロゲン様作用を示すオクチルフェノール(OP)の新生仔期大量曝露は、視床下部・下垂体・性腺系による内分泌調節機構を障害して間接的に、雌性生殖器官の発育分化に不可逆的影響を与え、さらに子宮および膣への直接的影響も報告されているが、卵巣への直接的な影響については明らかでない。今回我々は、大量の OP(100mg/kg)を雌性 Donryu ラットに生後1から5日まで(PND1-5群)あるいは15日まで(PND1-15群)皮下投与し、対照群には溶媒のみ投与し卵巣への影響について検索した。まず30日齢にて、両側の卵巣を摘出して別の卵巣ラットの頸部皮下に移植する卵巣交換を各群間で行い、各群の無処置動物の性周期と比較した。性周期は、対照群では正常、PND1-5群では経時的な持続発情の増加、PND1-15群では全例が持続発情を示し、いずれも各群の無処置動物と同様の推移を示したことから、性周期は移植した卵巣に影響されることなく、レシピエントの視床下部・下垂体系に依存していることが明らかとなった。また、各段階の卵胞の数、黄体数などの卵巣の形態、排卵数、無処置の雄との交配による繁殖などを行い、卵巣への形態学および機能的な影響について検索した。その結果、正常な性周期を示す限りこれらの項目に異常は認められなかったが、持続発情個体の卵巣は萎縮的で排卵は認められなかった。以上の結果より、OPの大量新生仔期曝露は卵巣に直接的な影響を及ぼさない可能性が高いと考えた。

Effects of neonatal exposure to high-dose octylphenol on the ovary in rats

○Midori YOSHIDA, Sayumi KATASHIMA, Akihiko MAEKAWA, Dai NAKAE, Department of Pathology, Sasaki Institute, Tokyo, Japan

P-066

Kanechlor-500 (KC500)の血清中甲状腺ホルモン濃度低下作用における動物種差と血中甲状腺ホルモン濃度低下作用機序

○加藤善久¹, 伊藤由里子¹, 山崎友朗¹, 藤井亜紀², 生城真一³, 原口浩一³, 井柳 亮³, 出川雅邦⁴, 木村良平¹¹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】PCB投与による肝薬物代謝酵素活性の変動ならびにPCBの代謝能の種差と各動物における血中 T_4 濃度低下作用との関連性を明らかにする。【方法】マウス、ハムスター、ラット及びモルモットに、KC500(マウスの血中total T_4 濃度を50%低下させる用量)を投与し、投与後4日に血清中甲状腺ホルモン濃度、肝薬物代謝酵素活性、UGT分子種の発現量、肝臓中のメチルスルホン代謝物及び水酸化体濃度を測定した。【結果・考察】Total T_4 濃度は、KC500投与により4種の動物ともに有意に低下した。 T_4 -UDP-GT活性は、モルモットのみで有意に増加し、total T_4 濃度も、モルモットのみで有意に低下した。甲状腺刺激ホルモン濃度は、いずれの場合にも変化しなかった。CYP2B活性は、マウス、ハムスター、ラットで、CYP1A活性は、ハムスター、ラット、モルモットで有意に増加した。UGT2B1の発現量は、KC500投与後、ラット及びモルモットで有意に増加した。また、KC500投与後の肝臓中総メチルスルホン体濃度はマウス>モルモット>ラット>ハムスターの順であった。一方、総水酸化体濃度はモルモット>ハムスター>ラット>マウスの順であった。

以上、4種の動物にKC500を投与する時、total T_4 及び T_3 濃度の低下、UGT1A1/6、UGT2B1活性の増加に種差があることが明らかになった。なお、 T_4 濃度低下作用の違いを、KC500の代謝パターンの違いから説明することは難しかった。また、KC500投与によるマウス、ハムスター、ラットにおける T_4 濃度の低下とUGT1A1/6活性との間には相関性は認められなかった。

Species difference among mice, hamsters, rats, and guinea pigs in Kanechlor-500 (KC500)-induced alteration of serum thyroid hormone level

○Yoshihisa KATO¹, Yuriko ITO¹, Tomoaki YAMAZAKI¹, Aki FUJII¹, Shimichi IKUSHIRO², Koichi HARAGUCHI³, Takashi IYANAGI³, Masakuni DEGAWA⁴, Ryohei KIMURA¹, 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

P-067

2, 2', 4', 5', 5'-pentachlorobiphenyl (PentaCB)及び2, 2', 3', 4', 5, 6-hexachlorobiphenyl (HexaCB)の血中甲状腺ホルモン濃度低下作用における動物種差



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

¹静岡県立大学薬学部薬剤学教室, ²第一薬科大学健康化学教室,

³姫路工業大学理学部生命科学科生体物質化学I講座, ⁴静岡県立大学薬学部衛生化学教室

【目的】PCB投与による肝薬物代謝酵素活性の変動ならびにPCBの代謝能の種差と各動物における血中T₄濃度低下作用との関連性を明らかにする。【方法】マウス、ハムスター、ラット及びモルモットに、PentaCB及びHexaCB(マウスの血中total T₄濃度を50%低下させる用量)を腹腔内投与し、投与後4日に血清中甲状腺ホルモン濃度を測定するとともに、肝薬物代謝酵素活性、UGT分子種の発現量、肝臓中のメチルスルホン代謝物及び水酸化体濃度を測定した。【結果・考察】Total T₄濃度は、PentaCB投与により、モルモットを除くマウス、ハムスター、ラットで低下した。また、HexaCB投与では、用いた4種のうちマウスのみtotal T₄濃度の低下が見られ、この時、T₄-UDP-GT活性の有意な増加が見られた。Total T₄濃度は、マウスにPentaCBを投与した場合にのみ、有意に低下した。各PCB投与後の各動物における肝臓中メチルスルホン体及び水酸化体濃度あるいはbenzyloxy-, pentoxy-及びethoxy-resorufin代謝酵素活性の増加とtotal T₄濃度の低下との間には相関性は見られなかった。

以上、4種の動物にPentaCB、HexaCBを投与する時、total T₄及びT₄濃度の低下、抱合活性の増加に種差があることが明らかになった。また、動物種間でのT₄濃度低下作用の違いを、各動物のPCB代謝能の違いから説明することは困難であった。また、マウスのHexaCB投与によるT₄濃度の低下は、UGT1A1/6活性の増加によると考えられるが、マウス、ハムスター及びラットのPentaCB投与によるT₄濃度の低下は、その他の機構によることが示唆された。

Species difference among mice, hamsters, rats, and guinea pigs in 2,2',4',5,5'-pentachlorobiphenyl (PentaCB) and 2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenyl (HexaCB)-induced alteration of serum thyroid hormone level

○Aki FUJII¹, Yoshihisa KATO¹, Koichi HARAGUCHI², Shinichi IKUSHIRO³, Tomoaki YAMAZAKI¹, Yuriko ITO¹, Takashi IYANAGI², Masakuni DEGAWA⁴, Ryohei KIMURA¹, ¹Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan. ²Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka, Japan. ³Himeji Institute of Technology, Faculty of Science, Hyogo, Japan. ⁴Department of Molecular Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan

P-068

ラットにおけるノンプラナー型PCBの出生前曝露が産仔の体成長および甲状腺におよぼす影響

○小林健一¹, 宮川宗之¹, 王 瑞生¹, 須田 恵¹, 関口総一郎¹, 渡部すみ子², 本間健資¹

¹(独行)産業医学総合研究所健康障害予防研究部, ²杏林大学医学部衛生公衆衛生学

【目的】ノンプラナー型PCBである2, 2', 4', 4', 5', 5'-hexachlorobiphenyl (PCB 153)の妊娠曝露に伴う産仔の体成長および甲状腺におよぼす影響について検討した。【方法】妊娠ラットに妊娠第10日から16日にかけて、PCB 153を各群0, 16, 64 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、尾長を測定し、血中甲状腺ホルモン(T₄およびT₃)を時間分解蛍光測定法により測定した。また、甲状腺機能を評価するためにTSH負荷試験を行った。【結果】産仔の体重、体長および尾長において曝露群は対照群と比べて差が認められなかった。64 mg/kg曝露群において血中T₄濃度は、雄では1, 3週齢、雌では1週齢において対照群と比べて有意に減少していた。一方、血中T₃濃度は、雄では1, 3, 9週齢、雌では1週齢において対照群と比べて有意に減少していた。TSH投与によるT₄濃度の反応性は、雄の64 mg/kg曝露群を除いて有意な上昇応答が認められた。【考察】PCB 153の出生前曝露は、甲状腺機能に何らかの影響をおよぼす可能性が示唆されたが、体成長には明確な影響をおよぼさなかった。甲状腺への影響に関わる内分泌的要因については更なる検討が必要である。【謝辞】村瀬正氏に謝意を表す。本研究には、厚生労働省労働基準局長から受託した環境省地球環境保全等試験研究費「内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の生殖系・次世代への影響評価に関する研究(平成14年度)」を使用した。

Effect of in utero exposure to 2, 2', 4', 4', 5', 5'-hexachlorobiphenyl on somatic growth and thyroid status in F1 rat offspring

○Kenichi KOBAYASHI¹, Muneyuki MIYAGAWA¹, Rui-sheng WANG¹, Megumi SUDA¹, Soichiro SEKIGUCHI¹, Sumiko WATANABE^{1,2}, Takeshi HONMA¹, ¹National Institute of Industrial Health, Kanagawa, Japan. ²Kyorin University School of Medicine, Mitaka, Tokyo, Japan

P-069

発がんの分子抑制：酸化ストレス緩和モデルマウスによるベンゼン誘発白血病の抑制

○平林容子¹、川崎 靖¹、淀井淳司²、李 光勲³、尹 秉一⁴、金子豊蔵⁵、黒川雄二⁴、長尾 拓⁵、菅野 純¹、井上 達⁴¹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、²京都大学ウイルス研究所生体応答学、³国家薬物安全評価監視中心、⁴(財)佐々木研究所、⁵国立医薬品食品衛生研究所、⁶国立医薬品食品衛生研究所生物試験研究センター

発がん機構の解明と相俟って、ここに寄与する分子の発現調節など、生物学的に発がんを抑制する研究が進展している。活性酸素種(ROS)の、活用と消去の制御は諸分子のオーケストレーションによるが、ROSの消去系の過剰発現によって、発がんを抑制することが可能かどうかはわかっていない。これが解明されるならば種々の食品や化学物質のin vivoやin vitroの分子抑制系モデルが展望される。

Thioredoxin/Adult T cell leukemia derived factor (Trx/ADF)は、生体におけるROSの消去機構として知られる。我々は、このADFを過剰発現するマウス(ADF-Tg)の造血細胞が紫外線のみならず、パラコートやTCDDといった酸化ストレス誘導物質に対して耐性を示すこと、逆にこのADFのヘテロ欠失マウス由来の造血細胞ではより強い毒性が観察されることを見いだした。更に、パラコートの腹腔内投与による生存率、生存時間も、ADFの遺伝子量依存的であった(第28回学術年会)。ここでは、ADF-Tgマウスがベンゼン誘発白血病を抑制したことから、ベンゼンの毒性機構における酸化ストレスの関与が個体レベルで直接明らかになったので報告する。

ADF-Tgマウス(自繁)を、同腹の野生型のマウスと共に300ppm、1日6時間、週5日のベンゼン間歇吸入暴露を行った。2週間後、野生型では血球系の諸パラメータが有意に減少したが、ADF-Tgマウスではそれらは見られなかった。そこで同様の間歇曝露を26週間行い、白血病発症を観察した。現在曝露開始後96週が経過し、野生型では50%(5/10)が死亡しているが、ADF-Tgでは0%(0/13)である。

Bio-molecular cancer prevention: Attenuation of oxidative stress by thioredoxin over-expression to reduce the benzene leukemia

○Yoko HIRABAYASHI¹, Yasushi KAWASAKI¹, Junji YODOF², Guang-xun LI³, Byung-il YOON⁴, Toyozo KANEKO⁵, Yuji KUROKAWA⁴, Taku NAGAO⁶, Jun KANNO¹, Tohru INOUE⁶, ¹Cellular and Molecular Toxicology Division, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Department of Biological Responses, Institute for Virus Research, Kyoto University, Kyoto, Japan, ³National Center for Drug Safety Evaluation, Beijing, China, ⁴Sasaki Cancer Research Foundation, Tokyo, Japan, ⁵National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ⁶Center for Biological Safety & Research, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-070

Platelet aggregation in cynomolgus monkeys-Part 3

○岡崎啓幸、森 康男、メイヤースチーブン、福岡好一郎、永田良一

SNBL USA, Ltd.

Cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) are commonly used in pre-clinical studies for a drug development but information on platelet aggregation in this species is limited. To this end, we performed 3 experiments to further characterize platelet aggregation parameters in normal cynomolgus monkeys. **Experiment. 1-** Human and monkey platelet aggregation induced by 5 aggregation reagents: adenosine diphosphate (ADP), collagen (COL), arachidonic acid (AA), platelet activating factor (PAF) and epinephrine (EPI), were compared. **Experiment. 2-** EPI potentiation of other four aggregation reagents to induce platelet aggregation was examined. Comparing human and monkey platelet aggregation, notable differences were found when EPI and PAF were used. EPI did not induce platelet aggregation but PAF induced very weak aggregation. Human platelets showed strong aggregation with both agents. Although monkey platelets showed strong aggregation at high ADP concentrations like human platelets, monkey platelet aggregation at low ADP concentration was reversible whereas human platelet aggregation was not reversible at the same concentration. EPI strongly induced platelet aggregation when low concentrations of ADP, COL, AA or PAF were added. EPI alone did not induce platelet aggregation. **Experiment. 3-** The effect of EPI was inhibited by α 2-adrenergic receptor antagonist, yohimbine. Our data suggest that monkey platelets respond to α 2-adrenergic receptor stimulation, which interacts with EPI potentiation of platelet aggregation in the presence of low levels of other aggregation inducing reagents.

PLATELET AGGREGATION IN CYNOMOLGUS MONKEYS-PART 3

○Keikou OKASAKI, Yasuo MORI, Steven MEYER, Koichiro FUKUZAKI, Ryoichi NAGATA, SNBL USA, Ltd. Everett, WA, USA

P-071

イヌとラットにおけるPTとAPTT短縮機序の検討 (in vitro)
—PTおよびAPTT短縮に関するフィブリノゲンの影響—



○笹山由紀子, 山崎尚子, 北澤郁恵, 倉田昌明, 濱田悦昌, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所

【目的】毒性試験においてプロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の短縮がしばしば経験されるが, その意義・機序は明らかでない。今回, この短縮の機序を調べる目的で, イヌ (Marshall Beagle: 雄性) とラット (IGS: 雌性) の血漿を用いて, in vitro でフィブリノゲン (Fbg) の影響を検証した。【方法】イヌとラット血漿にそれぞれ同種の Fbg を添加し, PT と APTT を測定した。また, Fbg の指標としてトロンビン時間 (TT) を測定し, 凝固亢進を確認するためトロンボエラストグラム (TEG) を測定した。【結果】イヌ Fbg を 2, 4, 8 mg/mL (添加 Fbg 最終濃度: 以下, 最終濃度) となるようにイヌ血漿に添加したところ, 全ての濃度で有意な PT と APTT の短縮がみられた。試験管内におけるフィブリノゲン濃度の上昇は, TT の短縮によって確認された。また, TEG ではイヌ Fbg の最終濃度 4 mg/mL において凝固塊形成速度と最大振幅の増大がみられ, 凝固亢進が確認された。一方, ラットではラット Fbg 2, 4, 8 mg/mL (最終濃度) で, PT と APTT の短縮はみられなかった。しかしながら, ラットでも, TT は短縮し, TEG はラット Fbg 1 mg/mL (最終濃度) で凝固亢進を示した。【結論】イヌでは, PT と APTT の短縮がフィブリノゲン濃度の上昇によって生ずることが示され, 毒性学的に凝固亢進や炎症発現の警告となりうる可能性を示唆している。一方, ラットにおいては PT と APTT 短縮を起こす要因はフィブリノゲンに帰属しなく, 今後の検討課題である。

A mechanism for shortening PT and APTT in dogs and rats-Effect of fibrinogen on shortening PT and APTT-

○Yukiko SASAYAMA, Naoko YAMASAKI, Ikue KITAZAWA, Masaaki KURATA, Yoshimasa HAMADA, Ikuro HORII, Toxicology Drug Safety Evaluation Pfizer Global Research & Development Nagoya Laboratories Pfizer Inc.

P-072

ラットにおける肝薬物代謝酵素誘導時の血液凝固系への影響

○黒岩有一, 望月雅裕, 山本 諭, 岡村俊也, 池谷政道, 畠山和久, 寺田あゆみ,
岡崎修三

(株)ボゾリサーチセンター御殿場研究所

【目的】生体異物の血液凝固系への影響は, 出血や血栓症などの重篤な副作用に結びつく可能性がある。我々は, 肝薬物代謝酵素誘導能を有する物質のげっ歯類を用いた毒性試験において, APTT 又は PT の延長をしばしば経験している。今回, 肝薬物代謝酵素誘導能を有する 2 種の薬物をラットに投与した時の血液凝固系への影響を検討した。

【方法】1 群 5 匹の 6 週齢 Crj:CD (SD) IGS 雄ラットに, Phenobarbital を 2 週間強制経口投与 (0, 25, 50 及び 100 mg/kg/日) し, 投与終了後に PT, APTT, Fibrinogen 及び Antithrombin III (AT-III) 濃度を測定した。同時に肝臓の病理組織学検査と肝ミクロソームについて CO スペクトル測定により Cytochrome P450 含量を測定するとともに, ウエスタンブロット法により CYP2B1 の誘導の有無を確認した。また, 別の試験群には Phenobarbital とは異なる P450 サブタイプを誘導する Caffeine を 2 週間経口 (0.5%) 投与し, 同様の検査を行った。

【結果及び考察】Phenobarbital 投与では, 用量に関連して APTT の延長 (対照群平均に比べ最大 +17%) と血漿中 AT-III 濃度の増加 (対照群平均に比べ最大 +28%) がみられた。病理学検査では, 肝臓重量の増加及び小葉中心帯肝細胞の肥大がみられ, 肝ミクロソーム中の P450 含量の増加及び CYP2B1 の誘導もみられた。Caffeine 投与には, APTT 及び PT に影響はなかったが, 血漿中 AT-III 濃度の増加 (対照群平均に比べ +23%) 及び P450 含量増加がみられた。これらのことから, 肝薬物代謝酵素誘導が AT-III や APTT に影響を与えることが示唆された。

Effects of hepatic drug-metabolizing enzyme induction on blood coagulation in rats

○Yuichi KUROIWA, Masahiro MOCHIZUKI, Satoshi YAMAMOTO, Toshiya OKAMURA, Masamichi IKEYA, Kazuhisa HATAYAMA, Ayumi TERADA, Syuzo OKAZAKI, Bozo Research Center Inc., Gotemba Laboratory, Gotemba, Japan

P-073

カニクイザルにおける血液中組織因子 (TF) 活性測定法の検討

○野口規子¹, 難波美保¹, 渡辺亮介², 桜井貴之¹, 長谷川妙子¹, 小田部耕二¹, 小泉妙子¹, 渡部一人¹

¹中外製薬(株)安全性研究部, ²中外製薬(株)前臨床研究第一部

【目的】組織因子 (TF) は凝固系カスケードのイニシエーターであり、近年単球も TF を産生することが明らかになった。Santucci R.A.ら¹⁾は、ヒト血液に LPS を加えた際の凝固時間が単球の TF 活性を反映するとして、TiFaCT (Tissue Factor Clotting Time) Assay を考案し、高反応者と低反応者が存在することを明らかにした。実験動物におけるこの個体差は抗凝固薬等の反応性に影響を与えるものと思われる。我々は本アッセイがカニクイザルに適用可能か否かの検討を行った。

【方法】3~4 歳齢の中国産カニクイザル雌雄各 20 匹を使用し、3.2%グエン酸ナトリウムを用いて採血した。装置は Sonoclot (血液凝固・血小板機能分析装置, Sienco) を使用した。各血液につき LPS 添加と無添加サンプルを作製し、37℃4 時間インキュベートして測定を行った。評価は Onset time (液層からゲル形成が始まった点) 等で行った。併行して FACS Calibur (BD Biosciences) を用い、各白血球における TF 陽性細胞の比率を求めた。

【結果】LPS 添加サンプルは無添加サンプルに比べ Onset time が短縮し、ヒトと同様の反応を示した。両サンプル間の Onset time の差は 183 秒から 4 秒と、カニクイザルにおいても高反応個体と低反応個体が存在することが明らかになった。LPS に対する TF 陽性細胞比率の増加は、単球は高反応性、顆粒球は低反応性、リンパ球は無反応性であり、LPS 添加による Onset time の短縮は主として単球の TF 発現に由来していることが示唆された。

1) Santucci R.A., et al. (2000) Thromb. Haemost., 83, 445-54.

New measurement method of tissue factor (TF) activity in whole blood of cynomolgus monkeys

○Noriko NOGUCHI¹, Miho NANBA¹, Ryosuke WATANABE², Takayuki SAKURAI¹, Taeko HASEGAWA¹, Kouji OTABE¹, Taeko KOIZUMI¹, Kazuto WATANABE¹, ¹Safety Assessment Department, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan, ²Pre-Clinical Research Department 1, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P-074

ヒト用ラテックス凝集試薬キットを用いたラットとイヌの血漿 D-dimer 測定について

応

○山崎尚子, 笹山由紀子, 北澤郁恵, 倉田昌明, 濱田悦昌, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所

【目的】D-Dimer は、血液凝固・線溶系異常を評価できるマーカーとされている。最近、実験動物における D-dimer の測定について、ヒト用 Latex 凝集法キットを使用したラット血漿 (使用キット; D-Di TEST, Roche Diagnostics; 以後 Roche キット) とイヌ血漿 (使用キット; Accuclot™ D-Dimer; 以後 Sigma キット) の測定例が報告されたが、評価系としての是非は明確にされていない。今回、ラットとイヌ血漿について、ヒト用 Latex 凝集法キットを用いて検討を行った。【方法】以下に述べる各試料に D-dimer Latex を等量加えて、凝集反応の有無を確認した。【結果】Roche キットは、ラットのユーグロブリン (EL) 分画に凝集反応を示し、プラスミン (Plm) による Ca 再加血漿凝固塊溶解液にも反応した。一方、ラット正常血漿、ラットフィブリノゲン (Fbg) 標品および Ca 再加凝固塊上清では陰性~擬陽性の反応を示した。また、ラット Fbg 標品に Plm を添加した溶液についても、凝集性以上にはならなかった。Sigma キットは、イヌの EL 分画に陽性反応を示し、また Plm による Ca 再加血漿凝固塊溶解液にも反応した。一方、イヌ正常血漿、Ca 再加血漿凝固塊上清とイヌ Fbg 標品には反応しなかった。しかし、イヌ Fbg 標品に Plm を添加した溶液には反応を示した。【結論】Roche キットは、Fbg に対する擬陽性反応に留意すれば、ラットの D-dimer 検出に使用できる可能性を示唆している。また、Sigma キットは、D-dimer に特異的ではないものの、イヌの FDP に対する反応性が示され、凝固・線溶異常は検出できることを意味している。

Measurements for rat and canine D-dimer in plasma using human clinical latex agglutination reagents

○Naoko YAMAKAKI, Yukiko SASAYAMA, Ikue KITAZAWA, Masaaki KURATA, Yoshimasa HAMADA, Isao HORII, Toxicology, Drug Safety Evaluation, Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc.

P-075

ラットの血液・骨髄検査値に及ぼす摂餌量減少の影響とその週齢差

〔応〕

○浅沼富美子¹、宮田裕人¹、吉野佳子¹、多田美佳¹、中村 勇¹、岩城理進¹、木村正明¹、松本清可²

¹大正製薬(株)医薬研究所安全性研究室、²信州大学

【目的】我々は第29回本学会にて、6週齢ラットを用いて5-FU投与群と給餌制限群の比較検討を行い、両群の検査値の多くが類似の挙動を示すことを報告した。今回、12週齢ラットを用いて同様の実験を行い、血液・骨髄の変化について前回報告した6週齢の結果と比較検討した。

【材料及び方法】生後12週齢のラットを用いて、飽食群、5-FUの12、15、18mg/kgを14日間経口投与する5-FU群と5-FU群の摂餌量と同量を給餌する給餌制限群(R12、R15、R18)を設け、体重測定、血液、骨髄及び病理組織学的検査を実施した。

【結果及び考察】5-FU群に摂餌量の減少がみられ、その影響は、6週齢よりも12週齢で、若干強い傾向を示した。12週齢では、全群に網赤血球及び骨髄有核細胞数の減少がみられ、その影響は、5-FUの15、18mg/kg群とR15、R18群の場合、6週齢の同群に比べ、それぞれ程度であった。なお、6週齢の5-FU 15又は18mg/kg群及び同給餌制限群でみられた白血球及び骨髄総顆粒球数の減少は、12週齢では認められなかった。以上、5-FU投与及び給餌制限による血液・骨髄検査値への影響は12週齢の動物で若干程度であった。安全性試験における血液学的評価において、実験開始時の週齢を考慮した解析の必要性が示唆された。

Age-related hematological characteristics in dietary reduced rats

○Fumiko ASANUMA¹、Hirotoshi MIYATA¹、Yoshiko YOSHINO¹、Mika TADA¹、Isamu NAKAMURA¹、Yoshinobu IWAKI¹、Masaaki KIMURA¹、Kiyoshi MATSUMOTO²、¹Toxicology Laboratory, Medicinal Research Laboratories, Taisho Pharmaceutical Co., Ltd., Saitama, Japan. ²Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Nagano, Japan

P-076

実験動物のALP測定の標準化

○島山和久¹、川鍋 剛²、木村 敬³、山本光雄⁴、久保野勝男⁵、小田部耕二⁶、野村 護⁷、菰田二一⁸

¹(株)ポリリサーチセンター御殿場研究所、²(株)ヘレナ研究所、³トーアエイヨー(株)、⁴協和発酵工業(株)、⁵(株)エスアールエル、⁶中外製薬(株)、⁷第一製薬(株)、⁸埼玉医科大学第一生化学

【目的】毒性試験で頻りに測定される血中ALPについて、ラット、マウス、イヌ及びサルの特徴を検討するとともに、動物に適したALP活性測定法を検討する。

【方法】ALP活性はp-NPPを基質とした自動分析法、アイソザイム分析は1)セルロースアセテート膜(TITAN III;ヘレナ研究所)2)アガロースゲル(REP-ALP;ヘレナ研究所)3)ポリアクリルアミドゲル(AlkPhor SYSTEM;常光)による電気泳動法を用いた。

【成績】ラット、マウス、イヌ及びサルに共通して血中には骨及び肝ALPがみられた。ラットではさらに小腸ALPが検出された。1)ラットの血清総ALP活性は、雄>雌で、7から15週齢頃まで急激に低下した(主に骨ALP低下)。絶食により小腸ALPは大きく低下した。胆汁鬱滞モデルでは肝ALPが著増した。2)マウスの血清ALP活性は、雌>雄で、7から30週齢まで低下した(主に骨ALP低下)。絶食による血清ALP活性の変化はなかった。胆汁鬱滞モデルでは肝ALPが著増した。ステロイド誘導ALPは正常動物ではごくわずかであった。3)サルの血清ALP活性は、雄>雌で、雄は6歳前後、雌は4歳前後まで低下した(主に骨ALP低下)。絶食による血清ALP活性の変化はなかった。

現在、これらの特徴を踏まえ血中ALP活性測定に及ぼす緩衝液(緩衝液:MEG、DEA、EAE)の差を検討中である。

Standardization of the available methods of serum (plasma) alkaline phosphatase activities in the tested experimental animals

○Kazuhisa HATAYAMA¹、Tsuyoshi KAWANABE²、Takashi KIMURA³、Mitsuo YAMAMOTO⁴、Katsuo KUBONO⁵、Kouji OTABE⁶、Mamoru NOMURA⁷、Tsugukazu KOMODA⁸、¹Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc., Shizuoka, Japan. ²Helena Laboratories Co., Ltd., Saitama, Japan. ³Toa Eiyo Ltd., Tokyo, Japan. ⁴Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd., Tokyo, Japan. ⁵SRL, Inc., Tokyo, Japan. ⁶Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan. ⁷Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan. ⁸First Department of Biochemistry, Saitama Medical School, Saitama, Japan

P-077

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
—一次刺激性物質、免疫賦活物質による細胞表面マーカー発現の違い—

○井上智彰、小林和子

中外製薬(株)鎌倉研究所前臨床研究第二部

医薬品探索早期に行う毒性試験は、必要とされる被験薬物の量が少ないこと、試験期間が短く同時に多くの薬物の評価ができることが必要とされるが、抗原性試験に関しては抗原特異的免疫反応を誘導するために数週間かかり、早い評価に難点があった。今回、*in vitro* 抗原性試験法検討の一環として、マウスの骨髄細胞から *in vitro* で誘導した樹状細胞を用い、一次刺激性物質、免疫賦活物質に *in vitro* で暴露後の、T cell co-stimulatory 分子の発現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 日前に一次刺激性物質 (benzalkonium chloride, sodium lauryl sulfate)、免疫賦活物質 (diclofenac, muramyl dipeptide) 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】各細胞表面マーカー共に類似の発現変化を示したが、一次刺激性物質に対しては陽性細胞の割合が増加し、免疫賦活物質に対しては陽性細胞当たりの発現強度が強くなる傾向にあった。これらの結果から、一次刺激性物質と免疫賦活物質の作用の違いを本試験系で区別して評価できる可能性が示唆された。抗原性物質については、昨年本学会で発表したように陽性細胞の割合が増加し、その作用を一次刺激性物質と区別するために更に詳細な検討が必要であると考えられた。

Investigation of *in vitro* antigenicity study by using dendritic cells induced from mouse bone marrow cells. Different expressions of cell surface markers by irritants and immunostimulants.

○Tomoaki INOUE, Kazuko KOBAYASHI, Pre-clinical Research Dept. 2, Kamakura Research Center, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Kamakura, Japan

P-078

Immune system assessment on fetus, neonate and juvenile of cynomolgus monkeys

○岡崎啓幸、コンドンウィリアム、コールドターグレッグ、ジャバー・ジェイコブ、
クラインリチャード、メルトンロバート、メイヤースチーブン、福岡好一郎、永田良一

SNBL USA, Ltd.

Cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) are commonly used in pre-clinical studies for drug development but information on immune system in fetus, neonate, and juvenile of this species is very limited. To this end, we performed immuno-phenotyping analysis on whole blood samples using antibodies against CD3, CD4, CD8, CD45, CD71 in order to measure the relative percentages of CD+ cells. Blood samples were taken from cord vein at C-section, and femoral vein of neonates or juveniles at Day 2, and 3 and 6 months after birth, and femoral vein from the mother. Whole blood samples were immunostained with fluorochrome-conjugated antibodies and analyzed using FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson). There was a decrease in CD3 and CD8 positive cell ratios in mothers post birth as compared to mothers at 100 days of gestation. The ratio of CD71 positive cells in the cord blood was higher than the mother's peripheral blood. The ratios in the neonate and juveniles were similar to the mother's peripheral blood. When comparing blood from the cord, neonate and juvenile, the ratios of CD8 positive cells were lower in the cord blood and the neonate. The ratio of CD45 positive cells was also lower in the cord blood than mother's level. In conclusion, the observed changes in cellular immunophenotype of cord, neonate, and juvenile blood might reflect different immune maturation stages.

IMMUNE SYSTEM ASSESSMENT ON FETUS, NEONATE AND JUVENILE OF CYNOMOLGUS MONKEYS

○Keikou OKASAKI, William c. CONGDON, Greg COULTER, Jacob JABBOUR, Richard KLEIN, Robert MELTON, Steven MEYER, Koichiro FUKUZAKI, Ryoichi NAGATA, SNBL USA, Ltd., Everett, WA, USA

P-079 カニクイザルの末梢血中リンパ球サブセットの評価方法



○今井統隆¹、福田剛司¹、中村隆広¹、和泉博之¹、鮫島秀暢¹、永田良一¹

¹(株)新日本科学安全性研究所、²金沢大学大学院医学系研究科医学部医学科環境生態医学

薬物の免疫毒性試験は一般的にマウスあるいは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評価に有用と考えられる。また、バイオ製剤などについては、マウスやラットが評価に適さない場合が多い。免疫毒性試験において一般的に行われている評価方法は、脾臓・胸腺などの免疫系器官の重量や病理組織学的検査、並びに末梢血中リンパ球サブセット測定などである。これらの測定は投薬終了後の測定になるため、バックグラウンドとの評価になる。サルにおいては個体差が大きい。十分なバックグラウンドを揃えておく必要がある。これまでに測定したカニクイザルの末梢血中リンパ球サブセットのバックグラウンドは、ヒトと同様、ばらつきが大きいことが判明した。カニクイザルを用いた末梢血中リンパ球サブセット測定における特徴は、投薬前後を含め、経時的な測定が可能である。これまでのバックグラウンドを個別に経時的、つまり日間差を調べた結果、リンパ球サブセット比率はほぼ一定であることが判明した。カニクイザルを用いた免疫毒性試験は、個体差が大きく、評価の難しさがあつたが、末梢血中リンパ球サブセットの測定は、投薬の前後、あるいは経時的な変化を調べるにより、薬物の免疫毒性を鋭敏に調べられることが示唆された。

Evaluation methods for lymphocyte subsets in peripheral blood of cynomolgus monkeys

○Noritaka IMAI¹, Takeshi FUKUDA¹, Takahiro NAKAMURA¹, Hiroyuki IZUMI¹, Hidenobu SAMESHIMA¹, Ryouichi NAGATA¹,
¹Drug Safety Research Laboratories, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Kagoshima, Japan. ²Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Ishikawa, Japan

P-080 ラット末梢血リンパ球タイピングによる免疫抑制作用の検討：DMBA、ベンゼン、EGME 投与ラット末梢血を用いた基礎検討

○垣内智子、三浦大志郎、飯島 剛、尾形昭子、城之内公子、楠 知恵、小原さち子、笠原義典、宇野 洋

帝人(株)医薬開発研究所安全性研究部

【序】ラットに DMBA、ベンゼン、EGME を投与してフローサイトメトリー (FCM) による末梢血リンパ球タイピングを実施し、免疫系器官の重量および血液学的検査での変化と比較して免疫抑制作用評価における有用性を検討した。

【方法】C₅₇B/6J (SD) IGS ラットに、7 週齢から被験物質を 2 週間反復経口投与した。検査項目として、体重、免疫系器官の剖検 (胸腺、脾臓、下顎部リンパ節、副腎リンパ節の大きさ) と重量測定 (胸腺、脾臓、下顎部リンパ節)、血液学的検査 (白血球分類絶対数を含む) およびリンパ球タイピングを実施した。リンパ球タイピングでは、フローサイトメーター (EPICS XL-MCL) により表面抗原 (CD3、CD4、CD8、CD45RA) 陽性細胞数の比率・絶対数を解析した。

【結果と考察】DMBA では B リンパ球数の減少が免疫系器官の小型が認められる用量と同用量から認められた。ベンゼンでは T リンパ球数の減少が免疫系器官の小型が認められる用量より低用量から認められた。EGME では T リンパ球数の減少が免疫系器官の小型が認められる用量より低用量から認められた。上記 T あるいは B リンパ球数の減少は、体重の減少が認められない低用量から認められた変化であった。以上より、末梢血リンパ球タイピング検査は標的となるリンパ球画分の同定に有用であり、免疫系器官の重量あるいは血液学的検査より感度よく免疫抑制作用を検出できる可能性が示唆された。

Examination of immunosuppression by rat peripheral lymphocytes phenotyping: basic examination using rat peripheral blood after dosing DMBA, benzene, EGME

○Satoko KAKIUCHI, Daishiro MIURA, Takeshi IJIMA, Shoko OGATA, Kimiko JONOUCHI, Chie KUSUNOKI, Sachiko OHARA, Yoshinori KASAHARA, Hiroshi UNO, Safety research department, Pharmaceuticals development research laboratories, TEIJIN LIMITED, Tokyo, Japan

P-081

Vincristine (VCR), cyclophosphamide (CP) 及び 5-fluorouracil (5-FU) によるラット造血免疫系の障害及び回復性の比較

○森本秀樹, 柴田誠司, 谷藤久人, 長崎修治, 見上 崇, 久田 茂

帝国臓器製薬(株)安全性・代謝研究部

抗腫瘍薬による造血免疫系の障害及び回復性の差異と作用機序との関連性について検討した。【方法】作用機序の異なる3種類の抗腫瘍薬をLD₅₀値の約1/3量(VCR 0.25mg/kg, CP 50mg/kg, 5-FU 200mg/kg)で各々6週齢の雄Crj:CD(SD)IGSラットに単回静脈内投与し、1, 3, 7, 14及び28日後に血液学的検査, 器官重量測定, 骨髄検査及び造血前駆細胞数(CFU-E, BFU-E, CFU-G及びCFU-GM)の測定を行った。【結果】CFU-E, BFU-E, CFU-G及びCFU-GMは、1日後にVCR群及びCP群で顕著に減少し、5-FU群では軽度に減少した(いずれも3日後に回復)。骨髄細胞数は、VCR群及びCP群では1~7日後に同程度に減少し(14日後に回復)、5-FU群では1日後に軽度に減少した(3日後に回復)。一方、VCR群及びCP群では、脾重量が1~3日後に減少し(7日後に回復)、末梢血リンパ球数及び好中球数は1~14日後に減少したが(28日後に回復)、CP群における脾重量及びリンパ球数の減少はVCR群と比較して顕著であった。【考察】VCR(M期特異的にapoptosisを誘発)及びCP(細胞周期非特異的にapoptosisを誘発)をLD₅₀値の約1/3量で単回投与した後は、作用機序の相違に関わらず、CFU-G, 骨髄細胞数及び末梢血好中球数の減少は類似したパターンを示し、両薬物による顆粒球系の障害及び回復性はほぼ同一であった。しかし、リンパ球に対するCPの障害性はVCRに比べて強いことが示された。一方、5-FU(代謝拮抗剤)もLD₅₀値の約1/3量を単回投与したが、顆粒球及びリンパ球に対する障害性はVCR及びCPに比べて明らかに軽度であった。

Comparison of single doses of vincristine (VCR), cyclophosphamide (CP) and 5-fluorouracil (5-FU)-induced toxicity development and recovery in rat hemopoietic system

○Hideki MORIMOTO, Seiji SHIBATA, Hisato TANIFUJI, Syuji NAGASAKI, Takashi MIKAMI, Shigeru HISADA, Safety & Pharmacokinetics Research Department, Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.

P-082

Vincristine (VCR), cyclophosphamide (CP) 及び 5-fluorouracil (5-FU) の単回投与後における脾臓及び末梢血のリンパ球サブセット数の変化

○柴田誠司, 森本秀樹, 谷藤久人, 長崎修治, 福井規雄, 大坪朱徳, 見上 崇, 久田 茂

帝国臓器製薬(株)安全性・代謝研究部

【目的】免疫毒性のスクリーニングの一部としてフローサイトメトリー(FCM)を実施する場合に、脾臓及び末梢血のいずれを用いるべきかについて検討するため、抗腫瘍薬投与後の脾臓及び末梢血におけるT及びB細胞数の変化を比較した。【方法】3種類の抗腫瘍薬(VCR 0.25mg/kg, CP 50mg/kg及び5-FU 200mg/kg)を6週齢の雄Crj:CD(SD)IGSラットに単回静脈内投与し、1, 3, 7, 14及び28日後に脾臓及び末梢血のFCMを実施した。【結果】脾臓及び末梢血に共通して、VCR群では投与後1~7日におけるB細胞数の減少及び3日後におけるT細胞数の減少が認められ、CP群では投与後1~7日にT及びB細胞数が減少(末梢血においてより顕著)し、また、5-FU群では投与後1日にB細胞数が減少した。しかし、VCR群の投与後7~14日におけるT細胞数の減少は末梢血のみに認められ、5-FU群の投与後3日におけるT及びB細胞数の減少は脾臓のみに認められた。【考察】脾臓及び末梢血のT及びB細胞数は多くの場合に相関して変化したが、変化のパターンあるいは程度が両者で異なる場合のあることが明らかとなった。したがって、FCMは脾臓及び末梢血の両者を実施する必要のあることが示唆されたが、脾臓の詳細な病理学的検査と併せて末梢血のFCMを実施することにより、免疫系の変化に関するより多くの知見が得られるものと思われた。

Comparison of the changes in numbers of lymphocyte subsets from the spleen and peripheral blood after single doses of vincristine, cyclophosphamide and 5-fluorouracil in rats

○Seiji SHIBATA, Hideki MORIMOTO, Hisato TANIFUJI, Syuji NAGASAKI, Norio FUKUI, Syutoku OHTSUBO, Takashi MIKAMI, Shigeru HISADA, Safety & Pharmacokinetics Research Department, Teikoku-Hormone Mfg. Co., Ltd., Kawasaki, Japan

P-083

Assessment of the primary antibody response to hemocyanin from keyhole limpet in sprague-dawley rat and cynomolgus monkey.

○ルソトーリン, ルロウナタリー, デジレジネット, ジョン・バプティストジョアン, リフォンレネ

Immunology Laboratories, Analytical Chemistry and Bioanalysis, CTBR Bio-Research Inc.

Immunotoxicity testing guidance: (FDA) Final Guidance for Industry: "Immunotoxicology Evaluation of Investigational New Drugs, the European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMEA): "Note for Guidance on Repeated Dose Toxicity and the "Interim Draft Guidance For Immunotoxicity testing" (MHLW/JPMA) have recommended the T-cell dependent antibody response assay to monitor the holistic immune response. KLH used as antigen and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) monitoring for antibody formation provides advantages over traditional methodology (sheep red blood cell (SRBC) / plaque forming cell (PFC) assay). Rats and monkeys were immunized, intravenously and subcutaneously, respectively, with KLH. In addition, another subset of rats was treated with a known immunosuppressive agent (cyclophosphamide). Blood collections were performed in order to assess the anti-KLH IgM antibody peak response and the effect of cyclophosphamide. The production of anti-KLH IgM antibody was detected in serum using fully validated ELISAs. ELISAs consisted of plates coated with KLH, adding the test serum, and the antibodies then detected using a peroxidase conjugated secondary antibody; a colorimetric substrate was used for color development. The anti-KLH IgM peak response was between 4 and 6 days for rats and between 5 and 13 days for the monkeys post-injection of KLH. The Anti-KLH IgM antibody response for rats that received cyclophosphamide treatment was below the limit of quantitation of the ELISAs. Results showed that the T-cell dependent antibody response using KLH as antigen and ELISAs to detect the antibody production could be used as a reliable alternative method to the SRBC/PFC assay.

ASSESSMENT OF THE PRIMARY ANTIBODY RESPONSE TO HEMOCYANIN FROM KEYHOLE LIMPET IN SPRAGUE-DAWLEY RAT AND CYNOMOLGUS MONKEY.

○Lynne LESAUTEUR, Nathalie ROULEAU, Ginette DÉSILETS, Johane JEAN-BAPTISTE, René RIFFON, Immunology Laboratories, Analytical Chemistry and Bioanalysis, CTBR Bio-Research Inc., Senneville (Montreal), Quebec, Canada

P-084

Comparison of the Allergenic Potency of HCA and MBT in Six Strains Mice in Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

○Ullmann Ludwig

RCC Ltd Toxicology Division

Keyword LLNA

The Murine Local Lymph Node Assay (LLNA), which has been accepted by the OECD since 2000 as a stand alone alternative to the Guinea Pig Maximization Test (GPMT), has been largely used for assessing the allergenic contact dermatitis potential of chemicals. According to the OECD Draft Guideline No. 429 [November 2000] the animal species of choice are CBA/Ca or CBA/J mice.

To test and compare the suitability of these and other mouse strains for assessing the allergenic potency of a chemical, two positive-control chemicals, Alpha-Hexylcinnamaldehyde (HCA) and 2-Mercapto-Benzothiazole (MBT), were tested at three doses in the following six mouse strains at RCC: CBA/CaOlaHsd, CBA/Ca (CruBR), CBA/Jlbm (SPF), CBA/JNCrj, Balb/c, and NMRI. For each strain test groups of four mice were topically treated with HCA or MBT at 5%, 10%, or 25% (w/w) in acetone:olive oil, 4:1 (v/v) on three consecutive days. A control group for each strain of mouse was treated with vehicle only. Five days after the first topical application the proliferation capacity of the lymph node cells was determined by their incorporation of ³HTdR, which was measured in a β -scintillation counter, compared with that recorded in negative control groups.

The test results indicate that CBA/CaOlaHsd mice should be the first choice for assessing allergenic potency. Balb/c mice are also a potential test strain for LLNA tests. CBA/Ca (CruBR) and NMRI strains of mice are not suitable for assessing the allergenic potency of chemicals.

Comparison of the Allergenic Potency of HCA and MBT in Six Strains Mice in Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

○Ludwig Ullmann, RCC Ltd Toxicology Division Itingen Switzerland

P-085

薬物によるアレルギー発現機序の研究 第27報 - T7Select Phage Display System を用いた Carrier Protein のスクリーニング法の確立 -

○齋藤 博, 亀井好美, 戸田品久, 繪柳玲子, 重松秀成

第一薬科大学薬学部衛生化学教室

【目的】薬物は一般に低分子（分子量 1,000 以下）のため抗原性を示さず、生体高分子と結合し抗原性を獲得した結果アレルギー反応を引き起こすと考えられている。現在、アレルギーを引き起こす薬物は多数報告されているが、そのアレルギー発現メカニズムに関する明確な報告は少なく、早急な解明が必要である。当研究室の重松らは、Sulphamethoxazole (SMX) および Procainamide (PA) 投与ラット肝より数種類のキャリアープロテインを単離・同定している。しかし、現在用いている方法では微量のタンパク質しか得ることが出来ず、解析できないキャリアープロテインもある。本研究では SMX ならびに PA 投与ラット血清と免疫複合体を形成する T7SelectPhage を Phage Display System により簡便にスクリーニングし、キャリアープロテインの単離・同定を行うことを目的とした。【方法】ラット3匹を1群とし、SMX, PA をそれぞれ腹腔内へ反復投与した。次いで、ラットより血清を調製し、プレートに固定後、Phage のスクリーニングを行った。【結果・考察】SMX ならびに PA 処理ラットより得られた血清と免疫複合体を形成し、薬物未処理ラットより得られた血清とは免疫複合体を形成しない Phage より分子量約 300~1500 bp の cDNA が数種類単離された。これらの cDNA を解析したところ、ラット肝に存在するタンパク質をコードしており、薬物アレルギーのキャリアープロテインであることが強く示唆された。本法は、SMX, PA のみならず多くの薬毒物によるアレルギーの発現機構の解明に有用であると思われる。

Mechanism study for a drug allergy (The 27th): Establishment of the screening method for carrier proteins using T7Select phage display system.

○Hiroshi SAITO, Yoshimi KAMEI, Akihisa TODA, Reiko EYANAGI, Hidenari SHIGEMATSU, Department of Hygienic Chemistry, Daichi University, College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka, Japan

P-086

合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究Ⅶ：合成卵胞ホルモン剤の男性化発現における構造活性

○大田泰史, 石井三和子, 吉長和幸, 和泉宏幸, 木村栄介, 吉田龍二, 北里光江, 島津伸也, 花田真矢, 米原裕子, 樋口剛史, 古川浩美, 平塚秀明, 川島邦夫

(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

妊娠後期の胎児がホルモン作用を有する化学物質に暴露された場合、胎児の性分化が障害され、性分化異常(男性化症、女性化症)が惹起されることが知られている。今回は estadiol (E), ethinylestadiol (EE), mestranol (M), diethylstilbestrol (DES), hexestrol (HS) の高用量投与による強力作用を雌ラット胎児の泌尿生殖中隔 (UVS) の短縮を指標にして検討した。合成卵胞ホルモン剤は妊娠 16 日目から 19 日までの 4 日間母ラットに経口投与した。妊娠 20 日に摘出した胎児をブアン液で 2 週間固定した後、腰部の連続矢状断片を作り H-E 染色を施し 1 mm を 10 等分したマイクロメーターを組み込んだ実体顕微鏡下で UVS の長さを計測した。EE, M および DES の投与により UVS の短縮(男性化)が観察されたが、E および HS 投与では UVS の短縮は観察されなかった。E の 17 位に ethynyl 基を導入した EE は男性化作用を発現し、EE の 3 位に methyl ether を導入した M はさらに強い男性化作用を示した。Stilben 系化合物である DES の男性化作用は steroid 系化合物より弱いことが明らかとなった。

Study on virilizing of the female fetuses in rat by high-dose administration of a synthetic hormone VII: Structure activity in virilizing discovery of a synthetic estrogen agent

○Takafumi OHTA, Miwako ISHII, Kazuyuki YOSHINAGA, Hiroyuki IZUMI, Eisuke KIMURA, Ryuji YOSHIDA, Mithoe KITAZATO, Shinya SHIMAZU, Shinya HANADA, Yuuko YONEHARA, Tsuyoshi HIGUTHI, Hiromi FURUKAWA, Hideaki HIRATSUKA, Kunio KAWASHIMA, Panapharm Laboratories Co., Ltd

P-087

合成ホルモン剤の高用量投与によるラット雌胎児の男性化に関する研究 8 :
Testosterone propionate の雌胎児直接投与による男性化に及ぼす胎児断頭の影響

○和泉宏幸, 吉田龍二, 島津伸也, 花田真矢, 米原裕子, 吉長和幸, 木村栄介, 大田泰史,
北里光江, 樋口剛史, 古川浩美, 平塚秀明, 川島邦夫

(株)パナファーム・ラボラトリーズ研究本部安全性研究部安全性試験室

【目的】 Testosterone propionate (TP) の胎児直接投与による男性化作用がラットで確認されており、その臨界期が妊娠 18 日であることも判明している。今回は、TP による男性化発現における中枢関与の有無について検索した。【方法】 妊娠 18 日のラットの腹部をエーテル麻酔下で正中切開し、子宮角の一部を腹腔外に露出したのち、子宮壁を介して胎児の腎部及び視床下部に TP の 1, 5 及び 10 μ g/body を直接投与した。また、10 μ g 腎部投与の一部の胎児については、投与後 Down と Leroy の方法に準じて断頭した。すべての処置が終了したのち、子宮角を腹腔内に戻し、腹壁を縫合した。妊娠 20 日に摘出した胎児をブアン液で 2 週間固定したのち、腰部の矢状断切片を作り、H-E 染色を施し、1 mm を 10 等分したマイクロメーターを組み込んだ実体顕微鏡下で泌尿生殖器中隔 (UVS) の長さを計測した。【結果】 視床下部投与の胎児では、すべての TP 投与群で UVS の長さが有意に短縮した。腎部投与の胎児では、5 μ g 以上の投与群で UVS の長さが有意に短縮したが、1 mg 投与群では対照群とほぼ同等であった。視床下部投与と腎部投与を比較すると UVS の短縮は視床下部投与に強く現れ、男性化発現への胎児中枢の関与が示唆された。しかし、断頭により中枢の影響を遮断した胎児と非断頭胎児の UVS の長さに大きな差はみられず、中枢への関与を明らかにすることはできなかった。

Study on virilizing of female fetuses in rat by high-dose administration of a synthetic hormone VIII: Effect of decapitation on the virilizing of female fetus by direct administration of testosterone propionate

○Hiroyuki IZUMI, Ryuji YOSHIDA, Shinya SHIMAZU, Shinya HANADA, Yuko YONEHARA, Kazuyuki YOSHINAGA, Eisuke KIMURA, Takafumi OTA, Mitsue KITAZATO, Tsuyoshi HIGUCHI, Hiromi FURUKAWA, Hideaki HIRATSUKA, Kunio KAWASHIMA, The department of toxicology, Panaparm Laboratories Co., Ltd., Kumamoto, Japan

P-088

Evaluation of Developmental Toxicity and Placental Transfer of The New Fluoroquinolone DW-116 in Rats

○キム鍾春¹, 尹孝仁², キム亨津³, 鄭文九⁴, 申東虎¹

¹大韓民國全南大學校獸醫科大學獸醫學科, ²大韓民國忠南大學校獸醫科大學獸醫學科,
³大韓民國生命工學 Research Institute, ⁴大韓民國安全性評價 Research Institute

Recently we have reported that the new fluoroquinolone DW-116 induces a significant developmental toxicity in rats. To better understand the teratogenic effects of DW-116 in the present study, the test chemical was orally administered to pregnant rats from gestational day (GD) 6 through 16 at 0, 320, 400, and 500 mg/kg/day. All dams were subjected to caesarean section on GD 20 and their fetuses were examined for morphological alterations. At above 400 mg/kg, severe decreases in maternal body weight gain, food consumption, litter size, fetal weight and placental weight and severe increases in resorption rate and fetal abnormalities were observed. At 320 mg/kg, mild decreases in maternal body weight gain, food consumption, fetal weight and placental weight and mild increases in fetal variations and retardations were observed. To characterize the placental transfer and pharmacokinetics of DW-116, pregnant females were given a single oral dose of 500 mg [14C]DW-116/kg on GD 18. The [14C]DW-116-derived radioactivity was rapidly distributed to the fetus and slowly eliminated from the tissue. The radioactivity in both maternal plasma and fetal tissue reached its peak within 1 hr and maintained the level of radioactivity up to 16~28% of the peak level until 24 hr after dosing. These results indicate that DW-116 is embryotoxic at above 320 mg/kg and is embryo-lethal and teratogenic at above 400 mg/kg in pregnant rats, and that DW-116 or relevant metabolites can cross the blood-placenta barrier in pregnant rats, suggesting that the placental transport kinetic properties of DW-116 are critical factors for the developmental toxicity induced by DW-116.

Evaluation of Developmental Toxicity and Placental Transfer of The New Fluoroquinolone DW-116 in Rats

○Jong-choon KIM¹, Hyo-in YUN², Hyoung-chin KIM³, Moon-ko CHUNG⁴, Dong-ho SHIN¹, ¹College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju, Korea, ²College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea, ³Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Daejeon, Korea, ⁴Korea Institute of Toxicology, Daejeon, Korea

P-089

生殖発生毒性を有する Methyl methanesulfonate による酸化ストレス応答タンパク質の誘導

応

○芦野 隆¹, 大石昌子¹, 安富祖文香¹, 小沢重成², 沼澤 聡¹, 吉田武美¹¹昭和大学薬学部毒物学教室, ²キッセイ薬品工業(株)安全性研究所

【目的】Methyl methanesulfonate (MMS)は、グラム細胞の減少などの生殖毒性を引き起こすことが知られている。強い生殖毒性を示すカドミウム (Cd)は酸化ストレス応答タンパク質である Heme oxygenase-1 (HO-1), Metallothionein-1/2 (MT)を種々の組織で強く誘導することが知られているが、Cd 以外の生殖毒性誘発物質の HO-1 や MT 発現の検討は行われていない。そこで我々は、MMSによる生殖毒性とHO-1やMT発現の関連性について検討した。【方法】SD系雌性ラットにMMSを経口投与し、肝臓、腎臓、精巣の各組織におけるHO-1、MT mRNAおよび精巣HO-1、-2のタンパク質発現を検討した。

【結果・考察】生殖毒性が顕著に現れるMMS 40 mg/kgを単回投与しHO-1およびMT-1/2 mRNAの発現変動を検討した結果、投与3時間後から精巣HO-1 mRNAの誘導が見られ、24時間後まで誘導が持続した。また、MMSの5日間連続投与によっても40 mg/kgまで用量依存的なHO-1 mRNAの上昇が見られた。しかし、MT mRNAは恒常的な高い発現が見られたものの有意ではなかった。肝臓、腎臓でも同様な検討を行った結果、興味深いことに肝臓ではMT mRNAは誘導されたがHO-1 mRNA誘導が全く見られなかった。以上の結果、MMSは精巣HO-1を著明に誘導したことから、その生殖毒性と密接に関連していることが示唆された。

Induction of oxidative stress responsive proteins by methyl methanesulfonate, which produces reproductive toxicity

○Takashi ASHINO¹, Masako OISHI¹, Fumika AFUSO¹, Shigenari OZAWA², Satoshi NUMAZAWA¹, Takemi YOSHIDA¹,
¹Department of Biochemical Toxicology, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan, ²Toxicology Research Laboratories, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., Nagano, Japan

P-090

ジブチルスズによるラットにおける着床阻害に対するプロゲステロンの効果

○江馬 眞, 原園 景, 広瀬明彦, 鎌田栄一

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総合評価研究室

我々は先に、ラットの妊娠0-3日に7.6 mg/kg以上のdibutyltin dichloride (DBTCI)を強制経口投与したとき、着床が阻害されて妊娠率が低下し(Reprod Toxicol, 14, 451-456, 2000)、偽妊娠ラットにおいてはプロゲステロンレベルの低下及び脱着床膜形成の低下が観察される(Reprod Toxicol, 2003, in press)ことを報告した。これらのことから、DBTCIによる着床阻害はプロゲステロンレベルの低下に起因すると考えられた。今回は、DBTCIによる着床阻害に対するプロゲステロンの防御効果を検討した。ラットの妊娠0-3日に0, 7.6または15.2 mg/kgのDBTCIを強制経口投与し、2 mg/ratのプロゲステロンを妊娠0-8日に皮下投与し、妊娠9日にラットを屠殺して妊娠状態を調べた。プロゲステロン単独投与群の妊娠率及び着床数に影響はみられなかった。DBTCI及びプロゲステロン併用投与群における妊娠率及び着床数はDBTCI単独投与群に比べて高かった。これらのことから、プロゲステロンはDBTCIによる着床阻害に対して防御作用を有することが示され、DBTCIによる着床阻害は妊娠動物のプロゲステロンレベルの低下に起因することが示唆された。

Effects of progesterone on implantation failure induced by dibutyltin dichloride in rats.

○Makoto EMA, Akira HARAZONO, Akihiko HIROSE, Eiichi KAMATA, Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

P-091 ラット妊娠初期に投与した塩化トリブチルスズの着床阻害作用

○原園 景¹, 江馬 眞²

¹国立医薬品食品衛生研究所大阪支所生物試験部, ²国立医薬品食品衛生研究所

我々は先に、ラットの着床前の時期（妊娠 0-3 日、精子=妊娠 0 日）に塩化トリブチルスズ (TBTCI) を投与し、妊娠 20 日に開腹したとき子宮に着床痕が認められないことを報告した。そこで、TBTCI による着床阻害作用の機序について検討した。【方法】実験には Wistar ラットを用いた。妊娠 0-3 日に 0, 8.1, 16.3, 32.5 mg/kg の TBTCI を強制経口投与した。妊娠 5 日に、ポンタミブルー色素液を静注し、着床部位における色素の漏出により着床を確認した。また、妊娠 4 日の早朝に血清を採取し、各種血中ホルモン濃度および卵巣に対する影響を調べた。さらに、TBTCI の着床阻害作用に対するステロイドホルモン補充の効果を調べた。【結果と考察】TBTCI 16.3 mg/kg 以上で妊娠 5 日に子宮に着床の認められる動物数の減少および雌ラット当たりの着床数の減少が認められた。妊娠 4 日における血中プロゲステロンは用量依存的に減少していた。また、血中プロラクチン濃度の減少もみとめられた。血中エストラジオール濃度には有意な変化は認められなかった。TBTCI 投与ラットにプロゲステロンおよびエストラジオールを補充すると、着床が誘導された。卵巣の組織学的検査の結果、TBTCI 投与により黄体に空胞変性が認められ、早期の黄体退行が起きていることが示唆された。TBTCI は着床前の期間に投与したとき、血中プロゲステロン濃度を減少させ着床を抑制することが明らかになった。

Antifertility effects of tri-*n*-butyltin chloride during the preimplantation period in rats

○Akira HARAZONO¹, Makoto EMA², ¹Division of Biological Evaluation, National Institute of Health Sciences, Osaka branch, Osaka, Japan, ²National Institute of Health Sciences

P-092 ラット培養胎児における難燃剤テトラブロモビスフェノールAの影響(第2報)—組織学的検討—

○秋田正治¹, 清水茂一², 野崎義弘³, 横山 篤^{3,4}

¹鎌倉女子大学家政学部管理栄養学科, ²(株)富士バイオメディクス,
³神奈川生命記念財団付属研究所, ⁴IETC

【目的】ビスフェノール A (BPA) は 100ppm の濃度でラット培養胎児にアポトーシスを主体とする強い毒性を生じることを一昨年本学術年回において報告した。この BPA にはブロム (Br) が 4 個結合したテトラブロモビスフェノール A (TBrBPA) は難燃剤として高層ビルなどに使用されているが、この TBrBPA は毒性について検討の余地はあるとしながらも、比較的弱いとの見解がなされている。しかし、BPA とよく似た構造であることから、内分泌かく乱化学物質の作用について検討が進められている。われわれも 2 年前より培養胎児を用いて検討を進め、ラット培養胎児において TBrBPA は 100ppm よりも 1ppm で強い形態異常が確認された。そこで今回は、TBrBPA を 1ppm および 100ppm 処理した培養胎児の組織学的解析を行いさらに検討を進めたので報告する。【方法】ラット胎齢 11.5 日目の胎児を母獣より取り出し 48 時間培養を行った。TBrBPA は 1 および 100ppm を培養液中に培養 2 時間後に暴露した。そして培養終了後、胎児を固定し組織学的に解析を行った。【結果・考察】ビスフェノール A 処置例では、全身性のアポトーシスにより組織構造の崩壊が認められたのに対して、TBrBPA の 1ppm および 100ppm 処理した培養胎児では、いずれの器官・組織においても組織学的に明らかな変化は認められなかった。また、胎盤および卵黄嚢についても異常はみられなかった。このことから TBrBPA は個々の細胞レベルに影響を与えるのではなく、形態形成のメカニズムに影響をおよぼす可能性が示唆された。

The histological study of tetrabromobisphenol A as a flame retardant on cultured rat embryos

○Masaharu AKITA¹, Shigekazu SHIMIZU², Yoshihiro NOZAKI³, Atsushi YOKOYAMA^{3,4}, ¹Kamakura women's University, Kamakura, Japan, ²Fuji Biomedix Co. Lim., Kobuchisawa, Yamanashi, ³Kanagawa Life Science Research Laboratory, Yokohama, Kanagawa, ⁴IETC

P-093

ビスフェノール A 投与が初期鶏胚の発生におよぼす影響

○鈴木勝士, 斎藤賢一, 小山絵理子, 竹中基郎, 八木美央, 鈴木浩悦

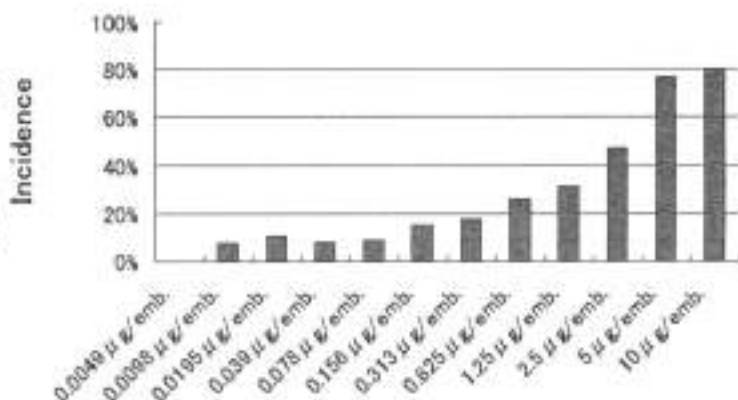
日本獣医畜産大学獣医生理学教室

本実験では内分泌攪乱化学物質であるビスフェノール A (BPA) を有精卵に投与して、その生物影響を調べた。実験には SPF 白色レグホン有精卵を用いた。ステージ 10 の胚直下に投与し 48 時間孵化後に初期胚を抽出した。鶏胚は常法に従い処理後に顕微鏡下で観察した。実験群の BPA の投与量は鶏胚一個体あたり 0.0049, 0.0098, 0.0195, 0.039, 0.078, 0.156, 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 μ g の 12 群とし、対照群には DMSO 溶液を投与した。奇形胚の発生頻度において対照群では 0% であったのに対し 0.0049 μ g 投与群では 0% であった。一方、0.0098~0.078 μ g 投与群では 8~10% であり、0.156~10.0 μ g 投与群では 15.4~80.0% であり対照群との有意差、各投与群間での用量反応性が確認できた。投与群での奇形は癒合二重体、神経管の形成異常、神経管のみの発生や頭部形成異常であった。

Developmental disruption by bisphenol A in early chick embryos

○Katsushi SUZUKI, Kenichi SAITO, Eriko OYAMA, Motoo TAKENAKA, Mio YAGI, Hiroetsu SUZUKI, Department of Veterinary Physiology, Nippon Veterinary and Animal Science University, Musashino, Japan

Incidence of abnormalities in early chick embryos.



P-094

ビスフェノール A による内分泌かく乱作用のリスクアセスメント

○広瀬明彦¹, 江馬 眞¹, 鎌田栄一¹, 小泉睦子², 長谷川隆一²¹国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室, ²国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部

【目的】近年、農業やプラスチック樹脂原料などの環境汚染化学物質が、生態系やヒト健康に対して内分泌かく乱作用を引き起こし、有害影響を与えることが懸念されている。その中でもビスフェノール A (BPA) は、極低用量 (μ g/kg レベル) で実験動物に対して影響のあることが報告されて以来、最も活発に議論・研究が行われている物質の一つである。本研究では、この BPA の内分泌かく乱作用のヒト健康に対するリスクアセスメントを行うことを目的としている。【方法】BPA の内分泌かく乱作用に関する文献情報を収集、整理すると共に、公表文献から現状のヒト暴露レベルを推定し、低用量影響がヒトに対して健康影響をもたらす可能性について考察した。【結果および考察】妊娠動物へ 2 μ g/kg/day 以上の投与により次世代の生殖器官発達異常を引き起こすことが報告されているが、最近、この低用量影響を支持する研究が報告されていると同時に、低用量効果は認められないという報告もなされている。残念ながら、現時点では BPA による低用量影響がヒト健康に対しても有害影響であるかどうかの判断を下すことはできず、定量的なリスクアセスメントに用いるほどの科学的根拠も確立していない状況である。一方、現時点の一般の人々に対する暴露量は、概ね 0.1 μ g/kg/day であり、高くても 1 μ g/kg/day よりも低いと考えられたが、特殊な環境ではヒトでの暴露量が実験動物で低用量影響の現れるレベルを一過性に超える可能性があることが示唆された。

Risk assessment for the endocrine disruption effects by bisphenol A

○Akihiko HIROSE¹, Makoto EMA¹, Eiichi KAMATA¹, Mutsuko KOIZUMI², Ryuichi HASEGAWA², ¹Division of Risk Assessment, National Institute of Health Sciences, ²Division of Medical Safety Sciences, National Institute of Health Sciences

P-095

2,4-ジニトロフェノールのラットにおける雄性生殖毒性

○高橋 研¹, 北條 仁², 青山博昭², 寺本昭二²

¹(財)残留農薬研究所毒性第一部生殖毒性研究室, ²(財)残留農薬研究所毒性第一部生殖毒性研究室, ³(財)残留農薬研究所毒性第一部

2,4-Dinitrophenol (DNP) は、ラットより分離したセルトリ-生殖細胞共培養系に対して、構造的に類縁の精巣毒性物質 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol (DNBP) と同様の障害作用を現すことを第 24 回学術年会で報告した。今回は DNBP と DNP を雄ラットに投与して精子形成に及ぼす影響を検討し、in vivo における精巣毒性を比較した。0, 7.5, 15, 30 mg/kg の DNP, あるいは 7.5 mg/kg の DNBP を corn oil (5 ml/kg) に溶解し、各群 12 匹の SD 雄ラットに 5 日間連続強制経口投与した。投与終了後 3 日と 14 日に各群 6 匹の動物から精巣、精巣上体、精囊および前立腺を摘出して、重量を測定した。これらの臓器を病理組織学的に検査するとともに、右側の精巣上体について頭部と尾部の精子数を数え、尾部精子について形態と運動性の検査を行った。投与後 3 日の検査では、DNBP 投与群の精囊と前立腺の重量に有意な低下がみられたが、DNP 投与群ではいずれの指標にも変化は認められなかった。投与後 14 日では、DNBP 投与群に精巣上体重量の低下、精子運動性の低下、および形態異常精子(尾の離断)の増加が認められた。DNP 投与群ではこれらの指標に有意な変化はみられなかったが、最高用量群で尾の離断を示す精子がやや増加した。以上の結果から、DNBP と類似の構造を持つ DNP にも精子形態異常を引き起こす作用があるが、その程度は非常に弱いことが明らかになった。今回の実験に用いた DNP の最高用量はほぼラットに対する最大耐量と考えられることから、DNP の急性暴露による精子形態異常のリスクはきわめて低いものと推察される。

Acute testicular toxicities of 2,4-dinitrophenol and 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol in rats

○Ken TAKAHASHI¹, Hitoshi HOJO², Hiroaki AOYAMA², Shoji TERAMOTO³, ¹Laboratory of Reproductive Toxicology, Toxicology Division I, Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan, ²Laboratory of Reproductive Toxicology, Toxicology Division I, Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan, ³Toxicology Division I, Institute of Environmental Toxicology, Ibaraki, Japan

P-096

2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (PCB153) 出生前曝露がラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響

○王 瑞生¹, 渡部すみ子^{1,2}, 宮川宗之¹, 小林健一¹, 須田 恵¹, 関口総一郎¹, 本間健資¹
¹(独)産業医学総合研究所, ²杏林大学医学部衛生公衆衛生学教室

胎児期 PCB 曝露による次世代への影響に関する研究の一環として、われわれはノンブレンダー型 PCB 同族体の一つである PCB153 について、その妊娠曝露による雄性仔ラットの体内性ホルモンおよびその代謝酵素への影響について検討した。

【方法】妊娠ラットを 3 群に分け、妊娠 10 日から 16 日まで、コーン油(対照群)または PCB153 を 16, 64 mg/kg/day の用量で経口投与した。生後 9 週, 20 週において雄性仔動物を供試し、血中および組織中の性ホルモン濃度の測定、精巣組織におけるテストステロン代謝酵素の活性測定を行った。

【結果】9 週令雄性仔ラットの血中テストステロン濃度は PCB 投与群と対照群の間で有意な差がなかった。hCG 投与の場合、いずれの群においても血中テストステロン濃度が著しく上昇した。20 週令において、PCB 投与群の血中テストステロン濃度が用量依存的に減少傾向を示し、高用量曝露群では有意に低下した。一方、高用量曝露群における血中 LH は著しく上昇した。

【考察】本実験で出生前の PCB 曝露による若成熟雄性仔ラットの血中テストステロン濃度への影響は見られなかったが、成熟の雄性仔ラットでは血中性ホルモンの顕著な低下が認められた。現在、テストステロンの代謝酵素の詳細について検討中である。

【本研究には厚生労働省労働基準局長から受託した環境省地球環境保全等試験研究費「内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の生殖系・次世代への影響評価に関する研究(平成 14 年度)」を使用した。村瀬正氏の実験協力に感謝する。】

Effect of Prenatal Exposure to PCB153 (2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl) on the Metabolism of Testosterone in Rats

○Ruisbeng WANG¹, Sumiko WATANABE^{1,2}, Muneyuki MIYAGAWA¹, Kenichi KOBAYASHI¹, Megumi SUDA¹, Soichiro SEKIGUCHI¹, Takeshi HONMA¹, ¹National Institute of Industrial Health, Kawasaki, Japan, ²Kyorin University School of Medicine, Mitaka, Tokyo, Japan

P-097

Fenitrothion のラットにおける一世代繁殖毒性試験

○岡橋典子¹, 宮田かおり¹, 佐野真士², 今井則夫², 堤 友子², 戸田庸介², 樋口敏浩¹, 紙田祐介¹, 関 高樹¹

¹住友化学工業(株)生物環境科学研究所, ²(株)大雄会医科学研究所

Fenitrothion はSD系ラットを用いた Hershberger スクリーニング試験にて抗雄性ホルモン作用のないことが報告されているが (Sunami ら, 2000)。今回、我々はより高次の試験系である一世代繁殖毒性試験を実施したので結果を報告する。【方法】SD系雌雄ラットの第1世代(P)の交配10週前から第2世代(F1)が成熟する(10週齢)までの2世代に渡り、Fenitrothion を10、20および60ppmの濃度に調製した餌を自由に摂取させた。一般毒性学的影響の指標として、症状、体重および摂餌量を測定し、P世代の剖検時に脳コリンエステラーゼ活性を測定した。F1世代については、抗雄性ホルモン作用の有無を検索するために、肛門生殖突起間距離の測定、乳房・乳頭および性分化を観察し、剖検時に生殖器の重量測定、精子検査ならびに精巣の病理組織学的検査について実施した。【結果】P世代については、脳のコリンエステラーゼ活性が雄の60ppmおよび雌の20ppm以上で統計的に有意かつ、顕著に低下したが、生殖能力、分娩および哺育に影響は認められなかった。F1世代の一般毒性学的指標ならびに抗雄性ホルモン作用に関する指標に何ら影響は認められなかった。【結論】Fenitrothion は一世代繁殖毒性試験において、P世代に毒性が発現される用量においても、雄児に抗雄性ホルモン作用を示さないことが確認された。

One generation Reproductive Toxicity Study of Fenitrothion in Rats

○Noriko OKAHASHI¹, Kaori MIYATA¹, Masashi SANO², Norio IMAI², Tomoko TSUTSUMI², Yosuke TODA², Hashihiro HIGUCHI¹, Yusuke KAMITA¹, Takaki SEKI¹, ¹Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd., Osaka, Japan, ²Daiyu-Kai Institute of Medical Science, Ichinomiya, Japan

P-098

直流磁場照射がマウス胎子におよぼす奇形作用

○斉藤賢一, 鈴木浩悦, 鈴木勝士

日本獣医畜産大学獣医生理学教室

演者らは生活環境の中で増加しつつある電磁波照射が人間を中心とした生物に如何なる影響を与えるのかについて調査検討を行っている。本実験では磁界の生体作用に注目し、直流磁場を妊娠マウスに照射して胎子への影響について調査検討を行った。【材料および方法】供試動物として近交系SSマウス60から70日令を用いた。交配は雄1に対し雌2~3を同一ケージ内に同居させて行った。午前中に陰栓の確認を行い、確認された日を妊娠0.5日目とした。マウス胎子の器官形成期である妊娠7.5から14.5日までの1日間隔で設定した8群に400mTの直流磁場を60分間照射した。妊娠18.5日目に雌親マウスをエーテルにて麻酔死させ、子宮から胎子を摘出した。摘出した胎子は体重測定、雌雄の判別、形態観察後70%エタノールで固定し、骨二重染色処置を施し顕微鏡下で観察をした。対照群には照射群と同日妊娠日に偽照射を行い、照射群と同様の処置を施した。本実験では各群10匹づつ、計160匹の雌マウスを用いた。【結果】対照群と照射群との胎子重量においては各妊娠日群間での差は見られなかった。形態および骨格観察の結果では対照群では曲尾(尾椎の変形)のみが見られたが、発生頻度は照射群より少なかった。照射群の胎子には多趾症、腹部破裂、肋骨の癒合、腰肋骨の形成、頭蓋骨の欠損が見られた。奇形胎子の発生率は対照群では0~2.8%であったのに対し、照射群では13.4~24.4%であった。

Teratogenic effects of static magnetic field on mouse fetuses

○Kenichi SAITO, Hiroetsu SUZUKI, Katsushi SUZUKI, Department of Veterinary Physiology, Nippon Veterinary and Animal Science University, Musashino, Japan

P-099 ヒト CYP1B1 の細胞特異的な発現制御機構



○柴原憲仁

北海道大学大学院薬学研究科代謝分析学分野

【目的】CYP1B1 は広範な外来性異物を代謝的に活性化することから、近年、毒性学的に注目されている。また CYP1B1 はエストロジオールなどの内因性ホルモンの代謝にも関与している。CYP1B1 の発現誘導機構としては芳香族炭化水素により芳香族炭化水素受容体(AHR)を介して誘導される機構が知られている。しかしながら、CYP1B1 の発現組織は同じく AHR により誘導される CYP1A1 と異なることから、CYP1B1 に特異的な発現調節機構が存在すると考えられた。CYP1B1 の発現の変動は異物に対する組織の感受性を変動させる要因となりうるため、異なる組織間における本酵素の発現調節機構を検討することは毒性学的に興味深い。そこで本研究ではヒト CYP1B1 遺伝子の発現制御機構を解明することを目的とした。【方法】CYP1B1 を発現している MCF-7 細胞および CYP1B1 を発現していない HepG2 細胞を用いてレポーターアッセイおよびゲルシフトアッセイを行った。【結果・考察】CYP1B1 の 5'-上流領域-1141 までを含むレポータープラスミドを MCF-7 および HepG2 細胞に導入したところ HepG2 細胞と比較して MCF-7 細胞において約 5 倍の転写活性が認められた。また、5'-上流欠変異体を用いた解析の結果、-785/-667 の領域に活性化領域が存在し、また、-996/-785 の領域に細胞特異性を決定する領域が存在することが示唆された。この領域についてゲルシフトアッセイを行ったところ、両細胞間で転写因子の結合に差異が認められた。現在、この転写因子の同定を行っている。

Mechanism of Transcriptional regulation of human CYP1B1.

○Norihito SHIBAHARA, Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan

P-100 トランスポーターを介した肝取り込み過程で生じる薬物間相互作用



○設楽悦久¹、平野 雅²、佐藤 均¹、杉山雄一²

¹昭和大学薬学部臨床分子薬品学、²東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学

トランスポーターを介した薬物/毒物の肝臓への取り込みは、それらの消失効率を決定する重要な因子の一つとなる。このことは、薬物/毒物の最終的な消失経路が代謝であったとしても、取り込みにトランスポーターが関与する場合には成り立つ。したがって、トランスポーターを介した取り込み過程が併用薬によって影響を受ける場合には、相互作用を起こす可能性がある。

私たちは、臨床で報告されている高脂血症治療薬セラバスタチン(CER)と免疫抑制薬シクロスポリン(CsA)を併用したときに生じる薬物間相互作用について、取り込み過程に着目して、メカニズムの解析を行った。凍結ヒト肝細胞およびトランスポーター-organic anion transporting polypeptide-2 (OATP2)発現細胞を用いた CER の取り込みに対して CsA は阻害定数(K) $0.2-0.7\mu\text{M}$ で阻害した一方で、ヒト肝ミクロソームでの CER の代謝は、 $10\mu\text{M}$ 以上でのみ阻害した。生理学的モデルを構築して推定された肝臓入り口付近の CsA 血中濃度を考慮すると、取り込み過程に対する K_i 値から、臨床での相互作用を引き起こす可能性があることが示唆された。以上より、臨床で報告されている CER と CsA の相互作用が少なくとも部分的には肝への取り込み過程によって説明できることが明らかになった。現在、フィブラート系高脂血症治療薬ゲムフィブロジルとの相互作用についても同様に検討中である。

Drug-drug interaction based on transporter-mediated uptake in the liver

○Yoshihisa SHITARA¹, Masaru HIRANO², Hitoshi SATO¹, Yuichi SUGIYAMA², ¹Department of Clinical and Molecular Pharmacokinetics/Pharmacodynamics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan, ²Department of Molecular Pharmacokinetics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

P-101

ビスフェノール A と多環芳香族炭化水素によるヒト *CYP1A1* 遺伝子の発現誘導

応

○斎藤鉄也¹、日景 盛²、本郷敏雄³、坂口邦彦³¹北海道大学薬学部代謝分析、²北海道医療大学歯学部歯科補綴 2、³東京医科歯科大学分子情報

【目的】*CYP1A1* はタバコ煙中やディーゼル排気に含まれる多環芳香族炭化水素 (PAH) の代謝的活性化に関与する主要な異物代謝酵素である。*CYP1A1* の発現はまた、PAH により芳香族炭化水素受容体 (AHR) を介して誘導される。ビスフェノール A (BPA) およびその誘導体は歯科材料や食品パック等に広く用いられており、PAH と同様に環境中に広く存在する外来異物である。そこで本研究では、BPA と PAH の組み合わせがヒト *CYP1A1* 遺伝子の発現に及ぼす影響を調べることを目的とした。

【方法】*CYP1A1* が誘導されることが知られているヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用いて、*CYP1A1* mRNA の発現をノーザンブロット分析により、*CYP1A1* 遺伝子のプロモーター活性をルシフェラーゼアッセイにより、それぞれ検討した。

【結果・考察】典型的な *CYP1A1* 誘導剤である 3-メチルコランスレン (MC, 1 μ M) と BPA (1, 10, 50 μ M) で HepG2 細胞を 24 時間処理したところ、MC による *CYP1A1* mRNA の発現誘導は BPA により用量依存的に増強された。BPA による誘導増強は相加的ではなく相乗的であった。ヒト *CYP1A1* 遺伝子のプロモーター領域をルシフェラーゼ遺伝子に連結したレポータープラスミドを HepG2 細胞に導入したところ、MC と BPA は *CYP1A1* プロモーターを相乗的に転写活性化した。また、この転写活性化は AHR が結合する異物応答配列 (XRE) のみを有するレポータープラスミドでも認められた。以上の結果から、BPA と MC は AHR を介して相乗的にヒト *CYP1A1* 遺伝子を誘導することが明らかとなった。この相乗的誘導の分子機構について現在検討中である。

Induction of the human *CYP1A1* gene by bisphenol A and polycyclic aromatic hydrocarbon

○Tetsuya SAITO¹, Sakari HIKAGE², Toshio HONGO³, Kunihiko SAKAGUTI², ¹Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan, ²Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu-cho, Japan, ³Tokyo Medical & Dental University, Japan

P-102

マウス肝における *CYP1A2* 誘導に伴うウロポルフィリン生成の制御機構 —鉄による効果—

○中野賢司、石塚真由美、数板昭夫、藤田正一

北海道大学獣医学部環境獣医学講座毒性学教室

【目的】*CYP1A2* を誘導したマウス肝にはウロポルフィリン (UP) が蓄積し、その量は鉄の存在によって増加することが知られている。本研究では、鉄が UP の生成、蓄積に与える効果を明らかにすることを目的とした。【方法】鉄欠乏食あるいは通常食で飼育した C57BL/6 マウス、および通常食以外にデキストラン鉄を腹腔に過剰投与した C57BL/6 マウスの 3 群を試験動物とした。それらにメチルコラントレン (MC) を腹腔内投与した。また、MC を投与せず、鉄欠乏食で飼育したマウス、通常食で飼育したマウス、過剰に鉄を添加したマウスをそれぞれコントロール群とした。投与 2 日後に肝臓から S9、ミクロソームあるいはサイトソルを調整した。肝に蓄積した UP 量、S9 に含まれる *CYP1A2* 量 (Western Blotting 法による) および MROD 活性、ミクロソームに含まれるウロポルフィリンノーゲン酸化反応 (UROX) 酵素の活性、および、サイトソルに含まれるウロポルフィリンノーゲン脱炭酸反応 (UROD) 酵素の活性等を測定した。【結果】MC を投与し鉄欠乏食で飼育したマウスは、他のマウスと異なる以下の興味ある結果を示した。1、その S9 は高い *CYP1A2* 発現量と高 MROD 活性を示したにも関わらず、肝臓における UP 蓄積量は低値であった。2、そのミクロソームは高い UROX 反応性を示したにも関わらず、サイトソルを加えると UP 生成量は減少し、UROX 反応性の低下が見られた。これらの事実から、肝におけるウロポルフィリンノーゲンの酸化は、サイトソルに含まれ、鉄によって容易に阻害を受ける UROD 酵素の活性に依存することが示唆された。

Inhibition of uroporphyrinogen oxidase activity

○Kenzi NAKANO, Mayumi ISIZUKA, Akio KAZUSAKA, Syoichi FUJITA, Laboratory of Toxicology, Department of Environmental Veterinary Sciences, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University

P-103

アネトールの代謝・毒性とエストロゲン様活性

○中川好男¹, 鈴木俊也²

¹都立衛生研究所毒性部, ²都立衛生研究所多摩支所

【目的】アネトール(anethole; ANT)は生薬ファンネル(茴香), アニス等の主精油成分であり, また食品の着香料として広く用いられている。本実験では ANT の代謝と細胞毒性をラット遊離肝細胞で検討し, ついで親物質/代謝物のエストロゲン様活性をエストロゲン受容体(ER)競合結合能と ER α 陽性 MCF-7 細胞の増殖能で比較評価した。【結果, 考察】ラット遊離肝細胞において, ANT は濃度(0.25-2 mM)と時間に依存した細胞傷害を惹起し, アデニンヌクレオチドプールの枯渇を伴った。低毒性濃度 ANT(0.5 mM)は4-メトキシけい皮酸(4MCA), 4-ヒドロキシ-1-プロベニルベンゼン(4OHPB)及び4OHPB-硫酸抱合体に代謝された。中毒性濃度 ANT(1 mM)では細胞内活性硫酸(PAPS)の減少に伴い遊離型4OHPBが顕著に増加した。細胞毒性は4OHPB>4MCA, ANTの順であった。また硫酸抱合系阻害薬はANT毒性を強め, ATP, PAPS, 4OHPB-硫酸抱合体を減少させたが, 遊離型4OHPBを増加させた。ERにおける17 β -エストラジオールとこれらの化合物の競合結合能は4OHPB>4MCA, ANTの順であった。さらに4OHPBはMCF-7細胞を濃度(10^{-8} - 10^{-6} M)依存的に増殖させたが, ANTと4MCAには同作用がみられなかった。これらの結果は, (1)ANTが代謝を介して肝細胞傷害を惹起すること, (2)代謝中間体4OHPBがエストロゲン様活性を発現させることを示唆する。

Cytotoxic and xenoestrogenic effects via biotransformation of anethole on isolated rat hepatocytes and cultured MCF-7 human breast cancer cells

○Yoshio NAKAGAWA¹, Toshinari SUZUKI², ¹Department of Toxicology, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan, ²Tama Branch Laboratory, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Tokyo, Japan

P-104

抗菌剤フラゾリドンとその代謝物が肝薬物代謝酵素系に与える影響

○佐々木信夫, 松本智之, 石塚真由美, 数坂昭夫, 藤田正一

北海道大学大学院獣医学研究科毒性学教室

【目的】EU 常設食品類・動物衛生委員会による, 輸入食品残留フラゾリドン(FZ)とその代謝物の検査強化を受け, わが国においてもそれらの検査が実施されている。鶏およびラットをモデル動物として, それらの肝薬物代謝酵素系に対する作用について検討した。【方法】鶏(白色レグホン系, 雌, 約60日齢)およびラット(Wistar, 雌, 6週齢)に, FZ(62.5または120mg/kg/日)あるいはその代謝物3-amino-2-oxazolidinone(AOZ)及び2-hydroxyethyl hydrazine(HEH)を, 3-4日間, 経口または腹腔内連続投与した。一方, P450誘導剤, β -naphthoflavone, phenobarbital(PB)及びacetoneを対照薬物とした。屠殺後, 調製した肝ミクロソームを用いて, P450 reductase(P450red.), hexobarbital hydroxylase(HXOH), EROD, PROD等の酵素活性を測定した。FZの代謝(消失)も調べた。【結果】(1)鶏では睡眠時間の短縮が, ラットではその延長がみられた。(2)睡眠時間とHEXOH活性には, ほぼ逆の相関があった。(3)FZ投与(特に125mg)により, 鶏においてP450 red.及び各種肝薬物代謝酵素活性が増強され, 酵素誘導が認められた。この酵素誘導は, PB型のP450分子種が主であると推測された。(4)ラットにおいては, HEH投与によりp-nitrophenol hydroxylase活性のみが増強した。【総括】FZ投与により, 鶏においてPB型P450を主とする肝薬物代謝酵素の誘導が顕著に認められた。

The effect of Furazolidone and metabolites on drug-metabolizing enzymes of chicken and rat liver

○Nobuo SASAKI, Tomoyuki MATSUMOTO, Mayumi ISHIZUKA, Akio KAZUSAKA, Shouichi FUJITA, Lab. of Toxicology, Dep. of Environmental Veterinary Sciences, Graduate School of Hokkaido University, Sapporo, Japan

P-105

活性窒素種によるミクロソームグルタチオンS-トランスフェラーゼの活性化

○今泉直樹, 安仁屋洋子

琉球大学大学院保健学研究科生体機能学教室

【目的】ラット肝ミクロソームグルタチオンS-トランスフェラーゼ (MGST1)はサブユニットに1個のSH基を有し、このSHが活性酸素等で酸化されると活性化される。本研究では一酸化窒素(NO)やパーオキシナイトライト(ONOO⁻)などの活性窒素種(RNS)のMGST1への作用について検討した。【方法】ラット肝ミクロソーム又は精製したMGST1にNO供与体(S-ニトロソグルタチオン(GSNO)、S-ニトロソシステイン(CysNO)、NOC 5)やONOO⁻を30℃で2分作用させGST活性の測定、蛋白の変化を解析した。また、MGST1に結合したGSHをHPLCで検出した。【結果、考察】精製MGST1にONOO⁻(580 μ M)やONOO⁻(580 μ M)+GSH(20mM)を作用させるとGST活性は232%, 373%に増加した。精製MGST1にGSNO(2mM)、CysNO(0.375mM)やNOC 5(2mM)を作用させた場合でもGST活性は増加し、還元剤ジチオスレイトール(DTT)によってコントロールレベルまで低下した。ミクロソームでもONOO⁻やONOO⁻+GSHによってGST活性は増加し、この増加はスルフェン酸を還元する亜硫酸ナトリウムによりそれぞれ若干減少した。GSNO及びONOO⁻+GSHを精製MGST1に作用させた後DTTを作用させ遊離してきたものをHPLCで測定したところ、GSHが検出され、GSTとGSHが混合ジスルフィド結合を生成していることが確認された。また、ミクロソームにONOO⁻を作用させた後のイムノブロットではGSTダイマーが検出された。これらの結果から、MGST1のRNSによる活性化はGSTのSHのジスルフィド結合、混合ジスルフィド結合の形成、スルフェン酸への酸化やニトロソ化が関与していることが明らかとなった。

Activation of rat liver microsomal glutathione S-transferase by reactive nitrogen species

○Naoki IMAIZUMI, Yoko ANIYA, Laboratory of Physiology and Pharmacology, School of Health Sciences, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus

P-106

トキシコキネティクスのデータを用いた非線形動態の解析

○北條隆男

(財)日本生物科学研究所

トキシコキネティクス(TK)のデータは一般に高い用量を用いる毒性試験から得る。高投与量では吸収や代謝過程で飽和が起こり、非線形な体内動態を示す場合がある。非線形な動態の解析には数値積分を用いたり、求めるパラメータ数を増やす必要性が生じる。そのような場合、TKにおいてはデータ数が多くないため、適切に動態学的パラメータが求められない。本研究では、TKデータから得た血漿中薬物濃度プロファイルを用いて、同時解析により動態学的パラメータ(K_a , V_d , V_{max} , K_m)を求める方法を検討した。【方法】雌雄ラットにカフェイン(CA)を単回経口投与(10, 40, 80 mg/kg)した。経時的(0.5, 1, 2, 4, 8, 24時間後)に採血し、血漿中CA濃度をLC/MSを用いて測定した。解析には消失に飽和を仮定した1-コンパートメントモデルを用いた。Runge-Kutta-Gill法による数値積分、Damping Gauss Newton法によるデータフィッティングを3投与量の血漿中CA濃度プロファイルに対して同時に行った。【結果と考察】解析の結果、単一モデルによる動態学的パラメータを算出できた。このパラメータを用いることにより、投与量を変えた場合や反復投与した場合の血漿中濃度推移をより正確にシミュレーションすることが可能であると考えられた。TKなどのように採血ポイント数が少ない場合でも動態学的情報を得ることができるため、有用な解析法であると考えられた。

Non-linear pharmacokinetic analysis using toxicokinetic data

○Takao HOJO, Nippon Institute for Biological Science

P-107

Dual Distinct Effects of HEMF, A Flavor Component of Soy Sauce on Benzo[a]pyrene-induced Back-mutation in *Salmonella* Typhimurium

○SUZUKI Tadahiko¹, KUMAGAI Miyuki¹, TSUTSUMI Ken-ichi², SUGAWARA Etsuko³, SATO Itaru⁴, SAIGO Kazuhiko⁵, NAGATA Ryoichi⁵, KOBAYASHI Haruo¹

¹Dep.Vet.Pharmacol.Facul.Agricul.Iwate University, ²Cryobiosys.Res.Center Facul.Agricul. Iwate Univ., ³Food Sci.Lab.Facul.Educ.Iwate Univ., ⁴Dep.Vet.Public HealthFacul.Agricul.Iwate University, ⁵SNB Lab.,Ltd.

4-Hydroxyfuranones are detected in various foods and have been shown to inhibit benzo[a]pyrene (BAP)-induced rat forestomach neoplasia, while reported to activate DNA breaking to generate mutagenicity in high doses. In this study, effects of wide range concentrations of 4-hydroxy-2(or 5) ethyl-5 (or 2)-methyl-3(2H)-furanone (HEMF) found in soy sauce and soy bean paste, on BAP-induced back-mutation in *Salmonella* typhimurium were examined with and without metabolic activation. In the test of BAP (5 μ g/plate)-induced base-pair substituted mutation with a TA100 strain with S-9 mix, the mutagenicity was significantly decreased by a lower concentration of HEMF (<7.05 μ g/plate), while enhanced by a higher concentration (70.5 μ g/plate). Without BAP with TA100, it was shown that inhibitory effect of low HEMF on the spontaneous or BAP-induced generation of mutation could be due to metabolic activation of HEMF. Test of BAP-induced base-pair mutation with TA98 revealed that frame shift mutation is not involved in HEMF activities. Hydrogen donating activity of HEMF was measured using stable radical DPPH. HEMF can act as a radical scavenger, but a simple scavenging effect cannot account for actions of HEMF. Our results suggest that HEMF has two distinct effects on *Salmonella* typhimurium base-pair substituted DNA mutation: antimutagenic activity at lower concentration, probably due to metabolically activated furanone other than the direct scavenger, and mutagenic activity at higher concentration.

Dual Distinct Effects of HEMF, A Flavor Component of Soy Sauce on Benzo[a]pyrene-induced Back-mutation in *Salmonella* Typhimurium

○Tadahiko SUZUKI¹, Miyuki KUMAGAI¹, Ken-ichi TSUTSUMI², Etsuko SUGAWARA³, Itaru SATO⁴, Kazuhiko SAIGO⁵, Ryoichi NAGATA⁵, Haruo KOBAYASHI¹, ¹Department of Veterinary Pharmacology, Iwate University, Morioka, JAPAN, ²Cryobiosystem Research Center, Iwate University, Morioka, JAPAN, ³Food Science Laboratory, Faculty of Education, Iwate University, Morioka, JAPAN, ⁴Department of Veterinary Public Health, Iwate University, Morioka, JAPAN, ⁵SNB Lab., Ltd., Yoshida-Cho, Kagoshima-Pref., JAPAN

P-108

臭素酸カリウムのラット腎発がん過程に対する酸化ストレスの関与

○梅村隆志¹, 神吉けい太¹, 北村泰樹¹, 今沢孝喜¹, 長谷川隆一², 西村哲治³, 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国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部, ³国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部

【目的】高用量の臭素酸カリウム (KBrO₃) をラットに単回投与すると、腎脂質過酸化 (LPO) レベルおよび腎 DNA 中の 8-oxodeoxyguanosine (8-oxodG) レベルが上昇する。しかし、発がん実験条件下における両者の相関性を詳細に検討した報告はない。そこで、KBrO₃ 発がん過程におけるこれら酸化ストレスの関与の可能性を検討する目的で以下の実験を実施した。

【方法】実験 1: 6 週齢雌の F344 ラット、各群 5 匹に、KBrO₃ を 300 mg/kg の単回強制経口投与あるいは 80 mg/kg の単回腹腔内投与を行い、投与後 48 時間後の腎 LPO ならびに腎 DNA 中の 8-oxodG レベルを測定した。対照群には生理食塩水を腹腔内投与した。実験 2: 6 週齢雌雄の F344 ラット、各群 5 匹に KBrO₃ を 0、15、30、60、125、250 および 500 ppm の濃度に混じて飲水投与し、投与開始後 4 週目に同様に測定した。

【結果・考察】実験 1: LPO および 8-oxodG レベルともに何れの投与群においても対照群に比して有意に高い値となった。実験 2: LPO レベルは雌雄ともに何れの投与群においても対照群と差は認められなかったが、8-oxodG レベルは雌雄とも 250 ppm 以上の群で有意に高値となった。以上より、核内 DNA の酸化は LPO を介さずに生じていることが示唆され、8-oxodG を含む酸化的 DNA 損傷がその発がん過程に深く関与している可能性が示された。

A possible role for oxidative stress in potassium bromate carcinogenesis

○Takashi UMEMURA¹, Keita KANKI¹, Yasuki KITAMURA¹, Takayoshi IMAZAWA¹, Ryuichi HASEGAWA², Tetsuji NISHIMURA³, Akiyoshi NISHIKAWA¹, Masao HIROSE¹, ¹Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ²Division of Medical Safety Science, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, ³Division of Environmental Chemistry, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-109

新規な3次元培養ラット肝細胞の開発

○山口達哉¹, 石橋卓也¹, 中澤浩二², 船津和守³¹(株)TMセルリサーチ, ²北九州市立大学国際環境工学部, ³九州大学工学研究院

【目的】ラット初代肝細胞は単層培養においては早期にその機能が失われていくことが知られ、機能維持を図るためスフェロイド培養をはじめとする3次元培養法が種々開発されている。今回我々は、九大・船津らが開発した遠心力を利用して中空系内腔に細胞組織体を形成させる遠心充填法を用いて、ラット肝細胞の3次元培養を簡便かつ長期間行なえる培養系を新たに確立し、その肝細胞機能を調べ肝細胞実験への有用性を検討した。【方法】セルローストリアセテート製の中空系(内径285 μ m、外径387 μ m、ポアサイズ0.2 μ m、長さ3cm)6本の内腔にコラゲナーゼ灌流法により調製した初代ラット肝細胞を60Gの遠心によって充填した。この肝細胞が封入された中空系を培養ディッシュに移し、肝細胞培養用の無血清培地にて振盪培養を行い、薬物代謝酵素や肝細胞機能について評価を実施した。【成績】中空系内腔に遠心充填された肝細胞は、培養を経て組織体形成が誘導されることが観察された。肝細胞の機能を経目的に調べた結果、アルブミン産生能、アンモニア代謝能は培養2ヶ月以上の長期にわたり維持していた。また、薬物代謝酵素については1ヶ月以上の培養後にも酵素誘導が確認できた。以上のことより、この新規な3次元培養ラット肝細胞は、肝細胞機能を維持された長期培養を簡便に行なうことが出来、肝細胞研究に有用なものであることが示唆された。今回、これらの結果および *in vitro* 毒性試験への応用の可能性を検討したので合わせて報告する。

Development of a new three-dimensional culture of rat hepatocytes

○Tatsuya YAMAGUCHI¹, Takuya ISHIBASHI¹, Kohji NAKAZAWA², Kazumori FUNATSU³, ¹TM Cell Research, Fukui, Japan. ²Faculty of Environmental Engineering, University of Kitakyusyu, Fukuoka, Japan. ³Department of Chemical Engineering, Kyusyu University, Fukuoka, Japan

P-110

Comparison of comet assay *in vivo* in different organs of the rat and the UDS test *in vivo* in rat hepatocytes

○Poth Albrecht

RCC CytotestCell ResearchGmbH

Until recently, the most frequently used method for detecting DNA damage was the detection of DNA repair synthesis by the so-called unscheduled DNA synthesis (UDS). The UDS technique is based on the replication of DNA during the excision repair of certain types of DNA lesions, as demonstrated by the incorporation of tritiated thymidine into the DNA repair sites. While providing information at the level of the individual cell, the technique is technically cumbersome, requires the use of radioactivity, is limited in sensitivity, and needs proliferating cells. As a useful alternative the comet assay or single cell gel electrophoresis enables the detection of multiple classes of DNA damage. The major advantages of this assay include the application to practically any tissue of interest, as no cell proliferation is necessary, and the generation of data on the level of the single cell. Even though the comet assay *in vivo* has been accepted in several cases by regulatory authorities as alternative to the UDS, the data available on this assay are limited.

In the present study both test systems have been used to compare their suitability for genotoxicity testing *in vivo*. The effects of the following compounds have been evaluated: 2-acetylaminofluorene (2-AAF), N,N-dimethylhydrazinedihydrochloride (DMH), methylmethanesulfonate (MMS), cyclophosphamide (CPA), and p-chloraniline. The UDS test has been performed in rat hepatocytes, bladder epithelial cells, colon epithelial cells, and leukocytes.

Comparison of comet assay *in vivo* in different organs of the rat and the UDS test *in vivo* in rat hepatocytes

○Albrecht Poth, RCC Cytotest Cell Research GmbH, Rossdorf, Germany

P-111 Ames miniscreen assay 及び *in vitro* micronucleus test を用いる遺伝毒性初期評価法の有用性の検討

○谷藤久人, 長崎修治, 久田 茂

帝国臓器製薬(株)安全性・代謝研究部

【目的】創薬における開発候補物質の選択段階で多数の開発候補物質の遺伝毒性を少量で、短期間の内に評価する方法が必要とされている。そこで Ames 試験を縮小化した miniscreen assay (MS) 及び *in vitro* micronucleus test (IVM) を組み合わせた遺伝毒性初期評価法を構築した。さらに開発候補物質を用いて MS 法及び IVM 法による結果と Ames 試験及び染色体異常試験による結果を比較し、その有用性を確認した。

【方法】6 穴プレートを用いる MS 法は S9Mix の存在下及び非存在下で *Salmonella typhimurium* TA100, TA98 及び *Escherichia coli* WP2uvrA の 3 菌株を用いて行った。また IVM は S9Mix の非存在下で CHL/IU 細胞を用いて Lab-Tek チャンバースライドで行った。

【結果・考察】開発候補 15 物質を用いて通常の Ames 試験と MS 法の結果を比較したところ、結果の一致率は 100% (10/10) であり、染色体異常試験と IVM 法との結果の一致率も 100% (11/11) であった。また今回開発した評価法は従来の方法と比較して、少量(50mg)で評価することが可能で、過当りに処理できる被験物質数は 10~20 物質に増加した。従って、MS 法及び IVM 法の組み合わせは開発候補物質の選択段階における遺伝毒性評価法として有用であると考えられる。

Genotoxicity screening on an early phase of drug development using Ames miniscreen assay and *in vitro* micronucleus test

○Hisato TANIFUJI, Syuji NAGASAKI, Shigeru HISADA, Safety & Pharmacokinetics Research Department, Teikoku-Hormone Mfg. Co., Ltd., Kawasaki, Japan

P-112 Bioluminescence Ames assay による変異原性評価

○林 利彰, 永井良和, 山田 弘, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部

本法は、生物発光 (bioluminescence) を用いて、検出感度および処理能力を向上させた Ames 試験の改良法であり、2002 年にファイザー社で特許を取得した (European patent application, EP 1 217 077 A2 (2002))。使用するネズミチフス菌 (TA98lux および TA100lux) は、Ames 試験で使用する菌に Luciferase および Fatty acid reductase (Luciferase の基質を生成) をコードする遺伝子 (luxCDABE) を導入したものである。ヒスチジン非存在下では、突然変異を起こした菌体のみが代謝機能を維持して生存できる。その代謝機能に伴い生成する細胞内の FMN₂ (reduced flavin mononucleotide) は、Luciferase が基質を切断することによって生ずる生物発光に不可欠である。したがって化学物質等により突然変異を引き起こした菌体が生物発光を引き起こすこととなる。その生物発光をイメージアナライザーによりスキャンし、取り込んだイメージのコロニー数をコンピュータ解析によりカウントする。本学会では、試験の概略、市販の化学物質を用いたバリデーションの結果および今後の方向性について報告する。

Evaluation of mutagenicity by the bioluminescence Ames assay

○Toshiaki HAYASHI, Yoshikazu NAGAI, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII, Drug safety evaluation, Nagoya laboratories, Pfizer Inc., Aichi, Japan

P-113

5-Fluorouracil の遺伝毒性に対するマウスリンフォーマ, TK6 及 WTK-1 細胞における感受性の差について

○岡 宏昭¹, 池田和正², 吉村宏美¹, 大内田昭信¹, 本間正充³¹大鵬薬品工業(株)安全性研究所, ²大鵬薬品工業(株)薬剤応答性解析研究所,³国立衛生研究所変異遺伝部

【目的】マウスリンフォーマ L5178Ytk⁺ 細胞 (MOLY) 及びヒト由来の WTK-1 細胞は変異型 p53 遺伝子を有している。一方 WTK-1 細胞と同じドナーから分離された TK6 細胞は野生型 p53 遺伝子を有している。今回これらの細胞系について 5-fluorouracil (5-FU) の遺伝毒性誘発に対する感受性の違い及びその原因を検討した。【方法】MOLY, TK6 及び WTK-1 細胞を 5-FU で 3 あるいは 4 時間処理し, 48 あるいは 72 時間の発現期間後, TFT 抵抗性を指標とする突然変異率 (MF) を求めた。また 5-FU 処理後, 48 時間培養し各細胞の小核誘発率 (MN) を求めた。さらに各細胞の 5-FU の代謝に関係する酵素活性も測定した。【結果】MOLY 細胞において 5-FU は MF 及び MN 値を明らかに増加させたが, WTK-1 細胞では MN 値しか増加しなかった。一方, TK6 細胞ではいずれも増加しなかった。さらに 5-FU 関連酵素は他の細胞に比して MOLY 細胞で Dihydropyrimidine dehydrogenase 活性は低く, Orotate phosphoribosyl transferase 活性が高かった。すなわち MOLY 細胞は 5-FU を分解しにくく, さらにリン酸化しやすい細胞であることが考えられた。従って MOLY 細胞が, 5-FU の遺伝毒性誘発に対して高感受性なのは, 細胞内の 5-FU 関連酵素の活性の違いによるものと考えられた。

The different sensibility to 5-fluorouracil in three cell lines, mouse lymphoma L5178Ytk⁺ cells, human lymphoblastoid TK6 and WTK-1 cells.

○Hiroaki OKA¹, Kazumasa IKEDA², Hiromi YOSHIMURA¹, Akinobu OHUCHIDA¹, Masamitsu HONMA¹, ¹Drug Safety Research Lab., Taiho Pharmaceutical Co.,Ltd., Tokushima, Japan, ²Research Lab. for Optimal Medication, Taiho pharmaceutical Co.,LTD., Tokushima, Japan, ³Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Science, Tokyo, Japan

P-114

染色体数的異常誘発物質 Vincristine および K252a の CHL 細胞における染色体数および DNA 量に対する比較検討

○高瀬 淳, 谷口 薫, 古賀万理, 遠乗弘美, 中井康晴, 山中義弘, 笠原義典, 宇野 洋
帝人(株)医薬開発研究所安全性研究部

【目的】染色体の数的異常誘発が癌奇形性や発がんに関与することが指摘され, その検出法が注目されている。今回, Vincristine (以下 VC) と K252a の数的異常誘発作用を染色体数計数法と DNA 量測定法とで比較検討した。【方法】VC, K252a, または MNNG を CHL 細胞に 24 時間曝露し, 1) 染色体標本を作製して染色体数計数およびヒストグラム解析, 2) フローサイトメーターを用いて細胞毎の DNA 量測定および細胞集団の DNA 量分布解析を行った。また, 3) 非細胞系の測定キットを用いて微小管重合阻害作用を測定した。【結果】1) 正常染色体数モード 25 本に対し, VC は低濃度で 19~35 本に増減する異数性を, 高濃度で染色体数モード 50 本となる倍数性を示した。K252a では低濃度における異数性は観察されず, 染色体数モードを 50 本とする倍数性のみを示した。MNNG では染色体数の減少がみられた。2) DNA 量では, VC は 2C (G1 期 DNA 量) の細胞ピークが 4C 側に崩れ, 高濃度では 4C~8C の細胞が出現した。K252a は 2C が減少して 4C の細胞ピークが増加し, 8C の細胞ピークが出現した。MNNG は 4C の細胞ピークが増大した。3) 微小管重合では VC のみが阻害作用を示した。【考察】VC は微小管重合阻害による染色体不分離により様々な染色体数, DNA 量をもつ細胞を誘発し, K252a は M 期スキップにより倍数性の染色体数, DNA 量をもつ細胞を誘発する。また, MNNG では交換型構造異常に伴う染色体数の減少, DNA 傷害に伴う 4C (G2/M 期) 細胞の増加を誘導する。染色体数計数法および DNA 量測定法はこれらの特徴的に検出することができた。

Chromosomal counting and DNA-content determination in CHL cells exposed by vincristine or K252a known as numeric aberration inducers.

○Jun TAKASE, Kaoru TANIGUCHI, Mari KOGA, Hiromi ENJYO, Yasuharu NAKAI, Yoshihiro YAMANAKA, Yoshinori KASAHARA, Hiroshi UNO, Safety Research Department, Pharmaceuticals Development Research Laboratories, Teijin Limited, Tokyo, Japan

P-115 超生体染色による簡便な in vitro 小核試験

○中川宗洋¹, 齋藤宏美¹, 堀 一成¹, 佐々木有²

¹三菱化学安全科学研究所鹿島研究所応用生物研究部遺伝毒性グループ,

²八戸工業高等専門学校

現在、染色体異常試験をより簡便に実施するために、in vitro 小核試験が行われるようになってきている。In vitro 小核試験には簡便であるだけでなく、異数性も検出できるような利点もある。In vitro 小核試験では、通常、空気乾燥法によって標本が作製されているが、この方法は煩雑であるだけでなく細胞質を完全に残すことが難しい。ここでは空気乾燥法を経ずに簡便に標本を作製する方法を検討した結果について報告する。なお、この方法は林らによる末梢血の超生体染色法を培養細胞に適した形に改変したものである。HepG2 および WYK1 細胞を作用機序の異なる染色体異常誘発物質、それに引き続いてサイトカラシン B で処理し、小核試験用の標本作製に供した。採取した細胞を軽く低張処理し、10% (v/v) で DMSO を加え、そのまま -80℃ で急速凍結した。観察時に解凍し、アクリジンオレンジを塗布したスライドガラスに滴下してカバーガラスをかけ、B 励起系の蛍光顕微鏡で小核を有する二核細胞の頻度を求めた。以上の方法で得られた小核試験の成績は、空気乾燥法によって作製した標本によるものとはほぼ同等であった。しかしながら、この方法による場合には、標本作製の時間が短縮できるだけでなく、細胞質が完全に残存しているために観察が容易という利点があった。このことから、超生体染色法による in vitro 小核試験は簡便な方法として有用であると考えられる。

Validation of in vitro micronucleus test by supervital staining

○Munehiro NAKAGAWA¹, Hiromi SAITO¹, Kazunari HORI¹, Yu f SASAKI², ¹Genetic Toxicology Group, Applied Biology Division, Hasaki, Japan, ²Hachinohe National College of Technology, Tamonoki Uwanotai 16-1, Hachinohe, Japan

P-116 間接変異原による DNA 損傷と小核の誘発の比較検討

○奥谷冴子, 佐々木有

八戸工業高等専門学校物質工学専攻科

コメットアッセイは DNA 初期損傷をアルカリ脆弱部位として検出する方法であり、損傷とそれを有する細胞の運命を知ることはできない。発癌の過程を考えると、誘発された DNA 初期損傷が修復されか、染色体異常や突然変異として固定されるか、あるいはそれを持った細胞が死に至るかが重要である。ヒト肝薬物代謝系の一部を保有する培養細胞である HepG2 細胞では、ヒト肝 S9 の間接変異原の代謝活性化を定性的によく反映していることを、in vitro コメットアッセイによって示した (第 28 会学術年会)。そこで、HepG2 細胞において間接変異原による小核の誘発をコメットアッセイの結果と比較し、初期損傷の運命の検討を試みた。HepG2 細胞を間接変異原で 4 時間、さらにサイトカラシン B で 24 時間処理し、小核の誘発と細胞毒性を測定した。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。Benzene, aniline 等ではコメットアッセイ陽性濃度域で小核が誘発がみられ、DNA 損傷が固定されていると考えられた。しかし、B[a]A, Pyrene, 環状ニトロソアミン等ではコメットアッセイ陽性濃度域で小核と細胞毒性がみられず、DNA 損傷が修復されていると考えられた。Trp-P-1, azobenzene 等ではコメットアッセイ陽性濃度域で細胞毒性がみられ、DNA 損傷が細胞死の原因となっていると考えられた。このことから、HepG2 細胞では間接変異原の種によって初期損傷の運命 (修復と固定, 細胞の死) が左右されると考えられた。

Induction of DNA damage and micronuclei by pro-mutagens in HepG2 cells

○Saeko OKUTANI, Yu f SASAKI, Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan

P-117 タール系合成食用色素によるマウス消化管における DNA 損傷と小核の誘発の比較検討

○横濱奈津江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専攻科、²岩手大学農学部獣医公衆衛生学教室

わが国で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 号は結腸で遺伝毒性を示すことをコメットアッセイによって既に報告した。これらについての癌原性試験では一日あたりの投与用量が 2000 mg/kg を越えるが癌原性陽性の結果は得られていない。コメットアッセイは DNA に生じた初期損傷を検出するのみであり、損傷の運命を論じることはできない。発癌の過程を考えると、誘発された DNA 初期損傷が修復されか、染色体異常や突然変異として固定されるか、あるいはそれを持った細胞が死に至るかが重要である。そこで、マウスの消化管においてタール系食用色素による小核の誘発をコメットアッセイの結果と比較し、初期損傷の運命の検討を試みた。各食用色素を最大 2000mg/kg/day で 1 回経口投与した。その 3 から 5 日後に屠殺し、EDTA 溶液で粘膜細胞を分散、アクリジンオレンジで染色、小核を有する細胞の頻度を計測、コメットアッセイの結果と比較した。コメットアッセイでは単回投与では多くの食用色素がマウスの消化管で陽性を示すものの、いずれの食用色素でも小核の誘発は見られなかった。奥谷らがアゾ色素ではコメットアッセイで検出される DNA 損傷が細胞死の原因となりやすいと報告しているように（本学術年会）、食用色素による DNA 損傷は染色体の異常として固定されないあることが示唆された。このことから、コメットアッセイで検出された食用色素による消化管の初期損傷は、発癌性には寄与しない可能性が示唆された。

Induction of DNA damage and micronuclei by food colors in mouse gastrointestinal organs

○Natsue YOKOHAMA¹, Yu f. SASAKI¹, Shuji TSUDA², ¹Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan, ²Iwate University, Morioka, Japan

P-118 マウスおよびラットの腹胃で誘発される細胞死がコメットアッセイによる遺伝毒性検出に及ぼす影響

○和田栄子¹、佐々木有¹、長岡有紀²、葛西靖広²、船生志乃²、川口雅子²

¹八戸工業高等専門学校物質工学専攻科、²日研化学安全性研究所

コメットアッセイは DNA の初期損傷を低分子化によって検出する系である。しかし、DNA 損傷だけでなく細胞死も DNA の低分子化の要因となる。そのため、コメットアッセイ陽性の結果が細胞死によって二次的に発生したものかを見極める必要があるが、*in vivo* では病理学的診断の結果に頼っている。また、*in vivo* コメットアッセイでは細胞死とコメットアッセイの結果の定量的な関連づけはなされていない。今回、マウスおよびラットの腹胃で両者の関連づけを試みた。マウスおよびラットに腹胃で細胞死をもたらす NaCl, dimethylamine (DMA) を、腹胃で DNA 損傷を誘発する EMS を単回経口投与し、その 3 時間後に胃を摘出した。コメットアッセイでは腹胃粘膜の上層部、同下層部、Ridge に分けて粘膜を採取し、それぞれについて中性およびアルカリ性コメットアッセイを行った。分割した腹胃の片方は病理標本を作製に供し、細胞死を起こしている細胞の頻度を計測した。細胞死を伴わない遺伝毒性は DNA 一本鎖切断の増加としてアルカリ性コメットアッセイで、細胞死の発生は DNA 二本鎖切断の増加として中性とアルカリ性コメットアッセイで検出されることが示された。このことは、細胞死の存在は誤った遺伝毒性評価を導く重大な影響を与えることを示すものである。しかし、壊死細胞の頻度は腹胃粘膜という組織全体では少数に止まり、組織全体を的確に採材することで細胞死の影響を最小限に押さえることができるとも判明した。

Cell death leads to false positive results in the comet assay

○Eiko WADA¹, Yu f. SASAKI¹, Yuki NAGAOKA², Yasuhiro KASAI², Shino FUNYU², Masako KAWAGUCHI², ¹Hachinohe National College of Technology, Hachinohe, Japan, ²Toxicology Group, Pharmaceutical Discovery Department, Pharmaceutical Research Laboratories, Saitama, Japan

P-119

N-ethyl-*N*-nitrosourea で誘発した ICR および *rasH2* マウスにおける ethinylestradiol の相反した子宮発癌修飾作用



○渡邊隆夫¹, 櫻田陽子¹, 上田 誠², 小野寺博志², 広瀬雅雄², 三森国敏¹

¹東京農工大学農学部獣医学科家畜病理学講座, ²国立医薬品食品衛生研究所病理部

【目的】*N*-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU) 誘発二段階子宮発癌モデルにおいて ethinylestradiol (EE) の子宮発癌修飾作用を ICR および *rasH2* マウスで比較検討した。【方法】ICR マウスに ENU 50mg/kg を子宮腔内投与した後, EE 2.5ppm を 24 週間あるいは 6 週間投与させた。*rasH2* マウスには ENU 120mg/kg を単回腹腔内投与後, 2.5ppm EE を同様に 24 週間あるいは 6 週間混飼投与し, 腫瘍性病変の発生状況及びエストロゲンレセプター- α (ER α) の発現を免疫組織化学的に検索した。【結果及び結論】24 週間投与では ICR マウスにおける子宮腺癌の発現率は ENU 単独群で 0 % であり, ENU+EE 群で 37.5 % と有意に増加した。異型性過形成及び内膜過形成の発現率も同様に ENU+EE 群で有意に増加した。一方, *rasH2* マウスでは ENU 単独群において腺癌が 55.6 %, 異型性過形成が 33.3 %, 内膜過形成が 22.2 % 発現したが, ENU+EE 群ではこれら増殖性病変の発現は全く認められなかった。腺癌及び異型性過形成における PCNA 陽性細胞率は ICR マウス (ENU+EE 群) では正常な内膜上皮に比較し高値を示したものの, *rasH2* マウス (ENU 単独群) では正常内膜上皮と同程度であった。6 週間投与実験では, ICR マウスの ENU 単独群で ER α の発現は軽度であったが, ENU+EE 群では中等度～高度を示し, 増強がみられた。一方, *rasH2* マウスでは ENU 単独群と ENU+EE 群間に差はみられなかった。以上より, 2.5ppm の EE は ENU 投与で誘発された子宮腺癌に対し, ICR マウスでは促進, *rasH2* マウスでは抑制と, 異なる修飾作用を示すことが明らかになった。

Inhibiting effects of ethinylestradiol on *N*-ethyl-*N*-nitrosourea-initiated uterine carcinogenesis in transgenic mice carrying a human prototype *c-Ha-ras* gene (*rasH2* mice)

○Takao WATANABE¹, Yoko KASHIDA¹, Makoto UEDA², Hiroshi ONODERA², Masao HIROSE², Kunitoshi MITSUMORI¹,
¹Laboratory of Veterinary Pathology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan, ²Division of Pathology,
National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-120

Amitrole によるラット甲状腺発がん促進作用に対する臓器障害の影響

○瀧澤 保, 今井俊夫, 上田 誠, 小野瀬淳一, 蓮村麻衣, 広瀬雅雄

国立医薬品食品衛生研究所病理部

【目的】抗甲状腺作用を有する amitrole (AT) の肝,腎あるいは甲状腺障害時における甲状腺発がん修飾作用を DHPN 誘発ラット二段階発がんモデルにより検討した。【方法】7 週齢の雄性 F344 ラットに *N*-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) 2800 mg/kg を単回皮下投与し, 1 週後から肝,腎あるいは甲状腺障害を誘発するため thioacetamide (TAA, 300 ppm 飲水投与), bromethylamine (BEA, 150 mg/kg 単回腹腔内投与) あるいは過塩素酸カリウム (KClO₄, 100 ppm 飲水投与) 処置を開始した。さらにその 1 週後から 500 ppm の AT を 20 週間混飼投与した。各々の単独投与群も設けた。【結果および結論】DHPN 処置後 AT 単独投与により体重増加抑制, 血清 T₄, T₃ の低下と TSH の上昇, 甲状腺重量の増加がみられ, 甲状腺濾胞上皮の巣状過形成, 腺腫, 腺癌が高頻度に発生した。TAA, BEA あるいは KClO₄ 併用投与により血清ホルモン値および甲状腺重量に対する影響はみられなかったが, KClO₄ 併用群では濾胞上皮の巣状過形成, 腺腫及び腺癌の発生個数が AT 単独群に比べ有意に増加し, BEA 併用群では巣状過形成の発生個数が有意に減少したものの, 腺腫及び腺癌に対する影響はみられなかった。他臓器の所見として, DHPN 処置後 TAA 単独処置により肝細胞腺腫及び胆管線維症が誘発されたが, AT 併用により何れも軽減した。BEA 単独処置により腎乳頭壊死がみられたが, AT 併用による影響はみられなかった。以上の結果から AT による甲状腺発がん促進作用は甲状腺機能を抑制する KClO₄ 処置により増強されることが明らかとなった。また TAA 肝障害及び肝発がんが AT により修飾されることも示された。

Modulatory effects of hepatic, renal or thyroidal impairments on amitrole-induced thyroid carcinogenesis in rats pretreated with DHPN

○Tamotsu TAKIZAWA, Toshio IMAI, Makoto UEDA, Jun-ichi ONOSE, Mai HASUMURA, Masao HIROSE, Division of Pathology,
National Institute of Health Sciences

P-121

カロテノイド系食用天然色素であるアナトー色素のラット中期肝発がん性試験での非発がん促進作用

○今井則夫¹, 萩原昭裕¹, 土井悠子¹, 難波江恭子¹, 廣田 毅¹, 河部真弓¹, 津嶋容子², 小川洋一², 青木宏光², 安原加壽雄², 香田隆俊², 中村幹雄^{2,3}, 白井智之³

¹(株)大雄会医学研究所, ²三栄源エフ・エフ・アイ(株),
³名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学

【目的】ベニノキ科ベニノキの種子から抽出されるアナトー色素は歴史的に古くから食用に共されて安全と考えられている。しかし、最近実施した慢性毒性試験においてアナトー色素（ノルビキシン）の高用量投与で肝臓重量の増加が見られ、組織学的には肝細胞の肥大であった。電子顕微鏡学的にはミトコンドリアの増加を認めた。そこでアナトー色素（ノルビキシン）の肝発がん促進作用の有無を中期肝発がん性試験法（伊東法）を用いて検討した。【方法】6週齢の雄性F344ラットを用い、試験開始時にN-nitrosodiethylamineを200mg/kgの用量で単回腹腔内投与した。2週経過後よりアナトー色素を0.003、0.1および0.3%の飼料中濃度で混餌投与し、第3週に2/3肝部分切除術を施行し、8週後に屠殺剖検した。肝臓の前がん病変であるglutathione S-transferase placental form(GST-P)陽性細胞集の定量的解析を行った。【結果】肝臓重量および肝臓重量体重比は0.1および0.3%群で有意な高値を示した。しかしながら、肝臓のGST-P陽性細胞集の単位面積当たりの数および面積は最高用量の0.3%群においても有意な増加を示さなかった。【結論】アナトー色素は飼料中濃度0.3%(200mg/kg/day)で肝発がんに対して促進作用を示さないことが明らかとなった。

Annatto extract, a carotenoid natural food color, lacks tumor promoting effects in a medium-term liver carcinogenesis bioassay in rats

○Norio IMAI¹, Akihira HAGIWARA¹, Yuko DOI¹, Kyoko NABAE¹, Takeshi HIROTA¹, Mayumi KAWABE¹, Yoko TSUSHIMA², Yoichi OGAWA², Hiromitsu AOKI², Kazuo YASUHARA², Takatoshi KODA², Mikio NAKAMURA^{2,3}, Tomoyuki SHIRAI², ¹Daiyu-kai Institute of Medical Science, Aichi, Japan, ²San-Ei Gen F.F.I., Inc, Osaka, Japan, ³Dept. of Exp. Pathol. and tumor Biol., Nagoya City Univ., Aichi, Japan

P-122

非遺伝子傷害性肝発がん物質を長期間投与したラット肝臓での発現変動遺伝子のプロファイリング

○渋谷 淳, 井上弘子, 高木広憲, 加藤奈津美, 李 京烈, 有村卓朗, 畠山智香子, 龍上 周, 広瀬雅雄

国立医薬品食品衛生研究所病理部

【目的】非遺伝子傷害性発がん物質をラットに長期間投与した際の発現変動遺伝子について経時的な網羅的解析を行い、特徴的な発現様式を示す遺伝子を検索した。【方法】SD:IGS/DuCrjラットに、6週齢より既知の非遺伝子傷害性肝発がん物質であるphenobarbital-600ppm, thioacetamide (TAA)-600ppm, diethylhexyl phthalate-20,000ppmと、肝毒性を持つが肝発がん作用のないacetaminophen (APAP)-10,000ppmの混餌投与を行い、投与開始後28日目、1年、2年目に屠殺し、肝臓よりtotal RNAを抽出し、Rat Genome U34A Array (Affymetrix)による発現変動遺伝子の網羅的解析を行った。但し、TAA投与例は途中死亡が多く70週の時点で最終屠殺し、他の2年目の群と比較した。【結果・考察】28日間投与例と比較し、基礎食対照に対して2倍以上ないし1/2以下の発現を示した遺伝子数は1及び2年目で増加し、上昇遺伝子数は1年目で最も多かった。各時期を通じて上昇遺伝子数はTAA投与例で最も多く、APAP投与例で最も少なかった。これらの機能分類の結果、1、2年目とも全ての化合物で酵素類の発現が最も多く増減し、転写因子、シグナル伝達関連因子がそれに次いだ。また、発がん物質のみに共通した発現上昇/減少遺伝子は、28日目で最も少なく(各々5、7個)、1年目で最も多かった(266、48個)。2年目では減少し、各時期に共通した変動遺伝子は得られなかった。以上より、化学物質長期投与により、投与1年目で細胞機能の変化が最も強く現れることが推察され、各々の化学物質の特異的な生体作用を反映した遺伝子発現の多様性が示された。

Molecular profiling of genes showing altered expression in the livers of rats treated with non-genotoxic carcinogens for long-term

○Makoto SHIBUTANI, Hiroko INOUE, Hironori TAKAGI, Natsumi KATO, Kyoung-young LEE, Takuro ARIMURA, Chikako UNEYAMA, Shu TAKIGAMI, Masao HIROSE, Division of Pathology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

P-123

p53 ノックアウト (KO) マウスの化学物質誘発癌に対する臓器依存的感受性



○白井紀充¹, 飯高 健¹, 塚本徹哉², 堀井郁夫¹, 立松正衛²

¹ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部病理研究室,

²愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部

【目的】 p53KO マウスの食道および肝臓における化学物質発癌に対する感受性を検討した。【方法】 5~6 週齢の p53^{+/+}, p53^{+/+} に MNAN (methyl-n-aminonitrosamine) 5,15 ppm 処置 (8 週間飲水投与後, 7 または 17 週間無処置), あるいは APNH (aminophenylnocharman) 3,10,30 ppm 処置 (40 週間混餌投与) した後, 食道, 肝臓の腫瘍発生頻度を調べ, 腫瘍組織の p53 exon 5-8 について PCR-SSCP 法で遺伝子変異を検索した。さらに, p53^{-/-} に MNAN 5 ppm を同様に与えて, 食道腫瘍発生頻度を調べた。また, p53^{+/+} に APNH 3,10,30,100 ppm を 7 日間投与後, 肝臓の DNA adduct を ³²P-ポストラベル法により測定した。【結果】 MNAN による食道扁平上皮癌の発生頻度は, p53^{-/-} > p53^{+/+} > p53^{+/+} であった。p53 遺伝子変異が約 60% の食道癌に検出され, 食道発癌との因果関係が示唆された。APNH 投与では, 肝細胞癌, 肝細胞癌が用量依存性に認められたが, p53^{-/-} と p53^{+/+} とで発生頻度に差はなかった。これらの肝腫瘍に p53 遺伝子変異は検出されなかった。なお, APNH 投与後の肝臓では, 用量依存性に DNA adduct の増加が認められた。以上のことから, 誘発物質の違いはあるが, 発癌における p53 遺伝子異常の関わりが臓器により異なることが示唆された。

Tissue-dependent susceptibility of p53 knockout mice to chemical-induced carcinogenesis

○Norimitsu SHIRAI¹, Takeshi IIDAKA¹, Tetsuya TSUKAMOTO², Ikuro HORII¹, Masae TATEMATSU², ¹Drug Safety Evaluation, Nagoya Laboratories, Pfizer Global Research and Development, Aichi, Japan. ²Division of Oncological Pathology, Aichi Cancer Center Research Institute

P-124

Phenobarbital の低用量域ラット肝発がん性: ホルミシスの存在



○木下アンナ, 森村圭一朗, 齋藤英機, プアタナチョックチャイラウィワン, 福島昭治

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学講座

ラット肝発がんプロモーターである phenobarbital (PB) は低用量域では腫瘍抑制作用, いわゆるホルミシス現象を示す。今回この現象の機序解明を目的として以下の実験を行った。6 週令雄性 F344 ラットに diethylnitrosamine (DEN) を 100mg/kg 腹腔内投与した後 PB を 0, 2, 15, 500ppm の用量で混餌投与した。実験開始後 10, 33 週で屠殺し, 肝の病理学的検索および分子生物学的検索を行った。肝 GST-P 陽性細胞巢 (10 週屠殺群), 肝腫瘍 (33 週屠殺群) の発生は 500ppm 投与群では有意に上昇していたが, 逆に, 2ppm 投与群では有意に抑制されており PB のホルミシス現象が確認された。OH ラジカルレベル, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) レベルは PB の高用量群では上昇, 低用量群では低下していた。また, 低用量群では 8-OHdG 修復酵素 oxoguanineglycosylase 1 (OGG1) mRNA の過剰発現が認められた。さらに, cDNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析の結果, 低用量域では肝細胞増殖抑制活性をもつ gamma-aminobutyric acid (GABA) 生成の関与酵素である glutamic acid decarboxylase 65 (GAD65) の過剰発現と mitogen activated protein (MAP) kinases (p38, JNK1, 2) の発現抑制が認められた。一方高用量域では低用量域では認められなかった P-450 を中心とした薬物代謝酵素関連遺伝子の著明な発現が認められた。以上, ラット肝発がんモデルにおける PB のホルミシス現象には, PB の投与用量差に起因する酸化的 DNA 傷害レベル・細胞増殖抑制の程度と, 薬物代謝酵素遺伝子発現レベルとのバランスが関与すると示唆された。

Phenobarbital at low dose exerts hormesis in rat hepatocarcinogenesis by reducing oxidative DNA damage, altering cell proliferation, apoptosis and gene expression

○Anna KINOSHITA, Keiichirou MORIMURA, Hideki WANIBUCHI, Rawiwan PUATANACHOKCHAI, Shoji FUKUSHIMA, Department of Pathology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan

P-125

F344 ラットと p53 (+/-) ノックアウトマウスにおける dimethylarsinic acid の発癌性、遺伝子変化と DNA 損傷の関係

応

○サリム エリサイド, 鰐淵英機, 魏 民, 森村圭一郎, 福島昭治

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学

In the present set of experiments, we provide, for the first time, the full data of carcinogenicity of DMA, a major metabolite of arsenic, in male F344 rats in a 2-year bioassay, and in male p53 (+/-) knockout and wild type C57BL/6J mice in a one and half-year bioassay, along with the first assessment of genetic alteration patterns in the DMA-induced tumors. DMA induced urinary bladder carcinomas in rats treated with 50 or 200 p.p.m in drinking water, while no tumors were found in control. DMA carcinogenicity was evident in p53 (+/-) knockout and wild type mice administered 50 or 200 p.p.m in drinking water by significant early induction of tumors in both treated genotypes, significant increase of tumor multiplicity in 200 p.p.m.-treated p53 (+/-) knockout mice, and by significant increase in incidence and multiplicity of tumors in treated wild-type mice, with no evidence for organ-tumor specificity. Mutation analysis showed that DMA-induced rat bladder tumors had low H-ras mutations, and no p53 alterations. Most TCCs, papillomas and PN hyperplasias had decreased p27 (kip1) and p53 expression, but Cyclin D1 and COX-2 overexpression. In another experiment, 8-OHdG levels, a marker for oxidative DNA damage, in rat urinary bladder were significantly increased after treatment with 200 p.p.m. DMA in drinking water for 2 weeks compared with controls. Molecular analysis in mice revealed no p53 mutations in tumors from either p53 (+/-) knockout or wild-types. The studies demonstrated DMA to be a carcinogen for the rat urinary bladder, and for both mice genotypes, and suggested that DMA exposure may be relevant to the carcinogenic risk of inorganic arsenic in humans.

Carcinogenicity of Dimethylarsinic Acid in F344 Rats and p53 (+/-) Knockout and Wild Type C57BL/6J Mice. Relevance with Genetic Alterations and Oxidative DNA Damage

○Elsayed SALIM, Hideki WANIBUCHI, Min WEI, Keisichiro MORIMURA, Shoji FUKUSHIMA, Department of Pathology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan.

P-126

がん原性試験に用いる遺伝子改変マウスの生物学的特性に関する研究

○鈴木修三¹, 浦野浩司¹, 日置恭司¹, 菊地宏治², 福嶋章義², 服部祐二¹, 吉村マサミ¹, 澤 延子¹, 田辺亜希子², 江口奈津子¹, 野村達次¹, 白居敏仁³

¹(財)実験動物中央研究所, ²(株)ジェー・エー・シー

【目的】がん原性試験の代替法の試験系として、種々の遺伝子改変マウスが開発されている。今回、C57BL/6J マウスにヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した C57BL/6J-TgrasH2 マウス(以下、TgrasH2)を作製し、C57BL/6Tac マウスの p53 遺伝子をノックアウトした C57BL/6TacBR-[KO]p53KO マウス(以下、p53KO)と生物学的特性について比較検討を行なった。対照には、C57BL/6J マウス(以下、B6)を用いた。尚、今回用いた TgrasH2 は C57BL/6J と BALB/cByJ の F1 を遺伝的背景とした本来の CB6F1-TgrasH2 マウスとは異なるものである。【方法】各マウスは、7 週齢から 82 週齢まで飼育し、体重、生存率、自然発生腫瘍の発現状況について検索した。また、MNU を投与し各マウスの発がん感受性について比較検討した。【結果】各マウスの体重は、B6 と p53KO には明らかな差は無かったが、TgrasH2 で雌雄ともに他の 2 系統に比べ低値を示した。生存率は、82 週齢で B6 の雄 100%、雌 70%、TgrasH2 で 18%、27%、p53KO は雌雄ともに 10%、代替法の観察終了時期の 32 週齢では、TgrasH2 が 91%、92%、p53KO が 100%、95%であった。自然発生腫瘍の発現状況は、TgrasH2 および p53KO とも悪性リンパ腫、血管腫(肉腫)、腺腫(癌)等が 32 週齢以降に B6 に比べ高い率で認められた。また、TgrasH2 では p53KO に比べ前胃の乳頭腫の発現率が高い傾向を示した。MNU 投与では、悪性リンパ腫が、p53KO>TgrasH2>B6、前胃の乳頭腫が TgrasH2>B6>p53KO の順で認められた。【結論】TgrasH2 と p53KO は改変した遺伝子等の違いによりそれぞれ特徴的な生物学的特性を有する試験系であることが示唆された。

Study on the biological character of gene-manipulated mice for carcinogenicity test

○Shuzou SUZUKI¹, Kouji URANO¹, Kyouji HIOKI¹, Kouji KIKUCHI^{1,2}, Akiyoshi FUKUSHIMA^{1,2}, Yuji HATTORI¹, Masumi YOSHIMURA¹, Nobuko SAWA¹, Akiko TANABE^{1,2}, Natsuko EGUCHI¹, Tatsuji NOMURA¹, Toshimi USUI¹, ¹Central Institute for Experimental Animals, Kawasaki, Japan. ²JAC.K.K. Tokyo, Japan

P-127

ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入 (CB6F1-TgrasH2) マウスの背景データ

○浦野浩司¹, 福嶋章義^{1,2}, 菊地宏治^{1,2}, 吉村マスミ¹, 澤 延子¹, 江口奈津子¹,
田辺亜希子^{1,2}, 服部祐二¹, 鈴木修三¹, 白居敏仁¹

¹(財)実験動物中央研究所医薬品評価センター, ²(株)ジェー・エー・シー

(財)実験動物中央研究所開発の CB6F1-TgrasH2 マウスは発がん感受性に関する国際共同検証の成績から遺伝子毒性および非遺伝子毒性ヒト発がん物質を比較的高率に検出する試験系のひとつと認識され、従来のマウス 2 年間発がん性試験の代替法として各国規制当局による採用が始まっている。遺伝子操作マウスの使用に際しては導入遺伝子の経代的かつ多数生産時の安定性、一試験に使用するマウス週齢の統一 (出生誤差 7 日以内) など従来法に比べ特別な条件を必要とする。今回、1998 年から 2001 年までの間に実施した 7 試験の溶媒対照群の成績を集計して得られた TgrasH2 マウスの背景データ (n=105)、陽性対照 N-Methyl-N-nitrosourea (MNU, 75mg/kg 腹腔内単回投与) の成績 (3 試験) を検討した。溶媒対照群の平均体重は、26 週間投与終了時の 33 週齢で TgrasH2 マウスの雄が 32.1±5.0g、雌が 23.3±6.1g であり、同種の CB6F1-nonTg (non-Tg) マウスの雄 39.0±4.2g、雌 28.1±2.5g と比較し低値であったが、肝、腎、脾などの臓器重量には TgrasH2 マウスと non-Tg マウスに差はなかった。試験期間中、TgrasH2 マウスでは自然発生腫瘍として肺の腺腫、脾臓の血管腫、前胃の乳頭腫等が 2~5% の個体に認められた。MNU 群では投与 4 週後から前胃に乳頭腫を認め、8 週後にはほぼ全例の前胃に乳頭腫が誘発された。同時に、皮膚乳頭腫や胸腺原発の悪性リンパ腫があり、MNU 誘発腫瘍の発生率や出現時期に動物のロット、生産年による差は認められなかった。以上より本マウスの発がん感受性は安定して維持されていることを確認した。

Back ground data of human prototype c-Ha-ras transgenic (CB6F1-TgrasH2) mice

○Koji URANO¹, Akiyoshi FUKUSHIMA^{1,2}, Koji KIKUCHI^{1,2}, Masumi YOSHIMURA¹, Nobuko SAWA¹, Natsuko EGUCHI¹,
Akiko TANABE^{1,2}, Yuji HATTORI¹, Shuzo SUZUKI¹, Toshimi USUI¹, ¹Carcinogenicity Testing Center, Central Institute for
Experimental Animals, Kanagawa, Japan. ²JAC KK, Tokyo, Japan

P-128

CB6F1-TgrasH2 マウスに対する投与経路および溶媒の影響

○江口奈津子¹, 浦野浩司¹, 福嶋章義^{1,2}, 菊地宏治^{1,2}, 田辺亜希子^{1,2}, 吉村マスミ¹,
澤 延子¹, 西中栄子^{1,2}, 伊東 学^{1,2}, 服部祐二¹, 鈴木修三¹, 白居敏仁¹

¹(財)実験動物中央研究所医薬品評価センター, ²(株)ジェー・エー・シー

ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子を導入した CB6F1-TgrasH2 マウスは、発がん物質に対する感受性が高く、国際共同検証の成績から、従来のマウスにおける長期がん原性試験の代替法としての各国規制当局による採用が始まっている。しかし、本マウスでは皮膚や前胃に乳頭腫がしばしば観察されており、物理的あるいは化学的な局所刺激に対して反応する可能性は否定できない。このことから、試験結果を正しく評価する基礎データとするために、このマウスの反復皮下投与による影響を検討した。更に、我々がこれまでに行った経口投与試験での 4 溶媒による影響についても紹介する。

動物は CB6F1-TgrasH2 および同種の c-Ha-ras 遺伝子非導入 (nonTg) マウスを用いた。反復皮下投与試験では、無投与、生理食塩水、PBS pH6.2, pH7.2, pH8.2 の 5 群を設定し、背部皮下 4 箇所を日毎に移動して投与した。4 週間投与後、各群半数について剖検を行ったが、肉眼的な異常所見は認められなかった。残りの半数を継続投与中であるが、19 週を経過した現時点で局所刺激の影響とみられる異常は認められていない。

また、蒸留水、HPMC、Corn oil、アラビアゴムによる経口投与試験では、各溶媒間で体重に差はなかった。病理組織学的検査でも、本マウス特有の変化である乳頭腫、血管(肉)腫、腺腫(がん)等は数例みられたが、その発生頻度に 4 溶媒間の差はなく、溶媒の局所刺激作用に起因すると考えられる腫瘍性変化は認められなかった。

Influence of the administration route and the vehicle on CB6F1-TgrasH2 mice

○Natsuko EGUCHI¹, Kouji URANO¹, Akiyoshi FUKUSHIMA^{1,2}, Kouji KIKUCHI^{1,2}, Akiko TANABE^{1,2}, Masumi YOSHIMURA¹,
Nobuko SAWA¹, Eiko NISHINAKA^{1,2}, Manabu ITOH^{1,2}, Yuji HATTORI¹, Shuzo SUZUKI¹, Toshimi USUI¹, ¹Carcinogenicity
Testing Center, Central Institute for Experimental Animals, Kanagawa, Japan. ²JAC KK, Tokyo, Japan

P-129

DNA マイクロアレイによるパラコート誘発ラット肺線維症の遺伝子発現解析

応

○里見嘉英¹, 土屋若奈¹, 山中義弘¹, 宇野 洋¹, 赤堀文昭²¹帝人(株)医薬開発研究所安全性研究部, ²麻布大学獣医学部薬理学教室

【目的】パラコートの肺線維症誘発性は広く知られているが、その発症機序は十分に解明されていない。パラコート誘発肺線維症の機序を遺伝子発現レベルで解明するため、ラットにパラコートを投与し、亜急性期の肺の遺伝子発現プロファイリングを DNA マイクロアレイにより行ない関連する遺伝子の抽出および分類を試みた。【方法】6 週齢の雄 Wistar ラットにパラコート溶液を頸背部皮下に 7 日間、7 mg/kg/day 反復投与し、最終投与 2 日後に投与群を体重減少群および体重非減少群に群分けし肺を摘出した。摘出した肺から RNA を抽出し、cDNA を調製した。蛍光色素 Cy3 により標識した後、Clontech 社 Atlas Glass Rat L0 Microarray により 1090 種類の遺伝子発現解析を行なった。【結果および考察】パラコート投与体重減少群 6 例および体重非減少群 4 例を溶媒投与対照群 2 例とそれぞれ比較した。体重減少群で 48 種類、体重非減少群で 29 種類の遺伝子の発現変化が認められ、体重減少群と体重非減少群との間では 28 種類の遺伝子の発現変化が共通していた。発現変化した遺伝子の中には、神経伝達物質レセプター 5 種、トランスポーター 4 種、電位依存性イオンチャネル 4 種、脂質代謝酵素 2 種、エンドサイトシスおよびエクソサイトシス関連 G タンパク 2 種などの他、肺線維症との関係が調べられているサイトカイン関連 7 種、細胞死や再生に関わる ADP リボシル化遺伝子類 4 種、嚢胞性線維症原因遺伝子 CFTR、肺線維化を併発する神経線維症 1 型の原因遺伝子、また、脊髄小脳失調症原因遺伝子などが含まれていた。

Gene expression analysis of paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats using DNA microarray.

○Yoshihide SATOMI¹, Wakana TSUCHIYA¹, Yoshihiro YAMANAKA¹, Hiroshi UNO¹, Fumiaki AKAHORI², ¹Safety Research Department, Pharmaceuticals Development Research Laboratories, TEJIN LIMITED, Tokyo, Japan, ²Department of Veterinary Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Azabu University, Kanagawa, Japan

P-130

Sulfasalazine 投与によるラット精巣および精巣上体における遺伝子発現への影響

応

○福島民雄¹, 加藤真之¹, 堀本政夫¹, 浜田悦昌¹, 足達哲也², 小宮山政敏², 森 千里², 堀井郁夫¹¹ファイザー製薬(株)安全性研究統括部, ²千葉大学大学院環境生命医科学研究室,³大阪府立大学先端科学研究所生物資源開発センター

第 29 回の本学会において、我々は、Sulfasalazine (SASP) の雄ラットへの投与による受精率低下および精子先体反応に対する影響について報告した。そこで、本研究では、SASP 投与による影響が認められた条件下における精巣、精巣上体頭部および尾部を用いて、精巣での cDNA マイクロアレイ解析で遺伝子発現の増加が確認された CD59 と、CD59 同様の作用をもつ DAF (decay accelerating factor) および MCP (membrane cofactor protein) の遺伝子発現について Real Time PCR 法を用いてそれぞれの組織における発現について比較検討した。その結果、精巣においては、CD59 は SASP 投与群でわずかな発現の増加がみられた。しかし、MCP、DAF については変化はみられなかった。一方、精巣上体頭部は、CD59、MCP、DAF において有意な減少がみられた。また、精巣上体尾部では CD59、MCP の有意な減少がみられた。以上のように、SASP 投与により精子成熟に関与している精巣上体で、ヒト精子において精子先体膜の保護作用をもつ CD59、MCP および DAF の遺伝子発現が減少していることが確認された。すなわち、SASP 投与の精子先体反応抑制作用には、精子先体に存在する CD59、MCP、DAF が関与している可能性が示唆された。

The effects of Sulfasalazine on gene expression in rat testis or epididymis

○Tamio FUKUSHIMA¹, Masashi KATO², Masao HORIMOTO¹, Yoshimasa HAMADA¹, Tetsuya ADACHI¹, Masatoshi KOMIYAMA², Chisato MORI², Ikuo HORII³, ¹Pfizer Inc, Nagoya laboratories, Drug safety evaluation, ²Chiba university, Department of bioenvironmental medicine (A3), ³Osaka prefecture university, Research institute for advanced science and technology

P-131

DNA マイクロアレイを用いたラットへの Phenobarbital および 3-Methylcholanthrene 投与後の遺伝子発現解析

○稲垣成憲, 島田寿久, 川口友和, 村田共治

(財)食品農医薬品安全性評価センター

【目的】Phenobarbital (PB) や 3-Methylcholanthrene (3MC) は古くから薬物代謝酵素の誘導剤として化学物質の代謝、毒性等の研究に利用されてきた。近年になり、これらの薬物は、代謝系に関連する遺伝子以外にも様々な遺伝子の発現に変化を及ぼすことが知られてきている。そこで今回、多数の遺伝子発現を解析できる DNA マイクロアレイを用いてこれら薬物を投与したラット肝臓の遺伝子発現を網羅的に解析した。【方法】9 週齢の雄性 F344 ラットに 0.1 % の PB を 14 日間飲水投与、または 100 mg/kg の 3MC を経口投与した F344 ラットに 0.1% の PB を 14 日間飲水投与した。投与後 1 および 14 日後に肝臓を摘出し、ISOGEN にて Total RNA を抽出し、Oligotex dT30 にて mRNA を精製した。逆転写により cDNA を調製し、処理群、対照群を標識後、Clontech 社の Atlas Glass Microarray (3757 gene) を用い、ハイブリダイズさせた。【結果】PB 投与または 3MC+PB 投与の投与後 1 日および 14 日後の遺伝子発現変化を測定した。その結果、EST を含め数多くの遺伝子に発現の変化が認められた。これら発現に変化を示した遺伝子のうち、Metabolism に関する遺伝子が多く存在していた。Metabolism に関する遺伝子以外にも、Cell receptor, Intracellular transducer や Membrane channel に関する遺伝子も多く認められた。

Gene expression analysis in the liver of rats treated with phenobarbital and 3-methylcholanthrene using DNA microarray

○Shigenori INAGAKI, Toshihisa SHIMADA, Tomokazu KAWAGUCHI, Kyoji MURATA, Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides, Shizuoka, Japan

P-132

Phenobarbital あるいは clofibrate 投与により惹起されるラット肝臓遺伝子発現変動に年齢差が及ぼす影響

応

○清沢直樹, 伊藤和美, 佐久間恭子, 上堀美幸, 新野訓代, 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】老齢ラットの肝臓では若齢ラットに比較し、脂質代謝等の生理機能において老化に伴うさまざまな変化が認められることから、薬剤投与に対する肝臓の反応は通常毒性試験に用いられる若齢ラットとは異なることが予想される。本研究では phenobarbital (PB) あるいは clofibrate (CPIB) を投与した老齢あるいは若齢のラット肝臓の網羅的遺伝子発現解析を行い、発現変動様式の比較解析を行った。【材料と方法】9 週齢, 54 週齢, 72 週齢の雄性 F344 ラットに 100mg/kg の PB あるいは 200mg/kg の CPIB をそれぞれ単回あるいは 4 日間反復経口投与し、肝臓を採材した。遺伝子発現解析には Rat Genome U34 Array (Affymetrix) を用いた。【結果と考察】老齢ラットと若齢ラットにおいては多くの細胞増殖関連遺伝子 (PCNA, pCDC55 等)、シグナル伝達関連遺伝子 (Protein kinase C 関連遺伝子等)、脂質代謝関連遺伝子 (HMG-CoA reductase, lanosterol 14-demethylase 等)、の発現レベルが異なることが判明し、こうした遺伝子群に関しては PB あるいは CPIB 投与に起因した肝臓における発現変動様式にも明確な差が観察された。こうした知見を蓄積することで、ヒトにおいても年齢に応じた毒性発現のリスクアセスメントへとつながられるものと期待される。

Effect of aging on gene expression in rat livers treated with phenobarbital or clofibrate

○Naoki KIYOSAWA, Kazumi ITOU, Kyoko SAKUMA, Miyuki KANBORI, Noriyo NIINO, Takashi YAMOTO, Sunao MANABE, Experimental Animal Research Group, Medicinal Safety Research Laboratories, SANKYO CO., LTD.

P-133

フェノバルビタールによる遺伝子発現の用量相関性
—3次元構造基盤マイクロアレイシステムを用いた解析—

○廣田 毅¹, 市原敏夫¹, 今井則夫¹, 玉野静光¹, 朝元誠人², 外岩戸尚美², 白井智之²

¹(株)大雄会医学研究所, ²名古屋市立大学大学院医学研究科実験病態病理学

【目的】Sodium Phenobarbital (S.PB) は、ラットの肝発がんプロモーターであり、その発がん促進作用との用量相関性は肝中期発がん性試験（伊東法）にて容易に検出可能である。今回、その用量相関性と関連遺伝子の発現について検索した。

【方法】6週齢の雄性 F344 ラットを用い、DEN を 200mg/kg B.W.の用量で 1 回、腹腔内投与し、2 週間後より S.PB を 0,30,60,125ppm の濃度で 6 週間経口投与した。実験 3 週目に 2/3 肝部分切除を行い全経過 8 週後に屠殺剖検した。対照に DEN 無処置群を設けた。肝臓を摘出し免疫組織化学的な GST-P 陽性細胞集の定量的解析および 3 次元構造基盤マイクロアレイ (PamChip, オリパス光学工業(株)) を用いて遺伝子発現解析を行った。また、S.PB を 0, 30, 60, 125, 500ppm の用量で 2 週間経口投与することによる遺伝子発現の解析についてもおこなった。【結果】2 週間経口投与の結果 CYP2B1 の遺伝子発現は、S.PB の用量に依存した上昇を認めた。CYP3A は、軽度な上昇を認めたものの明らかな用量依存性は認められなかったが、伊東法における GST-P 陽性細胞集の数および面積とよく相関する傾向にあった。GST7-7 (GST-P subunit) の遺伝子発現は、GST-P 陽性細胞集と同様に 30ppm より増加を認めた。【結論】GST-P 陽性細胞集の増加とそれと関連する GST7-7 遺伝子発現および CYP3A の発現は連動することが示唆された。本マイクロアレイシステムは、用量相関的な遺伝子発現の検出が可能であると確認された。

Gene expression changes in rat liver induced by phenobarbital

○Takeshi HIROTA¹, Toshio ITHIHARA¹, Norio IMAI¹, Seikoh TAMANO¹, Makoto ASAMOTO², Naomi HOKAIWADO², Tomoyuki SHIRAI², ¹Daiyu-kai Institute of Medical Science, Aichi, Japan. ²Dep. of Exp. Pathol. and tumor Biol., Nagoya City Univ., Aichi, Japan

P-134

ANIT (α -naphthylisothiocyanate) 誘発肝障害および PAN (puromycin aminonucleoside) 誘発腎障害発症ラットの尿のメタボノミクス解析

応

○榎富直哉¹, 森 美恵², 大塚祐司², 清水俊教¹, 井上芳巳¹, 坂入鉄也¹, 杉本次郎¹, 務台 衛¹

¹三菱ウェルファーマ(株)創業本部研究部門安全性研究所,

²(株)三菱化学安全科学研究所鹿島研究所

肝障害あるいは腎障害を惹起したラットの尿についてメタボノミクス解析を行い、非侵襲的毒性評価および毒性マーカー同定への応用の可能性について検討した。雄 SD(IGS) ラットに ANIT (150 mg/kg, po) あるいは PAN (100 mg/kg, iv) を単回投与し、ドライアイス冷下で経時的に採尿した。合わせて臨床生化学検査および病理組織検査を行った。尿は凍結乾燥後、重水および緩衝液を添加し¹ H-NMR (AVANCE500, ブルッカー) により分析した。NMR データは基線補正後、AMIX (ブルッカー) を用い 4.5~6.0ppm を除いて 0.04ppm 毎の積分値算出の後に主成分分析を行った。ANIT 投与例では投与後 24-48 時間尿において最も著しい尿成分の変動が認められ、144-168 時間にはほぼ正常状態への回復が認められた。PAN 投与例では最終採尿時の投与後 216-240 時間まで経時的に変動が大きくなる傾向が認められた。これらの尿成分変動の経時推移は臨床生化学・病理検査による毒性発現推移の結果と一致していた。PC scores plot では ANIT 投与例と PAN 投与例は異なる空間に配置され、標的毒性により尿成分の変動パターンが異なることが示された。また PC loading により、ANIT 投与時には胆汁酸、アミノ酸を含む NMR 画分の上昇および有機酸を含む画分の減少が、PAN 投与時には有機酸を含む画分の減少が特徴的な変化として示された。発表では実験間の再現性および用量依存性の解析結果と合わせてメタボノミクス解析の有用性を考察する。

Metabonomic analysis of rat urine following single dose of ANIT or PAN

○Naoya MASUTOMI¹, Mie MORI², Yuuji OOHORI², Toshinobu SHIMIZU¹, Yoshimi INOUE¹, Tetsuya SAKAIRI¹, Jiro SUGIMOTO¹, Mamoru MUTAI¹, ¹Toxicology Laboratory, Pharmaceuticals Research Unit, Research & Development Division, Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan. ²Kashima Laboratory, Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd, Ibaragi, Japan

P-135 Puromycin aminonucleoside (PAN) 投与ラット腎糸球体における酸化ストレス関連遺伝子の発現上昇



○清水俊敏, 榊富直哉, 坂入鉄也, 井上芳巳, 島田奈央子, 浜野宝子, 杉本次郎, 務台 衛
三菱ウェルファーマ(株)創薬本部研究部門安全性研究所

PAN はラット腎糸球体上皮細胞を標的として酸化ストレスによる腎障害を誘発することが知られているが, PAN が糸球体に及ぼす影響の全容は未だ明らかではない。そこで本実験では PAN 投与後の糸球体における遺伝子発現変化を明らかにするために, DNA マイクロアレイを用いた解析を行った。雄 SD (IGS) ラットに PAN100mg/kg を単回静脈内投与し, 投与後 11 日目に腎を採材して病理組織学的検査を行った。同時にこの腎の凍結切片からレーザーマイクロダイセクションにより糸球体のみを採取後, RNA を抽出し, Rat Toxicology U34 array (Affymetrix®) を用いて遺伝子発現解析を行った。その結果, 病理組織学的には糸球体上皮細胞に軽度の肥大が認められた。また, 遺伝子発現解析では, GADD45, SAPK 等のストレス応答性 MAPK カスケードに属する遺伝子, catalase, glutathioneperoxidase 等の酸化ストレス関連遺伝子群および多数の cytochrome P450 (CYP) 遺伝子の発現上昇が認められた。一方, 尿管由来 RNA を多数含む腎皮質部 RNA について同様の解析を行った結果, ストレス応答性 MAPK カスケード遺伝子群の発現上昇は認められず, 発現変動がみられた CYP 遺伝子の数も少数にとどまった。以上の結果, PAN は主として糸球体に酸化ストレスを誘発するとともに多くの CYP 分子種の発現を誘導することが示された。

Up-regulation of oxidative stress responsive genes in the rat kidney glomerulus following single intravenous dose of puromycin aminonucleoside

○Toshinobu SHIMIZU, Naoya MASUTOMI, Tetsuya SAKAIRI, Yoshimi INOUE, Naoko SHIMADA, Takako HAMANO, Jiro SUGIMOTO, Mamoru MUTAI, Toxicology Laboratory, Pharmaceuticals Research Unit, Research & Development Division, Mitsubishi Pharma Corporation, Kisarazu, Japan

P-136 ミトコンドリア障害時にラット初代培養肝細胞に誘発される遺伝子発現変動の解析



○島田奈央子, 榊富直哉, 清水俊敏, 浜野宝子, 務台 衛
三菱ウェルファーマ(株)創薬本部研究部門安全性研究所

ミトコンドリア障害時に細胞に誘発される遺伝子発現変動を検索するために, 雄 SD (IGS) ラットより単離した肝細胞に, 呼吸鎖 complex II 阻害作用を有する thenoyltrifluoroacetone (TTFA, 0-400 μ M) およびミトコンドリア障害による細胞毒性が報告されている methapyrene (MP, 0-400 μ M) を暴露した。遺伝子発現は, 暴露後 24 時間後の培地中 LDH 活性測定により軽度の細胞毒性の確認された TTFA 200 μ M および MP 100 μ M について, Rat Toxicology U34 Array (Affymetrix®) で解析した。TTFA 暴露時には, glutathione S-transferase の上昇やグルタチオン合成の亢進を示唆する gamma-glutamylcysteine synthase の上昇あるいは L-cystein oxidoreductase の低下が認められた。また, 呼吸鎖 complex I である NADH-ubiquinone oxidoreductase の低下, 脂質 β 酸化関連酵素である acyl-coA oxidase の上昇, ペントースリン酸回路に関与する Glucose-6 phosphate dehydrogenase や malic acid の上昇が認められた。MP 暴露時にも同様の遺伝子の変動が確認された。以上のことからラット初代培養肝細胞へのミトコンドリア障害物質の暴露により, 酸化ストレスの増大, 呼吸能の低下および代償性の脂質 β 酸化の亢進などが誘発されている可能性が示唆された。

Gene expression profiling in rat primary-cultured hepatocytes exposed to chemicals causing mitochondrial dysfunction

○Naoko SHIMADA, Naoya MASUTOMI, Toshinobu SHIMIZU, Takako HAMANO, Mamoru MUTAI, Toxicology Laboratory, Pharmaceuticals Research unit, Research and Development Division, Mitsubishi Pharma Corporation, Chiba, Japan

P-137

Adaptor-tagged competitive PCR (ATAC-PCR)法を用いたラット初代肝細胞培養系での遺伝子発現変動の評価

○富澤香織, 山田 弘, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部

【目的】遺伝子発現の変動を指標とした毒性評価系への適用を検討するために、肝障害惹起薬物曝露によるラット初代肝細胞培養系での遺伝子発現変化を ATAC-PCR 法を用いて測定した。ATAC-PCR は、競合的 PCR の一種で、微量な RNA 量で複数の組織間の発現頻度を一度に測定することが可能である。【方法】5 週齢の雄性 IGS ラットの肝臓よりコラゲナーゼ灌流法で肝細胞を単離し、コラーゲン タイプ I コートディッシュに播種した。用量設定試験として前培養 2 時間後にアセトアミノフェン (75~6000 $\mu\text{g/ml}$) を溶解した培養液に交換し、24 時間培養後に培地上清中の LDH 活性を測定した。これらの結果を元に LDH 活性の上昇が認められた濃度 (1500 $\mu\text{g/ml}$) と活性上昇の認められない濃度 (150 $\mu\text{g/ml}$) のアセトアミノフェンを含む培地にて 3 及び 6 時間培養後、肝細胞から抽出した RNA をサンプルとして遺伝子発現変動を測定した。【結果】今回検討した 343 遺伝子中、各曝露群で約 20% の遺伝子にコントロール (アセトアミノフェン無処理群) と比較して 1.5 倍以上の発現変化を認めた。高濃度曝露群と低濃度曝露群との遺伝子発現変動の比較により、変化が見られた遺伝子の中には肝再生関連遺伝子、アポトーシス・サイトカイン関連遺伝子群が含まれており、これらの遺伝子群にはアセトアミノフェン肝障害に関連すると考えられるマーカー遺伝子が含まれていることが示唆された。

Gene expression analysis on the rat primary cultured hepatocytes treated with acetaminophen using Adaptor-tagged competitive PCR

○Kaori TOMIZAWA, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Aichi, Japan

P-138

多環芳香族炭化水素による脂質代謝異常の発現機構の分子レベルでの解明

㊦

○榎谷 学¹, 高橋芳樹¹, 斎藤鉄也¹, Frank J Gonzalez², 鎌滝哲也¹

¹北海道大学大学院薬学研究科, ²NCI

【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、脂質代謝異常を引き起こすことが報告されている。そこで、我々は DNA マイクロアレイを用いて無処置のマウスと MC を投与したマウスの肝における遺伝子の発現パターンを比較した結果、多くの脂質代謝酵素遺伝子の発現が PAH により抑制されることを見出した。また、これらの遺伝子は共通して核内受容体であるペロキシソーム増殖素受容体 α (PPAR α) の標的遺伝子であったことより、PAH による脂質代謝酵素遺伝子の発現抑制は PPAR α シグナル伝達の抑制により生じている可能性が考えられた。そこで本研究では、PAH による PPAR α シグナル伝達の抑制機構とその分子機構について検討した【結果および考察】PAH により PPAR α シグナル伝達が抑制されるか否か検討するために、PPAR α 結合配列を組み込んだレポータープラスミドを用いてレポーターアッセイを行なった。その結果、MC 処置により PPAR α 結合配列に対する PPAR α の転写活性が抑制されたことより、PPAR α シグナル伝達は MC により抑制されることが示唆された。また、この MC による PPAR α シグナル伝達抑制の原因について検討するために PPAR α および PPAR α と 2 量体を形成するレチノイド X 受容体 α (RXR α) の mRNA およびタンパク質量について検討したところ、MC により RXR α の mRNA およびタンパク質量が減少することが明らかとなった。以上のことより、PAH による PPAR α シグナル伝達の抑制の原因は RXR α の発現抑制によるものであることが示唆された。

Molecular mechanism of impairment of lipid metabolism by polycyclic aromatic hydrocarbons

○Manabu NUKAYA¹, Yoshiki TAKAHASHI¹, Tetsuya SAITO¹, Gonzalez Frank J², Tetsuya KAMATAKI¹, ¹Laboratory of drug metabolism, Division of pharmacobio-dynamics, Graduate school of pharmaceutical sciences, Hokkaido university, ²NCI, USA

P-139

アセトアミノフェンおよびサイクロヘキサミドを投与した F344 ラットの肝臓における遺伝子発現の変動

○伊藤和美, 清沢直樹, 佐藤隆之, 佐久間恭子, 上堀美幸, 新野訓代, 矢本 敏, 真鍋 淳
三共(株)安全性研究所

【目的】化合物の安全性評価への遺伝子発現情報の応用への試みとして, 異なる機序で肝細胞死を惹起するアセトアミノフェン(APAP)およびサイクロヘキサミド(CHX)を単回あるいは4日間反復経口投与したラットの肝臓における網羅的遺伝子発現情報を用量別かつ経時的に収集し, 遺伝子発現パターンを解析した。【材料および方法】動物は9週齢のF344/DuCrjを用いた。APAP単回投与群では1000 mg/kgを投与後1, 2, 6ならびに24時間目に, CHX単回投与群では6 mg/kgを投与後1, 2ならびに6時間目に肝臓を採材した。APAP4日間反復投与群では最高用量を300 mg/kg, CHX4日間反復投与群では最高用量を3 mg/kgとし, 最終投与後24時間目に肝臓を採材した。肝臓における網羅的な遺伝子発現情報の収集, 解析にはRat Genome U34A Array (Affymetrix)を用いた。【結果および考察】APAPあるいはCHXの投与により発現が変動した遺伝子群は異なるクラスターを形成し, APAPに起因する壊死とCHXに起因するアポトーシスという肝細胞死の発現機序の違いを遺伝子発現パターンの差によって区別することが可能であった。今後, 種々の化合物について毒性所見と遺伝子発現変動のプロファイルとを結びつけたデータが蓄積されれば, 新規化合物の安全性評価に有用な情報となるものと期待される。

Gene expressions in F344 rat livers treated with acetaminophen or cycloheximide

○Kazumi ITO, Naoki KIYOSAWA, Takayuki SATO, Kyoko SAKUMA, Miyuki KANBORI, Noriyo NIINO, Takashi YAMOTO, Sunao MANABE, Medicinal Safety Research Laboratories, Sanryo Co.,LTD., Shizuoka, Japan

P-140

アセトアミノフェンによるラットの遺伝子発現変動の検討

応

○南 圭一¹, 小林 朋², 齋藤俊郎², 奈良原正俊², 富田裕之², 加藤宏一², 杉山 寿², 横井 毅¹

¹金沢大学薬学部薬物代謝化学, ²(株)日立製作所ライフサイエンス

【目的】アセトアミノフェン (APAP) は過剰投与によって肝障害を発症する薬物であるが, 肝障害発症に関わる遺伝子についての詳細は明らかにされていない。本研究では, APAPによる各種遺伝子の発現変動をラット *in vivo* と *in vitro* 肝スライスで比較検討することを目的とした。【方法】SD系雄性ラットにAPAP (500 mg/kg) を単回腹腔内投与し, 肝 total RNA を調製した。肝スライスに5 mM または2 mM APAP を暴露し, 培養後, total RNA を調製した。APAP を処置試料について, ラット DNA チップを用いて遺伝子発現変動を調べた。発現に変化が認められた遺伝子の一部についてリアルタイム PCR により発現変動をさらに検討した。【結果および考察】APAP の6時間処置では, *in vivo* と *in vitro* の両方において代謝に関わる遺伝子の多くに発現変化が認められたが, 共通点はほとんど認められなかった。クラスター解析の結果から, 遺伝子発現の変動パターンは *in vivo* と *in vitro* 間で大きく異なることが示された。特に転写因子 CAR の発現変動は *in vitro* で用量依存性が認められ, 48 時間まで誘導が認められた。さらに GSTP の発現誘導が比較的速い時間に認められた。以上の結果より, ラット *in vivo* と *in vitro* では遺伝子発現変化は異なっており, それぞれ特徴的な変化を示し毒性との関わりが示唆された。

Acetaminophen-induced changes of gene expression in rats

○Keichi MINAMI¹, Tomo KOBAYASHI¹, Toshiro SAITO², Masatoshi NARAHARA², Hiroyuki TOMITA², Hirokazu KATO², Hisashi SUGIYAMA², Tsuyoshi YOKOI¹, ¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, Kanazawa, Japan, ²Department of Research and Development, Life Science Group, Hitachi Ltd., Saitama, Japan

P-141

ストレプトゾトシン投与マウス肝における遺伝子発現プロファイル DNA マイクロアレイ解析

〔応〕

○久米美介¹, 高橋 芳¹, 有賀千浪¹, 三輪恵子¹, 島海 互¹, 北村和之¹, 土井邦雄²¹田辺製薬(株)薬物動態研究所, ²東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学教室

【緒言】ストレプトゾトシン(STZ)は膵島β細胞傷害性以外に、各種臓器に障害を及ぼすことが知られている。STZを単回投与したマウスの肝についてDNAマイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行ったので報告する。【材料及び方法】ICR系雄マウスにSTZ200 mg/kgを単回腹腔内投与、6, 24, 48時間後および2, 8週後に血液ならびに肝臓を採取した。肝total RNAを精製し、標準プロトコールに従ってTarget調製後GeneChip Murine Genome U74A V2にハイブリダイズした。Microarray Suite Ver5.0を用いてSignal値等の算出を行いSpotfire DecisionSite 7.1を用いて階層的クラスタリング分析を実施した。【結果】STZ投与直後には、一時的に急激な血清インスリン値の上昇および血糖値の下降が見られたが、その後インスリン値は低下し、血糖値は高値を示した。亜急性期には肝細胞の脂肪化・核の異型などの組織学的所見も認められた。遺伝子発現の階層的クラスタリングにより、2週後と8週後の遺伝子発現の類似度が最も高く、次に24, 48時間後の類似度が高いなど、血液生化学・病理学的検査結果を裏付ける結果が得られた。個別の遺伝子発現に注目すると、急性期には細胞増殖抑制関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子などが増加し、脂質代謝、糖代謝ならびに薬物代謝関連遺伝子が減少した。亜急性期には抗酸化・ストレス関連遺伝子、薬物代謝関連遺伝子ならびに炎症関連遺伝子が増加した。

Gene expression profile analysis of the mouse liver after Streptozotocin treatment by a cDNA microarray system.

○Eisuke KUME¹, Kaori TAKAHASHI¹, Chinami ARUGA¹, Satoko MIWA¹, Wataru TORIUMI¹, Kazuyuki KITAMURA¹, Kunio DOI², ¹Exploratory Toxicology and DMPK Research Laboratories, Tanabe Seiyaku Co. Ltd., Saitama, Japan, ²Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

P-142

T-2 toxin 投与の妊娠ラット肝臓、胎盤および胎仔肝臓における遺伝子発現

○瀬畑信哉¹, 清沢直樹², 佐久間恭子², 伊藤和美², 矢本 敬², 寺西宗広², 上塚浩司¹, 中山裕之¹, 土井邦雄¹¹東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学教室, ²三共(株)安全性研究所

【はじめに】T-2 toxinは真菌(Fusarium spp.)により産生されるマイコトキシンである。T-2 toxinを妊娠ラットに投与すると、リンパ系臓器および消化管に加え、肝臓、胎盤および胎仔肝臓においてもアポトーシスが生じる。しかし、その毒性メカニズムは依然不明である。そこで今回、T-2 toxinを妊娠ラットに投与して、肝臓、胎盤および胎仔肝臓における遺伝子発現変化についてマイクロアレイ解析を実施した。【材料及び方法】T-2 toxin 2 mg/kgを妊娠13日目のWistarラット(3 rats/group)に単回経口投与した。投与24時間後に動物を解剖し、妊娠ラット肝臓、胎盤および胎仔肝臓を採材した。RNA抽出後、Affymetrix Rat Genome U34Aチップを用いて解析した。【結果および考察】T-2 toxin投与群の妊娠ラット肝臓、胎盤および胎仔肝臓において、酸化ストレス関連遺伝子、アポトーシスおよび細胞周期関連遺伝子、脂質代謝関連遺伝子等が共通した変化として認められた。更に、親肝臓ではPhase I, II薬物代謝酵素、胎盤および胎仔肝臓ではPhase II薬物代謝酵素の減少が認められた。以上の結果と病理組織学的変化から、T-2 toxinを妊娠ラットに投与すると、親肝臓、胎盤および胎仔肝臓においては、共通して酸化ストレスにより脂質代謝やその他代謝の障害が生じ、細胞内環境が変化し、その結果アポトーシスが生じてくると推測された。

Gene Expression in the Liver, Placenta and Fetus Liver in Pregnant Rats Treated with T-2 Toxin

○Shinya SEHATA¹, Naoki KIYOSAWA², Kyoko SAKUMA¹, Kazumi ITO², Takashi YAMOTO², Munehiro TERANISHI², Koji UETSUKA¹, Hiroyuki NAKAYAMA¹, Kunio DOI¹, ¹Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan, ²Medicinal Safety Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., Shizuoka, Japan

P-143 プロテオーム解析による肝毒性マーカータンパク質の探索

○山本利憲, 木羽明恵, 山田 弘, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部

【目的】近年、2次元電気泳動および質量分析計を用いたプロテオミクス解析により、バイオマーカーとなりうるタンパク質の探索が広く行われている。今回、我々は、肝毒性のマーカータンパク質の同定を試み、アセトアミノフェンを過剰投与したラット血清のプロテオミクス解析を実施した。【方法】雄性ラットにアセトアミノフェンを投与量 1400mg/kg で経口投与し、投与 24 時間後の血清を採取した。血清中に多量に存在するタンパク質アルブミンおよび IgG を除去後、IPG-IEF/SDS-PAGE を用いた 2 次元電気泳動を行い、コントロールおよびアセトアミノフェン投与群間の血清中発現タンパク質の Differential Display 解析を行った。このゲルから切り出したゲルプラグについてトリブシンによるゲル内消化を行い、nano-LC/ESI-Q-TOF-MS (Q-ToF Ultima APL, Micromass UK) によって MS/MS スペクトルを得た。その後、Mascot (Matrix Science Ltd) によるデータベース検索を行いタンパク質の同定を行った。【結果および考察】ラットにアセトアミノフェンを過剰投与することにより、血清中に存在するいくつかのタンパク質 (マウスで認められている GST 等) の発現変動が確認された。これらのタンパク質が肝毒性のマーカータンパク質となり得るかどうかについて現在更なる検討を実施中である。

Biomarker Discovery for Hepato Toxicity using Proteomic technique

○Toshinori YAMAMOTO, Akie KIBA, Hiroshi YAMADA, Ikuo HORII, Drug Safety Evaluation, Pfizer Global Research & Development, Nagoya Laboratories, Pfizer Inc. Aichi, Japan

P-144 Applying Predictive Toxicogenomic Markers to Screen Compounds for Liver Toxicity

○Makoto Yoshioka, Rininger Joseph, Oswald Crasta, Marc Decristofaro, Darius Dziuda, Robert Gerwien, Kenneth Hershman, Craig Hyde, Traci Mansfield, Michael McKenna

Pharmacogenomics CuraGen Corporation NewHaven, CT.

Gene expression analysis is becoming an accepted part of the evaluation of toxicity associated with developmental drugs and chemical exposures. One of the promises of genomic technologies is the identification of toxicogenomic markers can provide signatures to evaluate and predict toxicity of new chemical entities. Our research group has focused on the development of a Predictive Toxicogenomic Screen (tm) (PTS) for hepatotoxicity. In the first phase of this project, an open architecture gene expression platform (GeneCalling[®]) was used to identify marker genes associated with the development of specific liver toxicity. This hepatotoxicity database includes profiles from greater than 100 toxic and non-toxic compounds administered sub-acutely to male Wistar rats. Histopathology, clinical chemistry data and gene dysregulation were analyzed using multiple statistical modeling approaches to generate predictive models of hepatotoxicity (i.e. cholestasis, steatosis, necrosis, etc.) from rat liver samples. In the second phase of the experiment, the same methodology was employed to identify predictive markers from treatment of primary rat hepatocytes after 24 hours of exposure to the same compounds used in the first phase of the study. The genes from the primary hepatocyte marker set have been transferred to a customized microarray for cost-effective prediction of hepatotoxicity. How this information is used to prioritize test compounds at early stages in development will be discussed.

Applying Predictive Toxicogenomic Markers to Screen Compounds for Liver Toxicity

○Makoto Yoshioka, Joseph Rininger, Crasta Oswald, Decristofaro Marc, Dziuda Darius, Gerwien Robert, Hershman Kenneth, Hyde Craig, Mansfield Traci, McKenna Michael, Pharmacogenomics, CuraGen Corporation, New Haven, CT.

P-145

低カルシウム血症白内障モデルラットのレンズにおける包括的遺伝子解析

応

○鈴木 睦, 宮原真紀, 佐藤泰子, 山口 格, 川原潤一

キリンビール(株)医薬カンパニー開発本部医薬開発研究所

【目的】低Ca血症により発症する白内障について、病理組織学的検査とDNA arrayを用いて検討した。(方法)低Ca血症とするために、Crj-CD(SD)IGS系雄ラットに4週齢より改変AIN配合A変型Ca・VDフリー食(低Ca食)を与え、イオン交換水を摂取させた。低Ca食給餌開始後16日と22日に血清Ca濃度を確認し、水晶体の遺伝子及び病理組織学的検査を実施した。遺伝子検査はAgilent社製Rat cDNA Microarrayを用いた。(結果及び考察)血清Ca濃度は、16日に4.4mg/dL、22日に3.8mg/dLとなった。水晶体の病理組織学的な変化は、16日で変化は認められなかったが、22日では水晶体線維の空隙変性と膨化が軽度認められた。遺伝子のクラスター解析で、16日と22日ではほぼ同様の変動が確認され、16日から22日にかけて、617遺伝子の発現の上昇及び500遺伝子の発現の低下が認められた(expressed sequence tagを除く)。EGR-1, MOPS, adenylate cyclase activating polypeptide 1, Ah receptor等では発現の上昇が、クリスタリン等の構造蛋白質、酸化ストレス関連遺伝子等で発現の低下が認められた。これらの結果より、低Ca血症で文献的に変動が知られている遺伝子の変動が確認され、更に初期白内障に関連する可能性のある遺伝子の存在が示唆された。

Differential gene expression in the lens from the rat model of hypocalcemic cataract.

○Mutsumi SUZUKI, Maki MIYAHARA, Yasuko SATOH, Itaru YAMAGUCHI, Jyunnichi KAWAHARA, KIRIN BREWERY CO., LTD. Pharmaceutical Division Development Department Pharmaceutical Development Laboratories, Gunma, Japan

P-146

実験肉芽組織内血管新生に関するマイクロアレイ解析法を用いた予備的検討

○武藤朋子¹, 金井好克¹, 和久井信², 遠藤 仁¹¹杏林大学医学部薬理学講座, ²麻布大学獣医学部比較毒性学研究室

【目的】腫瘍の増大には血管新生が不可欠である。また腫瘍によって血管新生制御メカニズムが異なることも報告されている。即ち、各種の腫瘍の進行に関する検討にはその腫瘍が制御する血管新生を理解する必要がある。しかしその多様性から、現時点でも新生血管芽出から新生血管の成熟に至る一連の現象のメカニズムには不明な点が多い。我々は腫瘍組織内血管新生制御機構の基礎的検討としてラット実験肉芽組織内での新生血管と発現遺伝子の関連性について検討を行った。【方法】7週齢雌SDラット(日本チャールス・リバー(株))の背部皮下に硬質スポンジを無菌的に埋め込んだ。その後、経目的に実験肉芽組織を摘出し形態学的検討を行った。さらに、実験肉芽組織からpoly(A⁺)RNAを抽出しAtlas cDNA Expression Arrayを作成しmRNAの発現の推移を検討した。【結果・考察】実験肉芽組織内に認められる新生毛細血管数は経目的に増加し7日目まで最高値を示し、その後10日目まで減少を示した。これら毛細血管の直径は7日目まで有意に小さい値を示し、その後10日目まで増大を示した。マイクロアレイ解析から7日目では既存の血管新生因子遺伝子mRNAの発現増加が認められたが、10日目ではその発現は減少傾向を示した。これに対し、10日目ではアポトーシス関連遺伝子mRNAの発現増が認められた。現在、個々の遺伝子mRNAの発現について定量的解析中である。

Microarray analysis for angiogenesis in rat experimental granulation tissue: preliminary study

○Tomoko MUTO¹, Yoshikatsu KANAI¹, Shin WAKUI², Hitoshi ENDOU¹, ¹Department of Pharmacology and Toxicology, Kyorin University, ²Comparative Toxicology Laboratories, Azabu University School of Veterinary Medicine

P-147 ラットにおける尿蛋白 profiling 解析の基礎検討 ―加齢性変化について―

○古塚正幸, 田畑 肇, 齊田美恵子, 三枝由紀恵, 梶川 悟

山之内製薬(株)安全性研究所

【緒言】近年,プロテオミクス的手法を用いたバイオマーカー探索が盛んに行われている。我々は前回の本学会において,急性腎障害ラットの尿蛋白マーカーについて報告した。今回,毒性試験で汎用されるラットの尿蛋白をプロテインチップシステム (SELDI-TOF/MS) を用いて解析し,その選別推移について検討したので,ベースラインデータのひとつとして報告する。【材料および方法】雌雄性の Crj:CD(SD)IGS ラットから,7~70 週齢の期間,自然排液尿を定期的に採取した。ピロガロールレッド法にて蛋白定量を行い,弱陽イオン交換ケミカルチップ WCX-2 を用いて,SELDI-TOF/MS により蛋白質の発現解析を行った。【結果および考察】いずれの週齢においても,尿蛋白濃度は雌に比べ雄で高く,雄の尿中には,5.4, 8.7 (rat urinary protein 1), 11.5 (β_2 -microglobulin) および 18.7kDa (α_2 -microglobulin) の蛋白質が検出された。加齢に伴い 8.7 および 18.7kDa の蛋白質が増加し,1 年齢を超すと,18.7kDa の蛋白質が著増した。雄性ラットでは慢性腎症が老齢期に自然発症することが知られており, α_2 -microglobulin が原因物質のひとつと考えられているが,本成績はそれらと矛盾するものではなかった。

Basic investigation of urinary protein expression in rats
- age-related changes -

○Masayuki FURUTSUKA, Hajime TABATA, Mieko SAITA, Yukie SAEGUSA, Satoru KAJIKAWA, Safety Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co.,Ltd, Tokyo, Japan

P-148 強化効果検索のためのサル短期薬物自己投与実験法の検討

○藤原 淳, 若狭芳男, 佐々木幹夫, 飯野雅彦, 星野 満, 大塚貴弘, 柳田知司

(株)イナリサーチ

薬物の自己投与交差実験法では,標準薬,媒体,被験物質の順に毎日短時間の観察を単位用量を数日毎に変えて行い短期間のうちに強化効果の用量反応関係を検索することができる。本研究では,本法によりコカイン (以下 C) の用量反応関係を検索する方法を検討した。【方法】3 頭のアカゲザルにおいてレバー押し 5 回毎に C が静脈内に注入され,1 回摂取する毎に 1 分間のタイムアウトが設けられたスケジュールで,1 日 2 時間ずつ,3 実験日毎に単位用量を変えて摂取させた。初めに 0.03 mg/kg/inf. の C を 1 日 20 回の摂取に制限し,1 日の摂取が 11 回以上で 3 日間連続するまで摂取させた。次に, C を生理食塩液に換え,1 日の摂取回数が 3 日間 10 回以下になったときに,単位用量 0.004 ないし 0.256 mg/kg/inf. の C を摂取回数の制限を設けず 4 日間づつ摂取させた。【結果】C の自己投与回数のピークは単位用量 0.016 ないし 0.064 mg/kg/inf. にあり,1 日平均の摂取回数は 30 ないし 50 回であった。【結論】比較的短期に C の強化効果の用量反応関係が観察できた。アカゲザルで C 静脈内摂取に関する内外の報告によれば, C の摂取回数のピークは 0.01 ないし 0.1 mg/kg/inf. にあったと報告されており,今回観察された成績はこれらと一致した。

A study on short-term assessment procedures for the reinforcing effect in self-administration of drugs in the rhesus monkey

○Atsushi FUJIWARA, Yoshio WAKASA, Mikio SASAKI, Masahiko IINO, Mitsuru HOSHINO, Takahiro OOTSUKA, Tomoji YANAGITA, Ina Research Inc, Nagano, Japan

P-149

ビーグルにおける脊椎くも膜下腔内投与

○春山恵美子, 榎山浩二, 植元正吾, 佐竹 茂, 角崎英志, 鮫島秀暢

(株)新日本科学安全性研究所安全性研究部

【目的】臨床では腰椎麻酔は広く用いられている手技であるが、動物では脊椎の尾部端とくも膜下腔の末端とが近接している安全な穿刺部位がないこと、さらに棘間隙を通る穿刺が難しいためあまり用いられていない。しかし、医薬品の毒性試験では、臨床適用方法に準拠した投与を実施することが推奨されていることから、今回、ビーグルにおける脊椎くも膜下腔内投与方法を検討したので報告する。【方法】動物の体位（腹臥位あるいは横臥位）、硬膜外針の挿入角度、カテーテル挿入及び留置方法、留置に適した麻酔セットなどについて検討し、次の方法で4週間（1回/週）反復投与を試みた。腹臥位に固定後、背部皮膚を切開し、第4腰椎棘突起～第6腰椎棘突起の間からスピノキャス（持続脊椎くも膜下腔内麻酔セット、ビーブラウン株式会社）を用いてくも膜下腔にカテーテルを挿入した。挿入後、カテーテルの一方にコネクターを装着し、これを保護用収納ケースに入れ、投与時以外は常にこのケース内に収納した。カテーテルを背部筋膜に固定した後、切開部皮膚を縫合し、動物にジャケットを着せ、収納ケースを固定した。【成績および総括】本方法にて、4週間（1回/週）反復投与まで実施し、毒性評価に耐える結果を得た。また、留置しているため、24時間持続投与も可能であり、単回持続投与については実際に試験も実施した。

Intrathecal administration in beagles

○Emiko HARUYAMA, Koji KABAYAMA, Shogo KUSUMOTO, Shigeru SATAKE, Hideshi TSUSAKI, Hidenobu SAMESHIMA, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd. Drug Safety Research Laboratories, Kagoshima, Japan

P-150

Microdosing a new approach to reduce drug development time and costs

○テン ベルグロナルド¹, フリーリング ウィルバート¹, 細川説子²¹NOTOX B.V., ²NOTOX JRO

Developing new drugs is becoming an increasingly expensive activity. Introduction of new technologies enabling speeding up of drug development will be the only way cost and timesaving will be achieved. A technology that can advance the speed of drug discovery and development is the nanotechnology of accelerator mass spectrometry (AMS) for biomedical research. Human Microdosing (Human phase 0) is a new concept, which relies on the ultrasensitivity of AMS. In Microdosing one or more drug candidates are taken into 6 male volunteers / compound at doses $\leq 100 \mu\text{g}$ / subject in order to obtain early ADME and PK information. This information is then used as part of the decision tree to select which of the microdosed drugs has the appropriate PK parameters to take further in a regular preclinical safety programme. Recently EMEA's CPMP published their "Position Paper on Non-clinical Safety Studies to Support Clinical Trials with a Single Microdose". Based on their recommendations NOTOX has designed an optimal minimal package of preclinical studies to support human Microdosing studies. This programme contains genetic toxicology (limited Ames and chromosome aberration study), *in vivo* toxicology (a single dose rat study, oral and i.v.), cardiovascular evaluation after a single i.v. dose in dogs, and an *in vitro* metabolism screening study. For the total concept the following companies work in close cooperation: NOTOX B.V. for the preclinical studies, Pharma Bio-Research B.V. (Zuidlaren, The Netherlands) for the clinical studies and Xceleron Ltd. (York, United Kingdom) for analyses

Microdosing a new approach to reduce drug development time and costs

○Ronald TEN BERGE¹, Wilbert FRIELING¹, Setsuko HOSOKAWA², NOTOX B.V., The Netherlands, ²NOTOX JRO, Tokyo, Japan

P-151 ラット経口投与におけるテフロンゾンの有用性

○吉川理恵, 塩谷元宏, 浜田悦昌, 堀井郁夫

ファイザー製薬(株)中央研究所安全性研究統括部

【目的】金属ゾンデによる経口投与は、ゾンデが通過する咽頭～喉頭～食道～胃が真っ直ぐになるよう保定することにより動物へのストレスがかりやすいこと、熟練者でもゾンデが気管に入る事故がまれに起きること、また、ゾンデの挿入方向が食道とずれていると物理的に食道を損傷する可能性があること等の問題点が挙げられている。今回、近年普及しつつあるテフロンゾンデを用い、これらのゾンデの使用が動物およびデータに与える影響を比較し、テフロンゾンデの有用性を検討した。【方法】雌雄 Crj:CD(SD)IGS ラット (6 週齢) に金属ゾンデまたはテフロンゾンデを用いて 0.5% メチルセルセルロースを 3 ヶ月間強制経口投与し、動物の一般状態、体重、摂餌量、血液検査値、尿検査値、食道および肺の剖検所見と病理組織学的所見について検討を行った。【結果】雌雄ラットとも金属ゾンデ群に比べ、テフロンゾンデ群の方が投与時に温順で、安定して迅速な投与が可能であった。体重増加量・摂餌量共に有意差は見られなかったものの、テフロンゾンデ群の方が無処置対照群で見られるような順調な推移を示した。また、金属ゾンデ群では雄 3/40 例で食道の損傷(うち 2 例は食道穿孔により死亡)が認められた。【結論】テフロンゾンデによる経口投与は動物に与える苦痛の軽減・投与者が容易に投与できる事および食道損傷の軽減に繋がり、その結果、より信頼性の高いデータを得ることが出来る有用な方法と考えられる。

Usefulness of teflon sonde in rats oral gavage.

○Rie KIKKAWA, Motohiro SHIOTANI, Yoshimasa HAMADA, Ikuo HORII, Drug Safety Evaluation, Nagoya Laboratories, Global Research & Development, Pfizer Pharmaceuticals Inc., Aichi, Japan

P-152 2-クロロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討

○本田久美子¹, 緒方英博¹, 古川浩美¹, 和泉宏幸¹, 小泉睦子², 鎌田栄一²,
江馬 真², 長谷川隆一²

¹(株)パナファーム・ラボラトリーズ, ²国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室

【目的】乳幼児における化学物質の安全性評価の一環として、2-クロロフェノールを 4 日齢の新生児ラットに 18 日間投与し、その毒性を検討するとともに、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-クロロフェノール(CAS 番号 95-57-8, 純度 99.49%)をオリーブ油に溶解した。予備試験では 20, 100 及び 500 mg/kg の用量で 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た。本試験では 8, 50 及び 300 mg/kg を 4 日齢から 21 日齢まで強制経口投与し、発生学的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】予備試験では、500 mg/kg 群の全動物が投与 9 日までに死亡し、100 mg/kg 群の雌では腎臓重量の高値も認められた。本試験では、300 mg/kg の雌雄で自発運動低下、体重増加抑制、腎臓の重量増加及び軽度ないし中等度の好塩基性尿細管が認められた。これらの結果から、本試験条件下における本物質の無毒性量は、50 mg/kg と考えられた。若齢動物を用いた 28 日間試験では、1000 mg/kg で自発運動低下、歩行異常、腹臥位・側臥位等が観察されたことから無毒性量は 200 mg/kg と考えられた。これらのことから、新生児動物は若齢動物に比べて 2-クロロフェノールの毒性に対して感受性が高いことが明らかとなった。

Repeated dose toxicity of 2-chlorophenol in newborn rats and comparison with that in young adult rats.

○Kumiko HONDA¹, Hidehiro OGATA¹, Hiromi FURUKAWA¹, Hiroyuki IZUMI¹, Mutsuko KOIZUMI², Eiichi KAMATA², Makoto EMA², Ryuichi HASEGAWA², ¹Department of Toxicology, Panapharm Laboratories Co., Ltd., Kumamoto, Japan. ²Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan.

P-153

Ethinyl estradiol の子宮内・経乳汁暴露によるラット系統間の比較

○野田修志¹, 室井貴子¹, 佐藤正邦¹, 三苫秀雄¹, 高倉サオリ¹, 高月峰夫¹,
山崎寛治¹, 伊東信行²

¹(財)化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所, ²名古屋市立大学医学部

我々は子宮内・経乳汁暴露試験における系統間差を検討する目的で Ethinyl estradiol (EE) を用いた試験を実施した。動物は SD IGS, Wistar ラットの 2 系統を使用し、雌出生児について検査した。各系統とも EE (0, 0.5, 5, 50 ug/kg/day) を妊娠 7 日から分娩後 18 日まで母動物 (10 匹/群) に経口投与した。出生児は生後 4 日 (PND 4) に 8 匹/1 母動物に調整し、PND 19 に離乳、6 週齢で剖検し、雌外性器の形態計測を実施した。さらに、1 匹/1 母動物の雌について 14 日間以上の性周期検査を行った後、休止期に剖検し、卵巣、子宮重量の測定、雌外性器の形態計測を行った。その結果、性周期の異常が SD IGS ラットの 50 ug/kg 群でみられ、Wistar ラットでは観察されなかった。雌外性器の cleft phallus は SD IGS ラットで 0.5 ug/kg 群から出現し、形態計測値において統計学的有意差がみられた。一方、Wistar ラットでの cleft phallus は 50 ug/kg 群で認められ、5 ug/kg 群で形態計測値に変化がみられた。以上の結果、SD IGS ラットの方が胎児あるいは乳児期のエストロゲン暴露に敏感である可能性が示唆された。また、本試験法は次世代の影響をみる試験法として今後検討されるべきものと考えられた。本研究は平成 14 年度経済産業省の受託事業によって行われたものである。

Rat strain sensitivity differences in *in utero* and lactational exposure assay using ethinyl estradiol

○Shuji NODA¹, Takako MUROI¹, Masakuni SAWAKI¹, Hideo MITOMA¹, Saori TAKAKURA¹, Mineo TAKATSUKI¹, Kanji YAMASAKI¹, Nobuyuki ITO², ¹Chemicals Assessment Center, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan., ²Nagoya City University Medical School, Japan

P-154

Validation and Application of Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assays (ELISAs) for Quantification of Toxicology Parameters in Cynomolgus Monkey

○リー ビョンリユル, ステファン ネイチェブ, 尾根田暁, 亀之園剛, 千早 豊,
スチーブン メイヤー, 福崎好一郎, 永田良一

SNBL USA, Ltd.

Objectives: Specific non-human primate analytical system designs are limited for pre-clinical cynomolgus monkey research. The purpose of the present investigation was to validate the use of ELISA systems to quantify toxicology/pharmacology parameters through general, endocrine, target organ, reproductive, and immunotoxicity and pharmacology analyses. Methods: Direct and indirect ELISA methods were used in this study. Analyses were performed to quantify the concentration of blood adrenocorticotrophic hormone, prolactin, estradiol-17 β , progesterone, testosterone, anti-nuclear antibody, β -thromboglobulin, and urinary cAMP. The test systems were validated using the following parameters as necessary: calibration curve, recovery rate, intra- and inter-assay precisions, room temperature, freeze/thaw and long term stabilities, and linearity/dilution effects. Results: All tests were performed according to the criteria published for the bioanalytical method indicating the individual limits for each validation item. Each analytical method was confirmed in cynomolgus monkey model systems showing variability through diurnal, estrus cycle, gender, monkey arthritis model, in-vitro platelet activation and hormone treatments.

Validation and Application of Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assays (ELISAs) for Quantification of Toxicology Parameters in Cynomolgus Monkey

○Nechev STEFAN, Byong lyul LEE, Satoru ONEDA, Takeshi KAMENOSONO, Yutaka CHIHAYA, Meyer STEVEN, Koichiro FUKUZAKI, Ryoichi NAGATA, SNBL USA, Ltd.

P-155

Validation of the Hershberger Assay in Peripubertal Orchidopididectomized Rats

○ナップ ジョン, スタンプ ドナルド, パーショ ベネット, ネメック マーク,
フォルソン ジョセフ, チェンゲリス クリストファー

ウィルリサーチラボラトリーインク

The Hershberger Assay is recognized as one of the EDSTAC-recommended endocrine disruption Tier 1 in vivo screening studies. This assay has been widely used by pharmaceutical companies to measure androgenic activity. The effects of a reference androgenic positive control agent, testosterone propionate, were characterized in peripubertal orchidopididectomized rats (castrated at 36 days of age). Testosterone propionate was administered at dose levels of 0, 0.4 and 0.8 mg/kg/day by subcutaneous injection as 10 consecutive daily doses beginning on day 50 of age. Each group consisted of 6 Sprague-Dawley Cri:CDR (SD) IGS BR rats. No deaths or overt signs of clinical toxicity were observed. At postmortem examination, the fresh weights of the accessory sex tissues (with accessory fluids) were collected. Absolute and relative (to final body weight) weights for bulbourethral (Cowper's) glands, glans penis, levator ani and bulbocavernosus (LABC) muscle group, seminal vesicles with coagulating glands and ventral prostate were significantly increased ($p < 0.05$), generally in a dose-related manner in the 0.4 and 0.8 mg/kg/day groups relative to the control group. In addition, body weight gains in both testosterone propionate groups were increased when compared to the controls. In conclusion, the results of this investigation demonstrate that the endocrine active compound (testosterone propionate), and the testing paradigm used, are capable of inducing increases and identifying dose-response relationships in accessory sex organ weights consistent with androgenic activity.

Validation of the Hershberger Assay in Peripubertal Orchidopididectomized Rats

○John f. KNAPP, Donald g. STUMP, Bennett j. VARSHO, Mark d. NEMEC, Joseph f. HOLSON, Christopher p. CHENGELIS,
WIL Research Laboratories Inc., Ashland, Ohio, USA

P-156

ダイオキシン簡易測定法によるオメプラゾールの CYP1A1 誘導能ならびに Ah 受容体結合能に関する評価

○小林 充¹, 里見嘉美^{1,2}, 土屋若奈¹, 西沢紫乃¹, 山中義弘¹, 宇野 洋¹,
赤堀文昭²

¹帝人(株)医薬開発研究所安全性研究部, ²麻布大学獣医学部薬理学教室

【目的】環境試料や食品分析に使われているダイオキシン類の簡易測定法には, Ah 受容体(AhR)への直接的リガンド結合能を指標とした ELISA 法や CYP1A1 誘導機構を利用した reporter gene assay 等が知られている。これらの測定法の医薬品開発への応用について, CYP1A1 を誘導する抗潰瘍薬 omeprazole (OME)を用いて検討した。【方法】AhR への直接的リガンド結合能は ELISA 法(Ah-immunoassayTM), CYP1A1 誘導能は reporter gene assay (DR-CALUX[®])及びラット肝癌由来細胞における CYP1A1 mRNA 発現量により検討した。陽性対照として 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)及び 3-methylcholanthrene (3-MC)を用いて同様に検討した。【結果】AhR への直接的リガンド結合能の検討では, TCDD, 3-MC の EC₅₀ は 0.62 nM, 5.3 nM であったが, OME は 1 mM でも反応がみられなかった。Reporter gene assay では, TCDD, 3-MC の EC₅₀ は 9.6pM, 0.59μM であったが, OME は 156~313μM でわずかな誘導が認められた。誘導強度に若干の差はあるものの, reporter gene assay における reporter 蛋白誘導濃度と培養細胞における CYP1A1 mRNA 発現濃度はよく一致した。【考察】OME の臨床用量における血中濃度(約 1.2μM)の 100 倍以上でみられた CYP1A1 誘導は, AhR への直接的リガンド結合能の検討から AhR への結合を介さない反応であることが確認できた。CYP1A1 の誘導評価に関して, Reporter gene assay は培養細胞における CYP1A1 mRNA 解析と同等の高感度を示した。ダイオキシン類の簡易測定法を組み合わせることで, 化合物の CYP1A1 誘導能と AhR 結合能を簡便に評価可能であり, 医薬品開発における評価ツールとして有用と考えられた。

Application of the simplified dioxin assay to the CYP1A1 inducing and Ah receptor binding capabilities of omeprazole

○Mitsuru KOBAYASHI¹, Yoshihide SATOMI^{1,2}, Wakana TSUCHIYA¹, Shino NISHIZAWA¹, Yoshihiro YAMANAKA¹, Hiroshi UNO¹,
Fumiaki AKAHORI², ¹Safety Research Department, Pharmaceuticals Development Research Laboratories, Teijin Ltd., Tokyo,
Japan. ²Department of Veterinary Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Azabu University, Kanagawa, Japan

P-157

免疫比濁法を用いた実験動物の尿中アルブミン測定法の評価

○豊田直人¹、井上芳巳²、木村 敏³、池田宗弘⁴、中間和浩⁵、平田真理子⁶、柴田雅美⁷、小田部耕二⁸、野村 護⁹

¹(株)三菱化学安全科学研究所、²三菱ウェルファーマ(株)、³トーアエイヨー(株)、⁴キリンビール(株)、⁵(株)新日本科学、⁶(株)化合物安全性研究所、⁷日研化学(株)、⁸中外製薬(株)、⁹第一製薬(株)

【目的】尿中アルブミンは、腎障害を反映する指標の一つとして考えられている。尿中アルブミンの測定法として、簡便かつ特異性の高い免疫比濁法(TIA法)を用いたキット試薬の性能を確認した。

【方法】実験動物用に開発されたキット試薬及びヒト用に開発され実験動物に適用可能なキット試薬を評価した。抗ラットアルブミン抗体を用いた市販のラット用キット、抗イヌアルブミン抗体を用いた開発中のイヌ用測定キットを用いた。また、サルアルブミンは、抗ヒトアルブミン抗体と反応することから、市販のヒト用キットを用いた。

【成績】検量線は、ラットで500mg/L、イヌで500mg/L、サルで200mg/Lまで定量性を確認した。再現性は、いずれのキットも変動係数が5%以下(低濃度域では15%以下)であった。試料の直線限界は、ラットで500mg/L、イヌで500mg/L、サルで180mg/Lまで確認した。抗原過剰による影響は、ラットで1000mg/L前後、イヌで1500mg/L前後、サルで2000mg/L前後で平衡状態に達した。共存物質は、いずれのキットもビリルビン20mg/dL、ヘモグロビン490mg/dL、グルコース1g/L、アスコルビン酸0.5g/L、Ca²⁺30mmol/L、Mg²⁺30mmol/L、KCl3g/L、NaCl10g/Lまで影響がないことを確認した。

【結論】ラット、イヌ及びサルに用いた尿中アルブミン測定キットは、いずれも定量試薬として十分な性能を示した。TIA法は、実験動物の尿中アルブミン測定法として有用であり、信頼性の高いデータを得ることが可能と判断した。

Evaluation of turbidimetric immunoassay for urine albumin of laboratory animals

○Naoto TOYOTA¹、Yoshimi INOUE²、Takashi KIMURA³、Munehiro IKEDA⁴、Kazuhiro NAKAMA⁵、Mariko HIRATA⁶、Masami SHIBATA⁷、Kouji OTABE⁸、Mamoru NOMURA⁹、¹Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd. Ibaraki, Japan、²Mitsubishi Pharma Corporation、³Toa Eiyo Ltd.、⁴Kirin Brewery Co., Ltd.、⁵Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.、⁶Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.、⁷Nikken Chemicals Co., Ltd.、⁸Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.、⁹Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.

P-158

無麻酔無拘束モルモットによるカプサイシン誘発呼吸機能パラメータ変化に対するリン酸コデインの抑制作用

○馬 成俊、林田晴美、今泉真和、直 弘、飯塚宏美

(株)パナファーム・ラボラトリーズ

Numerous efforts have been made to evaluate the effectiveness of drugs on capsaicin-induced cough, but little information is available regarding changes in respiratory function parameters following capsaicin induction of coughing. The present study investigated the effects of codeine phosphate on capsaicin-induced changes in respiratory function parameters in unanesthetized and unrestrained guinea pigs using BUXCO whole body plethysmograph-free moving application. Male Hartley guinea pigs were divided into the 1) Aerosolized Saline group, 2) Codeine (100 mg/kg, p.o.) group, 3) Aerosolized Capsaicin (5×10⁻⁴ mol/L) group, and 4) Codeine + Aerosolized Capsaicin group. The animals were placed into a whole body plethysmograph and the respiratory function parameters were monitored. As a result, both aerosolized saline and codeine showed no effect on the respiratory functions, but aerosolized capsaicin increased respiration rate, tidal volume, minute volume, Penh (an index of bronchoconstriction), peak inspiratory flow, and peak expiratory flow by maximum rates of 38%, 161%, 157%, 700%, 227%, and 149%, respectively, resulting in symptoms of bronchoconstriction in the unanesthetized and unrestrained guinea pigs. Pre-treatment with codeine significantly inhibited the effects of aerosolized capsaicin on the above respiratory function parameters in unanesthetized and unrestrained guinea pigs. These results suggest that this method may be useful for evaluating the effectiveness of bronchoconstriction therapeutic drugs.

Inhibitory effect of codeine phosphate on capsaicin-induced changes in respiratory function parameters in unanesthetized and unrestrained guinea pigs

○Chengjun MA、Harumi HAYASHIDA、Masakazu IMAIZUMI、Hiroshi ATAI、Hiromi IIZUKA、Panapharm Laboratories Co., Ltd. Kumamoto, Japan

P-159

安全性薬理試験における呼吸機能評価法に関するアンケート調査報告

○豊島茂樹, 越智誠支, 島田千明, 林 直之, 前田一葉, 森 智博, 矢野浩二,
安東賢太郎, 門田利人, 松澤利明

日本製薬工業協会医薬品評価部会基礎研究部会

【目的】2001年6月に厚生労働省より通知されたS7A安全性薬理試験ガイドラインでは、必須試験として「呼吸数及び他の尺度を評価すべきである」とされているが、呼吸数以外の呼吸器系の試験方法については経験が少ない企業が多かった。そこで、製薬協 基礎研究部会において安全性薬理試験における呼吸機能および血圧評価法に関するアンケートを行った。本発表ではこの調査結果から特に呼吸機能評価法に関する報告を行う。【方法】製薬協 基礎研究部会加盟80社を対象に2002年7~8月にかけてアンケート調査を実施し、61社より得られた回答結果を集計、評価した。【結果および考察】呼吸機能の試験については64%の企業が無麻酔無拘束下で検討を行っていた。用いる動物はイスが39%で最も多く、次いでラットの36%、サルの23%の順であった。測定項目としては呼吸数が42%、次いで換気量17%、 P_{aO_2} および P_{aCO_2} が16%の順であった。また、実験方法と動物を考慮して考えるとラットやモルモットなどの小動物ではプレチスモグラフを、イス、サルなどの大動物ではテレメトリーと血液ガス測定を組み合わせた方法を用いていることがわかった。これら試験を自社で行っているのは17%に過ぎず、CROに依存していることが明らかとなった。また、実施した試験法に対して25%が満足、17%が不満足と回答した。不満の理由として、プレチスモグラフでは T_{max} が早い薬剤の場合使用しにくい、血液ガスでは採血や環境がパラメータに影響するなどがあげられた。

Questionnaire survey of methodologies on respiration systems in safety pharmacological studies

○Shigeki TOYOSHIMA, Seishi OCHI, Chiaki SHIMADA, Naoyuki HAYASHI, Kazuha MAEDA, Tomohiro MORI, Kouji YANO, Kentaro ANDO, Toshihito KADOTA, Toshiaki MATSUZAWA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

P-160

The marmoset (*Callithrix jacchus*) as a primate model in toxicology: The Covance experience

○Gerhard Weinbauer

Covance Laboratories GmbH

Marmosets have become an important nonhuman primate model to be used as the second species in the safety evaluation of new drugs. Based upon its small body size, marmosets have gained value for toxicology studies with biotechnology products where compound supply is limited. In general toxicology studies, marmosets have been successfully used also for specific investigatory endpoints. Overall, all standard toxicology parameters that are being used for macaques, can also be applied to marmosets following adequate technical adaptation. We recently established a methodology for prolonged intermittent infusion and for long-term continuous infusion over 5 weeks. For the latter, a backpack system is in place permitting free movement and three-dimensional activity. When compared to macaques, marmosets appear more demanding in terms of housing requirements and more sensitive to stress. Consequently, animal loss is higher with marmosets in demanding and longer term studies relative to macaques. In our experience, overall loss rate in toxicology studies is 2-3%. Marmosets show striking differences in male and female reproductive characteristics to human and macaques, e.g. for ovarian cycle manifestation and control, pregnancy and specific aspects of male fertility genes. Hence, marmosets are recommended as models for human reproduction. In conclusion, the marmoset model is well suited for preclinical toxicology studies whereas the clinical relevance for reproductive toxicology assessment is currently unclear.

The marmoset (*Callithrix jacchus*) as a primate model in toxicology: The Covance experience

○Weinbauer Gerhard, Covance Laboratories GmbH

P-161

相対臓器重量による判定と共分散分析を用いた絶対臓器重量による判定の比較シミュレーション

○大村 実

九州大学大学院医学研究院衛生学分野

【目的】臓器重量の判定では相対臓器重量を用いても、体重による違いを正しく補正できないことはよく知られている。本検討では投与群で体重減少が認められた場合を想定し、相対臓器重量の比較による判定と、生殺時の体重を共変量とした共分散分析を用いた絶対臓器重量による判定をシミュレートし、その結果を比較した。【方法】シミュレーションにおいては、当研究室で実施した動物実験で対照群動物とした Kd:Wistar オスラット 114 匹を母集団とした。母集団の生殺時の週令は 11-32 週令、体重は 380-655 g であった。判定結果の比較は肝臓、腎臓、脾臓、精巣、精巣上体、胸腺の 6 臓器に関して行った。【結果・考察】体重に対する絶対臓器重量の回帰直線は腎臓を除いた 5 臓器で原点を通らないことが推定され、これらの臓器では相対臓器重量による比較の前提が成立しないことが推定された。対照群の体重の母平均が 400, 500, 600 g で、投与群ではこれらよりも体重の母平均が 100 g 減少していた場合を想定してシミュレーションを行った結果、共分散分析による判定と比較して、相対臓器重量の比較による判定では投与群の絶対臓器重量がより大きく減少しないと有意な差と判定されることが推定された。特に回帰直線が原点を大きく外れ、その傾きが小さい（脾臓、精巣）もしくは負の値をとる（胸腺）臓器では、両判定結果の差が大きかった。投与群で体重減少がある場合には、相対臓器重量による比較では臓器重量の減少を過小評価してしまう可能性が考えられた。

Simulation of the analysis of organ weight data by comparison of the relative organ weight and ANCOVA

○Minoru OMURA, Department of Hygiene, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka Japan

P-162

S7A 安全性薬理試験ガイドライン運用法に関するアンケート調査報告(1)～実験項目について

○久保田訓世, 市坪達也, 浦野陽介, 岡谷内博, 小川ちさと, 奥村 誠,
笠原憲一, 桑 悦子, 今田智之, 齋藤 守, 清水賢治, 田中洋貴, 中村正平,
平野文也, 福田 均, 本坊敏保, 安東賢太郎, 門田利人, 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】2001年6月に厚生労働省より S7A 安全性薬理試験ガイドラインが通知された。同ガイドラインに従った試験を実施する上での疑問点や問題点を明らかにするため、表題の部会において S7A 安全性薬理試験ガイドラインの運用に関するアンケート調査を行った。一般薬理ガイドラインと安全性薬理ガイドラインとは実験項目に関する定義が異なるために、本発表ではこの調査結果から特に実験項目に関する報告を行う。【方法】日本製薬工業協会基礎研究部会加盟 80 社を対象に 2002 年 10～11 月にかけて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、評価した。【結果および考察】アンケート実施の時点ではすでに 69%の企業が安全性薬理試験の実施経験があった。しかし、自社のみで安全性薬理試験を行った会社は 2%で、CRO のみが 48%、自社と CRO の併用が 50%と CRO に大きく依存していることが明らかとなった。また、Phase I までに必ず実施する試験としてコア試験のみとする企業が 72%、次いで補足的試験を追加とする企業が 20%と一般薬理試験ガイドライン施行下よりも実験項目が大幅に削減されていることがうかがわれた。コア試験での陽性対照薬の使用の有無に関しては、中枢神経系で 72%、心血管系で 75%、呼吸系（注 1）で 82%が使用していなかった。陽性対照薬を使用しない理由として、バックグラウンドデータが豊富にあり、系の信頼性が保証されているとした企業がほとんどだった。注 1: 安全性薬理（心血管系、呼吸）試験法に関するアンケート調査より引用

Questionnaire survey of application in S7A Safety Pharmacology Guideline (Part 1): Point of experimental items

○Kunitsugu KUBOTA, Tatsuya ICHITSUBO, Yosuke URANO, Hiroshi OKAYACHI, Chisato OGAWA, Makoto OKUMURA, Kenichi KASAHARA, Etsuko KUME, Tomoyuki KONDA, Mamoru SAITO, Kenji SHIMIZU, Yoshitaka TANAKA, Shouhei NAKAMURA, Fumiya HIRANO, Hitoshi FUKUDA, Toshiyasu HONBO, Kentaro ANDO, Toshihito KADOTA, Toshiaki MATSUZAWA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

- 福田 均, 市坪達也, 浦野陽介, 岡谷内博, 小川ちさと, 奥村 誠, 笠原憲一, 久保田訓世, 桑 悦子, 今田智之, 斎藤 守, 清水賢治, 田中祥貴, 中村正平, 平野文也, 本坊敏保, 安東賢太郎, 門田利人, 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】2001年6月に厚生労働省よりS7A安全性薬理試験ガイドラインが通知された。同ガイドラインに従った試験を実施する上での疑問点や問題点を明らかにするため、表題の部会においてS7A安全性薬理試験ガイドラインの運用に関するアンケート調査を行った。本ガイドラインは本邦において薬理と名の付く試験にGLPを求めた最初のものであるため、特にGLPへの対応については混乱が生じている。発表ではこの調査結果から特にGLPに関する項目を中心に報告し、安全性薬理試験におけるGLP対応の現状を明らかにする。【方法】日本製薬工業協会基礎研究部会加盟80社を対象に2002年10～11月にかけて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、評価した。【結果および考察】コア試験はGLP下での実施が求められているため、93%はGLP下で実施していた。しかしフォローアップ/補足的試験については、GLPで「実施している/今後実施予定」との回答が51%に対し、「実施していない/今後も実施しない」との回答が32%であり、信頼性が確保できていればGLPでなくても良いと考えている企業が多いと思われた。安全性薬理試験のGLP化にあたって困難な点として最も多かった回答は試験法のバリデーションで、以下、試験実施人員の確保、教育の順だった。被験薬調製液の分析については、ほぼすべての企業で実施していたが、陽性対照薬の分析は11%で行なわれているのみであった。発表ではこの他の問題点についても言及する。

Questionnaire survey of application in S7A Safety Pharmacology Guideline (Part 2): Point of GLP

- Hitoshi FUKUDA, Tatsuya ICHITSUBO, Yosuke URANO, Hiroshi OKAYACHI, Chisato OGAWA, Makoto OKUMURA, Kenichi KASAHARA, Kunitsugu KUBOTA, Etsuko KUME, Tomoyuki KONDA, Mamoru SAITO, Kenji SHIMIZU, Yoshitaka TANAKA, Shouhei NAKAMURA, Fumiya HIRANO, Toshiyasu HONBO, Kentaro ANDO, Toshihito KADOTA, Toshiaki MATSUZAWA, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Tokyo, Japan

市民公開セミナー

C-1 はじめに

真板 敬三¹、仮家 公夫²

¹(財)残留農薬研究所、²神戸学院大学 薬学部

美味しい食べ物をおいしく食べるときとても幸せな気分になります。食は日々の活力を得るため、健康を保つため、人との交わりを深めるため、クサクサした気持ちをふっとばすため・・・、生活のいろいろな場面で大切な役割を演じています。そして、私たちはより多くの食材を、より豊富に、より美味しく、より長く利用できるような様々な工夫を重ねてきました。

野の中から食べられる植物を探し品種改良を重ね、植物が持つ天然の毒物を減らし食味を良くし生産量を上げました。農業はその間に失った病気への抵抗性を補う殺菌剤、虫に食べられないための殺虫剤、生育を妨害する雑草処理の除草剤として使われます。お乳、肉、卵の生産性を上げるために品種改良と衛生管理を発達させ、魚すら殆どの高級魚が養殖できる技術を開発しました。こうして生産した食材を長期間保存するため、乾燥、塩・砂糖漬け、缶詰・瓶詰め、凍結乾燥、冷凍技術などを開発し、種々の防腐剤が生まれました。

また、食べものにとり食味、色どり、香りも美味しさの大切な部分ですので、口当たりの改良剤、漂白剤、着色剤、香りづけが昔から利用されています。さらに、近年の健康ブームを反映したビタミン、乳酸菌飲料等の健康食品や美容食品、あるいは食を通じて癌や難治性疾患に対する体の抵抗性を高める機能性食品などなど、“医食同源”の追求は今後も深まることでしょう。このようにして私たちは食を工夫し健康で豊かな生活を楽しんできましたが、近年その工夫が恐ろしい病気の原因になったり、安全性が危ぶまれる事件がいくつも重なって発生しました。

ウシの成長を早める高タンパク質飼料に使った肉骨粉による BSE（狂牛病）や未登録農薬の使用、あるいは健康食品・機能性食品による死亡や肝臓障害などがその極端な例でしょう。また、以前から農薬、食品添加物の安全性について多くの方が不安に感じていて、それがこのような事件を契機にさらに深まった印象を受けます。

食材の中毒といえば、キノコ、フグ、貝類などというのも食品衛生にとり未だに大きな問題です。さらに、最近では遺伝子組み替え食品も色々な形で私たちの食卓に上ろうとしています。ところが、それぞれについて私たちは漠然とした不安を感じていますが、具体的な知識となると、殆ど知らないもしくは知らされていないのではないのでしょうか。

この市民公開セミナーでは、そのような私たちの不安にお応えするように、何が問題なのか、どのように安全性を調べているのか、何処まで安全なのか、注意点は何か、をそれぞれの専門家に易しく解説していただきます。

C-2 食品衛生法と食の安全

中垣 俊郎
厚生労働省 医薬局 食品保健部

BSE 問題や偽装表示問題などを契機に食品の安全に対して国民の不安や不信が高まっており、こうした状況の下、政府においては、内閣官房を中心に、厚生労働省、農林水産省などの関係省庁が一体となって、食品の安全に関する制度、体制の再構築を図ろうとしています。

具体的には、食品の安全に「絶対」はなく、健康への悪影響の確率とその程度である「リスク」を科学的に評価し、その結果に基づいて必要な対策を講じることを基本にしています。この手法は、世界的に見ても最新の手法であって、「リスク分析」と呼ばれており、リスクを科学的に評価する「リスク評価」、国際的な動向や国民の意見に配慮しつつリスク評価の結果に基づき必要な措置を実施する「リスク管理」、国民、行政、科学など関係者相互間の情報や意見の交換を積極的に行う「リスク・コミュニケーション」の3つからなっています。

このようなリスク分析の手法を食品安全行政に導入するため、制度的には、その基本となる法律（食品安全基本法）を新たに設け、その下に位置づけられる食品衛生法、と畜場法、農業取締法などの法律が全面的に見直されることとなりました。その基本理念は、国民の健康保護、生産から販売に至る各段階における対応、科学的知見に基づいた措置の実施の3つです。

食品安全規制の主要な部分を担っている食品衛生法も、昭和 23 年の制定以来というような抜本的な見直しが見直されています。法の目的として「国民の健康保護」を明示するとともに、国、地方公共団体、事業者、それぞれの責務が規定されます。基準の設定など新たな規制の導入に当たっては、事前に公表し、国民の意見を聴くことも義務付けられます。また、残留基準が設定されていない農薬等が残留する食品の流通を原則禁止するいわゆるポジティブリスト制の導入や、特殊な方法により摂取する食品等の暫定的な流通の禁止措置の導入なども検討されています。さらに、監視・検査体制の強化、食中毒等飲食に起因する事故への対応の強化、罰則の強化も検討されています。

食品安全行政の体制としては、現在の厚生労働省や農林水産省などからリスク評価部分を切り離し、内閣府に設けられる食品安全委員会において一元的にリスク評価を行い、その評価結果に基づき、厚生労働省や農林水産省などが個々の行政を行う体制が構築されます。食品安全委員会は最新の科学的知見に基づき、客観的かつ中立公正な評価を行うことができるよう、7名の有識者から構成されます。その活動を支えるため、200名程度の専門家からなる専門調査会、54名からなる事務局が設けられる予定となっています。また、農林水産省においては食糧庁の廃止と消費安全局の新設、厚生労働省においては食品保健部の食品安全部への改組も提案されています。

C-3 農薬ってなに、危ないの？

青山 博昭
(財)残留農薬研究所

近年、食の安全に関する国民の関心がことのほか高まっている。とりわけ我々が日常摂取する穀類や野菜などの農作物については、これらを栽培する時に使われた農薬の種類やそれらの毒性、あるいは商品として販売された農作物に残留している農薬の量などについて、その実体を可能な限り詳しく知りたいとの希望をしばしば耳にする。今回のセミナーでは、我々が摂取する食品に残留する可能性のある農薬について、消費者の安全を担保するためにどのような努力がなされているかを簡単にお話する。

農薬取締法によれば、「農薬」とは「農作物を害する菌、線虫、だに、昆虫、ねずみその他の動植物又はウイルス（病害虫）の防除に用いられる殺菌剤、殺虫剤その他の薬剤、及び農作物等の生理機能の増進又は抑制に用いられる成長促進剤、発芽抑制剤その他の薬剤をいう」と定義されている。また、同法には「農薬を製造または輸入しようとする者は、薬効、薬害、毒性及び残留性に関する試験成績を提示して、農林水産大臣の登録を受けなければならない」との規定もある。農薬の登録申請時に要求されるデータの種類の種類は、極めて多岐にわたる。例えば、食用作物に適用される農薬については、急性毒性試験、皮膚刺激性試験、急性神経毒性試験など使用者（実際に農薬を散布する人）の安全を担保するための毒性試験、1年間反復経口投与毒性試験や発がん性試験といった長期毒性試験、さらには催奇形性試験や繁殖毒性試験のような次世代への影響を調べる試験など、合わせて20種類以上の毒性試験の成績を提出するよう義務付けられている。農薬にこのような詳しい毒性試験の実施が求められる理由は、医薬品のように限られた人（患者）が意図的に摂取するものとは異なり、農薬の場合にはあらゆる人が老若男女を問わず非意図的に暴露される可能性があると考えられるためである。ちなみに、プラスチックや石油化学製品などの一般化学物質については、それらを規制する化学物質審査規制法に従って、わずか数種類の毒性試験が実施されるに過ぎない。内分泌攪乱物質騒動などを契機に農薬の毒性が特に注目を集めることとなった理由の一つ（決してすべてではないが）には、医薬品を除く他の化学物質と比較して毒性に関するデータが飛躍的に多いことも挙げられよう。

提出されたこれらの毒性試験データは、その他のデータ（動物体内、植物体内、土壌中および水中運命に関する試験結果など）とともに専門家によって厳格に審査され、原則としてすべての毒性試験の中で最も毒性が強く認められた試験で得られた無毒性量を基準として、1日当たりの許容摂取量（Acceptable Daily Intake, ADI；通常は無毒性量の1/100）が決定される。さらに、農薬を実際に散布する際には、作物にADIを越える量の農薬が残留しないことが原則となる。したがって、極めて多岐にわたる毒性試験の結果に基づいて推定された無毒性量の1/100がADIとされ、食品への残留量がこのADIを越えてはならないとのルールを守っている限り、消費者である国民に滅多なことでは農薬中毒は起こり得ないと考えられる。

多くの農薬は、そもそもが殺菌剤、殺虫剤、あるいは除草剤などの「人に対して好ましからざる生物を殺す」ために製造された薬剤であることから、標的となる生物にとっては「猛毒」である。このことは、人がこれらの農薬を多量に摂取した場合には何らかの毒性影響が生ずる可能性をも示唆する。しかし、我々が日常摂取する食品、嗜好品（酒、コーヒーなど）、医薬品などの化学物質も、極端に多量に摂取した場合には人の健康を害する。例えば、酒を飲み過ぎれば急性アルコール中毒や二日酔いで痛い目にあうことは誰もが経験的に理解していることであろうし、医薬品といえども医師の指示を守らずに多量に摂取すれば様々な副作用が生ずることもまた周知の事実である。このように考えれば、農薬には人の健康を害する「リスク」が存在することは否定できないものの、危険を回避して使用することが可能な物質であると判断される。

残された問題があるとすれば、「わずかとは言え、日々の食事を通して場合によっては数十年という長期間にわたって農薬を摂取することにより、我々の健康が害される恐れはないか」という懸念であろう。最近、女性ホルモン（エストロゲン）様作用を持つ物質などに関して、従来の毒性試験では予想もされなかった極低用量で動物に何らかの影響が認められたとの研究成果がしばしば報告される。農薬の中にもこのような女性ホルモン様作用を示すものがあるため、もしかすると既に我々も汚染されてしまったのではないかと懸念を抱く人たちも少なからずおられる。しかし、極低用量の化学物質投与により動物に何らかの影響を認めたとの研究報告の中には、他の研究者による再現実験で異なる結果が得られているものも少なくない。また、低用量影響が現れる機序（メカニズム）について様々な仮説が提唱されているものの、現在のところそれらを完全に証明した実験は認められない。さらに、これまでに知られている中毒量を遥かに下回るような用量で人の健康に悪影響が及んだとの証拠は、幸いなことに今のところ報告されていない。このような理由から、我々が現在なすべきことはルールを守った農薬の安全使用を徹底しつつ低用量影響の有無を科学的に明らかにすることであって、決して直ちにあらゆる農薬の使用を禁止することではないと考えられる。

食の安全を守ることは、食品の安全性を担保することのみならず、国民のすべてが貧富の差なく必要な食料を得られる環境を維持することでもある。国民に必要な食料を確保するためには、より危険性の低い農薬を安全に使用しつつ、少なくとも現在の農業生産を維持することが肝要であろう。この目的を達成するためには、農薬の生産や行政に携わる方々には農薬の毒性に関する情報を可能な限り国民に開示しつつより安全な農薬を普及する努力を、農業に従事する方々にはルールを守った農薬の安全使用を、さらに、消費者である国民の皆様には科学的な情報に基づいた冷静な対応を願ってやまない。

C-4 食品添加物の安全性は？

村田 共治
(財)食品農医薬品安全性評価センター

1. はじめに

最近の私たちの食生活は大変豊かになり、いろいろなおいしい食品が手軽に食べられるようになりました。これはハム、ソーセージ、カップメンなど多くの加工食品のおかげですが、この加工食品を作るためには食品添加物が必要です。しかし、多くの人はこの食品添加物に対して誤解をしたり、必要以上に不安を持っているのではないかと思います。確かに、食品添加物は私たちが毎日食べる食品に使われており、健康への害について心配することは当然かも知れません。しかし、食品添加物、特にその安全性について正しく理解することは、食中毒を防いだり、食品を無駄にしないで豊かな食生活をおくるために必要なことです。

2. 食品添加物とは？

食品添加物とは、食品衛生法で「食品の製造過程で、または食品の加工や保存の目的で食品に添加、混和などの方法によって使用するもの」と定義されています。我が国では、食品添加物は安全性と有効性を確認して厚生労働大臣が指定した「指定添加物（約 350 品目）」、長年使用されてきた天然添加物として品目が確定している「既存添加物（489 品目）」の他に、「天然香料」や「一般飲食物添加物」に分類されます。

3. 食品添加物の種類と用途

食品の製造に必要なものとして豆腐用凝固剤、炭酸ガス、かんすい、乳化剤、膨張剤、油脂の抽出剤、食品の保存性の向上と食中毒の予防のために保存料、防かび剤、殺菌料、酸化防止剤、食品の品質向上のために乳化剤、食品の風味、外観の向上のために着色料、発色剤、漂白剤、甘味料、調味料、香料、栄養素の補充、強化のためにビタミン、アミノ酸、ミネラルなどが使用されています。

4. 食品添加物の安全性の確かめ方

食品添加物を実験動物に 28 日間、90 日間および 1 年間毎日与えて毒性が発現しない用量と明らかな毒性が発現する用量を求める反復投与毒性試験、実験動物に二世代にわたって与え、生殖機能や新生児の生育に及ぼす影響を調べる繁殖試験、実験動物の妊娠中の母体に与え、胎児の発生、生育に及ぼす影響を調べる催奇形性試験、実験動物にほぼ一生にわたって与え、発がん性の有無を調べる発がん性試験、実験動物でアレルギーの有無を調べる抗原性試験、細菌や細胞の遺伝子あるいは染色体への影響を調べる変異原性試験などで安全性を確かめています。

5. 食品添加物の安全性に関する考え方

食品添加物の安全性はほとんどが実験動物を用いて確かめられていますが、実験動物はヒトと同じ反応を示すとは限りませんから、いかにして動物実験の成績からヒトへの安全性を保証するかが重要になってきます。そこで、まずラットやマウスなどの実験動物を使って、毎日一定の量の食品添加物を食べさせ、一生を食いつづけても「有害な影響が見られない最大の用量」、いわゆる無毒性量を求めます。通常、この無毒性量の 1/100 の量を、毎日食べ続けても安全な量（1 日摂取許容量）とし、さらに、この量よりずっと少なくなるように法律で使い方が決められています。動物にはまったく害のない量に、さらに 100 倍をこえる安全率をみこんでいるわけです。また、実際にはこの量よりもっと少なく使われていて、日本人が 1 日に食べている加工食品の中に含まれる自然界にない人工の添加物の量はおよそ 0.1 グラムです。

C-5 遺伝子組み換え食品は安全だろうか？

三瀬 勝利

医薬品副作用被害救済 研究振興調査機構

我が国では約7年近く前の1996年9月に、最初の遺伝子組み換え（以下GMと略す）食品の安全性が確認されて以来、多くのGM食品が国内で流通しています。このため、生後間もない赤ん坊を除き、日本人のほぼ全員がGM作物由来の食品をかなりの量を食べているはずですが、例えば、我が国に輸入されるトウモロコシの量とGMトウモロコシの生産割合から計算すると、日本人一人あたりのGMトウモロコシの年間消費量は10キログラムとなります。ここでは食べられずに捨てられる量は計算されていませんが、我々は既に大量の遺伝子組み換え食品を食べたこととなります。多くの遺伝子組み換え食品は粉やスターチ、糖類、アミノ酸、油などの形で食品に含まれています。現在までGM食品が人に有害な作用を及ぼしたという報告はありません。

現在、日本で承認されているGM食品はすべて種子植物です。種子植物以外の植物や動物、及び微生物の組み換え体を食品とすることは今のところ認められていません。ただし、GM微生物を使用して作った食品添加物で、組み換えられた微生物が完全に除去されているものについては、現在アミラーゼなど10品目が承認されています。これまで承認されているGM作物は菜種、トウモロコシ、大豆、わた（綿実油を取るため）、テンサイ及びジャガイモの6作物44品種です。いずれも外国産で米国のものが多いのですが、最近ではアルゼンチン産のものも増えています。GM作物の生産量は年度ごとにうなぎ登りに上昇しています。除草剤耐性や害虫抵抗性のGM作物が多いが、病気に強いパパイヤなどが将来出回るでしょう（パパイヤについては審査中；平成15年4月28日現在）。現在流通しているGM食品の大半は生産者にメリットがあるが、消費者にはメリットが見えにくい物です。

GM食品が市場に出回るまでには、組換えDNA実験指針によるGM植物の開発実験の安全性審査から始まって、通常の温室での従来植物との成分・性質の比較実験、隔離圃場での環境影響調査と評価を経て、食品そのものの安全性審査まで、4段階の審査を受けねばなりません。GM食品の審査は厚生労働省の薬事・食品衛生審議会で行われています。

GM食品の安全性審査は2001年3月まではガイドラインに基づく任意審査でした。しかし、表示の義務化と歩調をあわせる形で、2001年4月より義務審査に変わっています。要するに、この審査をパスしないGM食品を国内で流通・販売させると罰則の対象となります。なお、罰則は1年以内の懲役、または10万円以下の罰金です。我が国の審査基準は米国のそれよりも厳しく、例えば、我が国では米国とは違って、導入された遺伝子近傍の宿主側の塩基配列などの情報を提供することが求められています。

GM食品の審査は絶対的な安全性を求めるのではなく、リスク評価法によっています。その理由は、科学技術はリスクを指摘できるが、絶対的な安全性を証明することは不得手だからです。また、完全に安全な食品は存在せず、すべての食品は外来性のものであり、内在的なものであり、有害物を含んでいます。外来汚染物としてはダイオキシンなどの有害化学物質や、カビ毒のような微生物由来のものもあります。内在的なものとしては、作物が元来持っている有害化学物質もあります。その上、トキシコロジー学会の案内に書かれているパラケルススの言葉にもあるように、「全ての物質は潜在的に毒物である。それが人に有害な作用を発揮するか否かは人が摂取する量による」のです。我々が日常食

べている食塩もまた、人に癌を起こす物質として有名です。

このように、非 GM 食品において究極の安全性を保障できない以上、GM 食品においてもそのままの形で安全性を担保することは出来ません。通常は GM 食品の安全性の確認では、その原種である非 GM 食品とのリスクの比較をすることが合理的なやり方と言えるでしょう。現実には、厚生労働省内の審議会で行われている安全性確認も、こうした手法でなされており、申請者から出された資料を基に、「安全性審査基準」に従い、詳細な検討がなされていると聞いております。具体的なリスクを評価する項目は 100 以上に及びます。安全性に疑問がある場合は質問や追加資料の提出が求められ、問題が解決されない場合は申請が不許可となります。

現在流通している GM 食品に入れられている代表的な遺伝子としては殺虫毒素遺伝子、除草剤耐性遺伝子、抗生物質耐性遺伝子があります。この中で、安全性の点で一般の方が一番懸念しておられるのは殺虫毒素ではないかと思われます。

殺虫毒素はバチルス・チューリンゲンシスという、発声すると舌をかみそうな名前の細菌が作る毒素です。この毒素はアワノメイガ等のトウモロコシの害虫に対する毒性は強いが、人を含む哺乳類に対する毒性はゼロに近いものです。昆虫類とは違って、哺乳類には毒素の受容体が無く、アルカリ性でないと活性を発揮せず、高温処理や人工胃液や腸液でも分解・不活化される所から、リスクはゼロに近いと判断されます。また、作物に含まれる殺虫毒素の量も、1 グラムの百万分の一といった超微量で、動物実験のデータなどからも、通常食べるトウモロコシの一千万倍以上取っても安全というデータがでています。毒素という名前がついているために、GM 食品のイメージを悪くしていますが、リスクはゼロに近いといえるでしょう。

GM 食品の安全性に関する試験は急性毒性、亜急性毒性、生殖影響毒性、変異原性、癌原性、アレルギー性等の試験が行われておりますが、いずれの試験でも、審査をパスした GM 食品のリスクは非 GM と同等、もしくはそれ以下です。現実には先にも述べたように、過去 7 年近くにわたって米国や我が国では大量の GM 食品が消費されていますが、事故例はありません。急性毒性や亜急性毒性では問題ないと結論して良いでしょう。ただし、現在でも GM 食品について長期影響や子孫への影響を憂慮する人たちが少なくありません。しかし、子孫への影響については、GM 食品が非 GM 以上にリスクが大きいことを現在の科学では証明することは出来ません。言い換えれば、現在の科学は承認されて GM 食品のリスクは無視できることを示しています。

このように、現在承認されている GM 食品は安全性の点で問題がないと考えられますが、それ故にこれから作られるであろう全ての GM 食品が安全であるとは言えません。遺伝子組み換え技術は新規な技術であり、使い方によっては予期せぬものが作られる可能性があるため、そのリスク評価は個々の食品で慎重に行わなければならないことは、言うまでもないところです。

本講演では、現在開発中の GM 食品の紹介や、リスクコミュニケーションのあり方などについても簡単に私見を述べる予定です。

C-6 食材の中毒あれこれ

福本 真理子
北里大学 薬学部

食材の中毒のお話をするにあたって、まず「中毒」とは何かについてお話ししたいと思います。普段、日常生活でよく出てくる「中毒」という言葉は、「アルコール中毒」とか「覚せい剤中毒」という言葉です。また、四六時中仕事のことばかり考えていて家にまで仕事を持ち帰り、家族をかえりみない人のことをよく「仕事中毒」にかかっているということがあります。これらの場合の「中毒」は、「依存症」という言葉に置き換えることができます。依存症とは「何かに依存して、それを断ち切ることができない病的な状態」をいいます。しかし、医療の中でよく出てくる「中毒」は、この「依存症」とは区別して考えられています。すなわち、中毒とは「毒物は飲み込んだり、吸入したり、注射したり、皮膚から吸収することによって、生体に有害な作用を起こすこと」をいいます。

また、毒物 (poison) とは化学的な作用によって、健康を害したり、死に至らしめるような障害を起こすような物質のことをいい、液体や固体から気体など様々な形をとります。一方、適量ならば病気の治療に役立つすりも、量を誤れば中毒を引き起こすことがあります。

今回、お話しをする「食材の中毒」も、そのような毒物によってもたらされる急性の有害な作用についてです。もうひとつ関連して「食中毒」という言葉があります。食中毒というと、私たちはすぐ病原性大腸菌 O-157 やサルモネラ菌などの細菌による感染症（細菌性食中毒といえます）を思い浮かべますが、これも医療の中では感染症として区別されていますので、今回の話題からは除きたいと思います。

私たちが日常の食生活で摂っている食材によって、そのような中毒が起きるのでしょうか？ 最もよく知られている食材の中毒はフグ中毒です。1975年1月16日、人間国宝だった歌舞伎役者の第8代目坂東三津五郎丈がフグ中毒で亡くなられています。前日、京都南座の初春公演の後、トラフグの刺し身、キモ（肝臓）、シラコ（精巣）を多量に食べ、ホテルに帰り就寝しました。午前3時過ぎに唇や手がしびれ始め、足がしびれ頭がふらつき歩行が困難となりました。意識ははっきりしていたものの、午前4時には心拍数、呼吸が弱くなり、酸素吸入、人工呼吸の処置をしましたが、亡くなりました。その後、吐しゃ物をマウスに投与したところ、数分後にけいれん、呼吸麻痺を起こし死亡したことからフグ中毒と確定されました。

フグ中毒は、中国の神農（紀元前 2838・2698 年）が書いたとされている「本草経」に初めて記載があったと言われています。普通食用とされるフグは、13種類ありますが、ほとんどの食用フグは毒もっています。特に卵巣と肝臓の毒性が最も強いと言われています。1888年まではふぐを食べるのは御法度で、伊藤博文公が解禁にしたと言われています。現在でも、ふぐの調理や生のふぐの取扱う店は、各都道府県の資格試験を合格したふぐ包丁師（調理師）が居なければ営業できません。

その毒性成分であるテトロドトキシンは日本人によって発見され、化学構造が明らかになりました。このテトロドトキシンはフグ毒として有名ですが、カリフォルニアアイモリ、奄美大島産のツムギハゼ、コスタリカ産のカエル 3 種の皮膚にも存在することが証明されています。さらにヒョウモンダコ、肉食性巻貝のバイ、ポウシュウボラなどからも発見されています。分類上かけ離れた動物種に広く分布するため、これらの動物が自分自身でこの毒を産生しているとはあまり考えられません。現在、テトロドトキシンの発生源はテトロドトキシン産生海洋細菌であると考えられています。つまり、テトロ

ドトキシンを産生する微生物から海水に放出され、それが海底の泥土を汚染し、その中に生息するフグのえさとなる生物を毒化し、最終的にフグの毒化になるという「食物連鎖」が考えられます。他にもアオブダイなど有毒成分を持つ魚類による中毒はいくつか報告がありますが、これらは普段食用にしない部分を食べた例で、いずれもこれらに対する解毒薬はありません。

この他、食卓にのぼるもっとポピュラーな食材では、ギンナンやジャガイモにも微量ですが、有毒な成分が含まれています。特にその成分が多く含まれる部分を食べたり、多量に食べたりして子供で中毒事故が起きています。これらの中毒はめったに起こることはありませんが、微量でも有毒な成分が含まれていることを覚えておいて、特に子供の中毒が起きないように注意をすることが必要です(表1)。

この他、食材自身は毒を持っていなくても、腐敗やカビにより有毒な成分が作られて中毒を起こす場合、山菜採りや自然教室で間違えて、有毒な植物を食べてしまう場合、台所などにある家庭用品が食材に混じって中毒を起こす場合など、食生活にまつわる中毒の例はたくさんあります。

食材に限らず、家庭生活の中での様々な中毒事故は、もし起きてしまった時どのように対処すればいいかを知っておくことももちろん大事ですが、何よりも事故が起きないように注意することが大切です。今回お話ししたようないくつかの食材の有毒成分の知識や、食生活で覚えておくことよい中毒事故防止の知識をぜひ活用して、中毒事故が起きない安全な食生活をして頂きたいと思います。

表1 食材が持つ毒と中毒症状

食材	有毒成分	特徴・症状
アオブダイ (魚類)	パリトキシン	激しい筋肉痛、手足のしびれ、呼吸障害、腎不全、不整脈 見慣れない魚は注意する。特に内臓は食べない
フグ (魚類)	テトロドトキシン	唇、舌のしびれ、四肢の麻痺、嘔吐、知覚麻痺、嚥下困難、呼吸困難、血圧低下 卵巣、肝臓は食べないようにする 素人が調理しない
ギンナン (イチョウの種子)	4-O-メチルピリドキシン(MPN)	嘔気、嘔吐、けいれん、意識障害など 幼児や、ビタミンB6欠乏症の可能性があるヒトは、多量に食べないようにする
ジャガイモ	ソラニン	嘔気、嘔吐、腹痛、下痢など発芽した芽や、緑色や茶褐色になった部分に多く含まれるので、その部分は食べないようにする

表2 中毒110番(日本中毒情報センターの電話相談サービス)

	サービス時間	電話番号	通話料金
大阪中毒110番	24時間・年中無休	0990-50-2499 (ダイヤルQ ²)	情報料(1件300円) + 通話料
つくば中毒110番	9-21時・年中無休	0990-52-9899 (ダイヤルQ ²)	情報料(1件300円) + 通話料
タバコ中毒110番	テープ対応: 一般市民向け	06-6875-5199	通話料

日本中毒情報センターのホームページ: <http://www.j-poison-ic.or.jp/homepage.nsf>

C-7 健康・機能性食品の安全性は？

堀 美智子

医薬情報研究所（株）エス・アイ・シー

医は食なり、食は医なり。私達は、健康のために、カロリーや栄養バランスを考えながら、食事をすることが大切です。また食は、その国の文化をも表すものでもあります。しかし、最近では、食をゆっくりに考える余裕がなく、また、食品も手軽に入手できるため、空腹感を満たすためにとりあえず食すという人も多いのではないのでしょうか。

しかし、その一方で健康に対する意識は高く、不規則な食生活を補うため、あるいは生活習慣病の予防のため、さらには、何らかの治療効果まで期待して、いわゆる健康食品（サプリメント）を利用する人がいらっしやいます。でも、健康食品と一口に言っても実に様々な商品があります。中国製のダイエット食品（健康食品）で肝機能障害を引き起こした例などがわが国でも問題になりました。もちろんこれは食品ではなく、違法医薬品であったわけですから、問題外です。そこで、今回は、健康食品や機能性食品について安全な利用の仕方について以下の2点を中心に具体的に例をあげながら、紹介します。

1. 食品と医薬品の違いは。

医薬品は薬事法で定められており、疾病の予防、治療、診断などに使用されるものです。その取り扱いについては、医師や薬剤師が介在して病院、薬局、薬店などから入手することができます。一方、食品は、どこからでも入手できるわけです。

一般に「健康食品」というと、「なんとなく体によさそうなもの。」「何か健康を保つ効果が期待できそうなもの。」ととらえられているようですが、健康食品に明確な定義はありません。しかし、医薬品は、治療効果などを期待して使用するものですから、その効能・効果をうたえるのに対して、食品はうたうことはできません。ですから、食品なのに、治療効果を期待できるような表記をしてある食品には過剰な期待は禁物であるとともに、その使用にあたってはちょっと立ち止まって考えることが大切です。

2. 保健機能食品

健康食品のブームを受けて、厚生労働省は、2001年4月から、栄養機能食品、特定保健用食品について、健康の維持、疾病の予防のために役立ててもらうことを目的として、これら二つを保健機能食品という新たなカテゴリーが設けるとともに、これらの商品についてアドバイスできるスタッフの養成について積極的に働きかけています。

最近、テレビのCMなどで「血圧が高めの方にお勧め・・・」「血糖値が高めの方に・・・」といった商品の紹介を耳にするのではないのでしょうか。このような特定保健用食品はやはりその使用にあたっては、注意が必要です。

「おくすり」なんでも相談

おくすりを安心してのめるように

7月18日(金)16:30~19:30

グリーンホール相模大野 3階ロビー特設会場

堀 美智子(医薬情報研究所/(株)エス・アイ・シー)

渡辺 睦子(神奈川県女性薬剤師会)

1. 「おくすり」相談のブース

日頃、「おくすり」のことで気になっている服薬・使用に対する不安、疑問等を神奈川県女性薬剤師会の薬剤師が分りやすく説明します。

「おくすり」で気になること、なんでも相談にのります

薬剤師が「おくすり」をお調べします

- * 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
- * おくすりなんでも相談コーナー

2. 健康機器及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とおして、現在の健康状態を把握しましょう。

<健康度チェックコーナー>

- * 血圧測定
- * 血球粘稠度測定

パネルディスカッション

PD-1 内分泌攪乱化学物質の試験法スキーム

菅野 純
国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

ホルモン活性を有する化学物質 (Hormonally active chemicals, HACs) が存在することは周知の事実であり、HACs の一義的作用はホルモン受容体に結合し作用を発揮することであると考えられる。これに対して内分泌かく乱化学物質 (Endocrine disrupting chemicals, EDCs) は、HACs の内で生体に有害作用を及ぼすもの、即ち受容体原性毒性を発揮するものということが出来る。ホルモン作用の強弱や有無を検討するスクリーニング試験の設定は可能であるが、他方、有害性を検討する試験法 (詳細試験) には受容体原性毒性を見極める性能が要求される。

暫定的に従来の多世代生殖試験に代表される大型試験、或いはその改良が考慮されるが、その実施には多大な費用と時間がかかるため多数の物質についての逐次実施は困難であると考えられている。また、受容体原性毒性を見極める性能を有する試験法は、少なくとも、その初期段階では経世代試験と同等の規模と時間を必要とすることが想定されているため、厚生労働省では、内分泌かく乱性を検討する必要がある数万種の化合物について、ホルモン活性に焦点を置いたスクリーニング手法の開発と確立を進め、もって、詳細試験に資する優先順位リストの作成と組み合わせることとした。

スクリーニング対象となる化合物が、既存化学物質を含めて数万種類以上存在することから、「受容体分子への結合性」を検討するスクリーニング試験法に、*in silico* による3次元構造活性相関 (SAR) 手法を採用した。また、「ホルモン受容体依存性蛋白合成誘導」を検討するスクリーニング試験法には、ヒト由来培養細胞を用いたレポーター遺伝子試験法を採用した。*in vivo* スクリーニング系には、エストロゲン様物質に関する子宮肥大試験 (Uterotrophic assay)、アンドロゲン様物質に関するハーシュバガー試験を採用した。これらの物質のホルモン活性の評価は、新たな科学的知見や、或いは将来的な手法の増強により、変動することが科学的に十分予想されるとの立場から、スクリーニング段階では化学物質の優先順位リストを提供するのみとし、その順位は逐次再評価の上、入れ替えを行い、その上位のものから詳細試験に供するというスキームである。新しい情報や試験結果により、時間とともにリストの内部構造が成熟して行く事となる。詳細試験に関しては、従来多世代繁殖毒性試験の限界を認識し、「蓄積型一生涯試験」なる概念を提唱し、また従前の肉眼・組織形態所見の他、遺伝子発現情報を駆使する手法も取り入れる試みを含むところの試験法開発を進めている。

PD-2 未熟期にあるラットを用いた化学物質の卵巣毒性評価

代田 眞理子^{1,2}, 代田 欣二²

¹(財)食品薬品安全センター 秦野研究所, ²麻布大学 生物科学総合研究所

卵巣は生殖器官であると同時に種々のホルモンや成長因子、ホルモン結合タンパク質を分泌する内分泌器官でもある。従って、化学物質の卵巣毒性評価は内分泌攪乱性評価においても重要な検索項目であるといえる。従来、卵巣毒性は、春機発動直前あるいは性成熟に到達した動物を用いて、膣開口時期、性周期の回帰状態、卵巣および子宮重量あるいは卵巣における病変の有無などをエンドポイントとして評価されることが多く、哺育下にある未熟な動物を用いて行われることは少ない。しかし、ラットやマウスでは、卵巣における卵胞の形成は出生後に始まり、春機発動に向けて発育が連続的に進行するので、出生前あるいは出生後に化学物質曝露を受けた動物について、こうした時期に日齢を追って卵巣を調べることで、化学物質曝露が卵胞発育に及ぼす影響を初期の発育段階から順を追って検討することが可能になる。

我々は、busulfan や 3, '3, 4, '4, 5-pentachlorobiphenyl (PCB-126)などの化学物質による出生前あるいは出生後における曝露が春機発動に向けて発育する卵胞に及ぼす影響について、新生児期から春機発動前までの未熟ラットを用いて調べている。これまでの研究において、busulfan の出生前曝露によって卵巣に形成される原始卵胞の数を減少させると、性成熟後の早い時期に卵巣が消失してしまうが、そのような用量でも春機発動には影響を及ぼさないことを明らかにした (Shirota et al., 2003)。一方、PCB-126 による出生前および出生後曝露は初回排卵における排卵数を減少させることを明らかにした (Shirota et al., 2000)。これらの研究では、生後 5-7、13-15 および 24-26 日に卵巣を採取してその卵巣に発育する卵胞を発育段階毎に計数するとともに、各発育段階の卵胞で転写される遺伝子の mRNA を定量した。本パネルディスカッションでは、春機発動に及ぼす影響の異なるこれら二つの化学物質をモデルとして、それらの曝露を受けた卵巣における卵胞数と遺伝子発現量との間に認められる関連性を示すとともに、卵巣毒性評価において未熟期にある卵巣を検索する意義について議論したい。

“Assays, methodologies and risk assessment for endocrine disruptors in relation to product development” Assessment of Ovarian Toxicity of Chemicals in Infantile Rats

Mariko Shirota^{1,2} and Kinji Shirota²

¹Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

²Research Institute of Biosciences, Azabu University

Ovarian follicles are not only cradles of female gametes but are also endocrine tissues from which various hormones, growth factors and hormone binding peptides are secreted. As a result, the importance of ovarian toxicity assessment has been recognized in the risk assessment of endocrine disruptors. The ovarian toxicity assessments have not been conducted using infantile animals but have been conducted using post-pubertal animals. The ovary in the infantile rats, however, is not a dormant organ and is characterized by continuous growth of the follicles towards puberty. Therefore, analysis of infantile ovaries allows evaluation of the stepwise development of follicles from the beginning. We have studied the effects of prenatal or postnatal exposure to chemicals, such as busulfan and 3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB-126), on follicular development towards puberty in rats. We have shown that prenatal treatment with busulfan did not affect puberty at doses that exhaust ovaries shortly after puberty (Shirota et al., 2003), whereas prenatal and postnatal exposure to PCB-126 reduced the number of oocytes shed at the first ovulation (Shirota et al., 2000). In these studies, we dissected ovaries on postnatal days 5-7, 13-15 and 24-26 in order to evaluate the number of follicles and the quantity of mRNA for several factors transcribed in various developmental stages of the follicles. In this panel discussion, the relationship between the number of follicles and the quantity of mRNA determined in these studies will be shown, and the significance of examining infantile ovaries in the assessment of ovarian toxicity will be discussed.

PD-3 内分泌毒性試験と製品開発

John Ashby

Syngenta CTL Alderley Park, Cheshire, UK

製品開発と国際登録のプロセスは、化学物質が内分泌毒性を起こす可能性の懸念が近年出現したことにより、非常に複雑化してきた。大部分の主要な製品では、催奇形性、生殖及び多世代試験のような広範囲の発生試験を通常的に行い、このような懸念を歴史的に解決してきた。現在、これらの試験では内分泌毒性の全てを検出するには不十分であろうという意見が出ている。これにより、*in vitro* 及び *in vivo* で内分泌関連毒性を調べる数多くの短期試験が開発されてきた。加えて複雑なことに、科学的基礎研究が急速に進み、新試験法の改良が初期の試験法の遺伝子発現試験アナログになりうる。このようにして我々は、20年前、齧歯類での一般的な発癌性試験後、非発癌性とされた薬物に、場合によっては発癌性スクリーニング試験が要求されたような状況に近づいている。本発表で我々は、確立された内分泌毒性試験と新開発の試験が、安全性評価への総合的解決手段として使用されうる方法を提唱する。

Endocrine toxicity testing and product development.

John Ashby

Syngenta Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Cheshire, UK

The process of product development and international registration has been severely complicated by the recent advent of concerns regarding the potential of chemicals to cause endocrine toxicity. For most major products such concerns have historically been answered by the routine conduct of a range of developmental assays, such as for teratogenesis, reproduction and multigenerational effects. It is now implied by some that these assays may be insufficient to detect all forms of endocrine toxicity. This has led to the development of an increasing array of short-term assays for endocrine-related toxicities, conducted both *in vitro* and *in vivo*. Adding to this complexity is the fact that the science base is developing rapidly, thereby enabling refinement of the new assays into gene expression analogues of the original assay. We are thus approaching the situation encountered 20 years ago when one was sometimes requested to conduct carcinogenicity screening tests on agents defined as being non-carcinogenic following their routine assessment for carcinogenicity in rodents. The presentation will suggest ways in which established and newly-developed endocrine toxicity assays can be used in an holistic approach to safety assessment.

Richard Lewis

Syngenta CTL, Alderley Park, Cheshire, UK

試験法のバリデーションはその方法の信頼性と妥当性の評価の記述と云える。信頼性とは長期間にわたり異なった研究者に使われるとき、再現性のある結果を与える試験法の能力である。妥当性はその方法が目的とするエンドポイントの変化を予測することが可能なデータを提供できることを保証することである。内分泌毒性の分野では、正常な内分泌調節の機能的変調結果を評価するために使われる標準的方法が、より敏感あるいはより予測的な試験で補足されるようになってきた。この分野では、標準方法あるいは補足的方法を問わず、正式なバリデーションが行われた方法が無いことは事実である。しかし、生殖性、多世代および子宮内発育試験のような既存試験法は、結果の解釈に多年の経験があるという長所を持ち、これら試験法は広範な使用によりバリデートされたと考えられる。この点は、使用中又は開発中の補足試験では充分ではない。本講演では、バリデーションの概念を紹介し、製品開発の目的に使用するのに適すると考えられるまでの試験法のバリデーション計画を提案する。

Validation of potential tests for detecting endocrine toxicity in product development.

Richard Lewis

Syngenta Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Cheshire, UK

Test validation can be described as an assessment of the reliability and relevance of a method. Reliability describes the ability of the test to provide reproducible results over time and when used by different investigators. Relevance ensures that the method is able to provide data that can be used to predict changes in the endpoint of concern. In the area of endocrine toxicity, the standard methods used to assess the functional outcome of a modulation of normal endocrine control are increasingly being supplemented by assays that are claimed to be more sensitive or predictive. It is true to say that no test methods in this area, either standard or supplementary, have ever been subjected to formal validation. However with the existing tests such as the fertility, multigeneration and in utero developmental assays, investigators have the advantage of many years of experience in interpreting the outcome and the tests may be considered as validated by their extensive use. This is not the situation for any of the plethora of supplementary studies in use or under development. This talk will introduce the concept of validation and propose schemes for the validation of tests before they may be considered fit for purpose for use in product development.

－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などご協力をお願いします
2. 喫煙される方
会場外の所定の場所で嗜好して下さい
3. ビデオ・カメラの撮影はお断りします
報道・専門カメラマンが行います

次回年会のお知らせ

第31回 日本トキシコロジー学会学術年会

年会長：玄番宗一(大阪薬科大学教授)

年会事務局 TEL/FAX：072-690-1053 (河合)

会 期：2004年7月6日, 7日, 8日

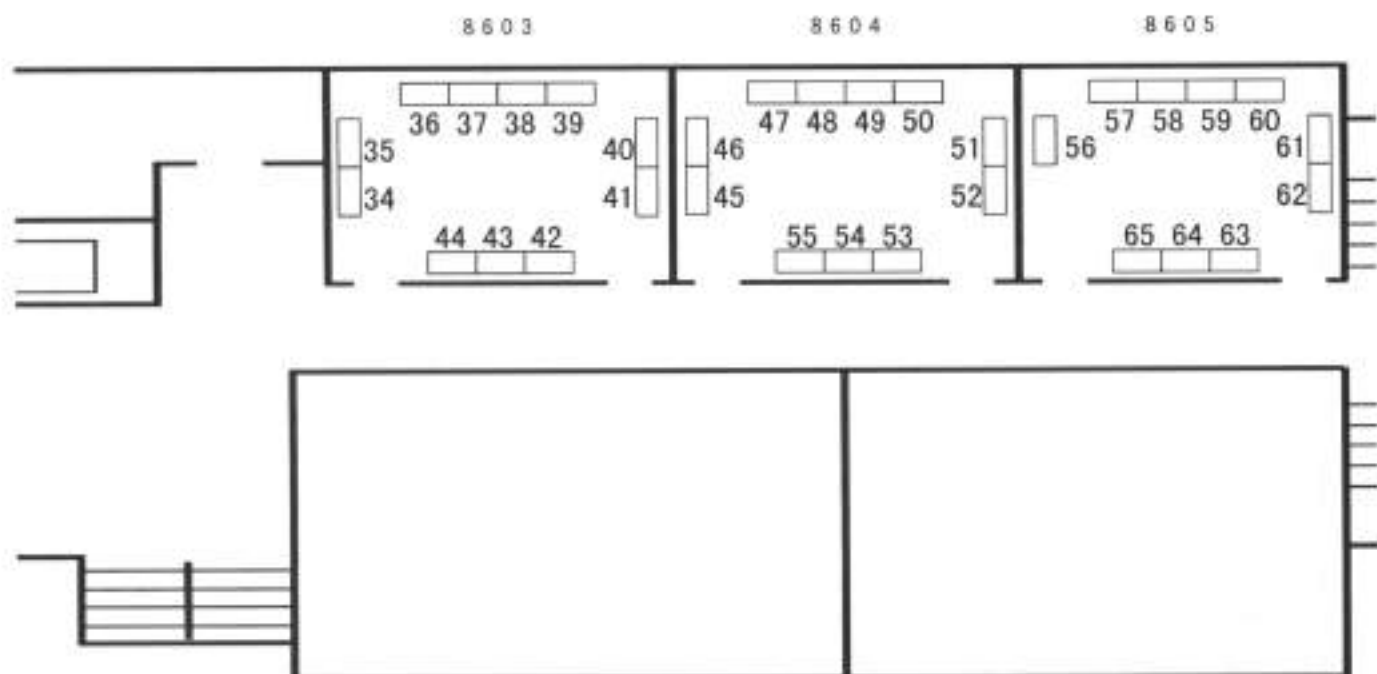
会 場：大阪国際会議場

第30回日本トキシコロジー学会学術年会 展示会 出展団体一覧

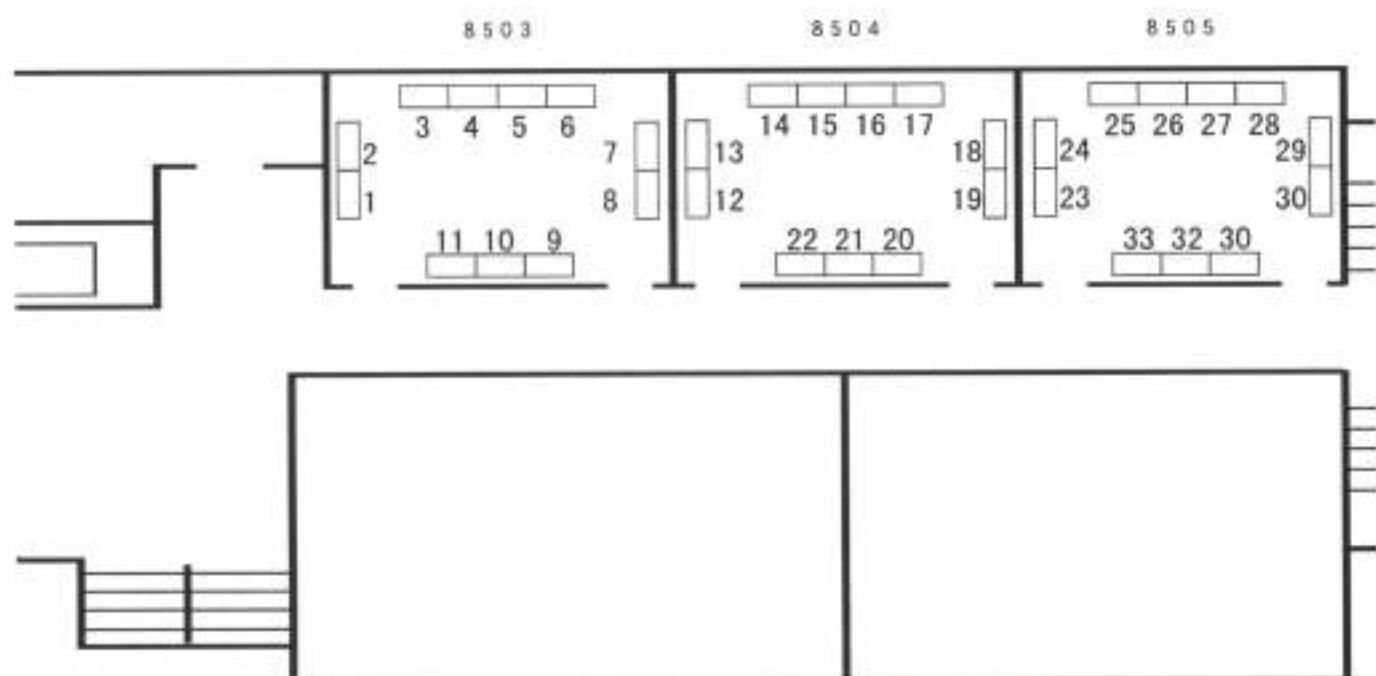
- | | |
|------------------------------|---|
| 1,2 (株)新日本科学 | 38 日本チャールス・リバー(株) |
| 3,4 MPI Research, Inc. | 39 (株)CR-アイティアス |
| 5,6 (株)三菱化学安全科学研究所 | 40,41 (株)大雄会医科学研究所 |
| 7,8 (株)パナファームラボラトリーズ | 42 (株)東レリサーチセンター |
| 9 (株)エイチ・アンド・ティー | 43,44 Inveresk Research |
| 10 TNO Pharma | 45 Phase-1 Molecular Toxicology, Inc. |
| 11 (財)食品農医薬品安全性評価センター | 46 International Life Sciences Institute |
| 12,13 ハンティンドンライフサイエンス(株) | 47 NOTOX Safety & Environmental Research B.V. |
| 14,15 プライムテック(株) | 48 三木産業(株) |
| 16,17 ビアコア(株) | 49 Experimental Pathology Laboratories, Inc. |
| 18,19 横河アナリティカルシステムズ(株) | 50 サイファージェン・バイオシステムズ(株) |
| 20,21 (株)富士バイオメディックス | 51 コーヴァンスインク日本支社 |
| 22 フクダエム・イー工業(株) | 52 (株)組織科学研究所 |
| 23 ディスカバリー・バイオテクノロジーズ(株) | 53 クインタイルズ |
| 24 シスメックス(株) | 54 日本エスエルシー(株) |
| 25 (株)環境バイリス研究所 | 55 Syngenta CTL |
| 26 大日本製薬(株) | 56 ユニーテック(株) |
| 27 (株)日本バイオリサーチセンター | 57 日本クレア(株) |
| 28 ハムリー(株) | 58 (株)富士通九州エンジニアリング |
| 29,30 日本農産工業(株) | 59 (株)杉山元医理器 |
| 31,32 RCC Ltd | 60 日立ソフトウェアエンジニアリング(株) |
| 33 (株)イナリサーチ | 61,62 Fraunhofer |
| 34,35 CTBR Bio-Research Inc. | 63,64,65 セーフファーム・ラボラトリーズ・リミテッド |
| 36,37 (株)ポゾリサーチセンター | |

展示会場（麻布大学 8号館）

6階



5階



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
国名	日本
TEL	03-3454-7571 FAX 03-3454-7573
e-mail	ankaken@ankaken.co.jp
URL	www/ankaken.co.jp/
会社概要	医薬品、農薬、各種化学物質に関し、各種安全性、薬理、薬物動態試験を受託しております。安全性薬理については、昨年末に医薬品調査機構の査察を受け、高い評価を受けております。免疫毒性については、安全性および薬理試験の経験を生かし、受託の体制を整えております。遺伝毒性については、各種GLP試験の他に、非GLPの簡易Ames、染色体および小核試験 (in vivo, in vitro) の受託も行っております。DNAチップの受託解析サービスも行っております。その他、お客様の幅広いニーズに合わせた各種検討試験等も受託しております。
展示概要	安全性試験、薬理試験、代謝試験に関する資料

会社名	株式会社パナファーム・ラボラトリーズ
英名	Panapharm Laboratories Co.,Ltd.
所在地	〒869-0425 熊本県宇土市栗崎町1285番地
国名	日本
TEL	0964-23-2299 FAX 0964-23-2977
e-mail	kumamoto@panapharm.co.jp
URL	http://www.panapharm.co.jp/
会社概要	当社は、1985年に設立し、1986年より安全性試験の受託を開始、その後順次、安全性薬理試験、薬効薬理試験、薬物動態試験、生化学試験等の受託試験の業務拡大を計ってきた総合非臨床試験受託機関である、また、医薬品を中心に、化学物質、農薬、食品など幅広い分野で試験を受託しており、医薬品GLP、化審法GLP及び農薬GLPの調査、査察を受け、GLP適合の評価を頂いている。 施設的にも、約115,000㎡の敷地に、安全性研究所、代謝薬理研究所、生化学研究所、トランスジェニック研究棟等、延べ床面積約13,000㎡を有する国内有数の受託研究機関である。
展示概要	安全性試験、安全性薬理試験を中心に会社パンフレット、資料等を展示する。

会社名	MPI Research, Inc.
英名	MPI Research, Inc.
所在地	54943 North Main Street, Mattawan, Michigan 49071 USA (日本事務所：東京都千代田区神田錦町3-20 錦町安田ビル6F)
TEL	+1-269-668-3336 (03-3518-0171) FAX +1-269-668-4151 (03-3518-0178)
e-mail	marketing@mipresearch.com (yhasegawa@oggi-co.com)
URL	http://www.mpiresearch.com
会社概要	MPI Researchは、国際的に認知された毒性試験受託機関で、安全で健康維持に役立つ製品の供給をめざす医薬品・農薬・動物医薬品・一般化学品・医療用具製造会社および政府機関などのお客様のご要望に応えるべく、GLP準拠の高品質な非臨床試験を提供しています。高度の技術を持ち経験豊かなスタッフが、一般毒性・吸入・安全性薬理・神経毒性・PK/TK・ADME・生殖発生毒性・薬効・分析化学・免疫毒性等の試験を実施しています。MPI Researchには250室に及ぶ飼育室があり、迅速に様々な試験に対応可能です。
展示概要	会社概要、安全性試験・薬理試験・免疫毒性試験・神経毒性試験等の技術資料

会社名	ティーエヌオーファーマ
英名	TNO Pharma
所在地	Utrechtseweg 48, P.O. BOX 360, 3700 AJ Zeist, The Netherlands
国名	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	pharma@tno.co.jp
URL	http://www.pharma.tno.co.jp
会社概要	1932年オランダで設立された医薬品研究開発の業務受託機関。約700名の専任技術者が安全性薬理試験、毒性試験、薬物動態・代謝試験、分析サービス、バイオテクノロジー、ドラッグデリバリー等の研究開発サービスに携わっています。オランダ国内の臨床試験施設とのリンクも充実しており、前臨床開発からP-I、P-II臨床試験までのフルサポートを行っています。特化分野：免疫毒性、生殖毒性、神経毒性、光毒性。
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	財団法人 食品農医薬品安全性評価センター
英名	BIOSAFETY RESEARCH CENTER FOODS, DRUGS AND PESTICIDES (An-Pyo Center)
所在地	〒 437-1213 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 5 8 2 - 2
国名	日本
TEL	0538-58-1266 FAX 0538-59-1170
e-mail	fvbm3972@mb.infoweb.nc.jp
URL	http://www.anpyo.or.jp
会社概要	従業員185名、G L P区域床面積11,351㎡の総合受託機関。昭和53年に厚生労働省および農林水産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、最近では薬理・薬効試験にも力を入れている。
展示概要	リーフレット、研究所報、広報誌等のセンター発行の出版物。

会社名	ハンティンドン ライフサイエンス リミテッド
英名	Huntingdon Life Sciences Limited
所在地	Woolley Road, Alconbury, Huntingdon, Cambridgeshire PE28 4HS, England (日本事務所：東京都千代田区五番町1 2 番地1 番町会館)
国名	英国
TEL	+44 (0) 1480 892000 FAX +44 (0) 1480 892205 (日本事務所：TEL 03-3238-6381 FAX 03-3238-6388)
e-mail	sales@tokyo.huntingdon.com (日本語可)
URL	www.huntingdon.com
会社概要	ハンティンドンライフサイエンスは英国に2つの研究施設を有し約1,100名の職員が、医薬品、農薬、工業化学品、食品等についての各種試験に従事しています。50年におよぶ経験と実績、豊富な背景データに基づく信頼性の高い試験を提供致します。また、米国ではグループ会社のハンティンドン ライフサイエンスインクの研究施設(約250名)でも各種試験を実施しています。
展示概要	各種毒性試験・分析代謝試験等のパンフレット、医薬品前臨床から臨床(Phase I-IIa)マネジメント、農薬の各国規制対応申請業務までのトータルパッケージ、工業化学品の毒性試験・申請業務等についての資料を展示致します。

会社名	ピアコア株式会社
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
国名	日本
TEL	03-3459-1083 FAX 03-3459-1085
e-mail	support@biacore.co.jp
URL	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パ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	横河アナリティカルシステムズ株式会社
英名	Yokogawa Analytical Systems
所在地	東京都八王子市高倉町9-1
国名	日本
TEL	1200-477-111 FAX
e-mail	kiyoshi_fukumori@agilent.com
URL	www.agilent.co.jp/chem/yan
会社概要	長年培ってきた化学分析の技術やノウハウをベースにライフサイエンス分野へのビジネスを展開。ラボチップ技術を応用した Agilent2100 バイオアナライザ、そして、DNA マイクロアレイ製品など、新しい分野でのソリューションの提供を目指しています。
展示概要	Agilent2100 バイオアナライザ DNA マイクロアレイ

会社名	株式会社富士バイオメディックス
英名	Fuji Biomedix Co.Ltd.
所在地	[本社] 〒365-0039 埼玉県鴻巣市東一丁目1番25号 [研究所] 〒408-0044 山梨県北巨摩郡小淵沢町10221
国名	日本
TEL	[本社] 048-543-3411 [東京事務所/営業本部] 03-3541-2448 [研究所] 0551-36-2455
FAX	048-543-3722 03-3541-2073 0551-35-3895
e-mail	info@fbm.co.jp URL http://www.fbm.co.jp
会社概要	非臨床試験部門の小淵沢総合研究所では、医薬品等の毒性試験のほか、安全性薬理試験への積極的な対応を進めており、医薬品機構GLP調査では安全性薬理コアバッテリー試験を含め「A評価」を取得。さらに、「山梨臨床薬理研究所(杉山 篤 所長)」との業務提携による詳細なQT延長評価を実施し、今秋にはHERG導入細胞のIKr電流測定試験の受託開始等、充実した受託体制を整えています。本年よりLC/MS/MS(API4000)を導入し、非臨床試験でのTKやPK、臨床試験での血中薬物濃度測定を実施。さらに、ヒト腎トランスポーター遺伝子を用いた薬物動態予測試験などの研究も積極的に展開しております。
展示概要	主に安全性薬理試験への取り組み状況をお知らせします。最も得意とする心血管系試験などについては背景データ等を含め紹介致します。

会社名	フクダ エム・イー工業株式会社
英名	FUKUDA M・E KOGYO CO., LTD.
所在地	千葉県流山市南流山6-26-8
国名	日本
TEL	04-7158-9020 FAX 04-7158-9028
e-mail	support@fukuda-me.co.jp
URL	http://www.fukuda-me.co.jp/
会社概要	当社は循環器診断機器を中心に、最新のコンピューター技術による動物用心電計を始め、動物用ホルター心電図自動解析装置、動物用非観血血圧計・動物用生体情報モニタなど広く国内外へ販売しております。 また、非臨床試験用循環器製品は製薬会社や各種研究所で取扱われており、医薬品研究においても幅広いユーザーに高い評価と信頼を頂いております。
展示概要	非臨床用循環器製品（実験動物用心電計、ホルター心電図自動解析装置など）

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	東京都中央区日本橋本町3丁目7-1 シオノギ本町共同ビル
国名	日本
TEL	03-5645-2613 FAX 03-5614-6309
e-mail	support@discoverybio.co.jp
URL	http://www.discoverybio.co.jp
会社概要	マイクロアレイテクノロジーのトータルソリューションパートナーとして、cDNA・合成オリゴDNAを使用したマイクロアレイの作製から、作製したアレイを用いた遺伝子発現解析試験の受託サービスを承ります。「SilicoCyte (シリコサイト)」等の遺伝子発現解析システムやアレイ関連試薬、各種アレイスキャナーもご相談下さい。
展示概要	薬物代謝、毒性作用の分子レベルでの研究に適した「ラットADMEアレイ」および発現解析・データベース解析ソフト「SilicoCyte (シリコサイト)」、データマイニングツール「Spotfire 社 DecisionSite with Functional Genomics」他

会社名	大日本製薬株式会社
英名	DAINIPPON PHARMACEUTICAL CO.,LTD
所在地	〒564-0053 大阪府吹田市江の木町33番94号（ラボラトリープロダクツ部）
国名	日本国
TEL	06-6386-2164 FAX 06-6337-1606（ラボラトリープロダクツ部代表）
e-mail	labopro@dainippon-pharm.co.jp
URL	http://www.dainippon-pharm.co.jp/labopro/（以上 e-mail 及び URL はラボラトリープロダクツ部代表）
会社概要	当社は医療用医薬品事業のほか5つの事業を展開しており、そのうち1974年に開始したラボラトリープロダクツ事業は研究用試薬・機器、診断用医薬品の販売を中心としております。研究用試薬としては染色体異常試験用細胞株CHL/IUのほか、種々の細胞株、組織染色用抗体を扱っております。
展示概要	当社はThermoLabsystems社製研究用試薬「Vitotox」および発光測定装置「ルミノスキャンアセント」を展示致します。「Vitotox」は微生物変異原性のスクリーニング試験用試薬で、結果を「ルミノスキャンアセント」で測定、専用のソフトウェアで解析することで、多数の化学物質の変異原性を少量、短時間で試験することが可能となりました。測定方法の詳細、測定例等展示会にてご説明申し上げます。

会社名	株式会社日本バイオリサーチセンター
英名	Nihon Bioresearch Inc.
所在地	岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地
国名	日本
TEL	058-392-6222 FAX 058-392-2432
e-mail	k-kato@nbr.co.jp
URL	http://www.nbr.co.jp
会社概要	私共は、提案型・開発型コントラクトラボとして、医薬品、医薬部外品、食品、食品添加物、化学物質等の薬効薬理試験および安全性試験の受託を行っています。
展示概要	ミニプタ試験の特集として、ミニプタを用いた安全性試験を紹介します。 また、学会発表でもミニプタを用いた貼付剤を主とした外用剤の皮膚刺激性をウサギ、モルモットと比較した結果を報告します。

会社名	ハムリー株式会社
英名	HAMRI Co., Ltd.
所在地	〒110-0005 東京都台東区上野7-6-5 上野KYビル 6階
国名	日本
TEL	03-5828-9076 FAX 03-5828-4476
e-mail	ib@hamri.co.jp
会社概要	ハムリー(株)は1981年に設立され、サル類の販売、受託試験を中心に行ってきました。2002年に韓国安全性評価研究所(KIT)の日本総代理店となり、GLP準拠の毒性試験受託を可能としました。 KITは医薬、農薬および化学物質が人間と環境に及ぼす影響をin vivoおよびin vitro実験を通じて評価しております。マウス・ラットからイヌ・サル類を用いた毒性試験、発ガン性試験、生殖毒性試験、安全性薬理試験等の一般毒性試験、環境毒性試験、薬効薬理試験の全分野の試験をおこないます。 2000年にAAALACの認定も受けており、動物福祉に考慮した試験計画を組んでおります。
展示概要	KITの概要をパワーポイントで、また、毒性試験の基礎データの一部を展示します。

会社名	RCC Ltd
英名	RCC Ltd
所在地	代理店：日本シイベルヘグナー、 〒108-8360 東京都港区三田3-4-19 シイベルヘグナー三田ビルディング
国名	スイス
TEL	+41 61 975 11 11 FAX +41 61 971 52 84
e-mail	ullmann.ludwig@rcc.ch URL www.rcc.ch
会社概要	スイス パーゼル郊外に位置するItingenに本拠地を置き、約700人規模で、医薬・農薬・工業化成品・食品添加剤・食品包装材・医療用器具などの分野における各種試験、申請登録業務の受託、コンサルティングならびに官庁交渉などのサービスを提供する総合非臨床受託試験機関である。 特に医薬品開発に関わる各種毒性・安全性薬理試験・ADME試験および分析サービスなどは会社全体の60%以上を占める。その中でも吸入試験においては先駆者的存在として独自の技術を有し、高い信頼を得ている。変異原性・細胞毒性などin vitro試験設備は世界有数の技術・規模を誇り、欧州当局からのin vitroによる代替試験の確立などの依頼を多く受けている。各種実験動物ブリーディングを独自で行い、更に、トランスジェニック技術においても注目度は高い。また、卓越した分析能力が評価され、世界各国の臨床試験CROからの生化学分析の委託を数多く受けている。日本総代理店の日本シイベルヘグナー社の医薬・化学・食品関連の市場知識・被検物質合成のノウハウなどと併せ、トータルコーディネートが可能であることが最大の強みである。
展示概要	カタログ類、専用の展示パネル(組み立て式キット)

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 2148 番地 188
 TEL 0265-72-6616 FAX 0265-72-6657
 e-mail tokyo@ina-research.co.jp osaka@ina-research.co.jp
 URL http://ina-research.co.jp/
 会社概要 当社は、1974年設立の各種GLPに適合した非臨床試験受託研究機関で、医薬品、農薬、化学物質などの安全性試験や各種薬理試験を中心に受託しており、中でも幼若動物試験、長時間infusion試験、依存性試験、さらには骨粗鬆症や腎炎などのモデル動物による薬効評価試験等を得意分野としています。特に、サルを用いる試験については、本社研究施設のハード及びソフトをより充実させるとともに、1995年よりフィリピンに現地法人(INARP)を設立させ、サルの繁殖・育成から試験実施まで一貫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 当社の会社紹介及び受託業務案内各種試験営業リーフレットの配布特に、得意分野を中心にご案内する資料類を取り揃えて展示いたします。

会社名 CTBR バイオリサーチ インク
 英名 CTBR Bio-Research Inc.
 所在地 87 Senneville Road, Senneville, Quebec, Canada H9X 3R3
 国名 カナダ
 TEL 514-630-8200 FAX 514-630-8230
 e-mail japanmarketing@ctbr.com
 URL www.ctbr.com
 会社概要 CTBR (A Member of the Inveresk Research Group) は、前臨床科学分野において、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、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。年間1500件以上ものGLP準拠前臨床試験を手掛け、報告書期限内提出成績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 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3-6-7
 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。今年4月、御殿場研究所敷地内に第3研究棟が竣工。主にがん原性試験施設として、総床面積約5,000㎡・飼育室50室を有し、9月稼働の予定です。また、ボゾグループのITR Laboratories(カナダ)ではインハレーション試験を開始し実績を積んでいます。
 展示概要 安全性試験、試験施設、特殊技術等のパネル展示並びに資料

会社名	日本チャールス・リバー株式会社
英名	Charles River Japan, Inc.
所在地	〒222-0033 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)
国名	日本
TEL	045-474-9336 FAX 045-474-9341
e-mail	crj-sd@yokohama.email.nc.jp
URL	http://www.crj.co.jp
会社概要	日本チャールス・リバー(株)は、先進7カ国をはじめ全世界11カ国22施設を設ける世界最大の実験動物ブリーダーのチャールス・リバーグループの一員です。創業時の基本理念「科学の知識に基づいた実験動物の生産・供給」をもとに、国際性を尊重した体制で歩んでおります。チャールス・リバーの生産動物は世界で最も多くの科学者に採用されています。最近では更に活動分野を安全性の受託試験や <i>in vitro</i> の試薬供給にまで、広げ多用なお客様の要請に全力で応えている企業です。
展示概要	バリアーシステムによるSPF/VAF実験動物の飼育・販売、各種実験動物の輸入、ヒト及び動物肝細胞/マイクロゾーム試薬の販売、毒性予測ソフトの販売

会社名	株式会社CR-アイティアス
英名	CR-Itias Inc. (Charles River group)
所在地	〒170-0013 東京都豊島区東池袋1-48-10 25山京ビル727
国名	
TEL	03-3980-6566 FAX 03-3980-1195
e-mail	itias@gol.com
URL	http://www.criver.com
会社概要	当社は、米国の前臨床試験施設Charles River Laboratories DDS (Discovery & Development Services)の日本の受託窓口業務を担っております。Charles River Laboratories DDSはそれぞれが専門性を持つ6試験施設(Worcester, Sierra, Argus, Redfield, Springborn, Pathology Associate)で医薬、化学品/農薬、医療機器等の開発に係わる研究及び前臨床試験の受託をしております。
展示概要	施設案内、パンフレット各種

会社名	株式会社 大雄会医科学研究所
英名	Daiyu-kai Institute of Medical Science
所在地	愛知県一宮市浅井町西浅井郷裏64
国名	日本
TEL	0586-51-1201 FAX 0586-51-5634
e-mail	query@daiyu-kai.com
URL	http://www.daiyu-kai.com/
会社概要	大雄会医科学研究所は、厚生労働省、農林水産省はもとより、諸外国のGLP規定およびガイドラインに基づく厳密な安全性評価試験を行っており、幅広い学識と豊富な経験をもつスタッフが動物実験と病理組織学的検査を担当しています。名古屋市立大学との共同研究で開発した中期発がん性試験は、短期間に化学物質の発がん性の程度とその有無を予測することが可能であり、膨大なデータから国際的に高い評価を得ており、ICH-IVでがん原性試験の代替法の1つとして推奨されています。また、発がん抑制物質の検索のほか、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。
展示概要	パネル展示 中期肝発がん性試験法 自然転移モデル 中期多臓器発がん性試験法 トキシコゲノミクス

会社名	株式会社東レリサーチセンター
英名	Toray Research Center, Inc.
所在地	〒103-0022 東京都中央区日本橋室町3-1-8 都ビル5階
国名	日本
TEL	03-3245-5666 FAX 03-3245-5804
e-mail	trchome@trc.toray.co.jp
URL	http://www.toray-research.co.jp
会社概要	近年の医薬品開発においては、創薬の初期段階から薬物動態を考慮して候補化合物を創出していく戦略が一般的になっています。また微量で高い薬効を示す化合物が候補となるため、超微量分析手法により、 <i>in vivo</i> の薬物動態研究を迅速かつ正確に把握することが必須となっています。弊社ではお客様のご要望にお応えできるよう、最新の分析機器(LCMS/MS、高性能HPLC)を取り揃え、化合物の超微量分析法の確立、分析法バリデーション、および毒性試験や臨床試験で得られた分析試料のTK・PK測定ならびに薬物動態の解析を受託しております。お客様のお役に立てるよう、長年の微量分析技術の経験を活かし、迅速かつ高品質なデータの取得をお約束します。
展示概要	1. TRCの医薬品研究開発支援 2. 薬物動態分析施設のご紹介 3. メタボノミクス-NMRを用いた新しい毒性学への応用 4. LCMS/MSによる生体試料薬物微量分析

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
国名	United Kingdom
	東京都江東区南砂5-7-7 (代理店: 株式会社ACRONET)
TEL	+44-1875-614545 FAX +44-1875-614555
e-mail	info@inveresk.com
URL	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おりますので、皆様の委託試験について東京の日本代理店と共にいつでもご相談に応じます。非臨床から臨床まで、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。
展示概要	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。 会社案内パンフレット、ポスター

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
国名	米国
TEL	+1-505-424-2108 FAX +1-505-471-8205
URL	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 東京都中央区日本橋3-13-5 日本橋313ビル
e-mail	ueda-k@daiichichem.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(PMT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ことにより、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、臨床試験に入る前で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。第一化学薬品はPMT社の日本における総代理店であり、医薬品開発のための評価ツールとして展開しております。
展示概要	会社概要紹介(カタログ)およびデータベース(TOXHunter™)デモ

会社名 英名	特定非営利活動法人日本国際生命科学協会 / 国際生命科学協会・環境保健科学研究所 International Life Sciences Institute of Japan (ILSI Japan) / ILSI Health and Environmental Sciences Institute (ILSI HESI)		
所在地	ILSI Japan : 東京都千代田区麹町2-6-7、麹町R・Kビル ILSI HESI : One Thomas Circle, N.W. Ninth Floor, Washington, D.C. 20005-5802 USA		
国名	ILSI Japan 日本国	ILSI HESI	米国
TEL	81-3-5215-3535		1-202-659-3306
FAX	81-3-5215-3537		1-202-659-3617
e-mail	ilsijapan@ilsijapan.org		hesi@ilsii.org
会社概要	医薬品、化学品や食品等の安全性、栄養、健康、環境に関わる諸問題について、国際的なネットワークと科学的な視点で取り組み、成果をワークショップやシンポジウム、出版物により公開し、国際的なコンセンサスを図りながら解明することを目的に、1978年に設立された国際的な非営利の科学団体。米国ワシントンに本部を置き、日本をはじめヨーロッパ、アジア、中国、ラテン諸国等に支部を持つ。ILSI HESIは、ILSIの国際支部として、ヒトの健康、トキシコロジー、リスクアセスメントおよび環境衛生の問題に対する科学の進歩を促進するための国際的なフォーラムを提供している。		
展示概要	本協会およびILSI HESIの概要を紹介するとともに、本学会に関連するトキシコロジー分野の諸活動の詳細を紹介する。 注：今回の出展は、ILSI Japan と ILSI HESI の二グループが参加します		

会社名 英名	NOTOX Safety & Environmental Research B.V. NOTOX Safety & Environmental Research B.V.		
所在地	Hambakenwetering 7 5203 DL 's-Hertogenbosch The Netherlands (日本事務所) 〒143-0023 東京都大田区山王1-5-11		
国名	オランダ		
TEL	+31 773 640 6700	(日本事務所) 03-3775-0739	
FAX	+31 73 640 6799	03-3775-0769	
e-mail	notox@notox.nl		notox@notox.jp
URL	http://www.notox.nl		http://www.notox.jp
会社概要	NOTOXは、独立した受託試験機関として1983年にオランダで設立され、現在、210名のスタッフを擁しています。医薬・農薬・化学工業の分野における安全性や環境の影響に関して各種試験の受託、申請登録及び今サルディング業務を通じて幅広く活動を行っております。		
展示概要	"microdosing program"とは、新薬開発のコストの軽減と期間の短縮を基に開発されたAMS(accelerator mass spectrometry)を応用したスクリーニングテストです。NOTOX(オランダ、前臨床毒性試験)、Pharma Bio Research(オランダ、 ¹⁴ C化合物のフォーミュレーション及び"Phase 0"の試験)、Xceleron(イギリス、AMSによる分析)の3者の連携により策定されています。 NOTOXでは、前臨床毒性試験のパッケージをご説明します。		

会社名 英名	三木産業株式会社 MIKI & CO., LTD.		
所在地	〒103-0027 東京都中央区日本橋3丁目15-5		
国名	日本		
TEL	03-3271-4162	FAX	03-3281-5366
e-mail	hitokabe@mikisangyo.co.jp		
URL	http://www.mikisangyo.co.jp		http://www.wilresearch.com
会社概要	三木産業(株)は化学品に特化した商社として新薬の原料・中間体について、製品開発のコーディネートを引き受け、ISO 14001を取得し時代の要請に応じております。安全性試験分野に於いては、非臨床試験、中堅ラボである米国WIL Research社の日本代理店として、得意な生殖・発生分野の試験を中心に創薬分野からの受託、また一般毒性分野は新規開発素材について、FOBを加味した試験評価を提案し環境・食品分野から多くのお問い合わせを頂き、より安全な新薬開発そして人や生態系に悪影響を与えない化学品の開発に邁進しております。		
展示概要	米国WIL Research社受託試験、ポスター		

会社名	Experimental Pathology Laboratories, Inc. (EPL [®] , Inc.)
所在地	P.O. Box 474 and 615 Davis Drive Herndon, VA 20172-0474 Keystone Park, Suite 500
国名	USA Durham, NC 27713
TEL	(703)471-7060 (919)998-9407
FAX	(703)471-8447 (919)998-9607
会社概要	Experimental Pathology Laboratories, Inc. (EPL [®]) provides support to pharmaceutical, agrochemical, chemical, government, and CRO clients. EPL [®] Pathology Services include the preparation and evaluation of mammalian and aquatic tissues, including gross, light, and electron microscopic examinations. Specialty services include immunohistochemistry, morphometry, pathology peer review, pathology working groups and regulatory consultation. Areas of expertise include ocular and neuropathology, medical device assessment and carcinogenicity evaluation. EPL [®] Toxicology Services provides a multidisciplinary approach to study support involving program planning, protocol design, monitoring, auditing, data interpretation, and study report validation.
展示概要	1. Table Top Display EListing of EPL [®] Services (English and Japanese) EPhotographs of Specialized Services 2. Company Literature/Specialized Service Handouts (English and Japanese)

会社名	サイファージェン・バイオシステムズ株式会社
英名	Ciphergen Biosystems K.K.
所在地	東京都港区芝大門2-2-1 1 泉芝大門ビル3F
国名	日本国
TEL	03-5777-6667 FAX 03-5777-6888
e-mail	ikushima@ciphergen.co.jp
URL	
会社概要	米国サイファージェンバイオシステムズの販売会社、昨年、横浜研究所を設立し、いっそうの顧客サービスの充実を図る。商品名プロテインチップシステムはその手法が米国及び日本で特許として認められており、タンパク質の発現プロファイリングの方法として独自のユニークな特徴を持っている。また、タンパク質の相互解析が行え、タンパク質修飾後の機能解析に今後の応用例の発展が期待されている。
展示概要	プロテインチップシステムの原理及び応用、特に臨床医学的興味深い応用例を中心に紹介する。

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
URL	http://www.covance.com
会社概要	昨年秋の北米施設に続き、今春英国の施設についても拡張工事が完了。収容能力が全体で30%アップしました。高品質なサルを常時輸入し、迅速にニーズにお応えしております。又、SPDでは、第一相試験施設との密なタイアップでスムーズなプログラム実施を可能にし、より多くの優れた剤をいち早く市場に送り出しております。農薬についても、欧州に特有のサービス拠点を集約し、日本からの多様なニーズに対応しております。生データをほぼリアルタイムで閲覧するStudy Trackerは、データ提供をDART, TKにまで広げ、より使い易くなりました。
展示概要	各サービスに関するパンフレット類の展示、毒性の専門家を英米の各施設から呼び、皆様のお越しをお待ちしております。

会社名	株式会社 組織科学研究所
英名	Histo Science Laboratory Co., Ltd.
所在地	〒198-0005 東京都青梅市黒沢2丁目984-1
国名	日本
TEL	0428-74-4741 FAX 0428-74-4505
e-mail	info@hslabo.co.jp URL http://www.hslabo.co.jp
会社概要	・省令及びGLP基準に基づいた安全性試験の病理標本作製 ・各種動物の病理組織標本作製 ・薬効薬理試験の病理組織標本作製及び評価 ・特殊染色標本作製 ・免疫染色標本作製 ・インプラント・アパタイト・人工関節・ステント等を含むサンプルの組織標本作製(樹脂包埋) ・組織マイクロアレイ法によるパラフィン切片作製 ・遺伝子改変動物の表現型解析(病理組織学的スクリーニング) ・臨床(動物)の病理組織標本作製及び評価 ・医学・歯学関係の学術研究用や学会発表用の病理組織標本作製 ・医薬品、医療機器医薬部外品等の申請までの開発支援業務
展示概要	開発支援事業部で行っている医薬品を中心としたCMCから前臨床試験(毒性、薬理、ADME)までの総合的サポート業務について紹介します。 ・外部委託試験の委託先調査・紹介 ・規格試験、安定性試験、毒性試験、薬理試験、薬物動態試験等のプロトコール立案 ・外部委託試験の試験モニター・試験概要資料の作成・申請資料の作成 ・開室の伴う各種コンサルテーション ・試験レポートのQCチェック ・再評価 ・市場調査 ・翻訳 ・試験モニター教育 ・技術者の派遣(病理解剖、病理標本作製、非臨床試験の試験立ち上げ、資料作成) ・技術指導(非臨床試験、GLP教育) ・技術者の研修受け入れ(病理標本作製、機械)

会社名	日本エスエルシー株式会社
英名	Japan SLC, Inc.
所在地	静岡県浜松市湖東町3371-8
国名	日本
TEL	053-486-3178 FAX 053-486-3156
e-mail	Slc03@jslc.co.jp
会社概要	弊社は昭和24年に設立されました。本社は浜松市にあり、営業部・総務部と共に中央配送センターがおかれております。生産施設は大原・引佐・春野・中伊豆・湖西飼育所(モルモット委託生産)の5ヶ所があり、これに加えて品質管理部・受託試験部がございます。営業所は東京・京都・久留米の3ヶ所にあり、その他に8ヶ所の代理店を有し、日本全国各地の大学、製薬メーカー、研究機関に弊社の製品をお届けしております。その他、紙を原料とした床敷のペパークリンやPNI Nutrition International製サーティファイド飼料を販売致しております。
展示概要	パンフレット、生産管理基準、データ集を置き、マウス・ラット・モルモット・ハムスター・ウサギ・サルや受託試験内容、飼料、床敷のパネル展示

会社名	シンジェンタ CTL
英名	Syngenta CTL (Central Toxicology Laboratory)
所在地	東京都中央区日本橋茅場町3-5-3 株式会社リブレ気付
国名	英国
TEL	03-5643-2755 FAX 03-5643-2756
e-mail	info@repre.net
URL	http://www.repre.net/
会社概要	第30回日本トキシコロジー学会学術年会参加 ・教育講演：ジョン アッシュビー(John Ashby)教授 「成熟時期に影響する因子は何か? 植物エストロジェンはどのような役割を果たすか?」 ・パネルディスカッション： 「製品開発の切り口から見た内分泌かく乱物質の評価法、方法論およびリスクアセスメント」

会社名	ユニテック株式会社
英名	UNITECH Co.,Ltd.
所在地	〒277-0005 千葉県柏市柏 367-2
国名	日本
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 と Antibody を統合したバイオ医薬研究受託サービスの会社です。ユーザーは大学、公的研究所、製薬メーカー様等です。
展示概要	受託サービス 1. 遺伝子発現解析 (ATAC-PCR 法, iAFLP 法, RealTime-PCR 法, RT-PCR 法) 2. タンパク質発現 (大腸菌、昆虫細胞、動物細胞: クローニング、発現ベクター構築、培養、精製) 発現安定株作製 (クローンの樹立、培養) 3. 抗体作製 (ポリクローナル抗体: 抗体・抗原・抗原、モノクローナル抗体: ハイブド作製、他) 4. SNPs 解析 (シーケンス: 直接シーケンス・加コグシーケンス, WAVEシステム) 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. クローニング, ライブラリー作製 (BAC ライブラリー, cDNA ライブラリー) 7. DNA/RNA の抽出・精製と totalRNA の販売 (マウス, ラット, ミニプタ, イヌ, カニクイザル他) 8. バイオインフォマティクス (遺伝子の情報処理, タンパク質の情報処理)

会社名	株式会社 富士通九州システムエンジニアリング
英名	Fujitsu Kyushu System Engineering Limited
所在地	〒261-8588 千葉県千葉市美浜区中瀬 1-9-3 富士通幕張システムラボラトリ
国名	JAPAN
TEL	043-299-3112 FAX 043-299-3046
e-mail	ccs@fqs.fujitsu.com
会社概要	当社は、1981年にソフトウェア・サービスの専門会社としてスタートして以来、常に情報化社会の発展に貢献してまいりました。様々な分野でご好評を頂き、バイオインフォマティクス、ケミカル分野にもいち早く取り組みを行なってきました。今後、国内はもとより世界市場のニーズに対応した、高品質な製品・サービスの提供により、お客様に満足いただける「トータルサティスファクションプロバイダー」を目指します。
展示概要	◆薬理活性 / ADMET 予測システム "Med Screen" "MedScreen" は世界最強とされる化学データ解析支援システム ADAPT を基本として構築した薬理活性 / ADMET を同時にスクリーニングできる予測システムです。モデル構築ツール "ModelBuilder" を用いることにより、自社データを MedScreen に連携させることも可能です。

会社名	日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社
英名	Hitachi Software Engineering Co., Ltd.
所在地	〒230-0045 横浜市鶴見区末広町 1 丁目 1 番地 4 3 ライフサイエンス研究センター
国名	日本
TEL	045-500-5111 (代表) FAX 045-500-5119
e-mail	info@lmi.hitachi-sk.co.jp
URL	http://bio.hitachi-sk.co.jp/
会社概要 / 展示概要	当社では、横浜鶴見にライフサイエンス研究センターを設立し、クリーンルーム内で生産した DNA チップをご提供させていただいております。ご好評いただいております、AceGene [®] Human Oligo Chip 30K は、ヒト遺伝子 30,000 に対応するオリゴヌクレオチドをスポットしたオリゴチップです。低発現領域においても十分に感度を得られるように特殊コーティングを施してあります。この度、多くのご要望により AceGene [®] technology を用いて AceGene [®] Mouse Oligo Chip 30K を発売いたしました。ご存知の通りマウスは毒性検査に使用されている実験動物です。当社のブースに詳細な情報を準備しておりますので、お立ち寄りください。

讀者索引 (日本名)

索引

演者索引 (日本名)

- <あ>
- 青木 宏光 P-012, P-121
 青山 博昭 P-095, C-3
 赤堀 文昭 CL, P-028, P-051, P-129, P-156
- 秋田 正治 P-092
 秋田 恵 P-044
 浅井 利大 P-033
 浅沼 富美子 P-075
 浅野 育子 P-019
 浅野 和信 P-061
 浅野 雅秀 P-024
 朝元 誠人 P-133
 芦沢 幸二 P-063
 芦野 隆 P-024, P-089
 直 弘 P-158
 足達 哲也 P-130
 アグモウ アナ P-022
 安仁屋 洋子 P-105
 安富祖 文香 P-089
 阿部 純子 P-043
 雨海 麻里子 P-038
 有村 卓朗 P-122
 有賀 千浪 P-141
 粟屋 昭 P-035
 安東 賢太郎 P-159, P-162, P-163
- <い>
- 飯島 剛 P-080
 飯塚 宏美 P-158
 飯高 健 P-123
 飯野 雅彦 P-148
 五十嵐 浩子 P-045, P-047
 生城 真一 P-066, P-067
 井口 泰泉 P-062
 池田 和正 P-113
 池田 敏彦 RT-2
 池田 宗弘 P-004, P-157
 池谷 政道 P-007, P-013, P-072
 石井 三和子 P-086
 石川 誠 P-031
 石田 茂 P-007
 石塚 真由美 P-102, P-104
 石橋 成太良 P-005, P-014, P-032
 石橋 卓也 P-109
- 石橋 さやか P-056, P-057
 泉 知博 P-060
 和泉 博之 P-003, P-079
 和泉 宏幸 P-086, P-087, P-152
 泉 政明 P-044
 磯辺 俊明 W3-4
 板野 泰弘 P-046
 板谷越 重人 P-013
 市坪 達也 P-162, P-163
 市原 敏夫 P-133
 伊藤 和美 P-132, P-139, P-142
 伊藤 今日子 P-040
 伊東 信行 P-064, P-153
 伊東 学 P-128
 伊藤 由里子 P-066, P-067
 稲垣 成恵 P-131
 井ノ上 逸朗 W3-2
 井上 達 P-010, P-011, P-061, P-069
 井上 智彰 P-077
 井上 弘子 P-122
 井上 博之 P-001
 井上 芳巳 P-134, P-135
 井上 芳己 P-157
 今井 俊夫 P-008, P-120
 今井 則夫 P-012, P-097, P-121, P-133
 今井 統隆 P-079
 今井 良悦 S1-4
 今泉 直樹 P-105
 今泉 真和 P-158
 今沢 孝喜 P-108
 今別府 進 P-042
 井柳 典 P-066, P-067
 岩井 毅 P-045, P-047
 岩尾 洋 P-033
 岩城 理進 P-041, P-052, P-075
 岩倉 洋一郎 P-024
 岩佐 浩行 P-048, P-049
 岩崎 栄 P-019
- <う>
- 上田 誠 P-008, P-014, P-119, P-120
 上塚 浩司 P-142
 植松 史行 S3-4
 臼居 敏仁 P-126, P-127, P-128

臼田 浩二	P-029	尾形 昭子	P-080
内田 雄幸	P-010	緒方 英博	P-152
打出 毅	P-039	岡橋 典子	P-097
畠山 智香子	P-122	岡村 俊也	P-072
宇野 洋	P-046, P-080, P-114, P-129, P-156	岡谷内 博	P-162, P-163
梅村 隆志	P-108	小川 いづみ	P-029
浦野 浩司	P-126, P-127, P-128	小川 ちさと	P-162, P-163
浦野 陽介	P-162, P-163	小川 哲郎	P-051
<え>		小川 幸男	P-010, P-011
江口 奈津子	P-126, P-127, P-128	小川 洋一	P-121
榎並 倫宣	P-013	奥谷 冴子	P-116
江馬 真	P-007, P-090, P-091, P-094, P-152	奥村 誠	P-162, P-163
繪柳 玲子	P-085	尾崎 博	P-021
遠来 弘美	P-114	小沢 重成	P-089
遠藤 崇浩	P-017	小田部 耕二	P-073
遠藤 仁	KS, P-146	小田部 耕二	P-076, P-157
<お>		越智 誠支	P-159
王 瑞生	P-058, P-068, P-096	尾根田 暎	P-154
大石 巧	P-013	小野 敏	P-061
大石 昌子	P-089	小野瀬 淳一	P-008, P-120
大内田 昭信	P-113	小野寺 博志	RT-5, P-119
大関 絃美	P-060	小原 さち子	P-080
大田 泰史	P-086, P-087	小山 絵理子	P-093
太田 久吉	P-016	折戸 謙介	P-051
太田 幹雄	P-046	<か>	
太田 康彦	P-062	各務 進	P-001
大竹 直美	P-004	垣内 智子	P-080
大塚 貴弘	P-148	柿沼 章子	P-002
大塚 聖	P-027	葛西 靖広	P-118
大坪 朱徳	P-082	笠原 憲一	P-162, P-163
大西 憲明	W2-4	笠原 義典	P-080, P-114
大野 泰雄	W2-1	梶川 悟	P-147
大野 理絵	P-041	櫻田 陽子	P-119
大塚 祐司	P-134	梶原 力	P-005, P-014, P-032
大村 実	P-161	数坂 昭夫	P-102, P-104
岡 宏昭	P-113	片倉 賢紀	P-030
岡崎 啓幸	P-070, P-078	片崎 紗弓	P-065
岡崎 和志	P-013	片山 圭一	EL-5
岡崎 修三	P-013, P-072	片山 誠一	P-063
岡田 幸助	P-029	勝 義直	P-062
岡田 浩史	P-018	加藤 奈津美	P-122
		加藤 英男	P-062
		加藤 宏一	P-140
		加藤 真之	P-130

加藤 善久	P-066, P-067	吉川 理恵	P-151
門田 利人	P-159, P-162, P-163	木下 アンナ	P-124
金井 好克	P-146	木下 一哉	P-021
金子 豊蔵	P-069	木羽 明恵	P-143
樺山 浩二	P-149	キム 鍾春	P-088
鎌田 栄一	P-007, P-090, P-094, P-152	キム 亨津	P-088
鎌滝 哲也	P-138	木村 栄介	P-086, P-087
紙田 祐介	P-097	木村 和哉	P-045, P-047
亀井 好美	P-085	木村 敬	P-076, P-157
亀坂 泰正	P-057	木村 正明	P-041, P-052, P-075
亀之園 剛	P-059, P-154	木村 良平	P-066, P-067
唐木 英明	P-021	久木 浩平	P-019
飯家 公夫	C-8	清沢 直樹	P-026, P-132, P-139, P-142
川井 さゆり	P-050	清宮 健一	P-015
川口 友和	P-131	金 光春	P-002
川口 雅子	P-118	金 忠龍	P-006
川崎 靖	P-010, P-069	<<>	
川島 邦夫	P-086, P-087	久我 直子	P-064
川嶋 洋一	P-030	楠 知恵	P-080
川鍋 剛	P-076	楠元 正吾	P-149
河野 一樹	P-003	工藤 なをみ	P-030
川端 留美	P-018	久野 博司	S1-3
川原 潤一	W3-1, P-004, P-145	久保田 訓世	P-162, P-163
河部 真弓	P-121	久保野 勝男	P-076
神吉 けい太	P-108	久米 英介	P-141
菅野 純	W3-3, PD-1, P-010, P-011, P-061, P-069	桑 悦子	P-162, P-163
上堀 美幸	P-132, P-139	クライン リチャード	P-078
<き>			
魏 民	P-125	蔵崎 正明	P-034
菊地 宏治	P-126, P-127, P-128	倉田 昌明	P-071, P-074
菊池 泰子	P-004	倉持 光利	P-050
菊森 幹人	P-054	黒岩 有一	P-072
木崎 豊一郎	P-039	黒川 達夫	RT-4
岸 高義	P-017	黒川 雄二	P-069
岸本 直	P-046	黒坂 妙子	P-014
北里 光江	P-086, P-087	桑形 麻樹子	P-051
北澤 郁恵	P-071, P-074	桑原 知江	P-015
北嶋 聡	P-010, P-011	桑原 真紀	P-056, P-057
北田 泰崇	P-027	桑原 伸介	P-033, P-036
北田 光一	RT-6	<け>	
北村 和之	P-141	玄番 宗一	P-035
北村 泰樹	P-108	剣持 幸代	P-024

<こ>

小泉 妙子 P-073
小泉 睦子 P-007, P-094, P-152
香田 隆俊 P-012, P-121
幸田 祐佳 P-035
河野 陽一 EL-1
コールター グレック

P-059, P-078
古賀 けい子 P-031
古賀 万理 P-114
小坂 忠司 P-056
小嶋 聖 P-003
小島 隆 P-023
小林 和子 P-077
小林 健一 P-058, P-068, P-096
小林 真一 RT-7
小林 朋 P-140
小林 靖男 P-055
小林 充 P-156
小松原 博文 P-002
古宮 俊幸 P-033, P-036
小宮山 政敏 P-130
龍田 ニー P-076
御領 政信 P-029
ゴンザレス フランク

P-027
今田 智之 P-162, P-163
コンドン ウィリアム
P-078

<さ>

斎田 美恵子 P-147
斎田 美恵子 P-040
斎藤 賢一 P-093, P-098
斎藤 健 P-034
斎藤 鉄也 P-101, P-138
齋藤 俊郎 P-140
齋藤 博 P-085
齋藤 宏美 P-115
齋藤 守 P-162
齋藤 守 P-163
齋藤 実 P-010
斎藤 義明 P-011
三枝 由紀恵 P-147
酒井 東日 P-044

経織井 勝 P-034
坂入 鉄也 P-134, P-135
坂口 邦彦 P-101
佐久間 恭子 P-026, P-132, P-139,
P-142
桜井 貴之 P-073
佐々木 正治 P-052
佐々木 卓士 P-039
佐々木 信夫 P-104
佐々木 幹夫 P-148
佐々木 有 P-115, P-116, P-117, P-118
笹山 由紀子 P-071, P-074
佐竹 茂 P-149
佐藤 至 P-055
佐藤 伸 P-034
佐藤 隆之 P-139
佐藤 均 P-100
佐藤 泰子 P-145
里見 嘉英 P-129, P-156
佐野 真士 P-012, P-097
鮫島 秀輔 P-003, P-079, P-149
サリム エリサイド P-125
澤 延子 P-126, P-127, P-128
佐藤 正邦 P-153
澤田 典均 P-023

<し>

椎田 修治 P-003
塩田 清二 P-024
塩谷 元宏 P-043, P-151
重松 秀成 P-085
設楽 悦久 P-025, P-100
品川 森一 EL-7
榎田 保彦 P-005, P-014, P-032
柴崎 義明 P-044
柴田 誠司 P-081, P-082
柴田 雅美 P-157
柴原 憲仁 P-099
渋谷 淳 P-122
島田 千明 P-159
島田 寿久 P-131
島田 奈央子 P-135, P-138
島津 伸也 P-086, P-087
清水 賢治 P-162, P-163
清水 茂一 P-092

- | | | | |
|-----------------|----------------------|-------------|---------------------|
| 清水 俊敦 | P-134, P-135, P-136 | ステファン ネイチェブ | |
| 清水 利行 | P-002 | | P-154 |
| 清水 憲次 | P-042 | | |
| ジャバー ジェイコブ | | <せ> | |
| | P-078 | 関 高樹 | P-097 |
| 周 玉 | P-037 | 関口 総一郎 | P-058, P-068, P-096 |
| 首藤 康文 | P-056, P-057 | 関田 清司 | P-010, P-011 |
| 城之内 公子 | P-080 | 瀬畑 信哉 | P-142 |
| ジョン スティグマン | | | |
| | P-048, P-049 | <そ> | |
| 鄭 文九 | P-088 | 十川 和博 | EL-2 |
| ジョン・バプティスト ジョアン | | | |
| | P-083 | <た> | |
| 白井 智之 | P-012, P-121, P-133 | 高木 広憲 | P-122 |
| 白井 紀充 | P-123 | 高倉 サオリ | P-153 |
| 白井 真紀 | P-037, P-043 | 高崎 涉 | W3-6 |
| 白井 明志 | P-028, P-051 | 高瀬 淳 | P-114 |
| 代田 欣二 | PD-2 | 高田 昌太郎 | P-047, P-045 |
| 代田 真理子 | PD-2 | 高月 峰夫 | P-064, P-153 |
| 申 東虎 | P-088 | 高橋 芳 | P-141 |
| 桑 己貴子 | P-045, P-047 | 高橋 研 | P-095 |
| 神藤 康弘 | P-044 | 高橋 尚史 | P-056, P-057 |
| 神保 雅 | P-050 | 高橋 正一 | S3-4 |
| | | 高橋 芳樹 | P-138 |
| <す> | | 高原 利夫 | P-003, P-060 |
| 杉内 仁子 | P-024 | 瀧上 周 | P-122 |
| 杉本 次郎 | P-134, P-135 | 滝沢 達也 | P-028 |
| 杉山 壽 | P-140 | 瀧澤 保 | P-008, P-120 |
| 杉山 雄一 | P-025, P-100 | 武木田 薫 | P-036 |
| 鈴木 勝士 | P-093, P-098 | 竹中 基郎 | P-093 |
| 鈴木 幸一 | P-055 | 武吉 正博 | P-064 |
| 鈴木 宏治 | P-037 | 田代 孝一郎 | P-033, P-036 |
| 鈴木 修三 | P-126, P-127, P-128 | 多田 美佳 | P-075 |
| 鈴木 忠彦 | P-055 | 立松 正衛 | P-123 |
| 鈴木 照雄 | P-002 | 田中 勝幸 | P-019 |
| 鈴木 俊也 | P-103 | 田中 宏治 | P-028 |
| 鈴木 浩悦 | P-093, P-098 | 田中 剛太郎 | P-018 |
| 鈴木 正一 | P-002 | 田中 繁太郎 | P-002 |
| 鈴木 道江 | P-040 | 田中 祥貴 | P-162, P-163 |
| 鈴木 睦 | P-004, P-145 | 田辺 亜希子 | P-126, P-127, P-128 |
| 須田 恵 | P-050, P-058, P-068, | 谷口 薫 | P-114 |
| | P-096 | 谷口 雄三 | P-054 |
| スタンプ ドナルド | P-155 | 谷藤 久人 | P-081, P-082, P-111 |
| スチーブン メイヤー | | 田畑 肇 | P-040, P-147 |
| | P-154 | 田保 充康 | P-045, P-047 |

玉川 恵 P-020
 玉田 聡 P-033, P-036
 玉野 静光 P-012, P-133
 田村 英之 P-005, P-014, P-032
 田山 邦昭 P-009
 橋本 保男 P-006

<ち>

チェングリス クリストファー
 P-155
 千早 豊 P-154
 中郡 昭人 P-039
 帖佐 敏 P-060

<つ>

立木 里奈 P-061
 塚本 徹哉 P-123
 角埜 英志 P-149
 津崎 容子 P-121
 辻村 祐佑 P-050
 辻本 和義 P-048, P-049
 津田 修治 P-117
 土屋 若奈 P-129, P-156
 堤 友子 P-012, P-097
 鶴岡 裕治 P-038

<て>

出川 雅邦 P-066, P-067
 デジレ ジネット P-083
 寺岡 宏樹 P-048, P-049
 寺田 あゆみ P-072
 寺西 宗広 P-142
 寺本 昭二 P-095
 テン ベルグ ロナルド
 P-150
 天間 恭介 P-039

<と>

土井 邦雄 P-141, P-142
 土井 悠子 P-121
 董 武 P-048, P-049
 東條 英昭 P-040
 渡海 寛 P-005, P-014, P-032
 戸澤 亜紀 P-027
 戸田 晶久 P-085

戸田 庸介 P-097
 富澤 香織 P-137
 富田 裕之 P-140
 豊島 茂樹 P-159
 豊田 直人 P-157
 鳥海 互 P-141

<な>

内藤 邦彦 P-040
 中井 康晴 P-114
 永井 賢司 P-063
 永井 真一 P-002
 永井 祐 P-053
 永井 良和 P-112
 中江 大 S3-4, P-065
 長尾 祐 P-069
 長岡 有紀 P-118
 中垣 俊郎 C-2
 中川 博史 P-015
 中川 宗洋 P-115
 中川 好男 P-103
 長崎 修治 P-081, P-082, P-111
 中澤 浩二 P-109
 永瀬 文未江 P-032
 永田 清 W2-3
 永田 伴子 P-011
 永田 良一 P-003, P-059, P-070,
 P-078, P-079, P-154
 仲谷 達也 P-033
 永沼 章 W2-5
 中野 健一 Se-5
 中野 賢司 P-102
 中原 千穂 P-046
 中間 和浩 P-157
 中村 勇 P-041, P-052, P-075
 中村 正平 P-162, P-163
 中村 隆広 P-079
 中村 俊文 P-027
 中村 裕行 Se-2
 中村 幹雄 P-012, P-121
 中山 裕之 P-142
 ナップ ジョン P-155
 夏目 徹 W3-5
 難波江 恭子 P-121
 鍋島 俊隆 P-053

- | | | | |
|------------|--------------------------------|-------------------|---|
| 奈良岡 準 | P-040 | 長谷川 隆一 | P-007, P-094, P-108, P-152 |
| 奈良原 正俊 | P-140 | 畑井 朝子 | P-034 |
| 難波 美保 | P-073 | 島山 和久 | P-072, P-076 |
| <に> | | 服部 祐二 | P-126, P-127, P-128 |
| 新野 訓代 | P-132, P-139 | 花田 真矢 | P-086, P-087 |
| 西川 秋佳 | P-108 | 花田 智彦 | P-005 |
| 西沢 紫乃 | P-156 | 濱田 悦昌 | P-071, P-074 |
| 西島 基弘 | EL-6 | 浜田 悦昌 | P-130, P-151 |
| 西田 輝夫 | S1-1 | 浜野 宝子 | P-135, P-136 |
| 西中 栄子 | P-128 | 早川 禎宏 | Se-3 |
| 西村 郁美 | P-005, P-014 | 林 宏一 | P-056 |
| 西村 哲治 | P-108 | 林 利彰 | P-112 |
| 西村 信雄 | P-007 | 林 直之 | P-159 |
| 西森 可雄 | P-054 | 林 真 | S3-1 |
| <ぬ> | | 林田 晴美 | P-158 |
| 糠谷 学 | P-138 | 原 幸男 | P-039 |
| 沼澤 聡 | P-024, P-089 | 原口 浩一 | P-066, P-067 |
| <ね> | | 原園 景 | P-090, P-091 |
| 根岸 保則 | P-038 | 原田 孝則 | P-056, P-057 |
| ネメック マーク | P-155 | 原田 拓真 | P-043 |
| <の> | | 春山 恵美子 | P-149 |
| 野口 規子 | P-073 | ハンクス クリス | P-022 |
| 野崎 義弘 | P-092 | <ひ> | |
| 野田 修志 | P-153 | 日置 恭司 | P-126 |
| 野田 大史 | P-055 | 日景 盛 | P-101 |
| 野田 幸裕 | P-053 | 樋口 剛史 | P-086, P-087 |
| 野村 達希 | P-060 | 樋口 敏浩 | P-097 |
| 野村 達次 | P-126 | 久田 茂 | P-081, P-082, P-111 |
| 野村 護 | S2-2, S2-5, RT-1, P-076, P-157 | 平賀 武夫 | P-048, P-049 |
| <は> | | 平田 真理子 | P-157 |
| ハアーショ ベネット | P-155 | 平塚 一幸 | P-044 |
| 萩原 昭裕 | P-012, P-121 | 平塚 秀明 | P-086, P-087 |
| 橋本 せつ子 | P-061 | 平野 文也 | P-162, P-163 |
| 蓮村 麻衣 | P-008, P-120 | 平野 雅 | P-025, P-100 |
| 長谷川 和美 | P-020 | 平林 容子 | P-069 |
| 長谷川 妙子 | P-073 | 広瀬 明彦 | P-090, P-094 |
| | | 広瀬 雅雄 | S3-2, P-008, P-108, P-119, P-120, P-122 |
| | | 廣田 毅 | P-121, P-133 |
| | | <ふ> | |
| | | ブアタナチョックチャイ ラウィワン | P-124 |

フォルソン ジョセフ

	P-155
福井 規雄	P-082
福崎 好一郎	P-059, P-070, P-078
福崎 好一朗	P-154
福崎 章義	P-126, P-127, P-128
福島 昭治	S3-3, P-124, P-125
福島 民雄	P-130
福田 剛司	P-079
福田 均	P-162, P-163
福永 満里	P-031
福本 真理子	C-6
福山 哲	W2-2
藤井 重紀	P-066, P-067
藤井 登志之	P-054
藤居 亘	P-036
藤江 秀彰	P-056, P-057
藤岡 真司	P-032
藤田 正一	P-102, P-104
藤野 明治	RT-3
藤森 祐紀	P-039
藤原 淳	P-148
船津 和守	P-109
船生 志乃	P-118
フリーリング ウィルバート	P-150
古川 賢	P-029
古川 茂典	P-054
古川 浩美	P-086, P-087, P-152
古塚 正幸	P-147

<へ>

ベントン ヘレン P-022

<ほ>

北條 隆男	P-106
北條 仁	P-095
宝来 玲子	P-024
外岩戸 尚美	P-133
ほさいん むばらく	P-055
星野 満	P-148
細川 説子	P-150
堀 一成	P-115
堀 正敏	P-021
堀 美智子	C-7

堀 友花 P-034

堀井 郁夫

S2-1, P-037, P-043, P-071,
P-074, P-112, P-123, P-130,
P-137, P-143, P-151

堀本 政夫

P-130

本郷 敏雄

P-101

本多 久美

P-026

本田 久美子

P-152

本坊 敏保

P-042, P-162, P-163

本間 健資

P-050, P-058, P-068,

P-096

本間 正充

P-113

<ま>

馬 成俊

P-158

真板 敬三

C-1

前川 昭彦

S3-4, P-065

前田 一葉

P-159

前田 和哉

P-025

前田 博

P-003

政岡 俊夫

P-028

栞富 直哉

P-134, P-135, P-136

松尾 三郎

P-015

松澤 利明

Se-1, P-159, P-162, P-163

松島 裕子

P-010

松永 佳子

P-035

松本 清司

P-075

松本 力

P-056, P-057

松本 智之

P-104

真鍋 淳

W3-6, P-026, P-132, P-139

<み>

三浦 克之

P-033

三浦 大志郎

P-080

見上 崇

P-081, P-082

三瀬 勝利

C-5

三森 国敏

P-119

三苫 秀雄

P-153

南 圭一

P-140

宮川 宗之

P-058, P-068, P-096

宮崎 雅之

P-053

宮田 かおり

P-097

宮田 裕人

P-041, P-075

宮田 昌明

W2-3, P-027

宮原 真紀

P-145

- | | | | |
|------------|---------------------|--------|----------------------------------|
| 三輪 恵子 | P-141 | 山口 格 | P-004, P-145 |
| <心> | | 山口 達哉 | P-109 |
| 向井 大輔 | P-001 | 山口 剛 | P-013 |
| 向山 英孝 | Se-6 | 山崎 寛治 | P-064, P-153 |
| 六角 香 | P-054 | 山崎 尚子 | P-071, P-074 |
| 務台 衛 | P-134, P-135, P-136 | 山崎 友朗 | P-066, P-067 |
| 武藤 朋子 | P-146 | 山下 晴洋 | P-052 |
| 宗岡 克政 | P-051 | 山添 康 | W2-3, P-027 |
| 村田 共治 | P-001, P-131, C-4 | 山田 弘 | S2-3, P-037, P-112, P-137, P-143 |
| 室井 貴子 | P-153 | 山田 恭史 | P-019 |
| <め> | | 山手 文至 | P-034 |
| メイソン スティーブ | P-022 | 山中 義弘 | P-114, P-129, P-156 |
| メイヤー スチーブン | P-059, P-070, P-078 | 山本 諭 | P-072 |
| メルトン ロバート | P-078 | 山本 敏誠 | P-023 |
| <も> | | 山本 利恵 | P-143 |
| モート トーマス | P-059 | 山本 光雄 | P-076 |
| 望月 雅裕 | P-072 | 山本 由徳 | P-020 |
| 森 聖治 | P-017 | 矢本 敬 | W3-6, P-132, P-139, P-142 |
| 森 千里 | P-130 | <ゆ> | |
| 森 智博 | P-159 | 尹 秉一 | P-069 |
| 森 美恵 | P-134 | 尹 孝仁 | P-088 |
| 森 康男 | P-070 | <よ> | |
| 森川 陽子 | P-060 | 横井 毅 | P-140 |
| 森下 克美 | P-031 | 横濱 奈津江 | P-117 |
| 森島 昭彦 | P-051 | 横山 篤 | P-092 |
| 森田 英利 | P-028 | 吉川 宏 | P-028 |
| 森田 義明 | P-038 | 吉田 武英 | P-024, P-089 |
| 守永 太賀彦 | P-054 | 吉田 緑 | S3-4, P-065 |
| 森村 圭一朗 | S3-3, P-124, P-125 | 吉田 龍二 | P-086, P-087 |
| 森本 秀樹 | P-081, P-082 | 吉長 和幸 | P-086, P-087 |
| 請正 晋郎 | P-060 | 吉野 裕子 | P-012 |
| <や> | | 吉野 佳子 | P-075 |
| 八木 久美子 | P-052 | 吉村 宏美 | P-018, P-113 |
| 八木 美央 | P-093 | 吉村 マスミ | P-126, P-127, P-128 |
| 矢崎 光好 | P-060 | 淀井 淳司 | P-069 |
| 安原 加壽雄 | P-012, P-121 | 米沢 恵子 | P-038 |
| 柳田 知司 | P-148 | 米原 裕子 | P-086, P-087 |
| 矢野 浩二 | P-159 | 余野木 克哉 | P-035 |
| 山川 誠己 | P-001 | <り> | |
| | | 李 京烈 | P-122 |
| | | 李 光勳 | P-069 |

リー ビヨンリュル P-154
リチャード ピーターソン
P-048, P-049
リフォン レネ P-083

<る>

ルソトー リン P-083
ルロウ ナタリー P-083

<わ>

若狭 芳男 P-148
和久井 信 P-146
和田 栄子 P-118
渡部 一人 P-073
渡部 すみ子 P-068, P-096
渡邊 隆夫 P-119
渡邊 肇 P-062
渡辺 亮介 P-073
鯛淵 英機 S3-3, P-124, P-125

演者索引 (英名)

<A>		<N>	
Anderson, Timothy D.	PL-3	Nagata, Ryoichi	P-107
Ashby, John	EL-4, PD-3		
Albrecht, Poth	P-110	<O>	
		Oswald, Crasta	P-144
		<P>	
Boelsterli, Urs A.	PL-1	Peiffer, Jr. Robert L.	S1-2
<C>		<R>	
Centanni, Nancy	Se-4	Rininger, Joseph	P-144
Chung, Moon-Koo	P-006		
Craig, Hyde	P-144	<S>	
<D>		Saigo, Kazuhiko	P-107
Darius, Dziuda	P-144	Sato, Itaru	P-107
Decristofaro, Marc	P-144	Savolainen, Kai	PL-4
		Sugawara, Etsuko	P-107
<F>		Suzuki, Tadahiko	P-107
Oehme, Frederick W.	PL-2	<T>	
<G>		Tsutsumi, Ken-ichi	P-107
Gerwien, Robert	P-144	<U>	
Gonzalez, Frank J.	P-138	Ullmann, Ludwig	P-084
<H>		<W>	
Hamdy, Moustafa M.	P-053	Weinbauer, Gerhard	P-160
Han, Sang-Seop	P-006	<Y>	
Han, Su-Cheol	P-006	Yoshioka, Makoto	P-144
Holsapple, Michael P.	EL-3, S2-4		
Hershman, Kenneth	P-144		
<J>			
Jo, Yeong-Woo	P-006		
<K>			
Kobayashi, Haruo	P-107		
Kumagai, Miyuki	P-107		
<L>			
Lewis, Richard	PD-4		
<M>			
Mansfield, Traci	P-144		
McKenna, Michael	P-144		

協賛企業一覧

東京医薬品工業協会

- 旭化成(株)
アベンティス ファーマ(株)
アムジェン(株)
栄研化学(株)
エーザイ(株)
エスエス製薬(株)
エルメッドエーザイ(株)
大塚製薬(株)
化研生薬(株)
科研製薬(株)
カネボウ(株)
キッセイ薬品工業(株)
杏林製薬(株)
協和醗酵工業(株)
キリンビール(株)
グラクソ・スミスクライン(株)
呉羽化学工業(株)
グレラン製薬(株)
佐藤製薬(株)
三共(株)
第一製薬(株)
大正製薬(株)
大鵬薬品工業(株)
中外製薬(株)
(株)ツムラ
テイカ製薬(株)
帝国臓器製薬(株)
- 帝人(株)
テルモ(株)
トーアエイヨー(株)
富山化学工業(株)
烏居薬品(株)
日研化学(株)
日本化薬(株)
日本ケミファ(株)
日本製薬(株)
日本たばこ産業(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)
万有製薬(株)
ファイザー製薬(株)
プリストル製薬(株)
北陸製薬(株)
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)
持田製薬(株)
森永乳業(株)
(株)ヤクルト本社
山之内製薬(株)
雪印乳業(株)
わかもと製薬(株)

大阪医薬品協会

- アストラゼネカ(株)
(株)アズウェル
(株)大塚製薬工場
- 東和薬品(株)
日本新薬(株)
日本シエーリング(株)

大阪医薬品協会

小野薬品工業(株)

興和新薬(株)

沢井製薬(株)

参天製薬(株)

(株)三和化学研究所

シェリング・プラウ(株)

塩野義製薬(株)

新日本薬品(株)

住友製薬(株)

大日本製薬(株)

武田薬品工業(株)

田辺製薬(株)

日本臓器製薬(株)

日本ベーリンガーインゲルハイム(株)

バイエル薬品(株)

菱山製薬(株)

藤沢薬品工業(株)

扶桑薬品工業(株)

丸石製薬(株)

マルホ(株)

三菱ウェルファーマ(株)

メルク・ホエイ(株)

ロート製薬(株)

その他

麻布大学薬理学教室卒業生

アラガン(株)

(株)イナリサーチ

興和(株)

(財)食品薬品安全センター

(株)新日本科学

(株)大雄会医科学研究所

(株)日本医科学動物資材研究所

日本エスエルシー(株)

日本オルガノン(株)

(財)日本生物科学研究所

(株)町田医理科商会

(株)三菱化学安全科学研究所

(株)森田製作所

第30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 2003年7月

発行代表者 赤堀 文昭

発行所 第30回日本トキシコロジー学会学術年会 事務局
(株)ひでじま

印刷 〒113-0033 東京都文京区本郷2-16-8

使用システム 東京大学病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

平成 15 年度日本トキシコロジー学会評議員会 次第

日 時: 平成 15 年 7 月 19 日(土) 12 時~13 時

場 所: 麻布大学 第 7 会場 (大教室)

日本トキシコロジー学会 理事長 遠藤 仁
司会: 第 30 回日本トキシコロジー学会学術年会会長 赤堀 文昭

- | | |
|---|---------|
| | 担 当 |
| 1. 開会の辞 | 赤 堀 |
| 2. 理事長挨拶 | 遠 藤 |
| 3. 報告及び議事 | |
| (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功労会員について | |
| ⑤その他 | |
| 2) 編集委員会 | 吉 田 |
| ①編集委員会報告 | |
| ②その他 | |
| 3) 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 | |
| 4) 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報告 | |
| ③ホームページ小委員会報告 | |
| 5) 財務委員会 | 佐藤秀 |
| (2) 平成 14 年度決算及び監査報告 | 佐藤秀/ 監事 |
| (3) 平成 15 年度補正予算(案)及び平成 16 年度予算(案)、事業計画について | 佐藤秀 |
| (4) 各集会の報告及び進捗状況について | |
| 1) 次々期 (第 32 回) 日本トキシコロジー学会学術年会について | 遠 藤 |
| 2) 第 26 回トキシコロジー研連シンポジウムについて | 長 尾 |
| (5) IUTOX 理事会報告、及び ICT-X について | 黒 川 |
| (6) ASIATOX III について | 佐藤哲 |
| 4. 次期 (第 31 回) 日本トキシコロジー学会学術年会会長挨拶 | 玄 番 |
| 5. 閉会の辞 | 赤 堀 |
| | 以 上 |

平成 15 年度日本トキシコロジー学会総会 次第

日 時:平成 15 年 7 月 19 日(土) 13 時 10 分~14 時 10 分
場 所:麻布大学 第 1 会場 (百周年記念ホール)

日本トキシコロジー学会 理事長 遠藤 仁
司会:第 30 回日本トキシコロジー学会学術年会会長 赤堀 文昭

- | | |
|---|------------|
| 1. 開会の辞 | 担 当
赤 堀 |
| 2. 理事長挨拶 | 遠 藤 |
| 3. 報告及び議事 | |
| (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功労会員について | |
| ⑤その他 | |
| 2) 編集委員会 | 吉 田 |
| ①編集委員会報告 | |
| ②その他 | |
| 3) 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 | |
| 4) 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報告 | |
| ③ホームページ小委員会報告 | |
| 5) 財務委員会 | 佐藤秀 |
| (2) 平成 14 年度決算及び監査報告 | 佐藤秀/監事 |
| (3) 平成 15 年度補正予算(案)及び平成 16 年度予算(案)、事業計画について | 佐藤秀 |
| (4) 各集会の報告及び進捗状況について | |
| 1) 次々期(第 32 回)日本トキシコロジー学会学術年会について | 遠 藤 |
| 2) 第 26 回トキシコロジー研連シンポジウムについて | 長 尾 |
| (5) IUTOX 理事会報告、及び ICT-X について | 黒 川 |
| (6) ASIATOX III について | 佐藤哲 |
| 4. 次期(第 31 回)日本トキシコロジー学会学術年会会長挨拶 | 玄 番 |
| 5. 閉会の辞 | 赤 堀
以 上 |

IART 報告

IART (International Assembly for the Recognition of Toxicologists)は 2001 年 7 月に IUTOX 総会において正式に承認され、2002 年 3 月に役員を選挙し正式に活動を開始しました。現在の IART member Organization は、American Board of Toxicology (ABT), American Board of Veterinary Toxicology (ABVT), Academy of Toxicological Sciences (ATS), Japanese Society of Toxicology (JST), European Society of Toxicology (EUROTOX), Korean Board of Toxicology (KBT)の 6 団体です。昨年 9 月には EUROTOX Meeting の会期中に運営委員会を開催し、今後の在り方、将来計画、IUTOX との関係などについて審議致しました。そこでは Membership Committee と Financial Committee を設置し、本年 3 月の SOT 会期中に開催した運営委員会においてさらに詳細な審議を継続しました。現在の最も重要な事項は下記の 3 点です。

- (1) Membership Committee : 現在のメンバー機関に加えて、加盟を希望する団体が増えてきており、中でも開発途上国からの希望が急激に増加しております。しかし、それらの教育の背景や経験は必ずしも十分でないことから、今後如何にしてそれらの希望者を IART 会員として承認するかが大きな課題です。
- (2) Financial Committee : 現行の会則では、運営に関する経済上の支出などはすべて各機関の独自性に頼っておりますが、今後は会費制などで一定の収入の道を考え、今後の活動を支援することが検討されました。
- (3) IART の設立趣旨は、各加盟団体の認定資格を相互に承認することにあります。したがって、JST の認定資格者 (Diplomate of JST, DJST)は ABT(DABT)と同等の資格を有することとなります。製薬企業の DJST は新薬の申請に当っては是非書類に認定資格を明記することをお勧めします。規制当局でも資格を明記することを希望しております。IART の大きな活動はトキシコロジストの教育、訓練です。中でも開発途上国における教育を支援することが大きな目的であり、経済的支援により活動を拡大する予定です。なお、IART の詳細につきましては website をご参照下さい(<http://www.iartox.org/>)。また、JST からの運営委員は堀井郁夫先生 (日本ファイザー (株)) ですのでご質問は私か堀井先生にご連絡下さい。JST からはこれまで IUTOX 及び IART の活動については多大の貢献をして頂いており感謝しております。今後とも益々のご支援をお願い致します。

IART 会長 佐藤 哲男 (satohbri@plum.ifnet.or.jp)

OVER

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より下さい。



Inveresk Research

INTERNATIONAL SOLUTIONS

USA Tel: +1 919 460 9005. Fax: +1 919 462 2520. UK Tel: +44 1875 614 545. Fax: +44 1875 614 555.
Japan Tel: +81 3 5634 5858. Fax: +81 3 5634 4934. Email: info@inveresk.com Website: www.inveresk.com



Fraunhofer

Institut
Toxikologie und
Experimentelle Medizin

欧州最大の応用科学研究所
私たちは、
フラウンホーファー研究所
です

Fraunhofer Institute Toxicology & Experimental
Medicine (Fraunhofer ITEM)は、
Fraunhofer Gesellschaft のライフサイエンス分野の研究所です。
非臨床・臨床試験、医薬品開発での共同研究や困難な
問題について先端技術を用いた対応を得意とする
応用科学研究所です

フラウンホーファーの概要

創立 : 1955年、ドイツの応用化学のための
国家研究所として生まれました。
研究所総数 : 60研究所 (ドイツ国内)
研究所員総数 : 13,000名
本部組織所在地: ミュンヘン、ドイツ

フラウンホーファー各研究所の
所在地 (ドイツ国内)



フラウンホーファー ITEM, ハノーファー

ビジネスエリア

- 医薬研究・メディカルバイオテクノロジー・分子医学
- アレルギー臨床, 喘息および吸入研究, COPD, 花粉症
- 化学品・生活環境用途薬剤・農業の試験および登録
- ケミカル・リスクアセスメント
- 環境職域毒性学及び消費者保護

FhITEMの優れたノウハウ

- 吸入毒性学
- レギュラトリー毒性試験
- 毒性病理学
- 免疫毒性試験系
- 代謝研究 (in-vitro)
- 薬理動態・毒性動態
- 分子毒性学 / 分子薬理学
- 細胞培養
- ケミカルリスクアセスメント
- 臨床吸入試験
- 肺炎患およびアレルギー疾患診断
- 喘息モデルおよび肺機能研究
- 分子レベルの診断および遺伝子多型性
- テックベースの遺伝子発現研究
- バイオ分析・構造分析
- 化学分析
- エアゾールプロセス技術および分析研究

受託試験・研究サービス

- 新規医薬品の開発および試験
- 医薬品の非臨床試験
- 分子医学および薬理遺伝学
- バイオ医薬の研究及び試験
- 免疫系への影響
- 肺疾患の臨床試験
- 物質の潜在毒性
- 高周波・短波電磁場の毒性影響
- 空気汚染分析
- バイオモニタリング
- エアゾール解析及び生成
- ヒト及び環境に対するリスクアセスメント
- 細胞毒性

科学的な能力が高い



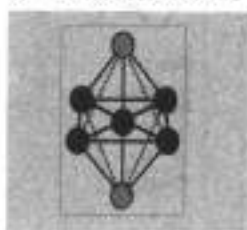
財政的に安定している



事業開拓者としての力量



プロフェッショナルネット
ワークが充実している



フラウンホーファー ITEM 日本総代理店
エルエスピー 担当 鈴木
〒104-0043 東京都中央区湊1-8-13
中銀第2八丁堀
電話: 03-3523-9115
ファックス: 03-3551-0019
e-MAIL: hirako.suzuki@isp-c.com / isp@isp-c.com

Fraunhofer ITEM (旧名 IIA)
Nikolai-Fuchs-Strasse 1, 30625, Hannover,
Germany
Tel 0511/5350-100 Fax: 0511/5350-155
e-MAIL: kroggel@item.fraunhofer.de

フラウンホーファー日本代表部
〒107-0052 東京都港区赤坂7-5-56
ドイツ文化会館1F
電話: 03-3586-7104
ファックス: 03-3856-7187

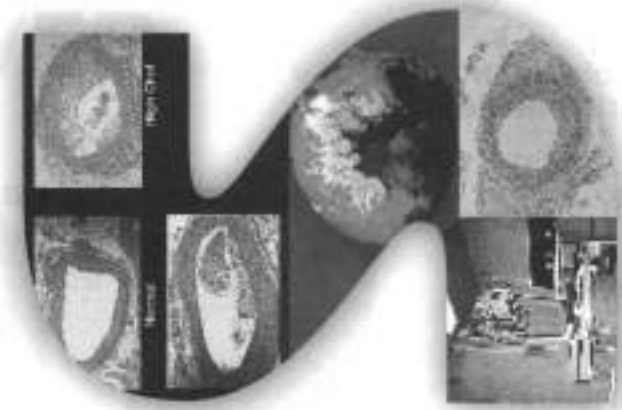
確かな情報をより早く



薬物動態試験

薬理試験

安全性試験



株式会社 環境バイオリス研究所

本社 〒528-0052

滋賀県甲賀郡水口町字川1555

TEL(0748)63-5253 FAX(0748)63-0735

東京事務所 〒103-0001

東京都中央区日本橋小伝馬町4番9号 (小伝馬町新日本橋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.bilis.co.jp/> E-mail: info@bilis.co.jp

最新情報は
ホームページで
ご覧頂けます。

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。



株式会社 **ケー・イー・シー**

試薬事業部

〒520-3001 滋賀県栗東市東坂91番地
TEL 077-558-3971 FAX 077-558-3972
E-mail: shiyaku@kacnet.co.jp

東京事業部

〒110-0001 東京都台東区谷中3丁目25-6
TEL 03-3822-9311 FAX 03-3822-9313
E-mail: tokyo@kacnet.co.jp

製造元

Tissue Transformation Technologies (NJ, USA)
BIOPREDIC INTERNATIONAL (RENNES, FRANCE)

肝細胞製品群

- ▶ **ヒト肝細胞 (非凍結) NEW**
24wellプレートまたはアラスコ接着済み。
- ▶ **ヒト肝細胞 (凍結)**
接着・非接着ともにロットが豊富にございます。
- ▶ **動物肝細胞 (凍結)**
マウス・ラット・モルモット・イス・サル由来をご用意しております。
- ▶ **LIVERBEADSキット (凍結)**
アルギン酸ゲルに肝細胞を封入していますので、簡単に融解、培養が行えます。長時間培養に適しており、24時間～48時間の細胞傷害性試験に簡単にお使いいただけます。マウス・ラット・イス・サル・ヒト由来をご用意しております。

血液由来製品群

- ▶ **ヒト血液細胞 NEW**
Mononuclear Cells (単核球), Monocytes (単球), Lymphocytes (リンパ球)
- ▶ **ヒトプラズマ NEW**
各種抗凝固剤 (ヘパリンLi, ヘパリンNa, EDTA, CPD, ACD) にてをご用意しております。IC (同意) の得られたドナーの血液 (Single, Pool) のみから調製されています。

サービス

- ▶ **新鮮肝細胞を用いた毒性試験受託サービス**
試験受託において永年の歴史と豊かな経験をもつBIOPREDIC社が受託します。
- ▶ **カスタム調製サービス**
規格製品以外のヒト・動物組織由来品をお客様のご要望にあわせて調製いたします。

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 シアトル郊外のSNBL USA, Ltd.では、海外での医薬品開発をサポート致します。

連絡先:

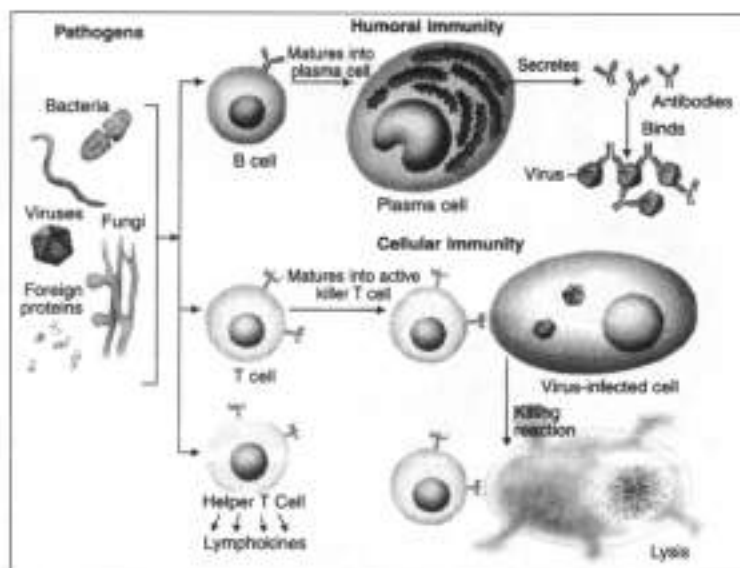
- | | |
|------------|--|
| 本店／安全性研究所 | 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438
TEL 099-294-2600 FAX 099-294-3619 |
| 薬物代謝分析センター | 和歌山県海南市南赤坂16-1 海南インテリジェントパーク内
TEL 073-483-8881 FAX 073-483-7377 |
| 東京本社 | 東京都千代田区有楽町1-5-2 東宝ツインタワービル
TEL 03-3500-5566 FAX 03-3500-5046 |
| 大阪支社 | 大阪市中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル
TEL 06-6233-8411 FAX 06-6233-8412 |

<http://www.snbl.com/> e-mail: info@snbl.co.jp

Central Toxicology Laboratory



シンジェンタCTL アレルギー、免疫毒性試験



受託試験項目（免疫関連）

- ★ 免疫毒性試験 - げっ歯類反復投与、CPMP、FDA対応
- ★ Local lymph node assays (局所リンパ節試験)
- ★ サイトカインフィンガープリンティング、マウスIgE試験
- ★ 特殊ELISA、分析用フローサイトメトリー
- ★ 免疫学的機作解明の探索研究
- ★ アレルギー、免疫毒性のコンサルタント

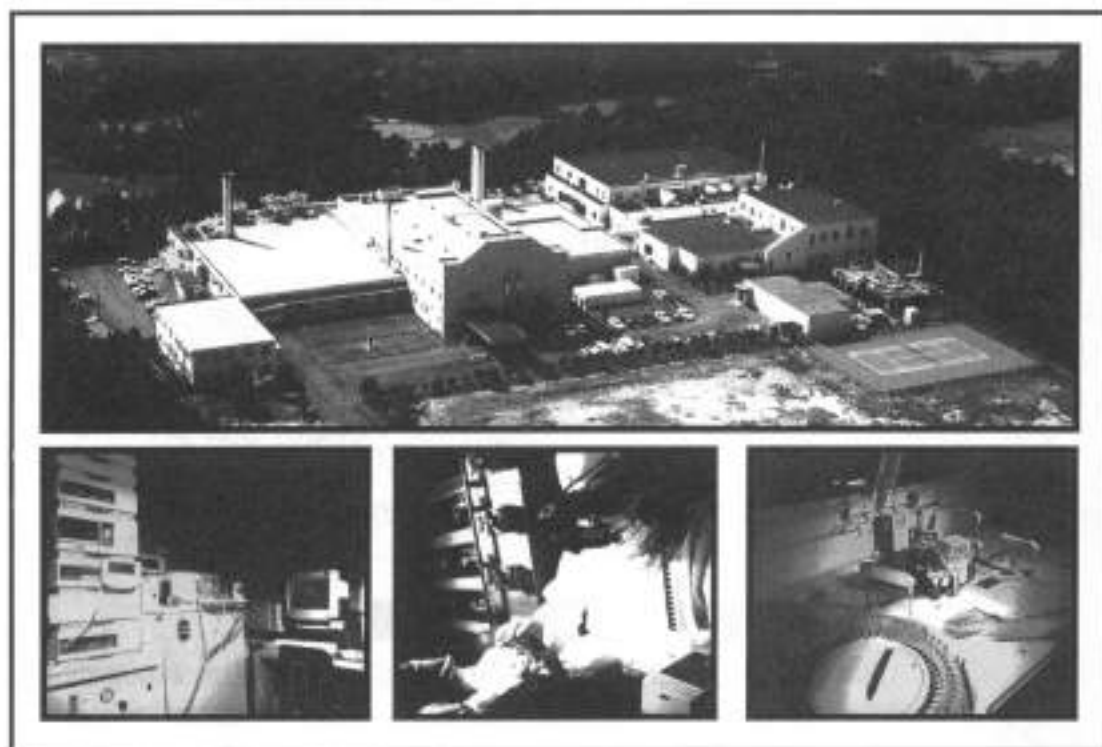
シンジェンタCTL 日本代表オフィス

東京都中央区日本橋茅場町3-5-3 (株)リプレ 気付
電話：03-5643-2755 Fax：03-5643-2756
電子メール：ctl@repre.net
ホームページ：http://www.repre.net/

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・医用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

スクリーニング試験から各種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(上野)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/>



生体試料中薬物濃度測定を受託します **TRC**



LC/MS/MSを中心とした分離分析法による生体試料中薬物濃度測定を、
GLP 遵守または GLP に準じて実施致します。

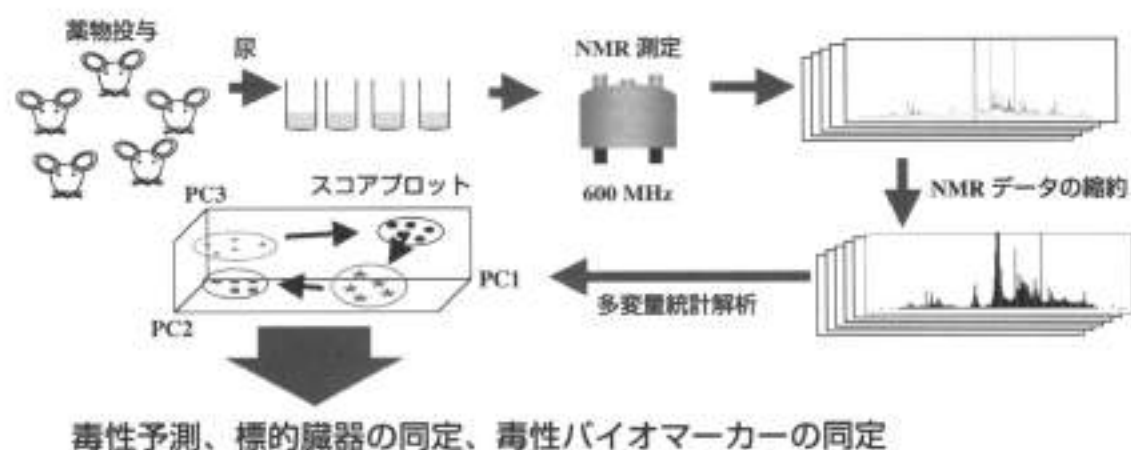
主な受託試験内容

- 微量分析法の開発
- 分析法のバリデーション
- トキシコキネティクス測定
- 臨床検体の薬物濃度測定

◆ 血中・尿中・組織中の薬効・毒性バイオマーカーの測定

バイオ技術を用いて、吸光度、蛍光、発光による測定を行います。

◆ メタボノミクス (NMR を用いた新しい毒性学への応用)



その他の内容についても、お気軽にご相談下さい。

お問い合わせ先

株式会社 **東レリサーチセンター**

東京営業第2部 / 〒103-0022 東京都中央区日本橋室町 3-1-8 TEL.03-3245-5666
 つくば営業所 / 〒300-0034 茨城県土浦市港町 1-4-19 TEL.029-824-6695
 名古屋営業部 / 〒450-0003 名古屋市中村区名駅南 1-24-30 TEL.052-571-5510
 関西営業部 / 〒530-8222 大阪市北区中之島 3-3-3 TEL.06-6445-4065
 九州営業所 / 〒810-0062 福岡市中央区荒戸 1-1-3 TEL.092-752-7948

JCL bioassay

JAPAN CLINICAL LABORATORIES, INC.
BIOASSAY DIVISION

Nishiwaki Laboratory New Research Building



TOP OF THE WORLD
MAY 2003 JCL bioassay

**Save time where you can ...
... but don't cut your quality!!**

Details of Business

- I Analytical Chemistry
 - ① Development of Bioanalytical Method (LC/MS/MS, GC/MS, HPLC, GC)
 - ② Bioanalytical Method Validation
 - ③ Determination of Drug Content in Clinical Studies, Bioequivalence Studies, Toxicokinetics
- II Drug Stability Tests
- III Physicochemical Properties
- IV Biodegradation, Bioconcentration, Pow Test
- V Environmental Effect



GLP accredited (A)
the Pharmaceutical GLP Standard

GLP accredited (No.017)
the Chemical Substance Control Act

Nishiwaki Laboratory

17-18, Nakahata-Cho, Nishiwaki-Shi, Hyogo 677-0032, Japan
Tel: 0795-23-5725 Fax: 0795-23-4756, E-Mail: jclbio@jcl.co.jp

Osaka Laboratory

5-16-26, Minamisuita, Suita-Shi, Osaka 564-0043, Japan
Tel: 06-6338-8102 Fax: 06-6338-3775, E-Mail: bio-info@jcl.co.jp

URL: <http://www.jcl.co.jp/bioassay/bio.index.html>

SLCの 実験動物



SPF動物

●クローズドコロニー

マウス	Slc : ddY
☆ lar	3/cv
	Slc : ICR
ラット	Slc : SD
	Slc : Wistar
	Slc : Wistar/ST
	Hos [®] : Donryu
☆ lar	Wistar (Wistar-Kyoto)
☆ lar	Long Evans
モルモット	Slc : Hartley
ウサギ	Slc : JW/CSK
	Slc : NZW
ハムスター	Slc : Syrian

●近交系

マウス	BALB/c Cr Slc
	C57BL/6 Cr Slc
	C57BL/6J Jms Slc
	C3H/He Slc
	DBA/2 Cr Slc
	NZW/N Slc
	A/J Jms Slc
	AKR/N Slc
	CBA/N Slc
	C3H/He N Slc
	C3H/He J Yok Slc

B10 コンジュニク

	C57BL/10 Sn Slc
	B10.A/Sg Sn Slc
	B10.BR/Sg Sn Slc
	B10.D2/nSn Slc
	B10.QBR/Sx Slc
	B10.S/Sg Slc

ラット

	F344/N Slc
	WKAH/Hkm
	BN/SsN Slc
	LEW/SsN Slc
	ACI/N Slc
	Wistar/Ms Nrs
	WM/Nrs

モルモット

	Strain 2/Slc
	Strain 13/Slc

スナネズミ

	MON/Jms Gbs Slc
--	-----------------

●交雑群

マウス	Slc : B6F1
	Slc : CBF1
	Slc : CDF1
	Slc : B6C3F1

●ミュータント系

ヌードマウス	BALB/c Slc-nu
	KSN/Slc

Clean動物

●クローズドコロニー

マウス	Std : ddY
ラット	Std : Wistar
	Std : Wistar/BT
モルモット	Std : Hartley
ウサギ	Std : JW/CSK
	Std : NZW

Conventional動物

ビーグル犬 ノーサンビーグル
 カニクイザル 国内繁殖生産ザル (電美大農)
 アカゲザル 国内繁殖生産ザル (電美大農)

疾患モデル動物

マウス	BXSB/MpJ Jms Slc-Yaa	(自己免疫疾患)
	C3H/HeJ Jms Slc-gld	(自己免疫疾患)
	C3H/HeJ Jms Slc-lpr	(自己免疫疾患)
	C57BL/6J Slc-gld	(自己免疫疾患)
	C57BL/6J Jms Slc-lpr	(自己免疫疾患)
	MRL/MpJn-gld	(自己免疫疾患)
	MRL/MpJ Jms Slc-lpr	(自己免疫疾患)
	NC/Nga Slc	(自己免疫疾患)
	NZB/N Slc	(自己免疫疾患)
	Slc : INZWxBxSB) F1	(心筋梗塞)
☆ Hos [®] :	HR-1	(ヘアレスマウス)
	Slc : NZBWF1	(自己免疫疾患)
	Slc : WBB6F1-W/W ^v	(糖尿病発症増加)
	Slc : WBB6F1-s/s ^d	(糖尿病発症増加)
	CTS/Shi	(免疫不全)
	DBA/1J Jms Slc	(アレルギー発症)
	SAW F10-F10a-F10b-F10c-F10d	(老化促進)
	129x1/8Vj Jms Slc	(ES細胞)
	AKITA/Slc	(糖尿病)

ラット

	☆ C57BL/6J-Sp1-Lax) /Lax) Sp1	(I型糖尿病)
	DA/Slc	(アレルギー発症)
	DA/Slc-bp/bg	(アレルギー発症)
	HWY/Slc	(ヘアレスラット)
	SDR	(骨髄移植ラット)
	NAR/Slc	(アレルギー発症)
	WBN/Kob Slc	(高血糖好発)
	Slc : WsRc-Ws/Ws	(糖尿病発症)
	Slc : Zucker-Ga/Ga	(肥満)
	Gunn/Slc-J	(遺伝性貧血)
☆	DIS/Eis	(糖尿病発症)
☆	DIR/Eis	(食塩抵抗性)
☆	EHBR/Eis	(遺伝性貧血)
	SHR/tzm	(高血圧)
	SHRSP/tzm	(高血圧)
	WKY/tzm	(SHR/tzmの対照)
	SHR/NDmo-cp	(肥満・高血圧)
	GK/Slc	(糖尿病)
☆	コペンハーゲンラット	(糖尿病発症)
ハムスター	APA	(腎臓病発症)
	J2N-k	(心筋モデル)
	J2N-n	(糖尿病発症)
ワタリス	W・Y・Z系	(胃腸病発症)

その他

実験動物用床着・ソフトチップ(木)・ペーパークリーン(紙)
 小動物用洗剤クイックカラーペイント
 実験動物診断ELISA試薬(デンカ生研)
 ラット特注用保定器

■ マウス、ラット、モルモット、ウサギ、サルを用いた安全性試験 (非GLP)

- 単回投与毒性試験
- 反復投与毒性試験
- 抗原性試験
- 遺伝毒性試験
- 免疫毒性試験
- 日本薬局方に基づく生物学的試験
- ウサギの聴覚・皮内・発熱性物質試験
- マウスの急性毒性試験
- 高急性試験
- 細胞毒性試験

■ マウス、ラット、モルモット、ウサギ、サルを用いた薬効薬理試験 (非GLP)

- 自然発症疾患モデルの試験
- 高血圧ラット (SHR) の試験
- 皮膚癌マウス (NC) の試験
- その他自発疾患モデルマウス、ラットの試験
- 外科的創傷疾患モデルの試験
- 骨髄移植 (皮下静注、皮下静注、皮下静注、皮下静注、皮下静注) 高血圧マウス、ラットの試験
- 動物内皮損傷ラットの試験
- 薬物毒性モデル動物の試験
- TAA肝硬変ラットの試験
- CCI急性肝次ラットの試験
- STZ糖尿病マウス、ラットの試験
- 食餌性糖尿病モデルの試験
- 高コレステロールウサギの試験
- 低マグネシウム飼料給餌マウス、ラットの試験
- その他委託者より提供される特殊飼料給餌マウス、ラット、ウサギの試験

■ マウス、ラット、モルモット、ウサギ、サルを用いた経時的採血試験

- マウス、ラット、モルモット、ウサギのポリクローナル抗体の作成
- 病理標本作製・検検
- 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 ☎ (053) 437-5348 受付時間内まで

■ 外科的疾患モデル動物

- 各種創傷 (皮下静注、皮下静注、皮下静注、皮下静注、皮下静注)
- 高血圧マウス、ラット等
- 全身神経切断マウス、ラット
- 動物内皮損傷ラット
- 糖尿病発症 (CCI) ラット

■ 薬物毒性モデル動物

- TAA肝硬変ラット
- CCI急性肝次ラットの試験
- STZ糖尿病マウス、ラット

■ 食餌性疾患モデル

- 高コレステロール飼料給餌ウサギ
- 低マグネシウム飼料給餌マウス、ラット
- その他委託者より提供される特殊飼料給餌マウス、ラット、ウサギ

■ 特殊疾患動物

- 腎臓もろ下カテーテル挿入ラット
- 心臓移植 (異種移植) ラット
- 精巣摘出マウス、ラット
- 血球腫マウス
- VX2およびVX4癌がんウサギ
- 後肢切断法による糖尿病発症用トレーニングラット
- 運動負荷試験のロータロッドにおいて一定時間落下しないラット

■ マウス、ラットの子宮切断術によるSPF化

■ マウス、ラットの胚移植によるSPF化

お問い合わせは ☎ 関東エリア ☎ (053) 486-3155 代
 営業部まで ☎ 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

*印は受託生産動物。
 ☆印は仕入販売動物です。

営業専用 TEL 関東エリア (053) 486-3155 (代)
 関西エリア (053) 486-3157 (代)
 九州エリア (0942) 41-1656 (代)

ハムリー株式会社 韓国安全性評価研究所にて 前臨床試験の受託を行っております。

KIT 安全性評価研究所

KOREA INSTITUTE OF TOXICOLOGY
KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY

所長：韓 相燮

住所：大韓民国 大田廣城市儒城區長洞100



KITは、AAALAC international認定(1998～)の施設・組織で、前臨床試験の総合受託施設です。
医薬・農薬・食品・各種化学物質に対して毒性試験、薬理試験、代謝試験等の各試験の受託を行っております。

■ 安全性評価研究所の沿革

- 1980年 韓国化学技術院にて安全性研究の準備
- 1982年 韓国化学技術院に安全性研究所設立
- 1984年 韓国化学研究所(KRICT)に安全性研究所を移転
- 1986年 安全性研究のためのB・S棟完成
- 1988年 韓国KGLP適格試験期間認証(第1号)
- 1990年 日本農林水産省のGLP適合機関
- 1998年 韓国環境部のGLP適合機関
- 1998年 AAALAC internationalの認定
- 2002年 安全性評価研究所設立
ハムリー(株)と日本の総代理店契約を締結

■ 受託試験項目(GLP対応)

- マウス、ラット、ウサギ、イヌ、
霊長類等を用いた毒性試験
- 特殊毒性試験
生殖発生毒性試験
局所刺激性試験
変異原性試験
がん原性試験
皮膚感作性試験 他
- 医療用具毒性試験
- 水生生物体毒性試験
- その他

 ハムリー株式会社

営業本部 国際事業所

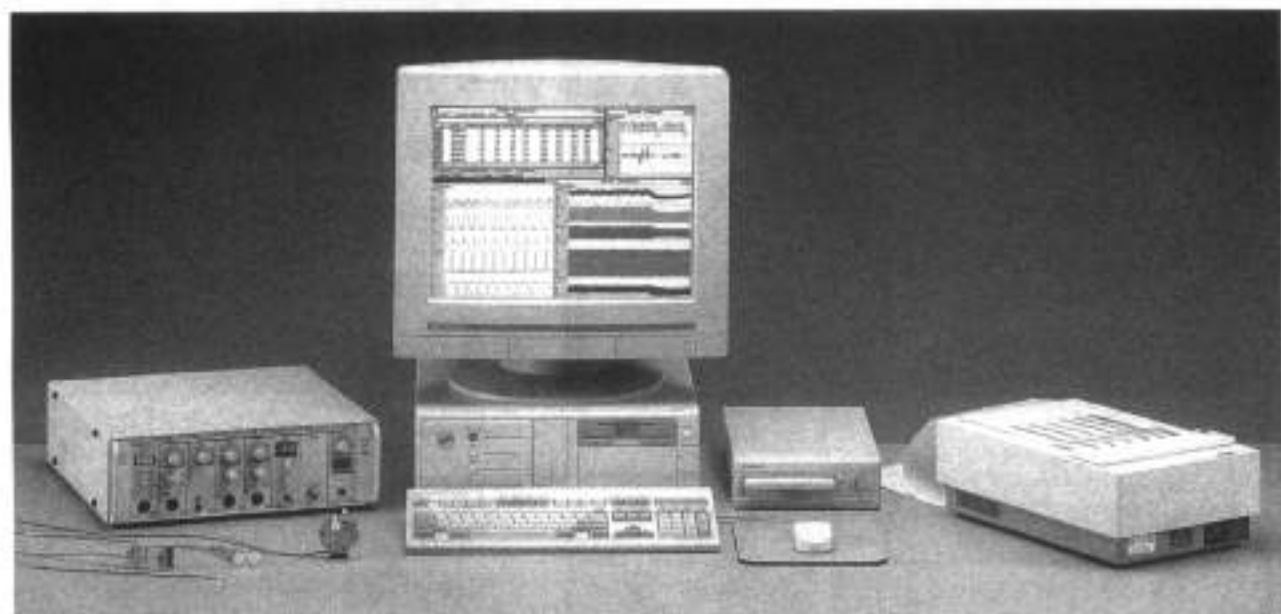
東京都台東区上野7-6-5 上野KYビル6F TEL: 03-5828-9076 FAX: 03-5828-4476

E-mail: ib@hamri.co.jp

ホームページ: <http://www.nmc.ne.jp/hp1/hamri>

GOULD
Instrument Systems

Life Science Suite



Powered By....

PONEMAH Physiology Platform

バリデーションサポート
FDA 21 CFR Part11 準拠

リアルタイム記録&解析

- 血圧解析
- 左心室圧解析
- 冠血流量解析
- 全身血流解析
- ECG解析
- 単相性活動電位解析
- 心筋収縮拡張解析
- 呼吸機能解析
- 肺コンプライアンス / 抵抗解析
- 脈動組織と内臓運動性解析
- EMG解析

BRK

バイオリサーチセンター株式会社

本社 〒461-0001 名古屋市東区東2-25-24(コトナビル4F) TEL:052)832-6421 FAX:052)832-6755
東京 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2-9-7(NEビル) TEL:03)3861-7021 FAX:03)3861-7022

E-mail:sales@brk.co.jp
<http://www.brk.co.jp>

BOZO GROUP

安全性試験 受託機関



御殿場研究所



函南研究所

ITR Laboratories Canada Inc.は、カナダ・モントリオールにボゾリサーチセンターの子会社として、サル、イヌ、ラット試験の受託を行なっています。

一般毒性試験

Inhalation・Infusion Study

薬物動態試験・特殊薬理試験



ITR研究所

一般毒性試験

癌原性試験

生殖・世代試験

刺激性試験・感作性試験

変異原性試験・染色体異常試験・小核試験

抗原性試験

病理組織標本作製および検索

機器分析/トキシコキネティクス

株式会社ボゾリサーチセンターでは、ラット、マウス試験(御殿場研究所)ビーグル犬、サル、ウサギ、モルモット試験(函南研究所)、病理試験(東京研究所)の受託を行なっています。

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**

本 社 〒156-0042 東京都世田谷区羽根木1-3-11 ボゾリサーチビル TEL.03-3327-2111(代)/FAX.03-3327-2115
東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区大山町3-6-7 TEL.03-5453-8101(代)/FAX.03-5453-8109
大阪支部 〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-3 新大阪生島ビル TEL.06-6397-2851(代)/FAX.06-6397-2852
研 究 所 御殿場研究所・函南研究所・東京研究所



ITR Laboratories Canada Inc.

19601 boul. Clark Graham, Baie d'Urfé (Montréal), Québec, Canada H9X 3T1
Tel : (514)457-7400 Fax : (514)457-7303

私たちは


安科研

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。



- 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)にも高い技術力でお応えいたします。

 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(6204-8448)代 | FAX.06(6204-8449)

<http://www.ankaken.co.jp/> e-mail: ankaken@ankaken.co.jp

シバヤギ[®] は動物実験を支えます！

●●●●●● 疾患モデル動物評価キット (レピスシリーズ) ●●●●●●

糖尿病モデル動物用

- マウス尿中アルブミン TIA KIT (12.5~500μg/ml)
- マウスアルブミン ELISA KIT (NEW)
- マウスインスリン ELISA KIT (156~10,000pg/ml)
- マウスインスリン ELISA KIT (U type)
(39~2,500pg/ml)
- ラット尿中アルブミン TIA KIT (12.5~500μg/ml)
- ラットアルブミン ELISA KIT (NEW)
- ラットインスリン ELISA KIT (156~10,000pg/ml)
- ラットインスリン ELISA KIT (U type)
(25~1,500pg/ml)
- イヌインスリン ELISA KIT (188~12,000pg/ml)
- サルインスリン ELISA KIT (156~10,000pg/ml)

炎症モデル動物用

- マウス-IgE ELISA KIT (1~100ng/ml) 96well, 192well
- ラット-IgE ELISA KIT (NEW) 96well, 192well
- マウスSAA ELISA KIT (NEW)
- マウスリウマチ因子-IgG型 ELISA KIT (15.6~1,000mU/ml)
- マウスリウマチ因子-IgM型 ELISA KIT (15.6~1,000mU/ml)
- マウス抗ssDNA ELISA KIT (15.6~1,000mU/ml)
- マウス抗dsDNA ELISA KIT (15.6~1,000mU/ml)
- ラット抗ssDNA ELISA KIT (15.6~1,000mU/ml)
- ラット抗dsDNA ELISA KIT (15.6~1,000mU/ml)

受託抗体作製サービス

(マウス・ウサギ・ニワトリ・ヤギ・ヒツジ)

***** 詳細は下記のURLをご覧ください。(役に立つCD-ROMプレゼント中) *****

株式会社シバヤギ

〒377-0007 群馬県渋川市石原1062-1
Tel.0279-25-0279 Fax.0279-23-0313

E-mail : syc-info@shibayagi.co.jp

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

薬理試験部門

- 薬効薬理試験
- 中枢神経系関連試験
- 呼吸・循環器系関連試験
- 立位系関連試験
- 代謝系関連試験
- 消化器系関連試験
- 泌尿器系関連試験
- 内分泌関連試験
- アレルギー系関連試験
- 眼科関連の薬効薬理試験
- OTC関連試験
- 一般薬理試験
- 安全性薬理試験
- その他

安全性試験部門

- 単回投与毒性試験
- 反復投与毒性試験
- 生殖発生毒性試験
- 抗原性試験
- 免疫毒性試験
- 刺激性試験
- 皮膚感作性試験
- 皮膚光感作性試験
- がん原性試験
- 遺伝毒性試験
- その他(慢性毒性試験等)

The Technology is Love

可能性あるDATAが、今歩き出します。

試験対象物質

- 医薬用医薬品
- 一般用医薬品
- 医薬部外品
- 健康食品
- 特定保健用食品
- 栄養機能食品
- 医薬用具
- 化粧品
- 添加物
- 化学品
- 食品
- 雑貨
- 環境ホルモン候補物
- その他





nbr 株式会社日本バイオリサーチセンター

〒501-6251 岐阜県羽島市福寿町買島6丁目104番地
Tel.058-392-6222 Fax.058-392-2432



30



CTBR is committed to fulfilling your needs for quality | responsiveness | innovation

CTBR (Inveresk Research Group のメンバー) は、スタッフ 1200 名を擁す、カナダの主要前臨床受託試験機関です。米国、日本を主な市場とし、世界の医薬品、バイオテクノロジー、医療業界での様々な治療分野の新薬開発に助力しています。

CTBR では、年間 1500 件以上の GLP 準拠前臨床試験を手掛け、報告書期限内提出成績 98% を誇っています。1984 年に日本の皆様とお仕事を始めて以来今日まで、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努力しています。

CTBR 試験サービス

- 分析化学・生物学的分析
- 骨関連研究
- 循環器プロファイル
- 臨床検査
- 薬物代謝・薬物動態試験
- 実験的生物学
- 一般毒性試験、癌原性試験
- 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
- インヴィトロ薬物代謝・薬物動態試験
- マススペクトロメトリー
- 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、又は CTBR マーケティング部門まで。

***On-time scientific excellence,
time after time***



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

87 Semmeville Road
Semmeville, Quebec
Canada, H9X 3R3
Tel: (514) 630-8200 Fax: (514) 630-8230
E-mail: japanmarketing@ctbr.com
Web site: www.ctbr.com

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 (P450 Induction試験用) Single donor (5x10⁶ cells/vial以上)

●ヒト新鮮肝細胞 (非凍結品)

8~96-well Culture Plate, 8~96-well Culture Plate Matrigel, 各種T-Flaskでもご利用できます。(Lanford培地使用可)

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。

●ラットおよびビーグル犬凍結肝細胞 (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)

ビーグル犬凍結肝細胞 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/0.25m³)

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/0.5m³)、S9 (40mg/2.0m³)

Aroclor 1254, B-Naphtoflavone, 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はmale, female)

包装単位：マイクロソーム (10mg/0.5m³、20mg/1.0m³)
S9 (30mg/1.5m³)

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 (各雄標品)

包装単位：マイクロソーム (10mg/0.5m³)、S9 (30mg/1.5m³)

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 (各雄標品)

包装単位：マイクロソーム (10mg/0.5m³)

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。治療、診断には使用しないでください。※タンパク濃度は標準が考慮です。実際値はお買い上げ時添付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。いずれもバイオハ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



お問合せは **日本チャールス・リバー株式会社**

第二営業部 〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-3-8 東伸24新横浜ビルB-4F
TEL045(474)9336 FAX045(474)9341

Email: crj-sd@yokohama.email.ne.jp

http://www.crj.co.jp